

2019 VOL. 10

C S P P

COLLECTANEA STUDENTIIUM PHYSIOLOGIAE PLANTARUM



ZGODBA IZ NASLOVNICE

Zanimiva odkritja in zgodbe iz rastlinske biologije



Rastlinske viruse so raziskovali predvsem zaradi negativnih učinkov, ki jih imajo na gostiteljske rastline. V zadnjem času pa so znanstveniki odkrili, da so precej več kot to, saj lahko vstopajo tudi v simbiotske interakcije z rastlinami in organizmi, ki jih naseljujejo.

Plant viruses: from crop pathogens to key players in bio-nanotechnology

Lesley Torrance

The Conversation

<https://theconversation.com/plant-viruses-from-crop-pathogens-to-key-players-in-bio-nanotechnology-47235>

Slika vzeta iz citiranega članka.

Collectanea Studentium Physiologiae Plantarum
Zbornik študentov fiziologije rastlin

Izdajata: Katedra za fiziologijo rastlin, Oddelek za biologijo, Biotehniška fakulteta, UL

Glavna in odgovorna urednica: Marjana Regvar, marjana.regvar@bf.uni-lj.si

Tehnični urednik: Matevž Likar

Uredniški odbor:

Marjana Regvar

Matevž Likar

Katarina Vogel-Mikuš

Naslov uredništva:

Collectanea Studentium Physiologiae Plantarum,

Zbornik študentov fiziologije rastlin

Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

Izdano: 2019

ISSN 1854-4193 (online: <http://www.bf.uni-lj.si/oddelek-za-biologijo/oddelek/katedre/botanika-in-fiziologija-rastlin/>)

4 VPLIV NADMORSKE VIŠINE NA POJAVLJANJE ARBUSKULARNE MIKORIZE PRI NAVADNI AJDI (*FAGOPYRUM ESCULENTUM*)

Matej Milijaš Jotić, Andraž Marinč, Rebeka Strah,
Jure Zaman

10 VPLIV NADMORSKE VIŠINE NA KOLONIZACIJO TATARSKE AJDE (*FAGOPYRUM TATARICUM*) Z ENDOFITSKIMI GLIVAMI

Monika Bajc Tomšič, Staš Miljuš, Maruša Skubic,
Hana Trček, Zala Vidic

15 VPLIV GNOJENJA S KALIJEM NA ODPRAVO SIMPTOMOV PREKOMERNE SLANOSTI

Ahačič Špela, Dretnik Klemen, Katrašnik Alenka,
Mužina Špela, Svetik Sinja

20 PRIMERJAVA REGENERACIJSKE SPOSOBNOSTI JAPONSKEGA (*FALLOPIA JAPONICA*) IN ČEŠKEGA DRESNIKA (*FALLOPIA X BOHEMICA*)

Maša Krapež, Tjaša Mahkovec Povalej, Ana
Miglioranza, Luen Zidar, Sonja Žabkar

24 FIZIOLOŠKE SPREMEMBE NAVADNE IN TATARSKE AJDE GLEDE NA NADMORSKO VIŠINO

Tajda Lončar, Neja Delač, Elena Spasovska,
Tihomir Rubil, Uroš Škripec in Jaka Peček

28 VPLIV EFEKTIVNIH MIKROORGANIZMOV (MIKRONATURA) NA PRIVZEM HG PRI SONČNICI (*HELIANTHUS ANNUUS*)

Anja Trčak, Kaja Tominc, Karin Leben, Kristian
Elersič, Tim Prezelj, Tjaša Javornik

33 VPLIV GNOJENJA Z ORGANSKIM GNOJILOM NA STRES ZARADI SLANOSTI PRI FIŽOLU IN JEČMENU

Sergej Bohinc, Martin Bole, Ajda Kunčič, Andraž
Marinč, Manca Svetina, Jan Šušteršič

Vpliv nadmorske višine na pojavljanje arbuskularne mikorize pri navadni ajdi (*Fagopyrum esculentum*)

Matej Milijaš Jotić, Andraž Marinč, Rebeka Strah, Jure Zaman

Oddelek za biologijo, Biotehniška fakulteta, Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

- Želeli smo ugotoviti vpliv nadmorske višine na pojavljanje arbuskularne mikorize pri navadni ajdi (*Fagopyrum esculentum*). Spremljali smo pogostost mikorize in mikoriznih struktur.
- Rastline so bile nabrane na treh različnih lokacijah z različno nadmorsko višino in sicer na Biotehniški fakulteti (295 m n.m.) Javorovici (550 m n.m.), in Javorniku (1140 m n.m.). S tripan modrim smo pobarvali korenine, ter z metodo hitrega skeniranja s svetlobno mikroskopijo ocenili stopnjo kolonizacije, prisotnost arbuskulov, veziklov, svitkov in mikrosklerocijev.
- Frekvenca in intenziteta mikorize sta bili najvišji na Javorovici. V vzorcih so prevladovali mikrosklerociji. Prevladovali so temni septirani endofiti. Na podlagi danih rezultatov ne moremo sklepati na vpliv nadmorske višine na pogostost mikorize. Na to lahko vpliva še več parametrov (osončenost, tip prsti, vlažnost, padavine, temperatura).

Ključne besede: *Fagopyrum esculentum*, arbuskularna mikoriza, nadmorska višina

Uvod

Mikoriza je mutualistična asociacija med glivami in koreninami rastlin in je normalno stanje rastlin pod večino ekoloških pogojev. Mikorizne glive predstavljajo le del vseh mikroorganizmov, ki kolonizirajo rizosfero in razen nekaj izjem, so povsem odvisne od rastlin, ki jim omogočajo organski ogljik. Mikorizne glive rastlini omogočajo boljši privzem mineralnih nutrientov (predvsem fosforja), zaradi spreminjanja le teh v rastlini dostopno obliko in povečanja površine preko katere jih lahko sprejmejo. Poleg tega mikorizne glive zasedejo ekološko nišo in s tem ščitijo korenine pred parazitskimi glivami in nematodi, zavirajo rast kompetitorskim rastlinam, ki niso gostitelji in ščitijo rastline pred abiotičnim stresom. Mikorizne rastline imajo večji pridelek, uspešnejšo rast in reprodukcijo. Poznamo arbuskularno mikorizo (AM), ektomikorizo, ektendomikorizo, arbutoidno, monotropoidno, erikoidno in orhidejsko mikorizo (Smith in Read 2008). Mikoriza je prisotna pri 80% vseh kopenskih rastlinskih vrstah in 92% družin. Arbuskularna mikoriza je najpogostejši in predniški tip mikorize pri kopenskih rastlinah (Wang in Qiu 2006).

Arbuskularna mikoriza je simbioza med rastlinami in glivami iz debla Glomeromycota. Obstajala naj bi že več kot 400 milijonov let in se razvijala v koevoluciji s kopenskimi rastlinami (Wang in Qiu 2006). Zelo velik vpliv ima na globalno kroženje ogljika in drugih hranil (predvsem fosfatov). AM glive tvorijo svitke in arbuskule (strukture v rastlinskih koreninskih celicah) preko katerih poteka izmenjava snovi, ter včasih tudi vezikle, ki naj bi imeli skladiščno vlogo. V njihovem življenjskem ciklu ni potrjene spolne faze, njihove hife so načeloma neseptirane in kolonizacija rastlinskih korenin se zniža ob obilni prisotnosti nutrientov (Parniske 2008).

Navadna in tatarska ajda sta pomembni ekonomski vrsti, ki se uporabljata in gojita skoraj povsod po svetu, s tem da se tatarska ajda preferenčno uporablja v goratih in klimatsko težjih pogojih (Bonafaccia s sod. 2002). Pomembni sta predvsem v prehrabeni industriji, saj vsebujeta veliko flavonoidov, mineralov, vitaminov in nutricionistično uravnoteženo sestavo aminokislin. Njune korenine so kolonizirane predvsem s hifami in značilnimi mikrosklerociji temnih septiranih endofitov in redkeje z vezikli in arbuskuli arbuskularno mikoriznih gliv (Likar in sod. 2008). Temni septirani endofiti so klasificirani kot Ascomycota, imajo značilne temne melanizirane septirane hife in so pogosti kolonizatorji rastlinskih korenin pod ekstremnimi okoljskimi pogoji (Likar 2018).

Naš namen je bil ugotavljanje tipov in stopnje mikorize navadne ajde (*Fagopyrum esculatum*) pri različnih nadmorskih višinah. Na podlagi prejšnjih raziskav smo predvidevali, da bodo prevladovali temni septirani endofiti (Likar in sod. 2008) in da bo kolonizacija z AM glivami upadala z višino (Geml 2017). Prav tako smo pričakovali pri višjih nadmorskih višinah, kjer je višja stopnja abiotičnega stresa (nižje temperature, več UV sevanja...), višjo stopnjo kolonizacije s temnimi septiranimi endofiti, saj so te znani kolonizatorji korenin pri bolj stresnih pogojih.

Materiali in metode

Lokacije:

- Biotehniška fakulteta (Nadmorska višina: 295 m)
- Javorovica (Nadmorska višina: 550 m)

- Javorje nad Črno na Koroškem (Nadmorska višina: 1140 m)

Po protokolu Barvanje arbuskularno mikoriznih struktur v koreninskem sistemu (Phillips in Hayman, 1970) smo s tripan modrim pobarvali korenine in pripravili preparate na katerih je bilo 15 koreninskih fragmentov posameznega vzorca dolžine 1 cm. Pripravljene vzorce smo opazovali pod svetlobnim mikroskopom in ocenili stopnjo kolonizacije z glivami po metodi, ki jo opisujejo Trouvelot in sod. (1986). Za vsak fragment smo ocenili splošno stopnjo kolonizacije na osnovi 5-stopenjske lestvice in gostoto posameznih struktur (arbuskulov, veziklov, svitkov in mikrosklerocijev) na osnovi 4-stopenjske lestvice.

Statistično analizo smo izvedli v programu R. Primerjali smo povprečja parametrov mikorize med vsemi lokacijami z analizo variance (ANOVA). Za parametre, ki so imeli statistično različna povprečja med različnimi lokacijami smo nadaljevali analizo z LSD testom s Holm-Bonferronijevim popravkom. Ta nam pokaže, katere lokacije se statistično razlikujejo od ostalih.

Rezultati

Za statistično analizo smo uporabili deset vzorcev iz Biotehniške fakultete, devet vzorcev iz Javorja nad Črno na Koroškem in osem vzorcev iz Javorovice, katerim smo izračunali parametre glivne kolonizacije. Z analizo ANOVA smo preverili, ali so parametri glivne kolonizacije podobni med seboj po različnih nadmorskih višinah. Rezultati analize so predstavljeni v Prilogi A in Prilogi B.

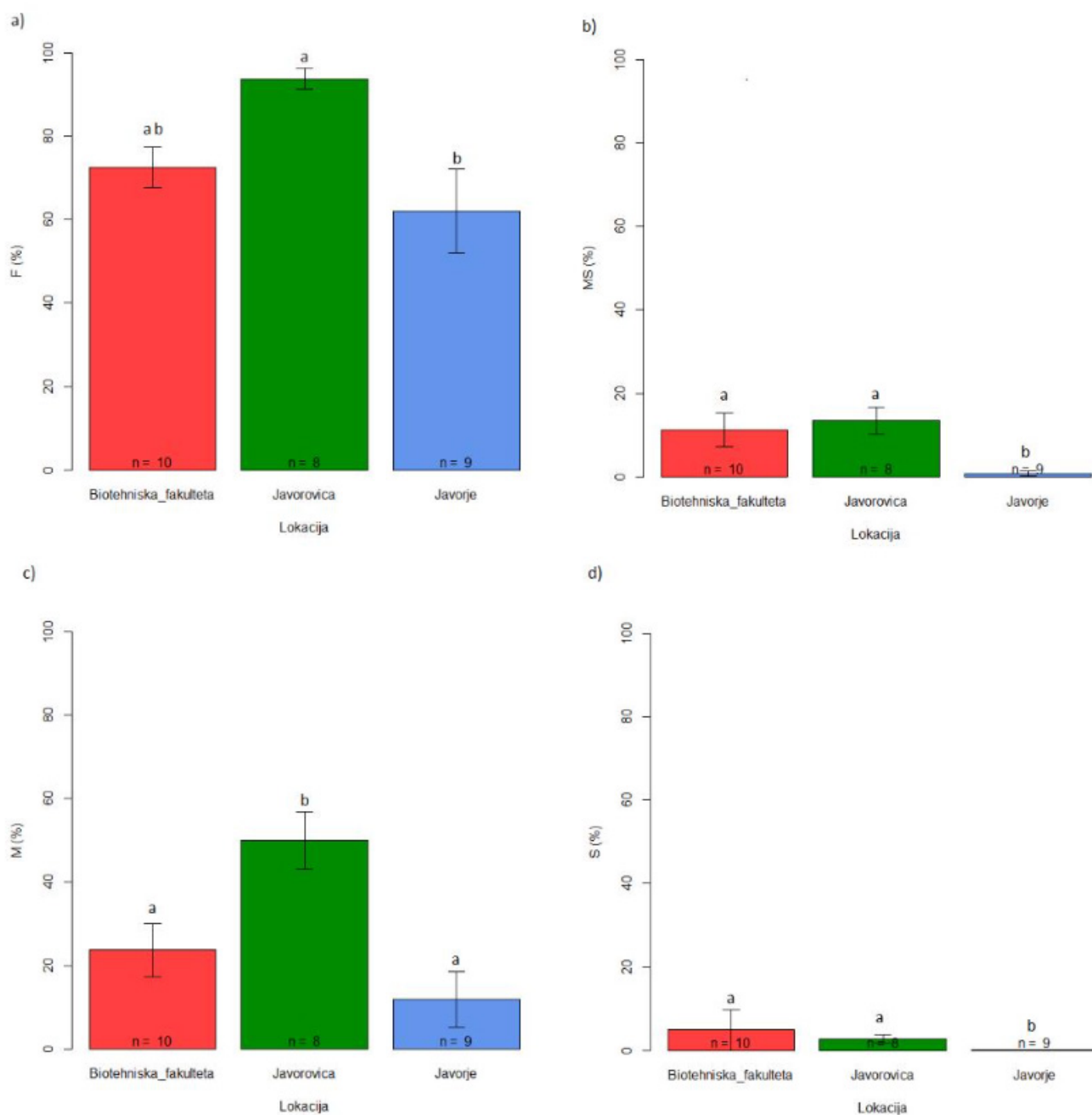
Gostota arbuskulov in gostota veziklov se nista statistično značilno razlikovali po različnih nadmorskih višinah in sta bili nizki v primerjavi z večino ostalih parametrov, razen z gostoto svitkov. Nadmorska višina torej nima statistično značilnega vpliva na arbuskularno mikorizo pri navadni ajdi (Priloga A). Statistično značilne razlike med nadmorskimi višinami pa so bile prisotne pri vseh ostalih parametrih (Priloga B). Mikoriza je bila najbolj intenzivna na Javorovici, najnižja pa na Javorju (Priloga A). Na Javorovici je bila najvišja tudi intenziteta mikorize v koloniziranih delih rastlin (Priloga B). Vzorci iz Javorja so imeli najnižjo gostoto mikrosklerocijev v koreninskem sistemu (Priloga A).

Z LSD testom s Holm-Bonferronijevim popravkom smo za vsakega od parametrov preverili, med katerimi lokacijami je statistično značilna razlika. Rezultati so prikazani na Sliki 1 in Sliki 2.

Gostota mikrosklerocijev v koloniziranih delih korenin se statistično značilno razlikuje med vsemi lokacijami, najvišja je na Biotehniški fakulteti, najnižja pa na Javorju, kar nakazuje da gostota kolonizacije s temnimi septiranimi endofiti pada z naraščujočo nadmorsko višino (Slika 2). Čeprav je gostota svitkov v koreninskem sistemu najvišja na Biotehniški fakulteti, so bili svitki najbolj intenzivno prisotni v koloniziranih delih korenin na Javorovici (Slika 1, Slika 2).

Diskusija

Splošno velja, da se povprečna mikorizna kolonizacija graminooidnih in zelatih rastlin zmanjšuje z višjo nadmorsko višino. (Read in Haselwandter 1981; Väre in sod. 1997), kar je v nasprotju z rezultati naše raziskave (najvišja stopnja kolonizacije na najvišji lokaciji, najnižja na srednje visoki lokaciji). Na mikorizno kolonizacijo poleg z nadmorsko višino

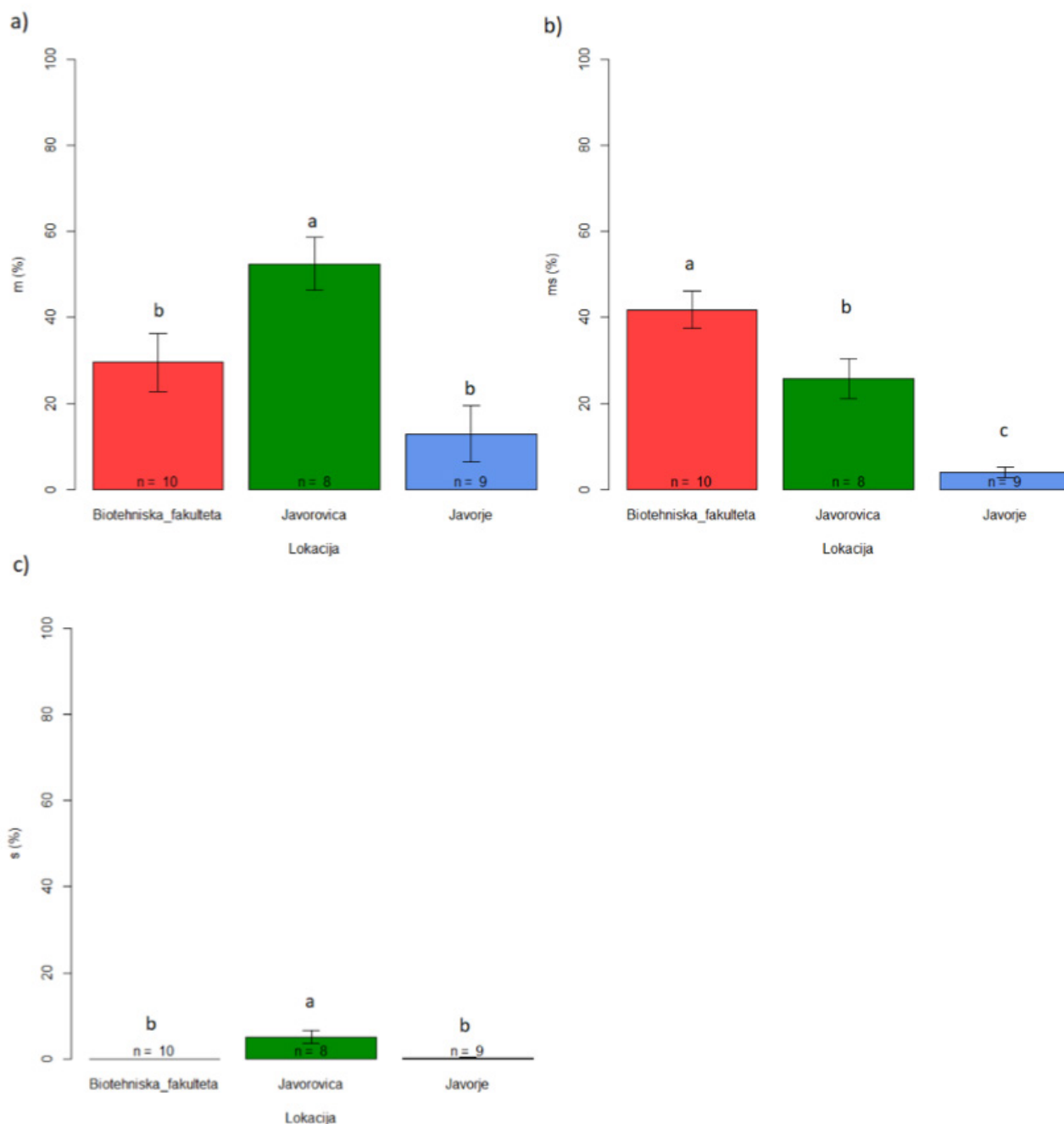


Slika 1: Povprečja parametrov mikorize v navadni ajdi sorte Darja s pripadajočimi standardnimi napakami na različnih lokacijah. Lokacije z enako črko med seboj niso statistično značilno različne a) F %= Frekvenca delov korenin z glivo, b) MS%=gostota mikrosklerocijev v koreninskem sistemu, c) M%= intenziteta mikorize, d) S%=gostota svitkov v koreninskem sistemu.

povprečno padajoče temperature (0,6 °C na 100 m) (Lamb, 1972) vplivajo še dostopnost hranil, prisotne rastlinske vrste (Genney in sod. 2001) in zaradi kompleksne odvisnosti od regionalnega podnebja in topografije variabilna količina padavin (Barry 2008). Obstaja tudi korelacija med pH in bogastvom vrst gliv arbuskularne mikorize (Coughlan in sod. 2000).

