

Етноботаника (Ethnobotany), бр. 2, 145-170

УДК: [581.142 + 582.998.1] : 94 (497.11)

DOI: 10.46793/EtnBot22.145N

изворни рад
original paper

Seed germination tests of *Achillea* species from the Pirot County (Southeastern Serbia)

**Biljana Nikolić^{1*}, Sonja Braunović¹, Filip Jovanović², Saša Eremija¹, Marija Marković²,
Ljubinko Rakonjac¹**

¹Institute of Forestry, Belgrade, Kneza Višeslava 3, 11000 Belgrade, Serbia

²University of Niš, Faculty of Sciences and Mathematics, Višegradska 33, 18000 Niš, Serbia

*Corresponding author: Biljana M. Nikolić, Institute of Forestry, Belgrade, Kneza Višeslava 3,
11000 Belgrade, Serbia, e-mail: smikitis2@gmail.com

Abstract: Conditions in Serbia are favorable for the successful cultivation of high-quality varieties of yarrow. The paper examines the germination of seeds of four species of the genus *Achillea* (*A. clypeolata*, *A. coarctata*, *A. crithmifolia*, *A. millefolium*), which grow wild in the Pirot County, in order to investigate their potential cultivation. The seeds were first placed in Krstić's germinator for germination without prior stratification, where, apart from *A. crithmifolia* seeds, the seeds of the other species did not germinate. After maintaining the seeds for 24 h in a refrigerator, treatment with hot water and a 20% solution of bleach had a favorable effect on the seed germination of all four *Achillea* species, especially white-flowered yarrow (*A. crithmifolia* and *A. millefolium*). In particular, pouring hot water on *A. crithmifolia* increased the germination energy by 65% and seed germination for 43.8%, while the seed of *A. millefolium*, reach the germination energy increased 78% and germination 81%, so this type of seed treatment is recommended before sowing.

Keywords: *Achillea clypeolata*, *A. coarctata*, *A. crithmifolia*, *A. millefolium*, Pirot County, seed germination

INTRODUCTION

The cultivation of medicinal plants, as opposed to collection in the wild, has many advantages and achieves the main goal, and the most important is the production of pure and high-quality medicinal raw materials (Сарић, 1989), freed from the influence of environmental and climatic factors. Of the total turnover of medicinal and aromatic plants in the Republic of Serbia, close to 50% is achieved through plantation production, while the remaining 50% reaches the market through collection from natural populations (Golijan, 2016).

For plantation production, the best varieties are usually procured for cultivation (Сарић, 1989). Depending on the choice of species, the appropriate soil, exposure, and altitude are chosen. Each plant species has specific requirements for successful production, so it is necessary to recognize the requirements of the species and apply them during cultivation. For establishing plantation cultures it is necessary to know the germination rate of the seeds of the species that has been chosen for plantation production.

The analysis of seed germination refers the tested and determined germination energy and germination of seeds from a sample of one batch of seeds in laboratory conditions. Germination energy represents the number of normal seedlings in relation to the number of seeds placed for germination determined after the expiration of the time provided before the first evaluation. Seed germination represents the number of normal seedlings in relation to the total number of seeds placed for germination determined after the end of the time provided for the final evaluation. Germination energy and seed germination are expressed in percentages. Seed germination can vary with the season. It is affected by temperature, light intensity, humidity.

When selecting species for the testing of essential oils and plantation cultivation in the Pirot District during the implementation of the project entitled “Development of technical/technological models of production and primary processing of medicinal and aromatic plants in rural areas of Serbia, with the aim of productive employment of the population (Pirot District)”, the species which are protected, rare or poorly researched was taken into account.

There were 10 species on the list of selected medicinal and aromatic plants for testing essential oils and plantation cultivation, of which four were from the genus *Achillea*, and two of them are on the list of protected species: *A. clypeolata* and *A. millefolium* (Службени гласник Републике Србије, 2016).

Sarić (Сарић, 1989) noted that the cultivation of yarrow, i.e. species of the genus *Achillea*, was not necessary, because the population of spontaneous species satisfying the collection needs without disturbing them. The same author mentions that there is increasing demand, especially for export, for yarrow with the highest possible essential oil content, that there is a tendency towards the cultivation of such varieties on a global level, as well as in the territory of the Republic of Serbia there are the conditions for the successful cultivation of high-quality varieties of this genus. Due to over exploitation, mostly in the flowering period, the *Achillea* species are considered today at risk for local extinction. Recently, *A. clypeolata* and *A. millefolium* become scarce in terms of the number of their populations in the nature (Службени гласник Републике Србије, 2016), and that in order to ensure the sustainable utilization and to meet the growing demand of these wild species, it has become necessary, therefore, to develop methods of their commercial cultivation.

MATERIAL AND METHODS

During the second half of July 2022, the seeds of 4 selected species of the *Achillea* genus were collected for laboratory testing of seed quality (germination) without stratification. The localities from which the selected *Achillea* seed samples were collected and the ecological characteristics of the habitats are shown in Table 1. In the first half of August, another collection was carried out to test the quality of the seeds with seed pretreatments. Ten days passed from the collection to the experimental setting and the seeds were stored and transported in paper bags.