Zaradi mikroklimatske specifikke in specifičnih lastnosti tal — potencialnih vplivov, ki niso bili zajeti v našo analizo — ne moremo sklepati na splošne značilnosti arbuskularne mikorizne kolonizacije koreninskega sistema navadne ajde (*Fagopyrum esculentum*) na gradientu nadmorske višine med

295 in 1140 m. V skladu z našimi pričakovanji pa so na vseh lokacijah prevladovali temni septirani endofiti. Na splošno je bila največja stopnja kolonizacije zabeležena na Javorovici, ki je vmesne nadmorske višine, najnižja pa na najvišji nadmorski višini (Tabela 1). Ti rezultati nakazujejo, da na kolonizacijo vplivajo tudi drugi dejavniki (npr. osonečnost, tip prsti, vlažnost, padavine, temperatura). Interpretacija rezultatov je zatorej omejena na prostorsko in temporalno določena območja, na katerih se je izvajalo vzorčenje.



Slika 2: Povprečja parametrov mikorize v koloniziranih delih korenin navadne ajde sorte Darja s pripadajočimi standardnimi napakami na različnih lokacijah. Lokacije z enako črko med seboj niso statistično značilno različne a) m%= intenziteta mikorize v koloniziranih delih korenin, b) ms%= gostota mikrosklerocijev v delu korteksa z mikorizno infekcijo, c) s%= gostota svitkov v delu korteksa z mikorizno infekcijo.

Zaključki

Brez kontrole za omenjene vplive različne od nadmorske višine so naši rezultati uporabni kod pobuda za nadaljnje raziskave na širših območjih vzorčenja, v več časovnih točkah. Druga možnost bi bila izvedba vzorčenja korenin ajde na eni lokaciji z vzorci višinskega gradienta. Tako bi lahko potrdili morebitno odstopanje značilnosti arbuskularne mikorize navadne ajde od splošnih vzorcev zmanjšane kolonizacije z višjo nadmorsko višino, kar nakazujejo rezultati naše raziskave.

Literatura

1. Barry RG, (2008). Mountain weather and climate. Cambridge: Cambridge University Press.
2. Bonafaccia G, Marocchini M, Kreft I, (2003). Composition and technological properties of the flour and bran for common and tartary buckwheat. Food Chemistry 80, 9–15.
3. Coughlan AP, Dalpe Y, Lapoint L, Piche Y, (2000). Soil pH-induced changes in root colonization, diversity, and reproduction of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi from healthy and declining maple forests. Canadian Journal of Forest Research, 30: 1543–1554
4. Geml J, (2017). The Current State of Knowledge on How Richness

- and Community Structure Change with Elevation. Biogeography of Mycorrhizal Symbiosis.
5. Genney, DR, Hartley, SH, Alexander, IJ, (2001). Arbuscular mycorrhizal colonization increase with host density in a heartland community. *New Phytologist*, 152: 355-363.
 6. Lamb, HH, (1972). *Climate: Present, Past and Future*. London: Methuen. 611 pp.
 7. Likar M. (2018). Dark Septate Endophytes and Mycorrhizal Fungi of Trees Affected by Metal Pollution. *Forestry Sciences*, 119–137.
 8. Likar M., Bukovnik U., Kreft I., Chrungoo N.K., Regvar M. (2008). Mycorrhizal status and diversity of fungal endophytes in roots of common buckwheat (*Fagopyrum esculatum*) and tatar buckwheat (*F. tataricum*). *Mycorrhiza*, 309–315.
 9. Parniske M, (2008). Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbiosis. *Nature Reviews Microbiology*, 6(10), 763–775.
 10. Phillips JM, Hayman DS, 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158-161.
 11. Read DJ, Hasel KW, (1980). Observations on the Mycorrhizal Status of Some Alpine Plant Communities. *New Phytologist* 88(2), 341–352.
 12. Smith SE in Read D, (2008). *Mycorrhizal symbiosis* third edition.
 13. Trouvelot A, Kough JL, Gianinazzi-Pearson V. 1986: Mesure de taux de mycorrhization VA dun systeme racinaire. Recherche de methods destination ayant une signification fonctionnelle. *Mycorrhizae: physiology and genetic*: 216 – 222.
 14. Väre H, Vestberg M, Ohtonen R, (1997). Shifts in mycorrhizas and microbial activity along an oroarctic altitudinal gradient in northern Fennoscandia. *Arctic and Alpine Research*, 29: 93-104.
 15. Wang B, Qiu Y.L. (2006). Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza* 16, 299–363.

Priloge

Priloga A: Vpliv nadmorske višine na stopnjo kolonizacije korenin navadne ajde sorte Darja. Rezultati za vsak parameter mikorize predstavljajo povprečne procente s pripadajočimi standardnimi napakami povprečja. F%= frekvenca delov korenin z glivo M%= intenziteta mikorize, A%= gostota arbuskulov v koreninskem sistemu, MS%= gostota mikrosklerocijev v koreninskem sistemu, S%= gostota svitkov v koreninskem sistemu, V%= gostota veziklov v koreninskem sistemu.

Lokacija	F%	M%	A%	MS%	S%	V%
Biotehniška fakulteta (n=10)	72,6±15,4	23,7±20,2	0,9±2,8	11,2±12,7	4,9±4,9	1,4±2,5
Javorovica (n=8)	93,9±7,1	49,9±19,3	1,9±3,8	13,4±9,0	2,7±1,0	3,3±4,6
Javorje (n=9)	62,0±30,3	11,8±19,8	1,3±3,2	0,8±1,8	0,1±0,1	0,7±1,6
p	0,012	0,002	ns	0,019	0,002	ns

Priloga B: Vpliv nadmorske višine na gostoto mikoriznih struktur v koloniziranih delih korenin navadne ajde sorte Darja. Rezultati za vsak parameter mikorize predstavljajo povprečne procente s pripadajočimi standardnimi napakami povprečja. m%= intenziteta mikorize v koloniziranih delih korenin, a%= gostota arbuskulov v delu korteksa z mikorizno infekcijo, ms%= gostota mikrosklerocijev v delu korteksa z mikorizno infekcijo, s%= gostota svitkov v delu korteksa z mikorizno infekcijo, v%= gostota veziklov v delu korteksa z mikorizno infekcijo.

Lokacija	m%	a%	ms%	s%*	v%
Biotehniška fakulteta (n=10)	29,5±21,4	1,4±4,4	41,8±13,9	0	5,1±4,9
Javorovica (n=8)	52,5±17,3	3,4±6,7	25,7±13,4	5,0±4,1	5,3±6,1
Javorje (n=9)	12,9±19,8	3,4±5,8	3,9±3,8	0,1±0,4	4,6±9,0
p	0,002	ns	0	0	ns

Vpliv nadmorske višine na kolonizacijo tatarske ajde (*Fagopyrum tataricum*) z endofitskimi glivami

Monika Bajc Tomšič, Staš Miljuš, Maruša Skubic, Hana Trček, Zala Vidic

Oddelek za biologijo, Biotehniška fakulteta, Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

- Z raziskavo smo želeli ugotoviti ali različna nadmorska višina značilno vpliva na mikorizno kolonizacijo pri tatarski ajdi (*Fagopyrum tataricum*) in kateri tip mikorize je pogostejši na višji nadmorski višini.
- Korenine smo barvali s tripan modrim ter s svetlobno mikroskopijo ocenili stopnjo kolonizacije, prisotnost arbuskulov, veziklov, svitkov in mikrosklerocijev.
- Na vzorcih smo opazili predvsem mikrosklerocije in vezikle, arbuskuli in svitki so se pojavili le posamič.
- Prisotni so temni septirani endofiti (DSE) in arbuskularna mikoriza. Z večanjem nadmorske višine se zmanjšuje gostota mikrosklerocijev. Na višjih nadmorskih višinah je večja prisotnost DSE v primerjavi z glivami arbuskularne mikorize.
-

Ključne besede: tatarska ajda, temno septirani endofiti, arbuskularna mikoriza, nadmorska višina

Uvod

Tatarsko ajdo (*Fagopyrum tataricum*) tako kot veliko večino ostalih kopenskih rastlin naseljujejo glivni endofiti (Kovačec 2016). V širšem smislu so endofiti vsi organizmi (tako bakterije, kot glive), ki so prisotni v notranjosti rastline (Chanway 1996). Najdemo jih v različnih rastlinskih organih; koreninah, steblih, listih ali semenih. Po Brundrett-u (2006) imajo endofiti šibek pozitiven oz. celo negativen vpliv na rastlino, vendar pa ni nujno, da le ti povzročajo poškodbe tkiv gostitelja. Glivni endofiti lahko vplivajo na kalitev rastline ter njeno rast, povečanje biomase, na razvoj semen in na sekundarni metabolizem rastline (Khan s sod. 2012). Sodelujejo pri obrambi gostiteljske rastline pred patogeni in herbivori, hkrati pa pomagajo preživeti stresne abiotične dejavnike; na primer sušo in vročino (Gao s sod. 2010).

Prevladujoča skupina glivnih endofitov so mikorizne glive, ki so prisotne pri kar 90 % rastlin na svetu (Kovačec 2016). Mikoriza je mutualistična povezava med glivami v tleh in korenskim sistemom višjih rastlin (Cook 1977; Lewis 1985). Rastlina glivo oskrbuje s svojimi fotosintetskimi produkti (z organskimi snovmi), medtem ko gliva z veliko površino hif pripomore k boljši oskrbi rastline z vodo in mineralnimi snovmi. Dobro preučene in poznane so arbuskularna mikoriza (AM), ektomikoriza (EM) in mutualistični odnos s temnimi septiranimi endofiti (DSEs) (Likar 2011). Strukture, ki kažejo na prisotnost arbuskularne mikorize so arbuskuli in vezikli, na prisotnost DSE pa predvsem mikrosklerociji (Likar s sod. 2008).

Rastline z mikoriznimi glivami imajo kompetitivno prednost v okolju; glive namreč pripomorejo k lažji vzpostavitvi rastline na nekem območju ter hkrati povečajo rodovitnost in kvaliteto tal (Regvar s sod. 2006). V ekstremnih habitatih najdemo predvsem DSE, ki naj bi imele vlogo pri zaščiti rastlin pred abiotičnim stresom (Likar 2011). DSE izboljšajo privzem dušika in fosforja v rastline (Haselwandter in Read 1982; Jumpponen in Trappe 1998).

Pri navadni in tatarski ajdi so ugotovili kolonizacijo gliv taksonomskih skupin Ascomycota, Basidiomycota, Glomeromycota in Chytridiomycota. Sem spadajo predstavniki arbuskularno mikoriznih (AM) gliv in tudi temno septiranih endofitov (DSE) (Likar s sod. 2008; Regvar s sod. 2012). V raziskavi Tao s sodobniki (2004) so ugotovili, da se ob mikrobnii inokulaciji semen ajde pred setvijo lahko poveča količina pridelka in vsebnost flavonoidov v rastlinah, saj imajo ugoden vpliv na rast in razvoj rastlin ajde. Na vsebnost flavonoidov v tatarski ajdi vpliva UV sevanje (Regvar s sod. 2012). V splošnem rastline izpostavljene UV-B sevanju rastejo počasneje in hkrati pride do morfoloških sprememb (Breznik 2004; Barnes 2005). Tatarska ajda je sicer rastlina višjih nadmorskih višin in ima tako že gensko predispozicijo za boljše prenašanje večje količine UV sevanja (Stapleton 1994). Ugotovljeno je bilo, da se z UV sevanjem zviša vsebnost flavonoidov in tako tatarska ajda, ki raste na višji nadmorski višini z več UV sevanja, vsebuje več flavonoidov (Regvar s sod. 2012). Prav tako je bilo po raziskavi Regvar s sod. (2012) ugotovljeno, da se z večanjem UV-B sevanja zmanjšuje gostota mikrosklerocijev in splošna glivna kolonizacija korenin.

Z raziskavo smo želeli ugotoviti: (1) kateri tip mikorize prevladuje pri tatarski ajdi; (2) ali različna nadmorska višina značilno vpliva na gostoto glivnih endofitov pri tatarski ajdi; (3) kateri tip mikorize se v večji meri pojavlja pri rastlinah na višji nadmorski višini. Ugotovljali smo frekvenco pojavnosti mikorize

(F), mikorizno intenziteto (M), gostoto poraščenosti z arbuskuli (A), vezikli (V), svitki (S) in mikrosklerociji (MS) za vsako izmed treh krajev s tremi različnimi nadmorskimi višinami.

Pričakujemo, da se bo pri tatarski ajdi pojavljal tako arbuskularni tip mikorize (AM) kot tudi temni septirani endofiti (DSE), na kar kažejo že podatki iz literature. Pričakujemo, da bo stopnja kolonizacije korenin z mikoriznimi glivami nižja na višjih nadmorskih višinah. Višje nadmorske višine z več UV sevanja namreč predstavljajo večji stres za rastlino in spremenjene procese interakcij z gostiteljem, zato je tudi kolonizacija z glivami nekoliko manjša. Višje nadmorske višine predstavljajo bolj ekstremne habitate, zato tam pričakujemo več DSE (torej več mikrosklerocijev, kot oblika temnih septiranih endofitov) v primerjavi z arbuskularno mikorizo (arbuskuli in vezikli).

Material in metode

Opis lokacije

Tatarska ajda (*Fagopyrum tataricum*), na kateri smo opazovali mikorizne aktivnosti, je izhajala iz treh lokalitet z različnimi nadmorskimi višinami; Javorje (721m) (Javorje, Gorenja Vas–Poljane 2019), Javorovica (549m) (Javorovica 2019) in Ljubljana (295m) (Ljubljana 2019). Na vseh treh lokalitetah je bila ajda gojena. V Ljubljani je bilo gojena pred Biotehniško fakulteto.

Priprava in analiza vzorcev

Korenine smo po protokolu barvanja arbuskularno mikoriznih struktur v koreninskem sistemu (Phillips in Hayman 1970) pobarvali s tripan modrim. Pripravili smo koreninske odseke z dolžino približno 1 cm, ter jih po 15 iz posameznega vzorca fiksirali na objektna stekelca. S pomočjo svetlobne mikroskopije in hitrega skeniranja vzorcev smo ocenili: stopnjo kolonizacije in gostoto arbuskulov, veziklov, svitkov in mikrosklerocijev po metodi Trouvelot s sod. (1986).

Statistična analiza

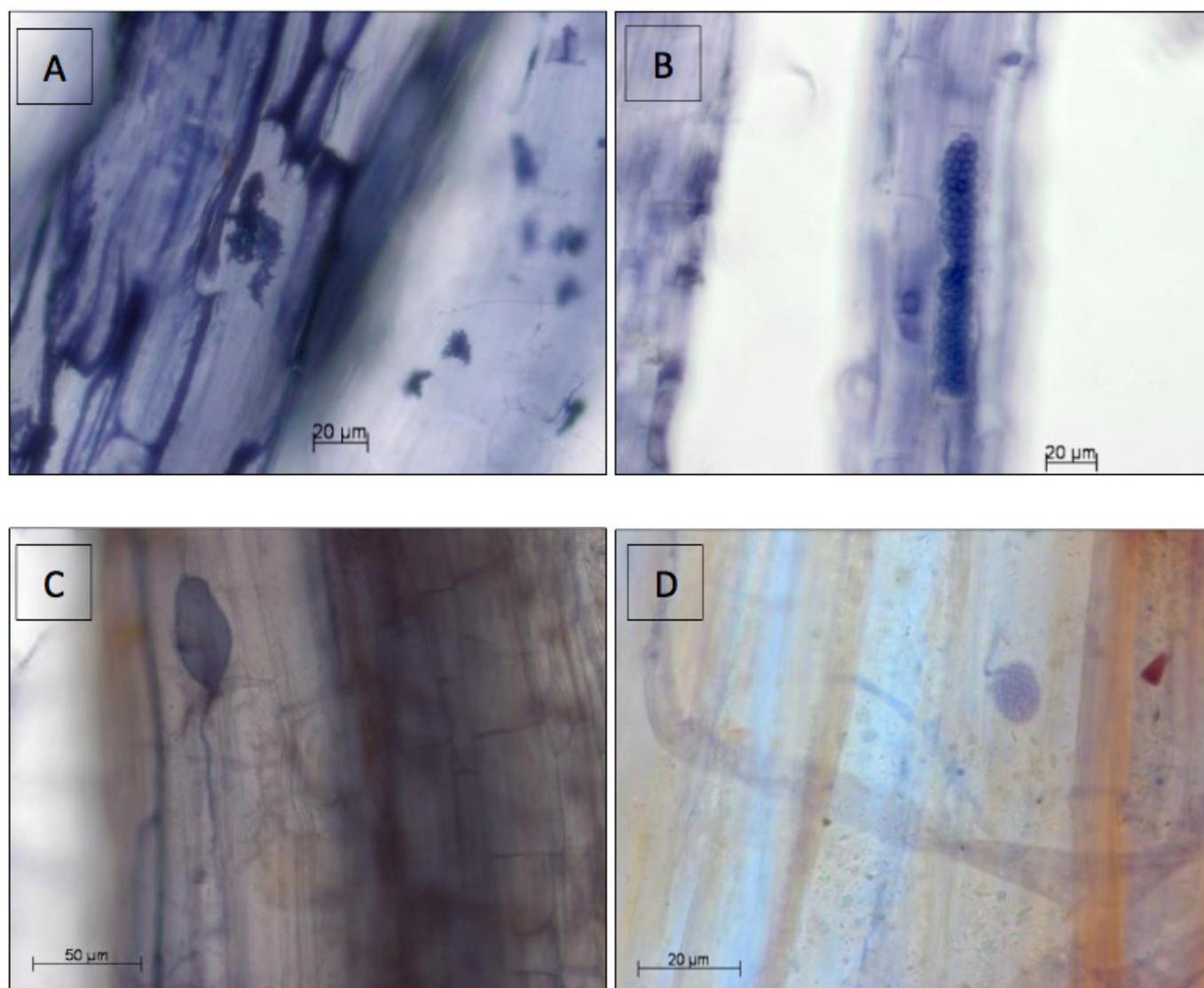
Za izračun parametrov in analizo dobljenih rezultatov s standardnimi statističnimi metodami smo uporabili program Excel 2018 (Microsoft) z dodatkom Daniel's XL Toolbox ter Holm-Šídák post-hoc testom. V statističnih analizah nismo upoštevali števila arbuskulov in svitkov, saj je bilo skupno število arbuskulov iz vseh vzorcev 15, svitki pa so bili 4, kar je premalo za izvedbo statističnih analiz. Skupno število korenin je bilo 649, 163 iz Ljubljane, 258 iz Javorja in 228 iz Javorovice.

Rezultati

V nadaljevanju črke nad stolpci v diagramih prikazujejo, ali so razlike med povprečnimi vrednostmi parametra med vzorci statistično značilne.

Parameter F % nam poda frekvenco delov korenin koloniziranih z glivo in s tem razpoložljivost propagulov v tleh. Iz slike 2 je razvidno, da je stopnja kolonizacije (F %) statistično značilno večja na Javorovici kot v Ljubljani ali na Javorju, pri čemer slednja med seboj ne razlikujeta.

Parameter M % nam poda informacijo o intenziteti mikorize. Iz slike 3 je razvidno, da so razlike med vsemi lokacijami vzorcev statistično značilne, z največjo intenziteto mikorize na Javorovici in najmanjšo na Javorju.



Slika 1: Različne glivne strukture v tatarski ajdi: A: Arbuskul, povečava 40x; B: Mikrosklerocij, povečava 40x; C: Vezikel, povečava: 40x; D: Svitek, povečava: 100x

Parameter MS % nam poda informacijo o gostoti mikrosklerocijev v koreninskem sistemu. Iz slike 4 je razvidno, da med vzorci iz Ljubljane in Javorovice ni statistično značilnih razlik, se pa ti dve lokaciji statistično značilno ločita od Javorja, ki ima nižjo gostoto mikrosklerocijev.

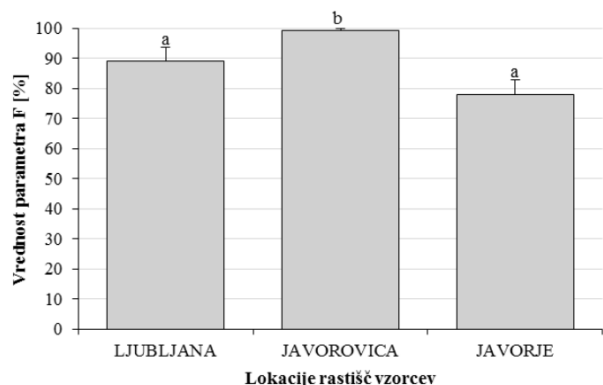
Parameter V % nam poda informacijo o gostoti veziklov v koreninskem sistemu. Iz slike 5 je razvidno, da je gostota veziklov (V %) statistično značilno večja na Javorovici kot v Ljubljani ali na Javorju, pri čemer se slednja med seboj ne razlikujeta.

Diskusija

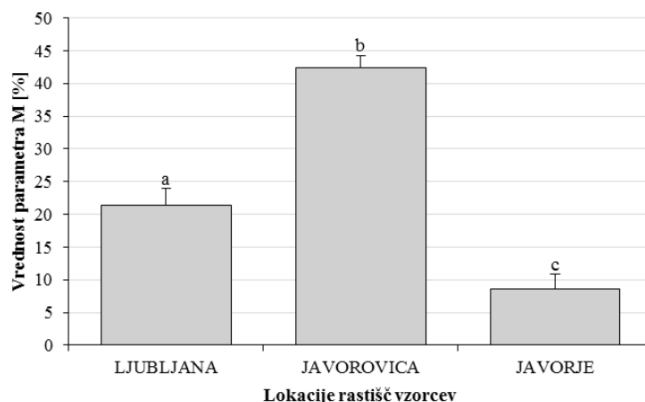
Pri tatarski ajdi se pojavljajo tako mikrosklerociji (oblika temnih septiranih endofitov), kot vezikli in v manjši meri arbuskuli (oblika arbuskularne mikorize). Po podatkih Regvar s sod. (2012) in Likarja s sod. (2008) sta pri tatarski ajdi prisotna oba tipa endofitskih gliv, na kar kažejo tudi naši rezultati. Pojavljajo se le posamezni arbuskuli, vezikli pa so prisotni v precej večjih gostotah, zato so bile statistične analize izvedene zgolj na veziklih.

Po podatkih iz literature (Regvar s sod. 2012) je glivna kolonizacija na višji nadmorski višini nižja, kar na podlagi naših rezultatov ne moremo trditi. Pri izračunani frekvenci delov korenin poraslih z glivo (F %) ni statistično značilne razlike med Ljubljano in Javorjem, ki predstavljata najnižjo in najvišjo nadmorsko višino. Naši podatki kažejo statistično značilno razliko, da je intenziteta mikorize (M %) najnižja pri najvišji nadmorski višini. V nasprotju s pričakovanji lokacija iz Ljubljane nima najvišje intenzitete mikorize, pač pa je največ mikorizne kolonizacije na Javorovici z 549m nadmorske višine. Z večanjem UV-B sevanja se zmanjšuje gostota mikrosklerocijev (Regvar s sod. 2012). Glede na naše podatke vidimo, da je statistično značilno največja gostota mikrosklerocijev v delu korteksa z mikorizno infekcijo v Ljubljani in najmanj na Javorju, ki ima najvišjo nadmorsko višino. Glede na to, da se lokaciji Ljubljana in Javorje nista statistično razlikovali pa lahko domnevamo, da povezava med gostoto mikrosklerocijev in nadmorsko višino ni zvezna, temveč se znižuje šele pri določeni nadmorski višini, ko okoljski parametri kot je npr. UV sevanje presežejo določen prag.

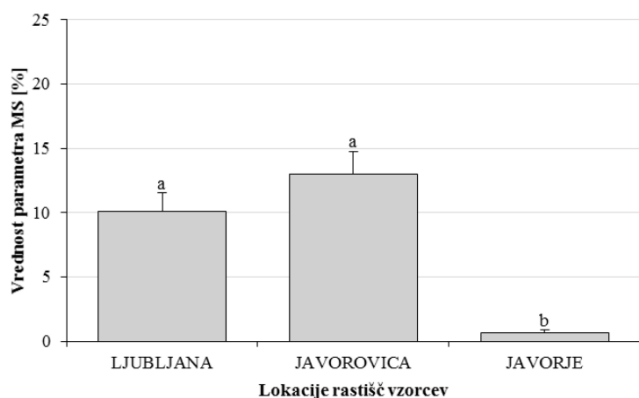
Na podlagi gostote arbuskulov v koreninskem sistemu ne moremo sklepati o razlikah v prisotnosti arbuskularne mikorize, saj so bili arbuskuli najdeni premalokrat, da bi lahko prišli do zaključkov o razlikah v pojavljanju arbuskularne mikorize. Javorje z najvišjo nadmorsko višino, predstavlja bolj ekstremen



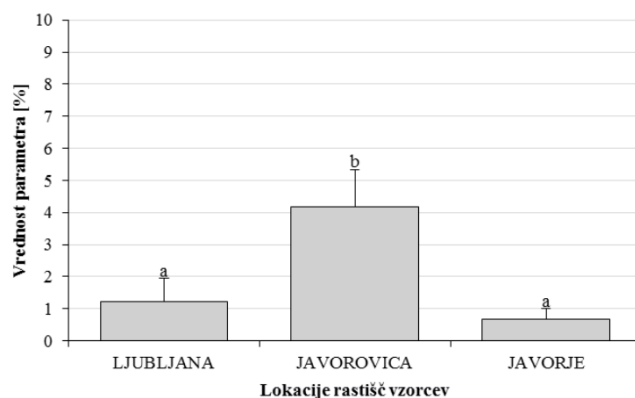
Slika 2: Vrednosti parametra F % s standardnimi napakami pri vzorcih nabranih na različnih lokacijah (N=10). Različne črke označujejo statistično značilno razliko Holm-Sidak post hoc testa pri $p < 0,05$.



Slika 3: Vrednosti parametra M % s standardnimi napakami pri vzorcih nabranih na različnih lokacijah (N=10). Različne črke označujejo statistično značilno razliko Holm-Sidak post hoc testa pri $p < 0,05$.



Slika 4: Vrednosti parametra MS % s standardnimi napakami pri vzorcih nabranih na različnih lokacijah (N=10). Različne črke označujejo statistično značilno razliko Holm-Sidak post hoc testa pri $p < 0,05$.



Slika 5: Vrednosti parametra V % s standardnimi napakami pri vzorcih nabranih na različnih lokacijah (N=10). Različne črke označujejo statistično značilno razliko Holm-Sidak post hoc testa pri $p < 0,05$.

habitat z večjo količino UV- B sevanja, zato tam pričakujemo manjši del arbuskularne mikorize v primerjavi s temnimi septiranimi endofiti. V ekstremnih habitatih namreč najdemo predvsem DSE, ki naj bi imele vlogo pri zaščiti rastlin pred abiotičnim stresom (Likar 2011). Na podlagi rezultatov vidimo, da je znatno večji delež korenin koloniziranih s temno septiranimi endofiti (večji delež mikrosklerocijev) kot z arbuskularnimi glivami (vezikli).

Zaključki

Pri tatarski ajdi se pojavljajo temni septirani endofiti (DSE) in arbuskularna mikoriza. Na podlagi naših rezultatov ne moremo trditi, da je glivna kolonizacija na višji nadmorski višini nižja, trdimo pa lahko, da se z večanjem nadmorske višine zmanjšuje gostota mikrosklerocijev. Javorje z najvišjo nadmorsko višino, predstavlja bolj ekstremen habitat in je bolj koloniziran s temno septiranimi endofiti kot z glivami arbuskularne mikorize.

Literatura

- Barnes P.W., Shinkle J.R., Flint S.D., Ryel R.J. 2005. UV-B radiation, photomorphogenesis and plant-plant interactions, *Prog. Bot.*, 66, 313-340
- Breznik B., Germ M., Gaberščik A., Kreft I. 2004. The combined effects of elevated UV-B radiation and selenium on tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) habitus, *Fagopyrum*, 21, 59-64
- Brundrett M.C. 2006. Understanding the roles of multifunctional mycorrhizal and endophytic fungi. V: *Microbial Root Endophytes*, Schulz B.J.E., Boyle C.J.C., Sieber T.N.S. (eds), 1st ed. Berlin, Springer: 281-298
- Chanway C.P. 1996. Endophytes: they're not just fungi! *Canadian Journal of Botany*, 74, 3: 321-322
- Cook R. 1977. *The Biology of Symbiotic Fungi*. John Wiley and Sons, London
- Gao F.K., Dai C.C., Liu X.Z. 2010. Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens. *African Journal of Microbiology Research*, 4, 13: 1346-1351
- Haselwandter K, Read DJ (1982) The significance of root-fungus association in two *Carex* species of high-alpine plant communities. *Oecologia* 53:352-354 doi:10.1007/BF00389012

8. Jumpponen A, Trappe JM (1998) Performance of *Pinus contorta* inoculated with two strains of root endophytic fungus *Phialocephala fortinii*: effects of resynthesis system and glucose concentration. *Can J Bot* 76:1205–1213 doi:10.1139/CJB-76-7-1205
9. Khan Z., Guelich G., Phan H., Redman R., Doty S. 2012. Bacterial and yeast endophytes from poplar and willow promote growth in crop plants and grasses. *ISRN Agronomy*, 2012: 1–11
10. Kovačec E. 2016. Endofitske glive iz semen navadne ajde (*Fagopyrum esculentum* Moench) in njihove interakcije z bakrovimi spojinami: doktorska disertacija (Doctoral dissertation, E. Kovačec).
11. Lewis DH, 1985. Symbiosis and mutualism: crisp concepts and soggy semantics. V: Boucher DH (urednik) *The Biology of Mutualism*. Croom Helm, London, pp. 29–39.
12. Likar M, 2011. Dark Septate Endophytes and Mycorrhizal Fungi of Trees Affected by Pollution. V: Pirttilä AM, Frank AC (urednik) *Endophytes of Forest Trees*. Springer
13. Likar M., Bukovnik U., Kreft I., Chungoo N., Regvar M. 2008. Mycorrhizal status and diversity of fungal endophytes in roots of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) and tartary buckwheat (*F. tataricum*). *Mycorrhiza*, 18, 6-7: 309–315
14. Phillips JM, Hayman DS, 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158-161.
15. Regvar M., Bukovnik U., Likar M., Kreft I. 2012. UV-B radiation affects flavonoids and fungal colonisation in *Fagopyrum esculentum* and *F. tataricum*. *Central European Journal of Biology*, 7, 2: 275–283
16. Regvar M., Vogel-Mikuš K., Kugonič N., Turk B., Batic F. 2006. Vegetational and mycorrhizal successions at a metal polluted site: Indications for the direction of phytostabilisation? *Envir Pol* 144: 976-984
17. Stapleton A.E., Walbot V. 1994. Flavonoids can protect maize DNA from the induction of ultraviolet radiation damage, *Plant Physiol.*, 105, 881- 889
18. Tao Y.P., Shf Q.L., Zhangl X.X., Zhou Y.N. 2004. Inoculation effect on growth and flavonoid content of Tartary buckwheat in a field experiment. *Fagopyrum*, 21: 45–50
19. Trouvelot A., Kough J. L., Gianinazzi-Pearson V. 1986: Mesure de taux de mycorrhization VA dun systeme racinaire. Recherche de methods destination ayant une signification fonctionnelle. *Mycorrhizae: physiology and genetic*: 216 – 222.
20. Javorje, Gorenja Vas–Poljane, 2017. https://en.wikipedia.org/wiki/Javorje,_Gorenja_Vas%E2%80%93Poljane (4. apr. 2019)
21. Javorovica, 2017. <https://en.wikipedia.org/wiki/Javorovica> (4. apr. 2019) Ljubljana, 2019. <https://sl.wikipedia.org/wiki/Ljubljana> (4. apr. 2019)

Vpliv gnojenja s kalijem na odpravo simptomov prekomerne slanosti

Ahačič Špela, Dretnik Klemen, Katrašnik Alenka, Mužina Špela, Svetik Sinja

Oddelek za biologijo, Biotehniška fakulteta, Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

- Namen dela: ugotoviti ali dodatek kalija v obliki mineralnega gnojila zmanjšuje negativne učinke povečane slanosti substrata pri ječmenu (*Hordeum vulgare* L.) in fižolu (*Phaseolus vulgaris* L.); pričakujemo, da bo imel dodatek kalija pozitiven vpliv na rast rastlin pri prekomerni slanosti tal.
- Metode: rastline smo gojili pod različnimi pogoji slanostnega stresa in dodatka kalija. Po 5 tednih smo rastline poželi in jih stehali. Poganjke smo zmrznili v tekočem dušiku in jih liofilizirali. Del dobljenega vzorca smo uporabili za spektrofotometrično merjenje fotosinteznih pigmentov, del pa za kvantitativno analizo mineralov elementov z metodo XRF.
- Rezultati: masa rastlin, ki smo jih zalivali z vodo ali s kalijevo soljo, je približno podobna, ravno tako masa rastlin tretiranih s kuhinjsko soljo ali kuhinjsko soljo in kalijevo soljo. Pri tretiranju s kalijevo soljo smo opazili povišan prevzem nekaterih elementov. Tretiranje rastlin s kuhinjsko soljo ali kuhinjsko soljo in kalijevo soljo ni imelo vpliva na delež fotosinteznih pigmentov v listih.
- Zaključek: v našem eksperimentu nismo dokazali pozitivnega vpliva gnojenja z kalijem na rast ječmena in fižola pri prekomerni slanosti tal.

Ključne besede: osmotski stres, akumulacija ionov, makrohranila, *Hordeum vulgare* L., *Phaseolus vulgaris* L.

Uvod

Ječmen (*Hordeum vulgare* L.) in fižol (*Phaseolus vulgaris* L.) sta poljščini, ki sta pogosto vključeni v prehrano ljudi in živali, pridelujejo pa ju po celem svetu. Pridelovalne površine po svetu pa se zmanjšujejo, med drugim tudi na račun slanih tal. Ta so lahko posledica mnogih vzrokov, ki so lahko naravnega izvora, kot je kopičenje soli s padavinami, vetrom ali pa z morsko soljo. Lahko pa so posledica delovanja človeka, npr. uporaba določenih gnojil. Zaradi slane raztopine v tleh, se osmotski potencial zniža, kar pa zmanjša sprejem vode v rastlino. Pojavi se tudi akumulacija specifičnih ionov, ki čez čas privede do strupenosti in ionskega neravnovesja (Rengasamy, 2010). V raziskavi Yaldiz in sod., 2018 so pokazali, da gnojenje s kalijem (0-450 mg/kg) znatno vpliva na rastline, ki so pod stresom zaradi prekomerne slanosti, pri vegetativnem razvoju. Kalijev sulfat je tudi delno zmanjšal negativne učinke visokih koncentracij NaCl, verjetno s kontrolo permeabilnosti membran koreninskih celic. Primerna količina kalijevih ionov reducira prekomerno prehajanje natrijevih ionov v prekomerno slanem okolju (Yaldiz in sod., 2018). Gnojenje pa je zelo pomembno za povečevanje pridelka in pri ohranjanju rodovitnosti tal, ter za preprečevanje degradacije tal. Kalij ima pomembno vlogo, saj je eden izmed makrohranil in je zelo pomemben za uspešno rast in razvoj rastlin (Cakmak, 2002). V naši raziskavi smo želeli ugotoviti ali dodatek kalija v obliki mineralnega gnojila zmanjšuje negativne učinke povečane slanosti substrata pri izbranih rastlinskih vrstah.