The conditions for testing the germination of seeds for plant species *A. millefolium* are given in Table 2 within the quality norms and conditions for seed germination. Since the norms for testing the quality and germination conditions of the seeds of selected species of medicinal and aromatic plants are set by the Rulebook only for yarrow (*A. millefolium*), they were also applied to the other tested species. Testing of seed germination, i.e. seed quality, was carried out

according to the current Rulebook on the quality of seeds of agricultural plants (Службени гласник Републике Србије, 2013).

Table 1. Geographical/ecological characteristics of the locality of selected species of the genus *Achillea* in the Pirot District

Nbr.	Species	Locality	Coordinates		Altitude a.s.l.	Slope	Voucher (HMN)
			N	E			
1	<i>Achillea clypeolata</i>	Vidlič – Stara Planina Mountain, Vidikovac	4772811	7655653	1065	25°	16252
2	<i>Achillea coarctata</i>	surroundings of Dimitrovgrad, Kozarica	4766583	7646951	627	15°	16251
3	<i>Achillea crithmifolia</i>	Vlaška Mountain, Prisjan	4774175	7627698	628	flat	16249
4	<i>Achillea millefolium</i>	surroundings of Dimitrovgrad, Smilovsko Jezero Lake	4771216	7650912	718	0-5°	16250

* Coordinates: EPSG: 3909 – MGI 1901/Balkans Zone 7

The seeds were originally placed for germination on Krstić's germinator without prior stratification, i.e. pretreatment (Figures 1 and 2). In the next attempt, the seeds were stratified by cold treatment (storage in a refrigerator at +4°C) for 3 weeks, left to stand in distilled water for 24 h; hot water (close to boiling point) was then poured over them for 5 min, before germination (pretreatment 1). At the same time, instead of pouring hot water over them, one part of the seeds had a 20% solution of bleach and distilled water for 5 min poured over (pretreatment 2). The pretreatments were chosen from the relevant literature (Allison, 2002; Alatar, 2011; Escriba, Laguna and Guara, 2004; Estrelles et al., 2010), for *A. millefolium*, and they were applied for the remaining three species for which there are no other data in the relevant domestic and foreign standards.

The working sample was 4 x 100 seeds that were chosen at random and evenly distributed on a suitable substrate for germination, i.e. moist filter paper. The seeds were kept at a temperature of 24 °C, in the light. Before germination, the seeds were placed in the refrigerator for one day, and the number of germinated seeds began from the moment the seeds were placed

on the germinator. The first assessment of germination was after 5 days, and the last after 14 days or later (if germination was prolonged).

Table 2. Batch size, sample weight, quality standards and conditions for testing seed germination

Number	Plant species (Latin name)	Sample mass (g)			Seed quality standards							Germination test conditions				
		Batch size maximum – kg	Average	Working?	Presence of other species and weeds	Purity at lowest %	Other species at highest %	Weeds at highest %	Germination at lowest %	Moisture content max %	Additional norms and work orders	Substrate	Temperature °C	Number of days		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
12.3. Flowers, medicinal and aromatic herbs																
4	<i>Achillea millefolium</i>	10,000	25	0.5								OF, BF	20-30; 20	5	14	S

* Службени гласник Републике Србије, број 34/2013

Table legend:

- 1) Germination substrate:
 BF – between filter paper, i.e. absorbent;
 OF – on filter paper, i.e. absorbent;
 S – sand.



Figure 1., 2. Seed treatment of selected species of the *Achillea* genus, and Krstić's germinator

RESULTS AND DISCUSSION

The seeds were initially placed for germination on Krstić's germinator without prior stratification and very poor results were obtained (Table 3, Fig. 3, 4, 5, 6). After 7 days of germination, the seeds showed no germination energy (0%), and after 30 days, germination was absent in most species, except for *A. crithmifolia* (24.2%).

Stratification treatment increase the germination rate of some species: *Hyoscyamus niger*, *Hypericum perforatum*, *Pastinaca sativa*, *Saponaria officinalis* and *Thymus pulegioides* (Leo, 2013).

There was a deviation from the protocol from table 2, i.e. the seeds were kept longer in the germinator, because after 20 days the germination rate was 0%. The seed was considered to have germinated with a root longer than 2 mm.

Table 3. Germination of *Achillea* seeds without stratification

No.	Species	Energy * germination (%)	Germination ** (%)
1	<i>Achillea clypeolata</i>	0.0	0.0
2	<i>Achillea coarctata</i>	0.0	0.0
3	<i>Achillea crithmifolia</i>	0.0	24.2
4	<i>Achillea millefolium</i>	0.0	0.0

* Germination after 7 days; ** Germination after 30 days

The results of pretreatment 1 involving seed germination with cold treatment and hot-water stratification were better than those for non-stratified seeds in *Achillea* species (germination energy: 21.0%, 18.0%, 65.0% and 78%) (Table 4). After 20 days, germination increased slightly.