Materiali in metode

V 20 lončkov smo posejali po tri semena fižola in v 20 lončkov posejali pet semen ječmena. Semena smo postavili v rastno komoro, kjer so rasla pet tednov. Rastline smo razdelili v štiri

Tabela 1: Prikaz srednjih vrednosti (SV) in standardnih napak (SN) za meritve koncentracije klorofilov (fižol). n=5. Vsi podatki so statistično neznačilni po ANOVA in Holm-Sidak post hoc testu pri $p < 0,05$.

FIŽOL	voda		sol		kalij		sol+K	
	SV	SN	SV	SN	SV	SN	SV	SN
klorofil a ($\mu\text{g}/\text{mg SM}$)	2,90	0,76	4,38	0,32	3,92	0,69	2,94	0,62
klorofil b ($\mu\text{g}/\text{mg SM}$)	1,30	0,37	2,22	0,20	2,09	0,49	1,46	0,26
skupni klorofil ($\mu\text{g}/\text{mg SM}$)	4,19	1,13	6,60	0,51	6,01	1,18	4,40	0,88

Tabela 2: Prikaz srednjih vrednosti (SV) in standardnih napak (SN) za vse meritve pri ječmenu.

n=5 (razen n(kalij)=4). Vsi podatki so statistično neznačilni po ANOVA in Holm-Sidak post hoc testu pri $p < 0,05$.

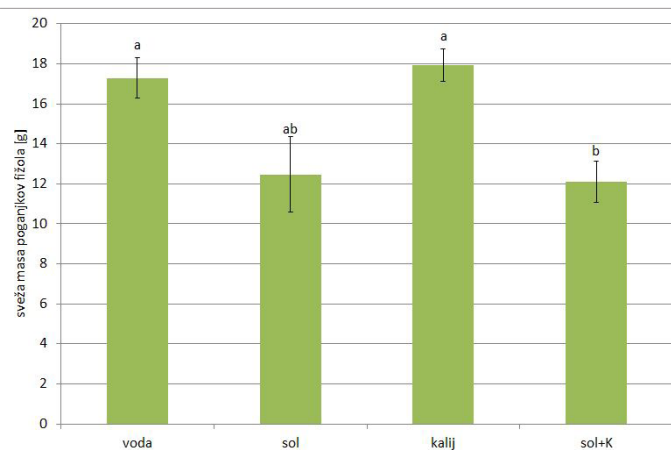
JEČMEN		voda		sol		kalij		sol+K	
		SV	SN	SV	SN	SV	SN	SV	SN
mokra masa (g)	poganjki	4,79	0,74	4,62	1,47	4,63	1,34	3,42	0,68
	korenine	9,89	0,88	11,70	3,30	13,18	4,83	9,71	2,97
suha masa (g)	poganjki	0,88	0,15	0,77	0,23	0,81	0,27	0,62	0,14
	korenine	1,37	0,25	1,18	0,31	1,57	0,63	1,05	0,38
c na suho maso listov ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	Chl a	2,25	0,42	2,62	0,67	2,43	0,78	2,21	0,34
	Chl b	0,98	0,19	1,10	0,29	1,12	0,35	0,96	0,16
	Tot Chl	3,23	0,61	3,72	0,96	3,55	1,12	3,17	0,50

skupine glede na tretiranje – voda, sol, kalij, sol+kalij, s katerim smo pričeli v tretjem tednu eksperimenta. Skupina »voda« pomeni zalivanje le z vodo. Skupina »sol« pomeni zalivanje s 100 mM raztopino kuhinjske soli. Skupina »kalij« pomeni zalivanje z raztopino K_2SO_4 (40 mg/lonček = 0,5 g/L). Skupina »sol+kalij« pa pomeni, da smo jih zalivali tako z raztopino kuhinjske soli kot z raztopino K_2SO_4 . Polovico rastlin fižola in ječmena smo enkrat tedensko zalili s 100 mM raztopino kuhinjske soli (skupina sol), polovico pa samo z vodo. Polovico rastlin iz tretmaja s soljo in brez, smo enkrat tedensko zalili še z raztopino K_2SO_4 (skupina kalij). Po zaključku tretiranja (tj. po petih tednih) smo poželi rastline. Ločeno smo stehali mokro maso poganjkov in korenin ječmena prav tako smo ločeno stehali liste, stebila in korenine fižola. Dele rastlin smo nato zamrznili v tekočem dušiku in liofilizirali. Sledilo je tehtanje suhe mase poganjkov in korenin obeh rastlin. Liste smo nato strli v terilnici s pestilom in jih prenesli v ustrezne posode za nadaljnjo analizo. 30 mg prahu smo zmešali skupaj s petimi mL 80% acetona in centrifugirali. Postopek smo ponovili in spektrofotometrično izmerili fotosintezne pigmente v listnem prahu pri valovnih dolžinah 470, 647 in 664 nm (Monni s sod., 2001). Iz dobljenih absorpcij smo preračunali koncentracije pigmentov (Lichtenthaler in Buschmann, 2001). Za kvantitativno analizo mineralov elementov (fosfor (P), žveplo (S), kalij (K), kalcij (Ca), mangan (Mn), železo (Fe), cink (Zn)) v koreninah in v poganjkih smo iz uprašenih poganjkov naredili tablete (iz 100 – 150 mg prahu) in izmerili koncentracije elementov z rentgensko fluorescenčno mikroskopijo (XRF). Mertive smo opravili z rentgenskim spektrometrom Peduzo T02 (IJS), pri energiji vzbujanja 20,2 keV.

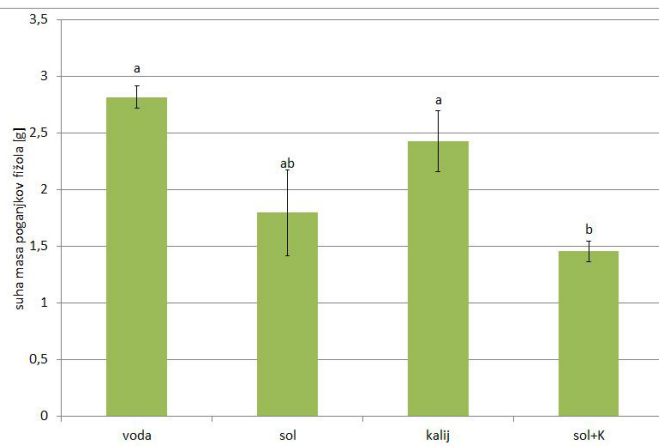
Rezultate meritev smo statistično obdelali z ANOVA in Holm-Sidak post hoc testom ($p < 0,05$), kjer so bili podatki za vsako rastlino razdeljeni v štiri skupine (voda, sol, kalij, kalij + sol) in vsaka skupina je imela pet ponovitev.

Rezultati

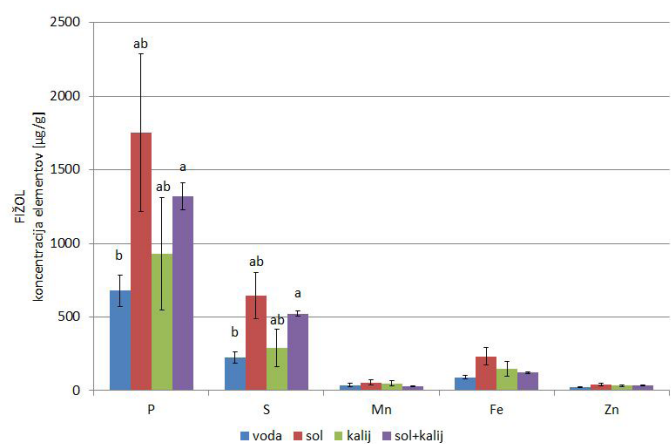
Na Sliki 1 in 2 lahko vidimo, da se sveža in suha masa poganjkov fižola, ki so bili zalivani z raztopino kalijeve in kuhinjske soli, statistično razlikujeta od tistih, ki smo jih zalivali le z vodo ali le z raztopino kalijeve soli. Ne razlikujeta pa



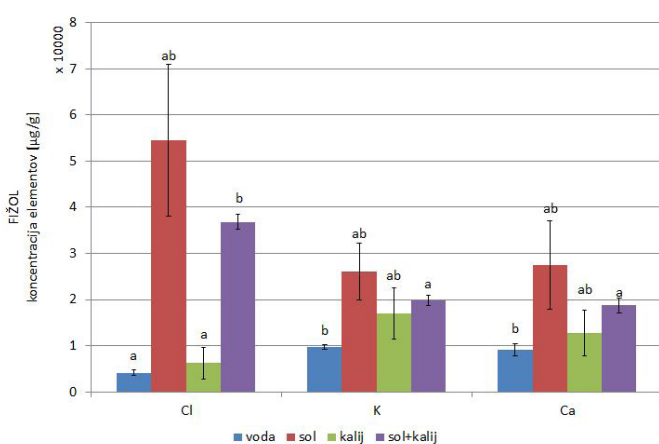
Slika 1: Mokra masa poganjkov fižola razporejena v skupine glede na obravnavo ($SV \pm SN$, $N=5$). Različne črke prikazujejo statistično značilno razliko ANOVA in Holm-Sidak post hoc testa pri $p < 0,05$.



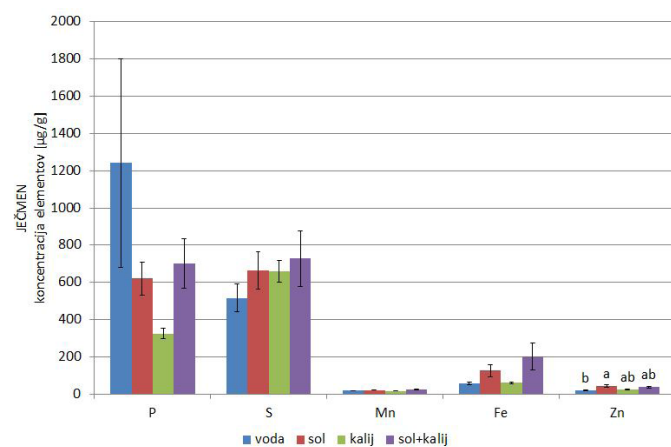
Slika 2: Suha masa poganjkov fižola razporejena v skupine glede na obravnavo ($SV \pm SN$, $N=5$). Različne črke prikazujejo statistično značilno razliko ANOVA in Holm-Sidak post hoc testa pri $p < 0,05$.



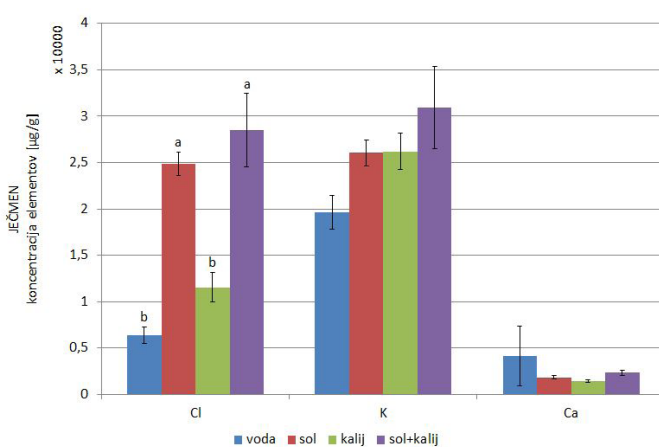
Slika 3: Prikaz koncentracij elementov [$\mu\text{g/g}$] pri fižolu, ki so razdeljene v podskupine po obravnava (SV \pm SN, N=5). Različne črke prikazujejo statistično značilno razliko ANOVA in Holm-Sidak post hoc testa pri $p < 0,05$.



Slika 4: Prikaz koncentracij elementov [$\mu\text{g/g}$] pri fižolu, ki so razdeljene v podskupine po obravnava (SV \pm SN, N=5). Različne črke prikazujejo statistično značilno razliko ANOVA in Holm-Sidak post hoc testa pri $p < 0,05$.



Slika 5: Prikaz koncentracij elementov [$\mu\text{g/g}$] pri ječmenu, ki so razdeljene v podskupine po obravnava (SV \pm SN, N=5). Različne črke prikazujejo statistično značilno razliko ANOVA in Holm-Sidak post hoc testa pri $p < 0,05$.



Slika 6: Prikaz koncentracij elementov [$\mu\text{g/g}$] pri ječmenu, ki so razdeljene v podskupine po obravnava (SV \pm SN, N(sol+kalij in sol)=5, N(kalij in voda)=4). Različne črke prikazujejo statistično značilno razliko ANOVA in Holm-Sidak post hoc testa pri $p < 0,05$.

se statistično glede na tisto maso rastlin, ki so bile zalivane le z raztopino kuhinjske soli.

Na Sliki 3 in 4 lahko vidimo, da so statistično signifikantne razlike pri fižolu le pri elementih P, S, Cl, K in Ca. Pri rastlinah, ki smo jih zalivali z raztopino kuhinjske in kalijeve soli, lahko opazimo, da se vedno statistično razlikujejo le od rastlin, zalitih z vodo, razen pri Cl, kjer se statistično razlikujejo še od zalivanja z raztopino kalijeve soli.

Na Sliki 5 in 6 lahko vidimo, da so statistično signifikantne razlike pri fižolu le pri elementih Zn in Cl. Pri rastlinah, ki smo jih zalivali z raztopino kuhinjske in kalijeve soli, lahko opazimo, da se Zn statistično ne razlikuje od kontrol. Pri Cl pa vidimo, da se rastline, ki so zalite z raztopino kuhinjske in kalijeve soli statistično ne razlikujejo od rastlin, ki smo jih zalivali le z raztopino kuhinjske soli. Vendar pa se statistično razlikujejo od rastlin, ki smo jih zalivali z raztopino kalijeve soli ali z vodo.

Diskusija

Visoka slanost v prsti poruši osmotsko ravnovesje in otežujejo privzem vode v rastlino. Kopičenje natrijevih ionov v citoplazmi in porušitev ravnovesja ionov je citotoksično zaradi motnje delovanja encimov (Tester in Davenport, 2003). Rast rastlin je zaradi ionskega neravnovesja upočasnjena kar se kaže v znižani mokri in suhi biomasi. Toleranca na osmotski stres je tesno povezana s sposobnostjo ohranjanja razmerja med K^+/Na^+ (Petterson in sod., 2009), zaradi česar smo pričakovali manjši vpliv slanosti na rast rastlin, ki smo jim dodajali kalij.

Znižanje mokre in suhe mase poganjkov fižola smo opazili pri rastlinah, ki smo jih zalivali z raztopino NaCl, pozitivnega vpliva dodajanja kalija na toleranco osmotskega stresa pa v nasprotju s pričakovanji nismo opazili. Podobno so tudi drugi avtorji Beykhhormizi in sod. (2016) in Rady in sod. (2019) opazili znižanje mase, višine ter površine listov fižola, ki je bilo sorazmerno s koncentracijo dodanega NaCl. V nasprotju s fižolom zalivanje s soljo ni imelo učinka na suho in mokro maso poganjkov ječmena. Zalivanje fižola in ječmena z NaCl ali NaCl in K-soljo ni imelo statistično značilnega vpliva na delež fotosinteznih barvil v listih poganjkov.

Visoka slanost ima na privzem in akumulacijo elementov v rastlino različne vplive. Slanost lahko v nekaterih primerih povzroči znižan privzem K^+ , Ca^{2+} in NO_3^- zaradi kompeticije z Na^+ in Cl^- za vezavo na transportne proteine (Hu in Schmidhalter, 2005). Pri ječmenu je sicer prišlo do znižanja privzema Ca^{2+} v rastlino, vendar razlike niso bile statistično značilne.

Vpliv zalivanja z NaCl na koncentracijo elementov v poganjkih fižola je odvisen od koncentracije NaCl. Beykhhormizi in sod. (2016) poročajo o dvigu koncentracije Na in Ca v listih poganjkov fižola pri zalivanju z koncentracijo NaCl od 40 do 80mM, pri čemer slanost ni vplivala na koncentracijo K v listih. Zalivanje poganjkov fižola s višjo koncentracijo NaCl (150mM) se odrazi v znižanju koncentracije N, P in K ter povišanju Na (Rady in sod., 2019).

V našem poskusu je pri fižolu v primerjavi s kontrolo prišlo do povečanja koncentracije P, S, K in Ca pri rastlinah, ki so bile zalivane s K-soljo in NaCl. Zalivanje s soljo je povečalo tudi koncentracijo Cl v poganjkih fižola nad vrednosti izmerjene pri kontroli in rastlinah zalivanih z golj s K-soljo.

Tudi pri poganjkih ječmena zalivanje s soljo ni statistično značilno vplivalo na koncentracijo elementov v listih. Pri rastlinah ječmena, ki so bile zalivane s K-soljo in NaCl, pa

smo v primerjavi s kontrolnimi rastlinami opazili povišanje koncentracije Zn in Cl. Po navedbah drugih avtorjev izpostavitve slanosti povzroči dvig koncentracije Na in padeč koncentracije K v listih poganjkov ječmena, pri čemer je sprememba koncentracij pogojena predvsem z toleranco posamezne sorte ječmena na sušo (Petterson in sod., 2009) Slanost ima lahko vpliv tudi na znižanje koncentracije P v listih poganjkov ječmena (Talbi in sod., 2011), česar pa mi nismo opazili.

Povišana koncentracija Cl in K v listih fižola je najverjetneje rezultat povišane koncentracije teh elementov v prsti zaradi zalivanja z NaCl in K-soljo. Kalij ima pomembno vlogo pri ohranjanju osmotskega potencial v rastlinski celici zaradi česar ga rastlina ob izpostavitvi osmotskem stresu akumulira v citoplazmi (Tester in Davenport, 2003). Kalcij ima pomembno vlogo pri zaznavanju osmotskega stresa rastline (Hu in Schmidhalter, 2005), kar nakazuje na morebiten vpliv dodajanja kalija na zaznavanje slanosti v poganjkih fižola.

Zaključek

Ob tretiranju s kuhinjsko soljo in kalijevo soljo smo opazili slabšo rast, ki pa se ni bistveno razlikovala od tretmaja samo s kuhinjsko soljo, tako, da ne moremo trditi, da dodatek kalija pozitivno vpliva na rast.

Tretiranje s kalijevo soljo je imelo pozitiven vpliv na prevzem makroelementov tako v fižolu, kot tudi ječmenu, sam osmotski stres pa na to ni imel bistvenega vpliva, razen na prevzem Cl pri ječmenu.

Povišana akumulacija kalija v poganjkih fižola, zalivanih s kalijevo soljo, kaže na odziv rastlin na kalij, poleg tega je imel kalij tudi pozitiven vpliv na prevzem ostalih makroelementov, ne moremo pa trditi, da je to vplivalo tudi na toleranco na osmotski stres. Dodatek kalija v stresnih razmerah ni imel pozitivnega učinka na rast fižola, kar ni v skladu z našimi pričakovanji. Z našo raziskavo ne moremo potrditi, da dodatek kalija v obliki mineralnega gnojila zmanjšuje negativne učinke slanosti substrata pri fižolu in ječmenu.

Viri

- Beykhhormizi A., Abrishamchi P., Ganjeali A., Parsa M. 2016. Effect of vermicompost on some morphological, physiological and biochemical traits of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under salinity stress. *Journal of Plant Nutrition*,39(6), 883-893.
- Cakmak Ismail. 2002. Plant nutrition research: Priorities to meet human needs for food in sustainable ways. *Plant and Soil* 247: 3-24
- Gülsüm Yıldız, Ferit Özen, Mahmut Çamlıca in Ferit Sönmez. 2018. Allevation of salt stress by increasing potassium sulphate doses in four medical and aromatic plants. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil and Plant Science* 68(5): 436-44
- Hu Y., in Schmidhalter U. 2005. Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*,168(4), 541-549.
- Lichtenthaler H. K. in Buschmann C. 2001. Extraction of photosynthetic tissues: chlorophylls and carotenoids. *Current protocols in food analytical chemistry*. John Wiley New York, F4.2.1-F.4.2.6.
- Monni, S., Uhlig, C., Hansen, E., Magel, E. (2001). Ecophysiological responses of *Empetrum nigrum* to heavy metal pollution. *Environmental pollution*, 112 (2): 121-129.
- Patterson J. H., Newbigin E. D., Tester M., Bacic A., Roessner U. 2009. Metabolic responses to salt stress of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars, Sahara and Clipper, which differ in salinity

- tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 60(14), 4089-4103.
8. Rady M. M., Elrys A. S., El-Maati M. F. A., Desoky E. S. M. 2019. Interplaying roles of silicon and proline effectively improve salt and cadmium stress tolerance in *Phaseolus vulgaris* plant. *Plant Physiology and Biochemistry*, 139, 558-568.
9. Rengasamy Pichu. 2010. Soil processes affecting crop production in salt-affected soils. *Functional Plant Biology* 37: 613-620
10. Talbi Zribi O., Abdelly C., Debez A. 2011. Interactive effects of salinity and phosphorus availability on growth, water relations, nutritional status and photosynthetic activity of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Biology*, 13(6), 872-880.
11. Tester M., Davenport R. 2003. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Annals of Botany* 91: 503-527
12. Wu D., Shen Q., Qiu L., Han Y., Ye L., Jabeen Z., Zhang G. 2014. Identification of proteins associated with ion homeostasis and salt tolerance in barley. *Proteomics*, 14(11), 1381-1392.

Primerjava regeneracijske sposobnosti japonskega (*Fallopia japonica*) in češkega dresnika (*Fallopia x bohemica*)

Maša Krapež, Tjaša Mahkovec Povalej, Ana Miglioranza, Luen Zidar, Sonja Žabkar

Oddelek za biologijo, Biotehniška fakulteta, Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

- Namen: Želeli smo primerjati regeneracijske sposobnosti potaknjencev japonskega dresnika (*Fallopia japonica*) in češkega dresnika (*Fallopia x bohemica*). Zanimal nas je tudi vpliv dolžine in starosti potaknjene delca stebela na uspešnost regeneracije rastline.
- -Metoda: V ločena korita, napolnjena z mešanico prsti in substrata, smo potaknili dele stebel obeh vrst dresnikov različnih dolžin (1,5 cm, 3 cm, 6 cm) ter starosti (najmlajši in najstarejši deli). Potaknjence smo v rastnih komorah pustili rasti 7 tednov. Dvakrat tedensko smo jih zalivali z vodovodno vodo in spremljali rast.
- Rezultati: Regeneracija rastlin iz potaknjenih delov stebela je bila neuspešna; odgnala sta le dva potaknjenca češkega dresnika, praktično vsi ostali so propadli.
- Poskus regeneracije najverjetneje ni uspel, ker so bile rastline nabrane pozno jeseni in verjetno že v fazi dormance.

Ključne besede: *Fallopia japonica*, *Fallopia x bohemica*, regeneracijska sposobnost, potaknjenci

Uvod

Japonski dresnik (*Fallopia japonica*) in češki dresnik (*Fallopia x bohemica*) sta tujerodni invazivni vrsti dresnikov, ki rasteta v Sloveniji. Ti vrsti lahko najdemo na različnih rastiščih, uspevajo tako ob vodi kot ob cesti ter na različnih nadmorskih višinah. Češki dresnik je križanec med japonskim in sahalinskim dresnikom in je še uspešnejši od starševskih vrst. Na grobo lahko japonski in češki dresnik med seboj ločimo po velikosti, kjer je češki dresnik večji od japonskega ter ima za razliko od njega daljše in rahlo srčaste liste (Strgulc- Krajšek, 2013). Vrsti sta se izkazali za zelo uspešni, s hitro regeneracijsko sposobnostjo. K hitri rasti pripomore obsežen podzemni sistem korenin z nakopičenimi snovmi ter vegetativni način razmnoževanja. Obe vrsti imata zelo visoko stopnjo regeneracije, saj se lahko regenerirata že iz 1 centimetra dolgega koščka korenike. K razširjanju pripomore tudi razraščanje s pomočjo živic, izločanje snovi, ki zavirajo kalitev in rast drugih rastlin ter velika količina dobro kaljivih semen (Strgulc-Krajšek, 2013). V našem projektnem delu smo raziskali, kakšne so regeneracijske sposobnosti japonskega in češkega dresnika in jih med seboj primerjali. Pri poskusu smo opazovali tudi, iz kako velikih in koliko starih delov se bo rastlina uspela regenerirati. Pri tem smo postavili naslednje hipoteze:

- i) regeneracija bo uspešnejša pri češkem dresniku,
- ii) mlajši deli rastline bodo pri regeneraciji bolj uspešni,
- iii) uspešneje se bodo regenerirali daljši deli rastline (potaknjenci).

Materiali in metode

S poskusom smo začeli oktobra 2018.

Rastline japonskega in češkega dresnika smo nabrali ob potoku Glinščica v neposredni bližini Biotehniške fakultete v Ljubljani (geografske koordinate 46.050042, 14.474349). Stranski poganjki korenike so bili odrezani nekaj centimetrov nad tlemi. Nato smo vsak poganjek razrezali na različne dolžine, pri čemer smo ne glede na celotno dolžino segmenta pustili še 1 cm dolžine poganjka nad brstom. Za vsako vrsto dresnika smo pripravili 16 starejših vejic dolgih 1,5 cm, 16 starejših vejic dolgih 3 cm in 16 starejših vejic dolgih 6 cm. Enako smo storili tudi za mlajše vejice (skupno 2 x po 96 potaknjencev). Tako pripravljene vejice smo nato potaknili v korita, napolnjena z mešanico vermikulita in šote (1:1, V/V). Potaknjence smo pustili rasti v rasni komori (21 °C, dnevno nočni cikel 16/8, vlažnost 45-50 %). Po 14 dneh smo v vsako korito (razen v korita s starejšimi vejicami dolgimi 1,5 cm in korita z mlajšimi vejicami dolgimi 6 cm) dodali še 10 vejic enakih dolžin in starosti, kot so bile že ostale vejice v koritu (skupaj 80 vejic). S tem smo si zagotovili večje število vzorcev za lažjo kasnejšo statistično analizo. Potaknjence smo nato 2-krat tedensko pregledali in zabeležili spremembe ter jih zalili z vodovodno vodo. Polovico potaknjencev smo za spodbuditev koreninjenja za 5 minut namočili v raztopino indol maslene kisline (300mg/L). Poskus smo zaključili po sedmih tednih, ko smo prešteli preživele in odmrle potaknjence.

Rezultati

Tekom sedmih tednov trajanja poskusa smo 2-krat tedensko preverjali uspešnost regeneracije potaknjencev dresnikov. Prve spremembe so bile opazne šele po štirih tednih, ko

je eden izmed najstarejših potaknjencev češkega dresnika, dolžine 3 cm, odgnal list. Ta pa je v prihodnjih dneh pri dolžini 9 mm začel propadati. Po petih tednih je odgnal eden od najmlajših potaknjencev češkega dresnika, dolžine 3 cm. Spremljali smo njegovo rast, ki je bila hitra in enakomerna. Ob koncu opazovanja poganjkov smo poskus razdrli. Prešteli smo število še živih potaknjencev (zeleno obarvanih), odmrlih potaknjencev (rjavih, posušenih) in tistih, ki so odgnali. Števila posameznih potaknjencev so navedena v tabeli 1 in tabeli 2. Edini potaknjeneec, ki se je uspešno regeneriral, je po sedmih tednih imel 4 liste, med katerimi je najdaljši meril 4,5 cm, formiral se je tudi koreninski sistem, najdaljša korenina je merila 2 cm. Višina stebela je bila 7,5 cm.

Tabela 1: Prikazano je število odmrlih, živih in odgnalih potaknjencev različnih dolžin (1,5 cm, 3 cm in 6 cm) in starosti (najmlajši, najstarejši) na primeru češkega dresnika (*Fallopia x bohemica*) ob koncu poskusa. Števila v spodnji vrstici tabele prikazujejo vsoto vseh odmrlih, živih ali odgnalih potaknjencev češkega dresnika ob koncu poskusa, skupno je odgnal en potaknjeneec, 3 so ostali živi, 132 jih je odmrlo.

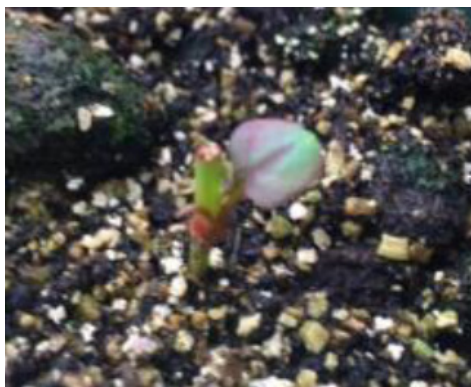
POTAKNJENEC	ODMRLI	ŽIVI	ODGNALI
Najmlajši, 1,5 cm	26	0	0
Najmlajši 3 cm	22	3	1
Najmlajši 6 cm	16	0	0
Najstarejši 1,5 cm	16	0	0
Najstarejši 3 cm	26	0	0
Najstarejši 6 cm	26	0	0
Σ	132	3	1



Slika 1: Živi potaknjenci češkega dresnika ob koncu poskusa.



Slika 2: Odgnali potaknjeneec češkega dresnika ob koncu poskusa, po sedmih tednih.



Slika 3: Poganjek češkega dresnika, ki je po nekaj dneh propadel.

Tabela 2: Prikazano je število odmrlih, živih in odgnalih potaknjencev različnih dolžin (1,5 cm, 3 cm in 6 cm) in starosti (najmlajši, najstarejši) na primeru japonskega dresnika (*Fallopia japonica*) ob koncu poskusa. Števila v spodnji vrstici tabele prikazujejo vsoto vseh odmrlih, živih ali odgnalih potaknjencev japonskega dresnika ob koncu poskusa, skupno ni odgnal noben potaknjeneč, 4 so ostali živi, 132 jih je odmrlo.

POTAKNJENEC	ODMRLI	ŽIVI	ODGNALI
Najmlajši, 1,5 cm	26	0	0
Najmlajši 3 cm	26	4	0
Najmlajši 6 cm	16	0	0
Najstarejši 1,5 cm	16	0	0
Najstarejši 3 cm	26	0	0
Najstarejši 6 cm	26	0	0
Σ	132	4	0



Slika 5: Živi potaknjenci japonskega dresnika ob koncu poskusa.

Diskusija

Postavljenih hipotez z gotovostjo ne moremo potrditi ali ovreči, saj rezultati niso reprezentativni. Iz dobljenih rezultatov, pa bi lahko sklepali, da je regeneracija mladih potaknjencev dolžine 3 cm uspešnejša ter da se vrsta češkega dresnika bolje regenerira kot vrsta japonskega dresnika, saj sta odgnala dva potaknjenceva češkega dresnika. Smiselno se nam zdi izpostaviti,

da imajo mlajši potaknjenci boljšo regeneracijo kot starejši. Na rezultate lahko vpliva tudi dejstvo, da so bili potaknjenci dolžine 3 cm bolj metabolno aktivni oz. še niso prešli v stanje senescence. Na regeneracijsko sposobnost dresnika ima namreč zagotovo velik vpliv letni čas, v katerem smo izvajali poskus. Poskusa smo se lotili jeseni, ko gre večina rastlin v stanje prezimovanja, oziroma se fiziološko pripravljajo na neugodne okoljske razmere (zima).

Pod okoljskim stresom gredo lahko podzemni deli rastline v obdobječasne zaustavitve rasti oziroma v dormanco medtem, ko preidejo nadzemni deli v senescenco. To je strategija preživetja v neugodnih razmerah, ki so jo razvile mnoge rastlinske vrste. Dormanco lahko sprožijo tako okoljski kot tudi notranji dejavniki. Jeseni, ko pride do znižanja temperatur, se spremeni ravnovesje med hormonoma abscizinska kislina (ABA) in giberilinska kislina (GA). Glavna hormona, ki »pripravita« rastline na zimo sta ABA in etilen. ABA se sintetizira v terminalnih brstih in upočasni rast rastlin, tako, da inhibira celične delitve v vaskularnem kambiju in sproži sintezo stresnih hormonov ter usmerja listni primordij, za zaščito mirujočih popkov v hladni sezoni. Inducira tvorbo gomoljev, čebulic in ostalih podzemnih organov, kamor se shranjujejo pomembne makromolekule, dušikove ter fosfatne spojine, ki jih bo rastlina v naslednji sezoni morebiti ponovno potrebovala (Wang s sod., 2016). Etilen se sintetizira v različnih delih rastline (listi, korenine, plodovi) in je glavni hormon, ki spodbudi senescenco ali staranje. Pod stresom se s pomočjo senescence rastlina lahko pripravi na neugodne razmere in tako pravočasno zaključi fotosintezo in druge pomembne procese, transportira dušikove in fosfatne spojine ter pomembne makromolekule v druge organe, ki lahko prezimijo (Davies, 2013).

Na podlagi naših rezultatov in podatkov iz literature lahko sklepamo, da so bili nabrani poganjki že v fazi senescence, zato jih nismo mogli ponovno regenerirati.

Nabrane poganjke smo tudi po določenem času regeneracije tretirali z avksini, ki imajo velik vpliv na razvoj korenin, formiranje poganjkov in celične delitve. V koreninah, so z avksini povezani naslednji fenotipi: od koncentracije odvisno povečanje dolžine koreninskega laska, vpliv na primarno korenino, povečanje števila stranskih primordijev in odziv na težnost. Celične ravni avksina vplivajo tudi na izražanje genov, ki vplivajo na celično usodo, nastanek korenin in koreninskih laskov. Avksin je tudi prevladujoči regulator pri razvoju lateralnih korenin (Overvoorde s sod., 2010). Kljub tretiranju z zunajceličnimi avksini, nam ni uspelo popolnoma regenerirati poganjkov.

Dresniki so invazivna vrsta, zato je znanje o zatiranju le-te pomembno. Iz dobljenih rezultatov lahko sklepamo, da dolžina delov rastline pri zatiranju v pozni jeseni nima velikega pomena, saj je sposobnost regeneracije rastline znatno zmanjšana.

Da bi naše hipoteze lahko dokončno potrdili ali ovrgli, bi morali poskus ponoviti v drugem letnem času (npr. pomladi, ko rastline ponovno aktivirajo svojo rast in celične delitve) ali pa bi ga morali večkrat ponoviti z veliko večjim številom potaknjencev.

Zaključki

Na podlagi dobljenih rezultatov naših hipotez ne moremo ne

potrditi in ne ovreči, saj iz njih ni mogoče izpeljati statistično značilnih razlik v regeneracijskih sposobnostih češkega in japonskega dresnika. Prav tako ne moremo z gotovostjo trditi, kakšen vpliv na regeneracijo ima dolžina in starost dela stebela, ki ga uporabljamo kot potaknjene. Zaključimo lahko, da je pozna jesen primeren čas za zatiranje obeh vrst dresnikov, kljub njihovi sicer dobri regeneracijski sposobnosti.

Literatura

1. Bímová K., Mandák B., Pyšek P. 2003. Experimental study of vegetative regeneration in four invasive *Reynoutria taxa* (Polygonaceae). *Plant Ecology* 166(1) : 1–11
2. Brock J.H., Child L.E., Waal L.D., Wade M. 1993. The invasive nature of *Fallopia japonica* is enhanced by vegetative regeneration from stem tissues. *Plant invasions: general aspects and special problems*. pp.131-139 ref.19
3. Child L.E. 1999. Vegetative regeneration and distribution of *Fallopia japonica* and *Fallopia x bohemica*: implications for control and management. Loughborough University Institutional Repository. <https://dspace.lboro.ac.uk/2134/7077>
4. Davies P . J. 2013. *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Springer Science & Business Media : 486-509.
5. De Waal L. C. 2001. A viability study of *Fallopia japonica* stem tissue. *Weed Research* 41(5) :447–460.
6. Francis R.A., Riley K.A., Hoggart S.P.G 2008. Vegetative regeneration of *Fallopia japonica* (Houtt.) Ronse Decraene (Japanese knotweed) at varying burial depths. *Weed Biology and Management*, 8(1) : 69–72.
7. Overvoorde P., Fukaki H., Beeckman T. 2010. Auxin Control of Root Development. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Jun; 2(6)
8. Strgulc-Krajšek S. 2013. Tujerodni dresniki v Sloveniji. *Svet ptic* 19(3):14-15
9. Wang D., Gao Z., Du P., Xiao W., Tan Q., Chen X., Li L., Gao D. 2016. Expression of ABA Metabolism-Related Genes Suggests Similarities and Differences Between Seed Dormancy and Bud Dormancy of Peach (*Prunus persica*). *Frontiers in Plant Science*. Jan 11;6:1248

Fiziološke spremembe navadne in tatarske ajde glede na nadmorsko višino

Tajda Lončar, Neja Delač, Elena Spasovska, Tihomir Rubil, Uroš Škripec
in Jaka Peček

Oddelek za biologijo, Biotehniška fakulteta, Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

- Namen raziskave je bil določiti vpliv nadmorske višine na vsebnost pigmentov in sicer klorofila A in B, karotenoidov, flavonoidov in fenolov pri dveh vrstah ajde.
- Primerjali smo razlike med dvema najbolj uporabljenima vrstama ajde, to sta navadna (*Fagopyrum esculentum*) in tatarska ajda (*Fagopyrum tataricum*), ki sta rasli na treh različnih nadmorskih višinah (500 mnv, 1000 mnv in 1500 mnv). Klorofile in karotenoide smo ekstrahirali s homogenizacijo listov z metanolom, flavonoide in fenole pa smo ekstrahirali s homogenizacijo listov s tekočim dušikom. Koncentracijo pigmentov smo nato določili z merjenjem absorpcije s spektrofotometrom pri različnih valovnih dolžinah.
- Glede na rezultate statističnih analiz nam ni uspelo pokazati ustreznih razlik med navadno in tatarsko ajdo. Za bolj zanesljive in informativne rezultate glede vpliva nadmorske višine kot zunanjega dejavnika pri navadni in tatarski ajdi bi poskus morali ponoviti z večjim vzorcem, na več različnih nadmorskih višinah, skozi daljše časovno obdobje ter vključiti še druge vrste ajde.