Table 4. Germination of *Achillea* seeds with cold storage and covering with hot water (pretreatment 1)

No.	Species	Energy * germination (%)	Germination ** (%)
1	<i>Achillea clypeolata</i>	21.0	29.0
2	<i>Achillea coarctata</i>	18.0	18.0
3	<i>Achillea crithmifolia</i>	65.0	68.0
4	<i>Achillea millefolium</i>	78.0	81.0

* * Germination after 7 days; ** Germination after 20 days

The results of pretreatment 2, which involved stratification by cold treatment and pouring over with a bleach solution, were also better than without stratification in the tested *Achillea* species (germination energy: 33.7%, 11.5%, 31.0% and 13.0%). (Table 4, Fig. 7, 8, 9, 10). After 20 days, germination increased slightly in all tested species of the *Achillea* genus (Table 5).

Based on the presented findings, it can be concluded that after pretreatment 1 (hot water) and pretreatment 2 (bleach solution), the seeds germinated well in all 4 investigated *Achillea* species and that the pretreatments had a favorable effect on their germination.

Table 5. Germination of *Achillea* seeds with cold storage and covering with 20% bleach (pretreatment 2)

Nbr.	Species	Energy * germination (%)	Germination ** (%)
1	<i>Achillea clypeolata</i>	33.7	38.8
2	<i>Achillea coarctata</i>	11.5	17.4
3	<i>Achillea crithmifolia</i>	31.0	38.0
4	<i>Achillea millefolium</i>	13.0	29.0

* * Germination after 7 days; ** Germination after 20 days

In yarrow with white flowers (*A. crithmifolia* and *A. millefolium*) germination energy and germination using pretreatment 1 (stratification in cold and pouring hot water) was significantly higher than in yarrow with yellow-flowered inflorescence (*A. clypeolata* and *A. coarctata*) (Table 4), while pretreatment 2 (cold storage and covering with 20% bleach) had approximately the same effect on energy germination and seed germination on yarrow with white and yellow flowers (Table 5).

The seeds of many plants cannot germinate without special conditions. Cold stratification and bleaching can break dormancy and improve seed germination in Cyperaceae family (Rosbakh, Hülsmann, Weinberger, Bleicher, and Poschlod, 2019). Seeds of cotton treated with hydrogen peroxide showed significant improvement in germination rate (Barampuram, Allen, and Krasnyanski, 2014). The stimulation that promote germination of *A. millefolium* seed are characteristic response to scarification i.e low temperature at 5°C for 1 week before germination test (Bourdôt and Field, 1988). The effects of pre-sowing NaOCl on the germination and early seedling growth in rice were also stimulative (Akbari Mohsen, Akbari Mohammad, Akbari D., Sajedi, 2012). In vivo germination test produced no germination in the seeds pre-treated with cold stratification of Turkish endemic *Achillea gypsicola* Hub.-Mor. (Açikgöz & Kara, 2019).

Preretreatment 1: hot water treatment



Figure 3. *Achillea clypeolata* seedlings, hot water treatment (pretreatment 1)



Figure 4. *Achillea coarctata* seedlings, hot water treatment (pretreatment 1)



Figure 5. *Achillea crithmifolia* seedlings, hot water treatment (pretreatment 1)



Figure 6. *Achillea millefolium* seedlings, hot water treatment (pretreatment 1)

Pretreatment 2: treatment with 20% bleach



Figure 7. *Achillea clypeolata* seedlings, treatment with 20% bleach (pretreatment 2)



Figure 8. *Achillea coarctata* seedlings, treatment with 20% bleach (pretreatment 2)



Figure 9. *Achillea crithmifolia* seedlings, treatment with 20% bleach (treatment 2)



Figure 10. *Achillea millefolium* seedlings, treatment with 20% bleach (treatment 2)

In general, it can be concluded that the seed germination of the four selected species of *Achillea* was species-specific and depended primarily on the species itself, but also on the pretreatment. Also, the germination results were significantly lower than expected. Based on *A. millefolium* seed and germination data according to Growing and Using native Plants in the Northern Interior of B.C. (2003), the germination capacity of untreated seeds was significantly higher in comparison to our results: at a temperature of 20-30°C it was 81.4% (65-98%), and at a temperature of 15-25°C it was 91.5% (86-96%), while for stratified seeds it was 90.5% (86-95%), and the germination rate was: 5 days to the first sprout, and 6 days to 50%. According to Luna, Pérez, Céspedes, and Moreno (2008) seeds get 90% to 100% germination; 14 days to germinate at 22°C. The *A. millefolium* seed stratified at 2°C in the dark for 14 days and had a germination capacity of 75-86.5% (Aiello, Lombardo, Gianni, Scartezzini, Fusani, 2017). Our results are lower than those mentioned, probably as a result of the short period from flowering to seed collection, i.e. there was insufficient time for seed maturation, so it is assumed that the results would have been better if the seeds had been collected later. The study of Allison (2002) suggests that environmental impacts on seed number will outweigh impacts on germination success under field conditions. According to the same author, seed yield also depend on the pollination conditions, which due to the large distances between the plants found, were not ideal in the year in which the research was carried out. Pollen availability can affect seed quality, including germination (Baskin and Baskin, 2018).

CONCLUSION

The tested different species of the *Achillea* genus showed different germination rates. Seed germination depends on the species itself and pretreatment, but also on the time when the seeds were collected. Except for the species *A. millefolium*, the remaining species did not show a high degree of germination in the pretreatments. Because of the short time from flowering to seed collection, it is expected that not all seeds have completed ripening, so it is assumed that the results would have been better if the seeds had been harvested later. The seed yield also depended on the pollination conditions, which were not ideal in the current year due to the large distances between the plants found. Synchronized maturation is influenced by environmental conditions, which may vary among distant representatives. To obtain better germination results,

it is preferable pretreatments and seed collection from plants at the same stage of development, so that the sample is more uniform.

Acknowledgments:

The research was carried out as part of the project "Development of technical/technological models of production and primary processing of medicinal and aromatic plants in rural areas of Serbia, with the aim of productive employment of the population (Pirot district)". It was financed by the Ministry of Agriculture, Forestry and Water Management – Directorate for Agrarian Payments, Belgrade, from the Competition for the distribution of incentives for the improvement of the system of creation and transfer of knowledge through the development of technical/technological, applied, developmental and innovative projects in agriculture and rural development in 2021.

REFERENCES

- Açikgöz, M.A., Kara, Ş.M. (2019). Effect of Various Pretreatments on Germination of Turkish Endemic *Achillea gypsicola* Hub.-Mor. Species under In Vivo and In Vitro Conditions. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi (Field Crops Journal of the Institute of Science and Technology)*, 9 (4), 2321-2329.
- Aiello, N., Lombardo, G, Gianni, S., Scartezzini, F., Fusani, P. (2017). The effect of cold stratification and of gibberellic acid on the seed germination of wild musk yarrow [*Achillea erbarotta* subsp. *moschata* (Wulfen) I. Richardson] populations. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 7, 108-112. doi: 10.1016/j.jarmap.2017.07.001
- Akbari, M., Akbari, M., Akbari, D., Sajedi, N.A. (2012). Influence of sodium hypochlorite on seed germination and early seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) variety Tarum. *Research on Crops* 13 (1), 11-15.
- Alatar, A.A. (2011). Effect of temperature and salinity on germination of *Achillea fragrantissima* and *Moringa peregrina* from Saudi Arabia. *African Journal of Biotechnology*, 10 (17), 3393-3398. doi: 10.5897/AJB10.1882

- Allison, V.J. (2002). Nutrients, arbuscular mycorrhizas and competition interact to influence seed production and germination success in *Achillea millefolium*. *Functional Ecology*, 16, 742-749.
- Barampuram, S., Allen, G., Krasnyanski, S. (2014). Effect of various sterilization procedures on the in vitro germination of cotton seeds. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 118, 179-185. doi: 10.1007/s11240-014-0472-x
- Baskin, J.M., Baskin, C.C. (2018). Pollen limitation and its effect on seed germination. *Seed Science Research*, 28 (4), 253-260. doi:10.1017/S0960258518000272
- Bourdôt, W. G., Field, J. R. (1988). Review on ecology and control of *Achillea millefolium* L. (yarrow) on arable land in New Zealand. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*, 16 (2), 99-108. doi: 10.1080/03015521.1988.10425623
- Escriba, C.M., Laguna, E., Guara, M. (2004). Seed germination trends of endemic vascular plants in the Valencian Community (Spain). <https://www.researchgate.net/publication/240635016>
- Estrelles, E., Güemes, J., Riera, J., Boscaiu, M., Ibars, A.M., Costa, M. (2010). Seed germination behaviour in *Sideritis* from different Iberian habitats. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38 (1), 9-13. doi: 10.15835/nbha3814620
- Golijan, J. (2016). Organska proizvodnja lekovitog i aromatičnog bilja u Republici Srbiji (Organic medicinal and aromatic plants production in Republic of Serbia). *Lekovite sirovine*, 36, 75-83.
- Growing and Using native Plants in the Northern Interior of B.C. (2003). https://www.env.gov.bc.ca/fia/documents/native_seed_manual/26achillea_millefolium.pdf
- Leo, J. (2013). *The Effect of Cold Stratification on Germination in 28 Cultural Relict Plant Species - With the Purpose of Establishing Germination Protocols*, Alnarp, Swedish University of Agricultural Sciences (SLU, Sveriges lantbruksuniversitet).