Ključne besede: *Fagopyrum esculentum*, *Fagopyrum tataricum*, klorofili, flavonoidi, fenoli, karotenoidi

Uvod

Ajda (lat. *Fagopyrum*) je rastlinska vrsta, ki spada v družino Polygonaceae in jo večinoma najdemo na severni polobli, čeprav raste na velikem delu sveta. Najbolj pogosto se uporablja v prehrabni industriji, saj ima prehrabne lastnosti, ki predstavljajo potencial za promoviranje zdravja pri ljudeh. Ajda je namreč relativno dober vir beljakovin, lipidov, vlaken in mineralov ter ne vsebuje glutena. Glede na agrikulturno uporabnost sta najbolj uporabni vrsti navadna (*Fagopyrum esculentum*) in tatarska ajda (*Fagopyrum tataricum*). Navadna ajda se goji večinoma v Evropi in na Japonskem, medtem ko se tatarska ajda goji predvsem v regijah, katere za razliko od rastišč navadne ajde karakterizira višja nadmorska višina. Poleg že omenjenih prehrabnih lastnosti sta navadna in tatarska ajda bogat vir številnih bioaktivnih snovi, za katere so raziskave pokazale da imajo pozitiven vpliv na zdravje ljudi. Med temi snovmi so najbolj raziskani flavonoidi in fenolne kisline - skupine spojin, ki imajo bistveno antioksidativno vlogo; rutin, za katerega so raziskave pokazale da ima protivnetno, protidiabetično, protitumorsko in protiaterosklerozno delovanje; kvercetin ki tudi ima protidiabetično in protitumorsko delovanje; fagopiritoli, snovi, katere imajo pozitiven vpliv na znižanje plazemskih koncentracij glukoze; vitamina B in C ter druge za človeka koristne spojine. Koncentracija flavonoidov se med obema vrstama ajde razlikuje, povprečna koncentracija flavonoidov pri tatarski ajdi znaša okoli 40 miligramov na gram rastline (in lahko dosega do 100 mg/g v cvetovih, listih in steblih), medtem ko povprečna koncentracija flavonoidov pri navadni ajdi znaša okoli 10 miligramov na gram rastlinskega materiala. Tatarska ajda vsebuje tudi večje koncentracije rutina in vitaminov B1 (tiamin), B2 (riboflavin), B3 (niacin) in B6 (piridoksin) v primerjavi z navadno ajdo (Giménez-Bastida 2015).

Ajdi *F. esculentum* in *F. tataricum* smo primerjali glede na vsebnost pigmentov. Ti imajo pomembno zaščitno funkcijo, zato smo raziskali razlike v koncentraciji pigmentov med vrstama in pri treh različnih nadmorskih višinah (500 mnm, 1000 mnm in 1500 mnm). Predvidevamo, da ima tatarska ajda višjo vsebnost pigmentov kot navadna ajda, saj uspeva pri višjih nadmorskih višinah, kjer je izpostavljenost UV-B sevanju višja. Pri tatarski ajdi pričakujemo manjše razlike v koncentraciji pigmentov med različnimi nadmorskimi višinami kot pri navadni ajdi, kjer pričakujemo močnejši odziv na stres.

Metode

Za določanje vsebnosti klorofilov in karotenoidov smo v terilnici strli liste ajde (1 g oz. manj, če materiala ni bilo dovolj) ob dodatku metanola, zmes smo prenesli v centrifugirko in centrifugirali 3 minute pri 4200 obratih na minuto.

Supernatant smo prenesli v kiveto in izmerili absorbcijo s spektrofotometrom pri valovnih dolžinah 470, 652 in 665 nm. Koncentracije klorofilov smo izračunali po formulah (Wellburn, 1994).

Za določanje flavonoidov in fenolov smo liste ajde v terilnici strli v fin prah ob dodatku tekočega dušika. Odtehtali smo 0,15 g strtih listov in jih dali v 2 mL mikrocentrifugirke, v katere smo dodali še 1.5 mL 60% etanola. Mikrocentrifugirke smo stresali 15 minut, nato pa centrifugirali 10 minut pri 5000 obratih/min. Za določanje vsebnosti fenolov smo nato v kiveto dodali 1 mL 2% Na₂CO₃, 75 μL Folin-Ciocalteu reagenta in 100 μL prej pripravljene ekstrakta. Inkubirali smo 15 min pri 25°C v temi. Po inkubaciji smo izmerili absorbcijo pri valovni dolžini 750 nm, kjer smo za standard uporabili katehin.

Za določanje vsebnosti flavonoidov smo v kiveto dodali 900 μL 5% AlCl₃ raztopljenega v metanolu. Inkubirali smo 30 minut pri 25°C v temi, nato pa izmerili absorbcijo pri valovni dolžini 425 nm. Za standard smo uporabili rutin (Lindoo in sod., 1978).

Rezultati

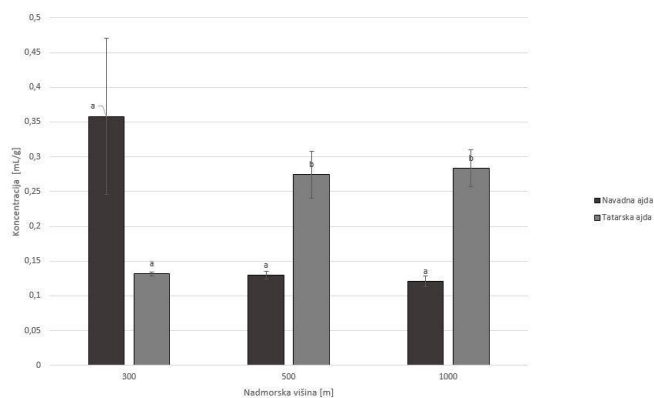
Po statistični obdelavi z ANOVA testom smo ugotovili, da je bila vsebnost klorofila A pri tatarski ajdi višja pri višjih nadmorskih višinah (500 in 1000 mnm), kot pri 300 mnm, medtem ko pri navadni ajdi nismo izmerili statistično značilnih razlik. Vsebnost klorofila B pri tatarski ajdi je bila najvišja pri 500 mnm in najnižja pri 300 mnm. Pri navadni ajdi smo statistično značilno razliko izmerili pri 500 in 1000 mnm, kjer je vsebnost zopet višja pri 500 mnm. Vsebnost karotenoidov je bila pri obeh vrstah najvišja pri 500 mnm, pri čemer med 300 mnm in 1000 mnm nismo izmerili statistično značilne razlike. Pri vsebnosti fenolov pri nobeni vrsti nismo izmerili statistično značilnih razlik. Vsebnost flavonoidov je bila pri tatarski ajdi najvišja pri 300 mnm in najnižja pri 500 mnm, pri navadni ajdi pa nismo izmerili razlik.

Diskusija

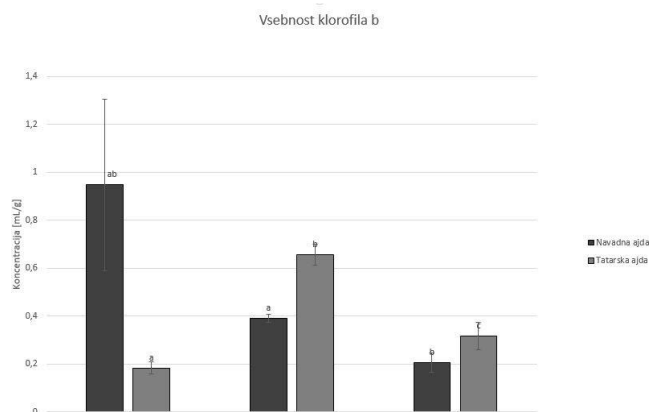
Glede na predhodne raziskave na omenjeno temo lahko pričakujemo, da zviševanje nadmorske višine pozitivno korelira s povečanjem skupne količine polifenolov in antioksidantov (Kishore in sod., 2010.). Omenjene spojine imajo namreč zaščitne učinke pred UV sevanjem, ki pa je močnejše pri večjih nadmorskih višinah. V nasprotju s tem se zaradi večjega deleža UVB spektra elektromagnetnega valovanja (ki ima zaradi večje energije v primerjavi z UVA sevanjem škodljive učinke na celično strukturo rastlin) pri višjih nadmorskih višinah pojavljajo zmanjšana rast, morfološke spremembe in manjše vsebnosti fotosinteznih pigmentov klorofila A in B (Sunil in sod., 2017., Salama in sod., 2011). Rezultati statistične analize podatkov iz omenjene raziskave kažejo na pomanjkanje statistično značilne razlike pri vsebnosti klorofila A pri navadni

Tabela 1: Tabela prikazuje p vrednosti, pridobljene s testom ANOVA pri dvojicah parametrov kjer se skupine rastlin med seboj statistično razlikujejo. Kjer statističnih razlik ni, je oznaka ns (not significant).

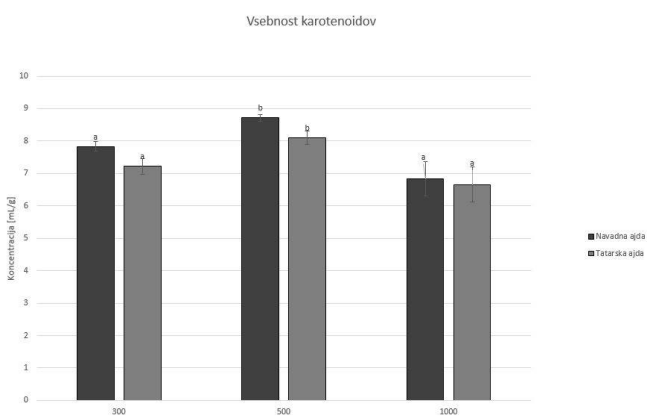
	Klorofil a	Klorofil b	Karotenodi	Fenoli	Flavonoidi
Vrsta	ns	ns	ns	ns	ns
Nadmorska višina	ns	0.0967	ns	ns	0.024
Vrsta x N.v.	0.0002	0.0054	ns	ns	ns



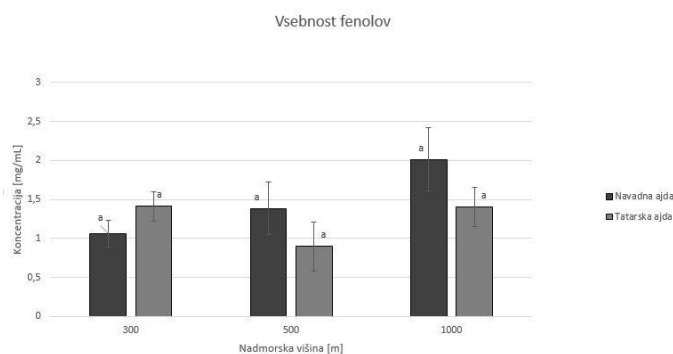
Slika 1: Vsebnosti klorofila A pri navadni in tatarski ajdi glede na različno nadmorsko višino (povprečje \pm SE, pri 300 mnv in 500 mnv je $n=10$, pri 1000 mnv je $n=5$). Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike (Holm-Šidak test, $p < 0,05$).



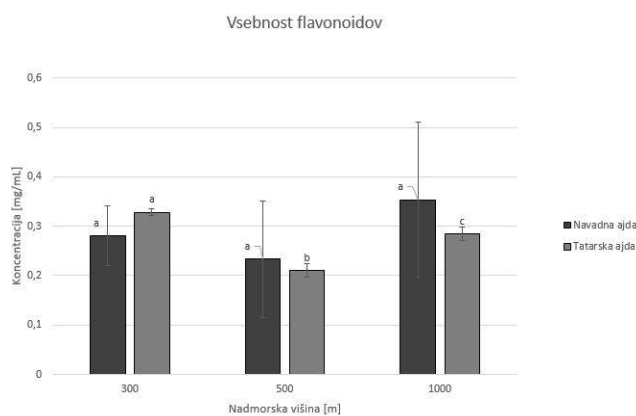
Slika 2: Vsebnosti klorofila B pri navadni in tatarski ajdi glede na različno nadmorsko višino (povprečje \pm SE, pri 300 mnv in 500 mnv je $n=10$, pri 1000 mnv je $n=5$). Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike (Holm-Šidak test, $p < 0,05$).



Slika 3: Vsebnosti karotenoidov pri navadni in tatarski ajdi glede na različno nadmorsko višino (povprečje \pm SE, pri 300 mnv in 500 mnv je $n=10$, pri 1000 mnv je $n=5$). Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike (Holm-Šidak test, $p < 0,05$).



Slika 4: Vsebnosti fenolov pri navadni in tatarski ajdi glede na različno nadmorsko višino (povprečje \pm SE, pri 300 mnv in 500 mnv je $n=10$, pri 1000 mnv je $n=5$). Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike (Holm-Šidak test, $p < 0,05$).



Slika 5: Vsebnosti flavonoidov pri navadni in tatarski ajdi glede na različno nadmorsko višino (povprečje \pm SE, pri 300 mnv in 500 mnv je $n=10$, pri 1000 mnv je $n=5$). Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike (Holm-Šidak test, $p < 0,05$).

ajdi glede na ANOVA test. Pri tatarski ajdi so rezultati analiz vsebnosti klorofila A na različnih nadmorskih višinah pokazali, da tatarska ajda, ki uspeva na višinah 500m in 1000m vsebuje višjo koncentracijo klorofila A v primerjavi s tisto, ki uspeva na 300 mnv. To je spet nekoliko nepričakovano zaradi že prej omenjenega večjega deleža UVB žarkov pri višjih nadmorskih višinah, vendar lahko nakazuje na njeno prilagoditev na višjo nadmorsko višino in prisotnost drugih zaščitnih mehanizmov. Velika vsebnost flavonoidov v listih nekaterih drugih rastlin, ki uspevajo na višjih nadmorskih višinah, nakazuje na njihovo funkcijo varovanja rastlin pred nizkimi temperaturami in presežkom sončnega sevanja (Alonso-Amelot, 2008). Tudi raziskava na rastlinah vinske trte je potrdila, da so bile koncentracije flavonoidov kar desetkrat višje v rastlinah, ki so bile izpostavljene naravni svetlobi v primerjavi z rastlinami katerim so svetlobo, ki so jo imele na razpolago, izfiltrirali UV-A in UV-B sevanje (Kolb in sod., 2001). To pa ponovno nakazuje na protektivno vlogo flavonoidov pred UV-A in UV-B sevanjem pri rastlinah. Rastline so torej na višje lege prilagojene z višjimi koncentracijami flavonoidov in fenolov in drugimi spojinami,

ki absorbirajo UV snovi. Tatarska ajda je bolje prilagojena na višje nadmorske višine v primerjavi z navadno ajdo. V rastlinah tatarske ajde na višjih legah smo sicer izmerili nižje koncentracije flavonoidov in fenolov v primerjavi z navadno ajdo, vendar to lahko najverjetneje pripišemo temu, da tatarski ajdi ni potrebno sintetizirati takšnih količin omenjenih spojin zaradi drugih prisotnih obrambnih funkcij in popravljalnih mehanizmov. V eni izmed raziskav so ugotovili, da se rastline lahko izognejo citotoksičnim učinkom UV-induciranih poškodb tako, da razvijejo kompleksne popravljalne mehanizme kot so: fotoreaktivacija, ekscizije in rekombinacijske popravljalne mehanizme (Waterworth in sod., 2002). Rastline se lahko pred UVB žarki zaščitijo z višjo vsebnostjo zaščitnih pigmentov in morfološki spremembami, kot so npr. odlačenost listov in debelina kutikule, česar pa v to raziskavo nismo vključili. Glede na ANOVA test opazimo različen odziv obeh vrst na nadmorsko višino. Edina statistično značilna razlika vsebnosti klorofila B pri navadni ajdi je bila zabeležena med 500 mnmv in 1000 mnmv. Rastline na 500 mnmv so imele večje vsebnosti klorofila B. Pri tatarski ajdi so bile vse razlike vsebnosti klorofila B statistično značilne - tako med 300 mnmv in 500 mnmv, kot pri 500 mnmv in 1000 mnmv ter pri 300 mnmv in 1000 mnmv. Najvišja vsebnost klorofila B je bila pri rastlinah, ki so rasle na 500 mnmv, pri 300 mnmv pa je zabeležena najmanjša vsebnost klorofila B. Z ANOVA testom smo pokazali statistično značilne razlike v vsebnosti klorofila B glede na nadmorsko višino ter vrsto in nadmorsko višino, kar kaže na padanje vsebnosti klorofila B z nadmorsko višino pri obeh vrstah. Statistično značilne so bile razlike v vsebnosti karotenoidov med navadnimi ajdami in tatarskimi ajdami, ki so rasle na 300 mnmv in 500 mnmv oziroma na 500 mnmv in 1000 mnmv. Najvišje vsebnosti karotenoidov pri obeh vrstah so bile pri 500 mnmv in najnižje pri 1000 mnmv. Pri vsebnosti fenolov ni bilo statistično značilnih razlik tako pri navadnih, kot pri tatarskih ajdah na različnih nadmorskih višinah, pri vsebnosti flavonoidov pa so bile statistično značilne razlike izmerjene pri tatarski ajdi, ne pa tudi pri navadni. ANOVA test je pokazal statistično značilne razlike v vsebnosti flavonoidov glede na nadmorsko višino.

Zaključek

Najvišjo vsebnost pigmentov smo torej izmerili pri 500 mnmv in ne 1000 mnmv, kar ni v skladu z našimi pričakovanji. Rezultati so verjetno posledica pristranskega vzorca, saj smo iz 1000

mnmv imeli najmanj rastlinskega materiala, ki je bil tudi slabše kvalitete. Za zanesljivejše rezultate bi morali imeti večji vzorec, nabran na več različnih nadmorskih višinah, prav tako pa bi morali imeti več različnih lokacij na istih nadmorskih višinah, da bi lahko izključili druge dejavnike, ki vplivajo na rast rastlin, kot so drugačna prst, vlaga idr. K zanesljivejšim rezultatom bi prispevalo tudi merjenje skozi daljše časovno obdobje, saj bi tako zmanjšali vpliv naključnih dejavnikov. Smiselno bi bilo tudi vključiti druge vrste ajde in preveriti ali so kakšne razlike.