Luna, B., Pérez, B., Céspedes, B., Moreno, J.M. (2008). Effect of cold exposure on seed germination of 58 plant species comprising several functional groups from a mid-mountain Mediterranean area, *Écoscience*, 15 (4), 478-484, doi: 10.2980/15-4-3156

Rosbakh, S., Hülsmann, L., Weinberger, I., Bleicher, M. Poschlod, P. (2019). Bleaching and cold stratification can break dormancy and improve seed germination in Cyperaceae. *Aquatic Botany*, 158, 103128 doi: 10.1016/j.aquabot.2019.103128

Сарић (ур.) (1989). *Лековите биљке СР Србије* (Посебна издања, Одељење природно-математичких наука, књ. 65), Београд, Српска академија наука и уметности.

Службени гласник РС, бр. 34/2013. (2013). Правилник о квалитету семена пољопривредног биља (47/1987-1153, 60/1987-1453, 55/1988-1481, 81/1989-2005, СРЈ 16/1992-205, 8/1993-194, 21/1993-418, 30/1994-376, 43/1996-2, 10/98-2, 15/2001-43, 58/2002-4, РС 23/2009-25, 64/2010-6, 72/2010-12, 34/2013-67)

Службени гласник РС, бр. 5/2010, 47/2011, 32/2016 и 98/2016. (2016). Прилог 2 Правилника о проглашењу и заштити строго заштићених и заштићених дивљих врста биљака, животиња и гљива.

Тестови клијавости семена биљака рода *Achillea* из Пиротског округа (Југоисточна Србија)

Биљана Николић¹, Соња Брауновић¹, Филип Јовановић², Саша Еремија¹, Марија
Марковић², Љубинко Ракоњац¹

¹Институт за шумарство, Београд, Кнеза Вишеслава 3, 11000 Београд, Србија

²Универзитет у Нишу, Природно математички факултет, Вишеградска 33, 18000 Ниш,
Србија

*Аутор за кореспонденцију: Биљана М. Николић, Институт за шумарство, Кнеза
Вишеслава 3, 11000 Београд, Србија, e-mail: smikitis2@gmail.com

Сажетак: У Србији постоје услови за успешно гајење квалитетних сорти хајдучке траве. У раду је испитана клијавост семена четири врсте рода *Achillea* (*A. clypeolata*, *A. coarctata*, *A. crithmifolia*, *A. millefolium*), које самоникло расту у Пиротском округу у циљу истраживања потенцијала њиховог гајења. Семе је најпре постављено на клијање на Крстићеву клијалицу без претходне стратификације, при чему осим семена врсте *A. crithmifolia*, семе осталих врста није показало клијавост. Претретмани врућом водом и 20% раствором варикине, након 24-часовног држања семена на хладном, односно у фрижидеру, повољно су деловали на клијавост семена код све четири врсте рода *Achillea*, нарочито код хајдучких трава белог цвета (*A. crithmifolia* и *A. millefolium*). Поготово је преливање врућом водом код врсте *A. crithmifolia* повећало енергију клијања на 65%, а клијавост семена за 43,8% док семе врсте *A. millefolium* у истим условима достиже енергију клијања 78%, а клијавост 81%, па се ова врста претретмана семена препоручује пре сетве на пољопривредним парцелама.

Кључне речи: *Achillea clypeolata*, *A. coarctata*, *A. crithmifolia*, *A. millefolium*, Пиротски округ, клијавост семена

УВОД

Гајење лековитих биљака у односу на сакупљање из природе, има многе предности, а најважнија је да се добија производња чисте и квалитетне лековите сировине (Сарић, 1989) ослобођена од утицаја еколошких и климатских фактора. Од укупног промета лековитог и ароматичног биља у Републици Србији близу 50% остварује се плантажном производњом, док преосталих 50% доспева на тржиште путем сакупљања из природних популација (Golijan, 2016).

За плантажну производњу обично се набављају најбоље сорте за гајење (Сарић, 1989). У односу на избор врсте бира се одговарајуће земљиште, експозиција, надморска висина. Свака биљна врста има специфичности за успешну производњу, па је потребно познавати потребе врсте и задовољити их током гајења. За успостављање плантажних култура потребно је познавање клијавости семена биљне врсте, која је изабрана за плантажну производњу.

Под анализом клијавости семена подразумева се испитивање и утврђивање енергије клијања и клијавости семена из узорка једне партије семена у лабораторијским условима. Енергија клијања представља број нормалних клијанаца у односу на број семена стављених на клијање утврђен после истека времена предвиђеног за прво оцењивање, односно утврђивање енергије клијања. Клијавост семена представља број нормалних клијанаца у односу на укупан број семена стављених на клијање утврђен после истека времена предвиђеног за завршно оцењивање. Енергија клијања и клијавост семена изражавају се у процентима. Клијавост семена може да варира са сезоном. На њу утичу температура, интензитет светлости, влажност.

Приликом избора врста за испитивање етарских уља и плантажно гајење у Пиротском округу у току реализације пројекта под називом „Развој техничко-технолошких модела производње и примарне прераде лековитог и ароматичног биља у руралним крајевима Србије, у циљу продуктивног запошљавања становништва (Пиротски округ)“ водило се рачуна да су пројектом обухваћене врсте у категорији заштићених, ретких или слабо испитаних. На списку одабраних лековитих и ароматичних биљака за испитивање етарских уља и плантажно гајење налазило се 10 врста, од којих су четири

врсте биле из рода *Achillea*, а међу њима две се налазе на списку заштићених врста (*A. clypeolata* и *A. millefolium*) (Службени гласник Републике Србије, 2016).

Сарић (1989) напомиње да гајење хајдучких трава, односно врста рода *Achillea* крајем осамдесетих година није било неопходно, јер су популације самониклих врста задовољавале потребе сакупљања без њиховог нарушавања. Исти аутор напомиње да се све више тражи, нарочито за извоз, хајдучка трава са што већим садржајем етарског уља и да на светском нивоу почиње оријентација ка гајењу таквих сорти, као и да на просторима Републике Србије има услова за успешно гајење квалитетних сорти врста овог рода. Због прекомерне експлоатације, углавном у периоду цветања, сматра се да су данас врсте рода *Achillea* у опасности од локалног изумирања. У последње време, *A. clypeolata* и *A. millefolium* постају ретке у смислу бројности њихових популација у природи (Службени гласник Републике Србије, 2016), па је, да би се обезбедило одрживо коришћење и задовољила све већа потражња ових дивљих врста, постало неопходно развијати методе њиховог комерцијалног гајења.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

У току друге половине јула месеца 2022. године сакупљено је семе 4 одабране врсте рода *Achillea* за лабораторијско испитивање квалитета (клијавости) семена без стратификације. Локалитети са којих су сакупљени узорци семена изабраних врста рода *Achillea* и еколошке карактеристике станишта приказани су у табели 1. У првој половини августа извршено је поновно сакупљање за испитивање квалитета семена са претретманима семена. Од сакупљања до експерименталне поставке прошло је десетак дана и семе је чувано и транспортовано у папирнатим кесама.

Услови за испитивање клијавости семена за биљну врсту *A. millefolium* дати су у табели 2 у оквиру норми квалитета и услова за клијање семена. Пошто су норме за испитивање квалитета и услова наклијавања семена одабраних врста лековитог и ароматичног биља овим Правилником одређене само за хајдучку траву (*A. millefolium*), оне су примењене и на остале испитиване врсте. Испитивање клијавости семена односно квалитета семена се врши према важећем Правилнику о квалитету семена пољопривредног биља (Службени гласник Републике Србије, 2013).

Табела 1. Географско-еколошке карактеристике локалитета одабраних врста рода *Achillea* у Пиротском округу

Ред. број	Врста	Шири локалитет	Координате		Надм. висина mm	Нагиб	Ваучер (HNM)
			N	E			
1	<i>Achillea clypeolata</i>	Видлич – Стара планина, Видиковац	4772811	7655653	1065	25°	16252
2	<i>Achillea coarctata</i>	околина Димитровграда, Козарица	4766583	7646951	627	15°	16251
3	<i>Achillea crithmifolia</i>	Влашка планина, Присјан	4774175	7627698	628	ravno	16249
4	<i>Achillea millefolium</i>	околина Димитровграда, Смиловско језеро	4771216	7650912	718	0-5°	16250

*Координате: EPSG: 3909 – MGI 1901/Balkans Zone 7

Семе је првобитно постављено на клијање на Крстићеву клијалицу без претходне стратификације, тј. претретмана (слика 1, 2). У наредном покушају семе је стратификовано хладним претретманом (чувањем у фрижидеру на +4 °C) 3 недеље, остављено да одстоји у дестилованој води 24 часа а затим преливено врућом водом (близу тачке кључања) у трајању од 5 минута пре стављања на клијање (претретман 1). Истовремено, један део семена је уместо преливања врућом водом преливен 20% раствором варикине и дестиловане воде у трајању од по 5 минута (претретман 2). Претретмани су одабрани из одговарајуће литературе (Allison 2002; Alatar, 2011; Escriba, Laguna and Guara, 2004; Estrelles et al. 2010), за хајдучку траву (*A. millefolium*), и примењени и за преостале три врсте за које нема података у релевантним домаћим и страним правилницима.

Табела 2. Величина партије, маса узорка, норме квалитета и услови за испитивање клијавости семена

Редни број	Билна врста (латински назив)	Маса узорка (g)					Норме квалитета семена						Услови за испитивање клијавости				
		Величина партије највише - kg	Просечан	Радни	За присуство других врста и корова	Чистоћа најмање %	Присуство		Клијавост најмање %	Садржај влаге највише %	Додатне норме и радни налози	Подлога	Температура ° C	Број дана			
Других врста највише %	Корова највише %						Прво оцењивање	Завршно оцењивање						Поступак за прекидање мировања семена и друге препоруке			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
12.3. Цвеће, лековито и ароматично биље																	
4	<i>Achillea millefolium</i>	10.000	25	0,5								НФ, ИФ	20-30; 20	5	14	S	

*Службени гласник Републике Србије (2013)

Легенда:

1) Подлоге за клијање:

ИФ - између филтер папира, односно упијача;

НФ - на филтер папиру, односно упијачу;

П – песак.