Literatura

- Giménez-Bastida, J. A., & Zieliński, H. (2015). Buckwheat as a Functional Food and Its Effects on Health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(36), 7896–7913. doi:10.1021/acs.jafc.5b02498.
- Kishore, G., Ranjan, S., Pandey, A., & Gupta, S. (2010). Influence of altitudinal variation on the antioxidant potential of tartar buckwheat of Western Himalaya. *Food Science and Biotechnology*, 19(5), 1355–1363. doi:10.1007/s10068-010-0193-9.
- Kolb CA, Käser MA, Kopecký J, Zotz G, Riederer M, Pfündel EE. Effects of natural intensities of visible and ultraviolet radiation on epidermal ultraviolet screening and photosynthesis in grape leaves.
- Lindoo S.J., Caldwell M.M. (1978). Ultraviolet-B Radiation-induced Inhibition of Leaf Expansion and Promotion of Anthocyanin Production. *Plant Physiology*, 61(2), 278-282. doi:10.1104/pp.61.2.278.
- Miguel E.Alonso-Amelot, (2008): High altitude plants, chemistry of acclimation and adaptation. *Studies in Natural Products Chemistry*, Volume 34.
- Salama, H. M. H., Al Watban, A. A., & Al-Fughom, A. T. (2011). Effect of ultraviolet radiation on chlorophyll, carotenoid, protein and proline contents of some annual desert plants. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18(1), 79–86. doi:10.1016/j.sjbs.2010.10.002.
- Sunil K.G., Sharma M., Deebea F., Pandey V. (2017). Plant response: UV- B avoidance mechanisms. *UV-B Radiation: From Environmental Stressor to Regulator of Plant Growth*, Chapter 12, John Wiley & Sons Limited.
- Waterworth WM, Jiang Q, West CE, Nikaido M, Bray CM. Characterization of Arabidopsis photolyase enzymes and analysis of their role in protection from ultraviolet-B radiation.
- Wellburn, R. A. (1994). The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution, 144(3), 307-313. doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2.

Vpliv efektivnih mikroorganizmov (Mikronatura) na privzem Hg pri sončnici (*Helianthus annuus*)

Anja Trčak, Kaja Tominc, Karin Leben, Kristian Elersič, Tim Prezelj,
Tjaša Javornik

Oddelek za biologijo, Biotehniška fakulteta, Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

- Namen naše raziskave je bil ugotoviti kako Hg iz prsti s področja Idrije vpliva na rast in razvoj sončnice - *Helianthus annuus*, ter v kolikšni meri se bioakumulira v poganjkih in koreninah.
- Tri skupine rastlin smo zalivali z: živimi efektivnimi mikroorganizmi (EM, Mikronatura), avtoklaviranimi EM oz. vodo (kontrolna skupina). Vpliv Hg na rast smo poskušali določiti preko določanja sveže in suhe mase rastlin, določanja učinkovitosti fotosistema II, vsebnosti fotosinteznih pigmentov, merjenja transpiracije ter količine različnih kemijskih elementov v rastlini z XRF.
- Ugotovili smo, da živi EM negativno vplivajo na rast sončnic, ki uspevajo na prsti onesnaženi s Hg.

Ključne besede: Hg, efektivni mikroorganizmi, onesnaženje, Idrija, rast rastlin

Uvod

Živo srebro je kovina, ki jo v naravi srečamo v treh oksidacijskih stanjih (0, +1 in +2). Toksikološko jo delimo na elementarno Hg (Hg⁰), anorganske in organske oblike. S prehranskega vidika so zdravju najnevarnejše organske – metilirane oblike Hg, ki se biomagnificirajo v prehranjevalnih spletih (Plumlee in sod., 2003; WHO, 2003).

Raziskave tal v Idriji so pokazale, da so ta močno obremenjena s Hg. V idrijskih tleh so izmerili med 7 in 1550 mg Hg na kg prsti, kar za faktor 100 - 1000 presega slovensko povprečje. Tla v Idriji tako niso primerna za gojenje rastlin v prehranske namene, kljub temu pa je vrtnarjenje na tem območju zelo razširjeno (Bavec in sod., 2015). Med kulturnimi rastlinami se Hg kopiči, posebej izrazito v radiču in peteršilju (Miklavčič in sod., 2013).

Primarni učinki Hg se kažejo na rastlinskem zarodku, sekundarni pa na endospermu. Živo srebro povzroča tvorbo -S-Hg-S- mostičkov. Tkiva mladega embria so bogata s proteini, ki vsebujejo veliko aminokislino cistein, ta pa ima tiolne (-SH) skupine. Tvorba -S-Hg-S- mostičkov zavre kalitev in nadaljnjo rast zarodka (Patra in Sharma, 2000).

Živemu srebru najbolj izpostavljen rastlinski organ so korenine. Učinek Hg nanje je odvisen od koncentracije. Upočasnjena rast korenin naj bi bila posledica vpliva etilena, ki nastaja zaradi privzema Hg (Patra in Sharma, 2000). Ta vpliva tudi na fotokemične in nefotokemične reakcije fotosinteze. Ioni Hg se po rastlini vrstno specifično transportirajo po ksilemu (Qurainy, 2009; Mahmood in sod., 2013). Živo srebro povzroča tudi napake pri mitotski delitvi celic, ki vodijo v nastanek mikro jeder ali velikega poliploidnega jedra zaradi napak pri kromosomskih podvajanjih (Patra in Sharma, 2000).

Pri rasti in razvoju rastlin je zelo pomembna mikrobna združba v tleh. Interakcije rastline z mikrobi so ključne za uspešno črpanje vode in mineralnih snovi iz tal v rastlino. Mikrobi s svojo redoks metabolno aktivnostjo pretvarjajo minerale iz enega v drugo redoks stanje ter tako vplivajo na njihovo biodostopnost. Mineralne in organske snovi v prsti vežejo Hg in s tem zmanjšujejo njegovo mobilnost in biodostopnost. Rastline najbolj uspešno privzemajo Hg v organski obliki (Patra in Sharma, 2000).

Tehnologija učinkovitih mikroorganizmov (EM) se uporablja z namenom izboljšanja ravnih pogojev v kmetijstvu. V 80-ih letih 20. stoletja jo je razvil japonec Teruo Higa. Tehnologija EM z vzpostavljanjem za rastline ugodnejše mikrobne združbe v tleh, kaže pozitivne učinke na rast rastlin v 70% primerov (Olle in Williams, 2013). Cilj je vzpostaviti pretežno aerobno ali fermentativno razgradnjo organskih snovi v prsti ter zmanjšati delež gnitja (putrifikacije). Sredstvo je sestavljeno iz žive večinoma anaerobne mikrobne združbe in tekočega organskega substrata. Mikrobno združbo sestavljajo: i) fotosintezne bakterije, ki obogatijo prst z organskimi spojinami in spodbujajo razvoj arbuskularne mikorize; ii) laktobacili proizvajajo mlečno kislino, ki spodbuja razgradnjo organskih snovi in preprečuje razrast neželenih patogenih mikroorganizmov; iii) kvasovke tvorijo metabolite, potrebne za razrast koristnih mikroorganizmov in spodbujajo delitev rastlinskih celic; iv) aktinomicete pa izločajo antibiotike, ki zavirajo rast patogenih vrst (Olle in Williams, 2013). Učinek EM se kaže pri uspešnejši kalitvi, rasti in zorenju rastlin.

Predvidevamo, da se Hg akumulira predvsem v koreninskem sistemu sončnice *H. annuus*, v poganjke pa ne prehaja izrazito.

Sklepamo, da bo vpliv živega pripravka EM zaradi povečane biomineralizacije v rizosferi še povečal privzem Hg v korenine in tako negativno vplival na rast in razvoj rastlin. Nekoliko manjši bo vpliv avtoklaviranega pripravka EM, kjer bodo mikroorganizmi neaktivni, še vedno pa predstavljajo vir hranil za rastline.

Metode

Gojenje rastlin

Rastline smo gojili v rastni komori in jih tedensko zalivali s pripravkom EM ter vodo. Na začetku poskusa smo v 15 lončkov zmešali zemljo iz Idrije in substrat v razmerju 1,5:1. Nato smo v vsak lonček posejali po 6 sončničnih semen. Tedensko smo kontrolnih 5 lončkov zalivali z navadno vodo, 5 lončkov z avtoklaviranim EM in 5 lončkov z živim pripravkom EM. Po potrebi smo med tednom vse rastline zalili še z navadno vodo. Določitev sveže in suhe mase ter vsebnosti vode v rastlinah korenine in poganjke rastlin smo ločili, očistili in s tehtanjem določili njihovo svežo maso (mf). Sledilo je sušenje v liofilizatorju do konstantne teže in ponovno tehtanje. S tem smo določili suho maso (md). Vsebnost vode (H₂O) (v poganjkih in koreninah), smo izračunali po formuli: $H_2O = (mf - md) / mf \rightarrow \cdot 100$ (za rezultat, izražen v %)

Določanje fotosinteznih pigmentov

Količina fotosinteznih pigmentov nam pomaga določiti fotosintezno aktivnost in je pomemben pokazatelj fiziološkega stanja rastline. Liofilizirane poganjke najprej homogeniziramo s pomočjo tekočega dušika v terilnici s pestilom. Iz 30 mg uprašenih poganjkov ekstrahiramo pigmente s 5 ml 80% acetona po protokolu Monni in sod., 2001. Delamo v temi in pri nizki temperaturi ker so klorofili in kartenoidi občutljivi na svetlobo, kisline in kisik. Količina pigmentov v vzorcu se določi fotometrično.

Vsebnost fotosinteznih pigmentov smo izračunali s pomočjo MacKinneyevih koeficientov (MacK) (Graan in Ort, 1984):

- Chl-a (μmol/L) = (12,25 · A664) – (2,79 · A647)
- Chl-b (μmol/L) = (21,50 · A647) – (5,10 · A664)
- Karotenoidi (μmol/L) = (1000 · A470 – 1,82 · Chl-a – 85,02 · Chl-b)/198

Vsebnost pigmentov na gram suhe mase vzorca (μmol/g) = (MacK · Ve)/ms

Klorofil a – Chl-a; klorofil b – Chl-b; A664 – absorbanca pri 664 nm; A647 – absorbanca pri 647 nm; A640 – absorbanca pri 640 nm; Ve – volumen ekstrakta v ml; ms – suha masa vzorca v mg.

Fotokemična učinkovitost fotosistema II

Učinkovitost fotosistema II smo merili s fluorometrom OS5-FL. S takojšnjim pulzom bele svetlobe izmerimo dejansko fotokemično učinkovitost fotosistema II (na svetlobi), potencialno pa po zatemnitvi lista (v temi).

Transpiracija in prevodnost listnih rež

Transpiracijo in prevodnost listnih rež smo izmerili s porometrom Leaf porometer, Decagon devices. Na ta način izmerimo vsebnost vodne pare v zraku. S transpiracijo rastlina oddaja vodo v okolico, kar v omejenem prostoru (merilna kivetka, v katero vpneemo list) izmerimo kot povišanje zračne

vlačnosti. Kiveta je opremljena s senzorjem za vlago in dvema senzorjema za temperaturo (en meri temperaturo lista, drugi pa zraka v kivetu). V kivetu zrak ves čas mešamo, da zagotavljamo enakomerno upornost mejne plasti zraka. Rentgenska fluorescentna spektrometrija (XRF)

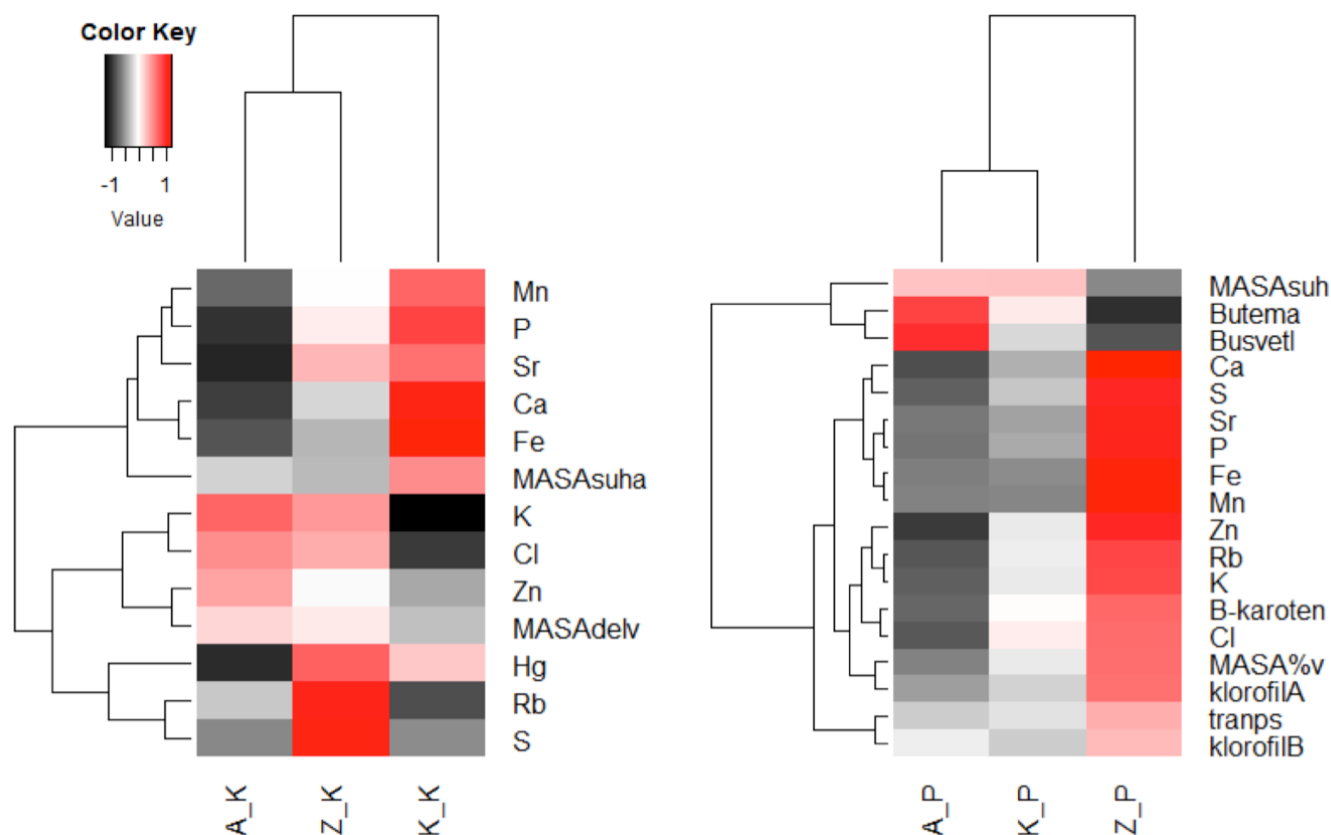
Z XRF lahko neinvazivno merimo vrsto in količino kemijskih elementov v vzorcu. Temelji na zaznavanju intenzitete in valovne dolžine fluorescentne svetlobe. Rentgenski žarki izbijajo elektrone (e-) iz nižjih orbital elementov v vzorcu. Izbijati e- se nadomesti z e- iz višje orbitale. V višjih orbitalah je vezavna energija, ki jo elektron zajema v višji. Presežek energije se ob prenosu v nižjo orbitalo sprosti kot fluorescentna rentgenska svetloba, ki jo lahko zajamemo in analiziramo. Ker ima vsak kemijski element različen energijski spekter vezave elektronov po orbitalah, imajo elementi specifičen spekter rentgenske svetlobe. Iz valovne dolžine svetlobe ali energije fotonov določimo elementno sestavo, iz intenzitete zaznane svetlobe pa količino posameznega elementa v vzorcu (Kalnicky in Singhvi, 2001).

V napravi za oblikovanje tablet smo iz upraščenega rastlinskega materiala izdelali tablete. Pripravili smo po 2 tableti na rastlino (eno iz koreninskega sistema, drugo pa iz poganjka). Analizo XRF smo izvedli v laboratoriju na Inštitutu Jožefa Štefana (IJS) v Ljubljani.

Rezultati in razprava

Tabela 1: Tabela prikazuje povprečja posameznih vrednosti in standardno napako. Za ugotavljanje statistično značilnih razlik med posameznimi pogoji (živi EM, avtoklavirani EM in kontrolnim pogojem) smo uporabili Duncanov test. Rezultati testa so prikazani v tabeli po tričrkovnem sistemu. N – število posameznih vrednosti; % vode – masni delež vode v vzorcu v %; Učin. Ps. II – učinek fotosistema II; delež pigm. – delež pigmentov v vzorcu; NP – ni podatka, ker so vrednosti pod mejo detekcije. Z barvami in krepko so označene črke, kjer je moč opaziti statistično značilno razliko med dvema ali več pogoji.

Suha masa poganjkov kontrolnih rastlin in obravnavanih z avtoklaviranim EM je bila večja od te pri rastlinah, obravnavanih z živim pripravkom EM (Tabela 1, Slika 1), kar se ujema tudi z literaturo (Liu in sod., 2018). Pripravek EM vpliva na privzem mineralov iz prsti, v našem primeru tudi na privzem večjih količin živega srebra. Prisotnost živih EM kaže svoj vpliv predvsem na mobilizacijo mineralov v poganjkih ter na rast in razvoj rastlin (Olle in Williams, 2013). Te so ob uporabi pripravka manjše, privzem in akumulacija mineralov sta intenzivnejša. Nekateri od njih (tudi Hg) lahko ob povišanih koncentracijah, zaradi svoje toksičnosti, negativno vplivajo na rast in razvoj rastlin (Patra in Sharma, 2000). Večja koncentracija karotenoidov izmerjena pri rastlinah tretiranih s pripravkom živih EM in kontroli (Tabela 1, Slika



Slika 1: Diagrama (levi – korenine, desni – poganjki) prikazujeta razlike in odnose med vrednostmi pri merjenih parametrih in posameznimi tremi skupinami. A₋ – avtoklavirani EM; Z₋ – živi EM; K₋ – kontrola (brez EM); ₋K – korenine; ₋P – poganjki; delv in %v – masni delež vode v %; transp – transpiracija; Butema

– učinkovitost fotosistema II v temi; Busvetl – učinkovitost fotosistema II na svetlobi; ostale črke označujejo elemente periodnega sistema; Color Key – barvna legenda; Value – vrednost.