Радни узорак је био 4 x 100 семена која су узимана насумице и равномерно распоређивана на одговарајућу подлогу за клијање - влажан филтер папир. Семе је постављено на температуру од 24°C, на светлости. Пре наклијавања семе је стављено у фрижидер у трајању од једног дана, а бројање исклијалих семенки почиње од тренутка постављања семена на клијалицу. Прво оцењивање клијања било је након 5, а последње након 14 дана или дуже (ако је клијање продужено).



Слика 1., 2. Третирање семена одабраних врста рода *Achillea* и Крстићева клијалица

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Семе је првобитно постављено на клијање на Крстићеву клијалицу без претходне стратификације, при чему су добијени јако слаби резултати (табела 3, слика 3, 4, 5, 6). Након 7 дана од наклијавања, семена нису показала енергију клијања (0%), а након 30 дана клијавост је изостала код већине врста, осим код врсте *Achillea crithmifolia* (24,2%).

Претретман стратификацијом повећава клијавост семена неких врста: *Hyoscyamus niger*, *Hypericum perforatum*, *Pastinaca sativa*, *Saponaria officinalis* и *Thymus pulegioides* (Leo, 2013).

Одступљено је од протокола из табеле 2, односно семе је држано дуже на клијалици, јер је после 20 дана клијавост била 0%. Сматрано је да је семе клијало када је коренак дужи од 2 mm.

Табела 3. Клијавост семена рода *Achillea* без стратификације

Р.бр.	Врста	Енергија * клијања (%)	Клијавост ** (%)
1	<i>Achillea clypeolata</i>	0,0	0,0
2	<i>Achillea coarctata</i>	0,0	0,0
3	<i>Achillea crithmifolia</i>	0,0	24,2
4	<i>Achillea millefolium</i>	0,0	0,0

* Клијавост након 7 дана; ** Клијавост након 30 дана

Резултати првог претретмана 1, који подразумева клијавост семена са стратификацијом ниском температуром и третман врућом водом били су бољи од резултата добијених са нестратификованим семенима код врста рода *Achillea* (енергија клијања: 21,0%, 18,0%, 65,0% и 78%) (табела 4, слика 3, 4, 5, 6). Након 20 дана клијавост се незнатно увећала.

Табела 4. Клијавост семена рода *Achillea* са чувањем на хладном и преливањем врућом водом (претретман 1)

Р.бр.	Врста	Енергија * клијања (%)	Клијавост ** (%)
1	<i>Achillea clypeolata</i>	21,0	29,0
2	<i>Achillea coarctata</i>	18,0	18,0
3	<i>Achillea crithmifolia</i>	65,0	68,0
4	<i>Achillea millefolium</i>	78,0	81,0

* Клијавост након 7 дана; ** Клијавост након 20 дана

Резултати претретмана 2, који је подразумевао стратификацију (хладни третман) и преливање раствором варикине, такође су били бољи него без стратификације код тестираних врста рода *Achillea* (енергија клијања: 33,7%, 11,5 %, 31,0% и 13,0%) (табела 5, слика 7, 8, 9, 10). Након 20 дана клијавост се незнатно увећала код свих испитиваних врста рода *Achillea* (табела 5).

На основу приложених слика и табела може се закључити да је након претретмана 1 (врућом водом) и претретмана 2 (раствором варикине) добро клијало семе рода *Achillea* код све 4 испитиване врсте и да су претретмани повољно деловали на њихову клијавост.

Табела 5. Клијавост семена рода *Achillea* са чувањем на хладном и преливањем 20% варикином (претретман 2)

Р.бр.	Врста	Енергија * клијања (%)	Клијавост ** (%)
1	<i>Achillea clypeolata</i>	33,7	38,8
2	<i>Achillea coarctata</i>	11,5	17,4
3	<i>Achillea crithmifolia</i>	31,0	38,0
4	<i>Achillea millefolium</i>	13,0	29,0

* Клијавост након 7 дана; ** Клијавост након 20 дана

Код хајдучких трава белог цвета (*A. crithmifolia* и *A. millefolium*) енергија клијања и клијавост применом претретмана 1 (стратификација на хладном и преливање врућом водом) била је знатно већа него код хајдучких трава жутих цвасти (*A. clypeolata* и *A. coarctata*) (табела 4), док је претретман 2 (стратификација на хладном и преливање 20% варикином) имао приближно исти ефекат на енергију клијања и клијање семена белих и жутих хајдучких трава (табела 5).

Семена многих биљака не могу без посебних услова да исклијају. Стратификација и претретман варикином могу прекинути мировање и побољшати клијање семена код фамилије Сурерасеае (Rosbakh, Hülsmann, Weinberger, Bleicher, Poschlod, 2019). Семе памука третирано водоник пероксидом показало је значајно побољшање у брзини клијања (Barampuram, Allen, Krasnyanski, 2014). Стимулација која подстиче клијање семена *A. millefolium* карактеристичан је одговор на стратификацију тј. ниску температуру од 5°C током 1 недеље пре теста клијања (Bourdôt and Field, 1988). Стимулативни су и ефекти предсетвеног NaOCl на клијање и рани раст расада код пиринча (Akbari Mohsen, Akbari Mohammad, Akbari D., Sajedi, 2012). *In vivo* тест клијања није показао клијавост семена претходно третираног хладном стратификацијом код турске ендемске врсте *Achillea gypsicola* Hub.-Mor. (Açikgöz & Kara, 2019).

Претретман 1: третман врућом водом



Слика 3. Клијанци семена врсте *Achillea clypeolata*, третман врућом водом (претретман 1)



Слика 4. Клијанци семена врсте *Achillea coarctata*, третман врућом водом (претретман 1)



Слика 5. Клијанци семена врсте *Achillea crithmifolia*, третман врућом водом (претретман 1)



Слика 6. Клијанци семена врсте *Achillea millefolium*, третман врућом водом (претретман 1)

Претретман 2: третман 20% варикином



Слика 7. Клијанци семена врсте *Achillea clypeolata*, третман 20% варикином (претретман 2)



Слика 8. Клијанци семена врсте *Achillea coarctata*, третман 20% варикином (претретман 2)



Слика 9. Клијанци семена врсте *Achillea crithmifolia*, третман 20% варикином (претретман 2)



Слика 10. Клијанци семена врсте *Achillea millefolium*, третман 20% варикином (претретман 2)

Генерално се може закључити да је клијавост семена одабране четири врсте рода *Achillea* зависила првенствено од саме врсте, али и од претретмана. Такође, резултати клијавости су нижи од очекиваних. На основу података о семену и клијању семена врсте *A. millefolium* према Growing and Using native Plants in the Northern Interior of B.C. (2003), капацитет клијања нетретираног семена је био знатно већи у поређењу са нашим резултатима и на температури 20-30°C износи 81,4% (65-98%), а на температури 15-25°C 91,5% (86-96%), док је код стратификованог семена износио 90,5% (86-95%), док је брзина клијања износила: до првог ницања 5 дана, а до 50% клијавости износила је 6 дана. Према Luna, Pérez, Céspedes и Moreno (2008) семе показује 90% до 100% клијавости, након 14 дана клијања на 22°C. Семе врсте *A. millefolium* је стратификовано на 2°C у мраку 14 дана и имало је клијавост од 75-86,5% (Aiello, Lombardo, Gianni, Scartezini, Fusani, 2017). Наши резултати су нижи од поменутих, вероватно као резултат кратког периода од цветања до сакупљања семена, односно недовољног времена за сазревање семена, па се претпоставља да би резултати били бољи да је семе било касније сакупљено. Студија од Allison (2002) сугерише да ће утицаји животне средине на број семена бити већи од утицаја на успех клијања у пољским условима. Према истом аутору урод семена зависи од услова опрашивања, који због великих дистанци нису били идеални у текућој години у којој је извршено истраживање. Распоживост поленом може утицати на квалитет семена укључујући и клијавост (Baskin и Baskin, 2018).

ЗАКЉУЧАК

Тестиране различите врсте рода *Achillea* испољиле су различиту клијавост. Клијавост семена зависи од саме врсте и од претретмана, али и од времена када су семена сакупљена. Изузимајући врсту *A. millefolium*, преостале врсте нису показале висок степен клијавости у претретманима. Пошто је протекло кратко време од цветања до сакупљања семена, очекивано је да се није завршило сазревање свих семена, па се претпоставља да би резултати били бољи да је семе било касније убирано. Урод семена зависио је и од услова опрашивања, који због великих дистанци између пронађених биљака нису били идеални у текућој години. На синхронизовано сазревање утичу средински услови, који могу да варирају међу удаљеним представницима. За добијање бољих резултата клијања пожељно

је урадити претретмане и сакупљати семена са биљака у истом стадијуму развића, како би узорак био униформнији.

Захвалница:

Истраживање је реализовано у оквиру пројекта „Развој техничко-технолошких модела производње и примарне прераде лековитог и ароматичног биља у руралним крајевима Србије, у циљу продуктивног запошљавања становништва (Пиротски округ)“. Финансирано је од стране Министарства пољопривреде, шумарства и водопривреде – Управа за аграрна плаћања, Београд, по Конкурсу за расподелу подстицаја за унапређење система креирања и преноса знања кроз развој техничко-технолошких, примењених, развојних и иновативних пројеката у пољопривреди и руралном развоју у 2021. години.

Примљено / Received on 16. 11. 2022.

Ревидирано / Revised on 23. 12. 2022.

Прихваћено / Accepted on 25. 12. 2022.