Vzorec		Živi				Avtoklav				Kontrola				N
Masa (g)		sveža	suha	Voda	% vode	sveža	suha	Voda	% vode	sveža	suha	Voda	% vode	
Korenine	Povprečje:	0,604	0,081	0,523	86,217	0,666	0,091	0,575	86,882	1,000	0,158	0,842	83,398	10
	Napaka	0,043	0,021	0,046	3,397	0,094	0,016	0,079	0,900	0,283	0,037	0,247	1,657	
	Duncan:		A		A		A		A		A		A	
Poganjki	Povprečje:	1,770	0,297	1,473	82,992	1,889	0,435	1,454	77,087	2,137	0,437	1,700	79,363	10
	Napaka	0,150	0,038	0,129	1,772	0,198	0,051	0,150	0,714	0,234	0,048	0,189	0,679	
	Duncan:		B		B		A		A		A		A	
Učink. Ps. II (Fv/Fm)		tema	svetloba	t/s		tema	svetloba	t/s		tema	svetloba	t/s		
	Povprečje:	0,346	0,136	3,206		0,726	0,631	1,160		0,566	0,308	4,517		10
	Napaka	0,023	0,018	0,636		0,017	0,026	0,036		0,053	0,082	1,653		
	Duncan:	C	C			A	A			B	B			
Delež pigm. (μmol/g)		Klorofil a	Klorofil b	β karoten		Klorofil a	Klorofil b	β karoten		Klorofil a	Klorofil b	β karoten		
	Povprečje:	2,385	0,925	0,764		1,574	0,771	0,446		1,750	0,712	0,609		5
	Napaka	0,172	0,066	0,044		0,177	0,160	0,046		0,229	0,106	0,071		
	Duncan:	A	B	A		A	B	B		A	B	AB		
Transpiracija (mmol/m ² s)		Poganjki				Poganjki				Poganjki				
	Povprečje:	267,9				229,9				235,8				10
	Napaka	21,4				20,1				11,7				
	Duncan:	A				A				A				
Elemtna analiza (kcps)		Korenine		Poganjki		Korenine		Poganjki		Korenine		Poganjki		
P	Povprečje:	1203		1830		480		900		1743		1037		3
	Napaka	12		104		480		39		440		284		
	Duncan:	AB		A		B		B		A		B		
S	Povprečje:	4670		2640		3280		618		3293		1164		3
	Napaka	182		626		410		85		212		211		
	Duncan:	A		A		B		B		B		B		
Cl	Povprečje:	9793		13010		10123		2343		6760		8670		3
	Napaka	1013		3363		1421		324		505		4551		
	Duncan:	A		A		A		A		A		A		
K	Povprečje:	52033		57767		55233		15900		29100		33100		3
	Napaka	1486		9883		2350		651		4911		15660		
	Duncan:	A		A		A		B		B		AB		
Ca	Povprečje:	13167		18033		7643		7653		23033		10003		3
	Napaka	1392		644		1505		447		3167		467		
	Duncan:	B		A		B		B		A		C		
Mn	Povprečje:	49		96		38		40		60		41		3
	Napaka	7		12		3		3		11		4		
	Duncan:	A		A		A		B		A		B		
Fe	Povprečje:	415		113		283		72		841		73		3
	Napaka	45		8		47		3		119		6		
	Duncan:	B		A		B		B		A		B		
Zn	Povprečje:	71		140		75		69		68		99		3
	Napaka	1		10		7		7		5		12		
	Duncan:	A		A		A		B		A		B		
Hg	Povprečje:	87		NP		47		NP		76		NP		3
	Napaka	5		NP		9		NP		12		NP		
	Duncan:	A				B				AB				
Rb	Povprečje:	73		55		43		22		31		36		3
	Napaka	5		6		11		4		2		12		
	Duncan:	A		A		B		B		B		AB		
Sr	Povprečje:	81		115		38		66		92		72		3
	Napaka	10		11		10		7		17		9		
	Duncan:	AB		A		B		B		A		B		

1) nakazuje na povečanje poškodb v rastlini, zaradi boljšega privzema živega srebra. Sintezo karotenoidov spodbudi nastanek reaktivnih oblik kisika (ROS), ki lahko poškodujejo rastlinska tkiva. ROS nastajajo, če klorofili absorbirajo več svetlobne energije, kot je za fotosintezo potrebujejo. Karotenoidi z absorpcijo presežene energije preprečujejo prekomerno nastajanje ROS (Loggini in sod., 1999). Iz rezultatov (Tabela 1) je razvidno, da so imele najslabšo učinkovitost PSII rastline obravnavane z živimi EM, ki so imele tudi najvišjo vsebnost Hg. Sledijo jim kontrolne rastline in rastline tretirane z avtoklaviranim EM, ki imajo tudi najmanjšo vsebnost Hg (Slika 1, tabela 1). Živo srebro namreč vpliva na fotokemične in nefotokemične reakcije fotosinteze, saj pride do zamenjave osrednjega atoma v klorofilu. Mg²⁺ zamenja Hg²⁺, kar ovira sprejem fotonov s strani tako spremenjenega klorofila in fotosintezo (Patra in Shrama, 2000).

Zaključek

Skupina rastlin ki smo jo obravnavali z živim EM, je imela zaradi višje vsebnosti Hg tudi manjšo učinkovitost fotosistema II, višjo vsebnost karotenoidov ter manjšo suho maso poganjkov in korenin.

Živo srebro se je akumuliralo v koreninah sončnic, v poganjkih pa vsebnosti Hg nismo izmerili.

Akumulacija Hg je bila najintenzivnejša ob obravnavanju z živimi EM, najmanj Hg pa so akumulirale korenine sončnic, obravnavane z avtoklaviranimi EM.

Hg poveča stres pri rastlinah, živi EM pa vplivajo predvsem na mobilnost elementov v poganjkih rastlin.

Rezultati poskusa so bili v skladu z našimi pričakovanji in rezultati preteklih raziskav, opisanimi v literaturi.

Literatura

1. Bavec Š, Gosar M, Biester H, Grčman H, 2015. Geochemical investigation of mercury and other elements in urban soil of Idrija

- (Slovenia). *Journal of Geochemical Exploration*, 154, 213-223.
2. Graan T, Ort DR, 1984. Quantitation of the rapid electron donors to P700, the functional plastoquinone pool, and the ratio of the photosystems in spinach chloroplasts. *Journal of Biological Chemistry*, 259(22), 14003-14010.
3. Kalnicky DJ, Singhvi R, 2001. Field portable XRF analysis of environmental samples. *Journal of Hazardous Materials*, 83, 93-122.
4. Liu Z, Wang L, Ding S, Li Y, 2018. Effects of growth agents and mercury on several herbs. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 12012-12021.
5. Loggini B, Scartazza A, Brungoli E, Navari-Izzo F, 1999. Antioxidative Defense System, Pigment Composition, and Photosynthetic Efficiency in Two Wheat Cultivars Subjected to Drought. *Plant Physiology* 119, 1091-1099.
6. Mahmood S, Ishtiaq SHABNAM, Malik MI, Ahmed, A 2013. Differential growth and photosynthetic responses and pattern of metal accumulation in sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars at elevated levels of lead and mercury. *Pak J Bot*, 45(1), 367-374.
7. Miklavčič A, Mazej D, Jačimović R, Dizdarevič T, Horvat M, 2013. Mercury in food items from the Idrija mercury mine area. *Environmental research*, 125, 61-68.
8. Monni S, Uhlig C, Hansen E, Magel E, 2001. Ecophysiological responses of *Empetrum nigrum* to heavy metal pollution. *Environmental Pollution*, 112(2), 121-129.
9. Olle M, Williams IH, 2013. Effective microorganisms and their influence on vegetable production—a review. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 88(4), 380-386.
10. Patra M, Sharma A, 2000. Mercury toxicity in plants. *The Botanical Review*, 66(3), 379-422.
11. Plumlee GS, Ziegler TL, Lamothe P, Meeker GP, Sutley S, 2003. The Toxicological Geochemistry of Dusts, Soils, and Other Earth Materials: Insights From In Vitro Physiologically-based Geochemical Leach Tests. In AGU Fall Meeting Abstracts.
12. WHO. World Health Organisation. Elemental mercury and inorganic mercury compounds: Human health perspectives, 2003. <http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/en/cicad50.pdf> (14.10.2018)

Vpliv gnojenja z organskim gnojilom na stres zaradi slanosti pri fižolu in ječmenu

Sergej Bohinc, Martin Bole, Ajda Kunčič, Andraž Marinč, Manca Svetina, Jan Šušteršič

Oddelek za biologijo, Biotehniška fakulteta, Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

- Namen: preveriti vpliv organskega gnojila na rast fižola (*Phaseolus vulgaris*) in ječmena (*Hordeum vulgare*) v zasoljenih tleh, določiti vsebnost pigmentov in mineralno sestavo v odvisnosti od načina izpostavitve rastlin.
- Metode: merjenje sveže in suhe mase poganjkov ter korenin, določanje vsebnosti pigmentov, analiza mineralne sestave poganjkov (XRF), kvalitativno in kvantitativno določanje arbuskularne mikorize (arbuskuli, mikrosklerociji, vezikli, svitki). Poskus smo vzporedno izvedli na primeru enokaličnic (ječmen) in dvokaličnic (fižol). Rastline smo gojili pri različnih izpostavitvah (dodatek gnojila ali brez ter zalivali z navadno vodo ali 0,1 M NaCl). Naredili smo po pet ponovitev vsake izpostavitve in na koncu podatke statistično obdelali.
- Rezultati: gnojilo je negativno vplivalo na rast rastlin, saj je bila ob njegovi uporabi suha masa poganjkov in korenin rastlin manjša. Vsebnost pigmentov (klorofil a in b) v poganjkih se je ob uporabi gnojila povečala pri obeh vrstah. Gnojilo je pri fižolu vplivalo na večji privzem žvepla ter zmanjšan privzem klora na slanih tleh. Ječmen je ob gnojilu bolje privzel fosfor, mangan, cink in žveplo. Tudi pri ječmenu se je ob uporabi gnojila na slanih tleh zmanjšal privzem klora. V koreninah nismo potrdili prisotnosti arbuskularno mikoriznih gliv.
- Zaključki: gnojilo je negativno vplivalo na rast rastlin že pri izpostavitvah brez soli. Negativen učinek gnojila se je še bolj izrazil pri izpostavitvi NaCl. Gnojilo je imelo sicer pozitiven učinek na vsebnost klorofilov in zmanjšal privzem klora rastlin v primeru prekomerne slanosti. Uporabljeno organsko gnojilo ni učinkovito pri odpravljanju simptomov prekomerne slanosti.

Ključne besede: *Phaseolus vulgaris*, *Hordeum vulgare*, slanost, stres, organsko gnojilo, mikoriza

Uvod

Ljudje smo se že pred več tisoč leti naučili kako lahko velike reke izrabljamo za namakanje pridelkov, čeprav te niso v neposredni bližini vodotoka. Se pa je skozi tisočletja povečala tudi količina zemlje, ki jo moramo namakati, da zadostimo potrebam po hrani za rastočo populacijo. S tem se rodovitna zemlja počasi uničuje in izčrpava. Voda, uporabljena za namakanje, ima namreč v sebi raztopljene soli, ki se po izhlapevanju vode kopičijo v zemlji. Tako se slanost v zemlji iz leta v leto povečuje in otežuje pridelavo določenih poljščin, kar se pozna predvsem v dolinah Gangesa, Amu-Darya in Syr-Darya, Inda, Rumene reke, Evfratesa, Murray in Darlinga ter dolini San Joaquin v Ameriki (Qadir in sod., 2014).

Vpliv slanosti tal se bolj odraža na dvokaličnicah kot na enokaličnicah. Dvokaličnice imajo namreč bolj razvite korenine in posledično boljši privzem snovi iz tal. V našem primeru to pomeni tudi večji privzem soli iz tal, kar lahko moti rast in razvoj rastlin. Da bi zmanjšali vpliv soli na rast rastlin, smo jim dodali organsko gnojilo in predpostavili, da koristni mikroorganizmi (npr. mikorizne glive) pripomorejo k izboljšani rasti.

S pojmom mikoriza označujemo simbiotsko obnašanje glive in rastline. V grobem poznamo dve vrsti mikorize, ektomikorizo in endomikorizo. Pri ektomikorizi se gliva oz. njene hife naselijo na površini korenin in v medceličnih prostorih, pri endomikorizi pa hife prodrejo tudi v celice in tam lahko tvorijo arbuskule ali vezikle za izmenjavo snovi. V splošnem je mikoriza koristna za rastline in nekatere izmed njih sploh ne rastejo brez prisotnosti gliv.

Porcel in sod. (2011) navajajo, da v večini primerov mikoriza pozitivno vpliva na rast rastlin na slanih tleh. Gre za boljši privzem hranilnih snovi, večje kopičenje osmotskih regulatorjev, povišano stopnjo fotosinteze in učinkovitejšo izrabo dostopne vode. Učinkovitost simbioze pa je predvsem odvisna od vrste mikorizne glive.

S tem namenom so na trgu komercialno dostopna gnojila, ki vsebujejo mikorizne glive, ki pomagajo rastlinam rasti v sušnih in slanih predelih.

Namen raziskave, ki smo jo izvedli, je bil preveriti vpliv organskega gnojila na rast fižola (*Phaseolus vulgaris*) in ječmena (*Hordeum vulgare*) v zasoljenih tleh, določiti vsebnost pigmentov in mineralno sestavo v odvisnosti od načina izpostavitve rastlin. Kot kriterije smo določili suho in svežo maso korenin in poganjkov, vsebnost fotosinteznih barvil, mineralno sestavo in stopnjo mikorizne kolonizacije.

Materiali in metode

Nastavitev poskusa in rastni parametri

Za izvedbo poskusa smo uporabili dve rastlini, ječmen (*Hordeum vulgare*) kot predstavnika enokaličnic in fižol (*Phaseolus vulgaris*) kot predstavnika dvokaličnic. Rastline smo gojili pri štirih različnih izpostavitvah: zalivanje z navadno vodo, zalivanje z 0,1 M NaCl, organsko gnojilo + zalivanje z navadno vodo in organsko gnojilo + zalivanje z 0,1 M NaCl. Za vsako izpostavitve smo naredili po pet vzporednih ponovitev. Rastline smo prvih 14 dni, 2-krat tedensko zalivali z navadno vodo, potem pa še 21 dni, 2-krat tedensko s 50 mL navadne vode oz. 0,1 M NaCl. Rastline so rasle v rastni komori pri 20 °C in 16/8 urni fotoperiodi. Po 5 tednih smo

poskus zaključili in ločili poganjke od korenin. Korenine smo oprali z vodo in nekaj tanjših korenin shranili v 70 % etanolu za nadaljnje analize.

Merjenje sveže in suhe mase: za določitev sveže mase smo ločeno stekali poganjke in korenine rastlin. Rastlinski material smo nato liofilizirali in določili še suho maso poganjkov in korenin.

Določanje vsebnosti pigmentov

Posušene poganjke rastlin smo strli v prah s pomočjo tekočega dušika. Natehtali smo 30 mg materiala posamezne rastline in dodali 5 mL 80 % acetona. Po 24 urah smo vsebino dopolnili do 5 mL z 80 % acetonom, centrifugirali in izmerili absorbanco vzorcev pri 664, 647 in 470 nm (Monni in sod., 2000).

Določanje mikorizne kolonizacije: v etanolu shranjenim koreninam smo odstranili etanol, dodali 10 % KOH in inkubirali pri 90 °C, 30 minut. Nato smo KOH odstranili, sprali z destilirano vodo, dodali tripsansko modrilo in inkubirali pri 90 °C, 15 minut. Po inkubaciji smo korenine sprali z destilirano vodo in pripravili preparate za določanje mikorizne kolonizacije (Maček, 2008).

Analiza mineralne sestave (rentgenska fluorescentna spektrometrija, XRF)

Iz strtih poganjkov posameznih rastlin smo s pomočjo kalupa in preše pripravili tablete za analizo mineralne sestave. S pomočjo rentgenske fluorescenčne spektroskopije (XRF) smo določili vsebnost mineralov elementov (klor (Cl), kalij (K), kalcij (Ca), fosfor (P), žveplo (S), mangan (Mn) in cink (Zn)) v poganjkih rastlin (Nečemer in sod., 2008).

Statistična obdelava

Podatke smo zbrali v programu Microsoft Excel 2013, statistično analizo pa izvedli z dodatkom za Microsoft Excel, XLSTAT, pri čemer smo uporabili Duncanov test.

Rezultati in diskusija

Sveža in suha masa

Sveža masa poganjkov in korenin fižola

Dodatek soli ni imel statistično značilnega negativnega vpliva na svežo maso poganjkov fižola, razen ob dodatku gnojila, ki je povzročilo signifikantno zmanjšanje sveže mase. Pri rastlinah, ki niso bile izpostavljene soli, se sveža masa poganjkov fižola ni signifikantno razlikovala od rastlin z ali brez dodatka gnojila. Sveža masa korenin se je zmanjšala ob dodatku gnojila v primerjavi z izpostavitvijo brez dodanega gnojila, medtem ko ne opazimo statistično značilne razlike med izpostavitvijo soli v primerjavi s kontrolo, ki smo jo zalivali z vodo. Sveža masa korenin je najnižja v primeru, ko fižolu dodamo gnojilo in ga izpostavimo soli. Gnojilo ima negativen vpliv na svežo maso korenin (Tabela 1).

Suha masa poganjkov in korenin fižola

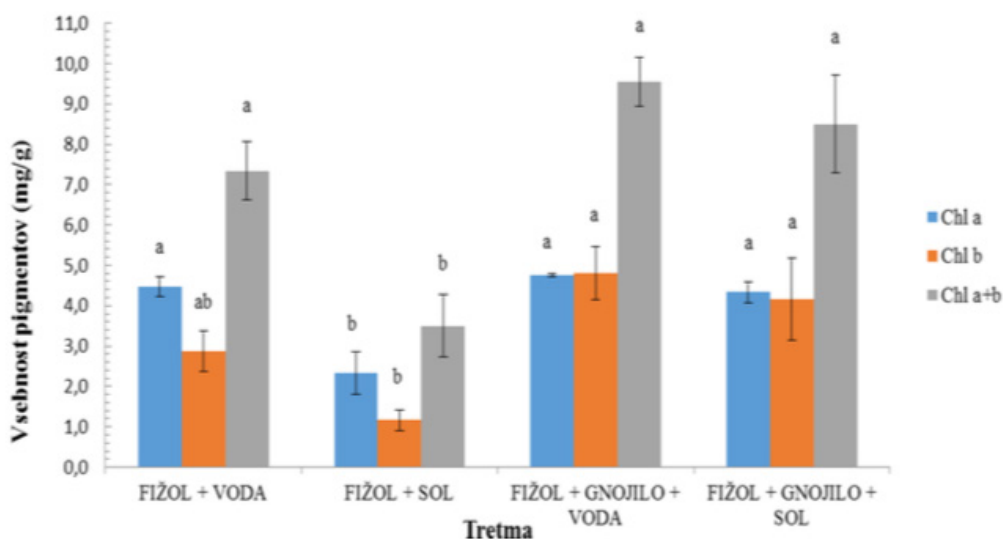
Pri suhi masi poganjkov fižola opazimo podoben trend kot pri sveži masi poganjkov fižola. Gnojilo negativno vpliva na velikost poganjkov, predvsem v zasoljenih tleh, saj povzroči

Tabela 1: Sveža in suha masa poganjkov ter korenin fižola v odvisnosti od uporabljenega tretmaja. Rezultati so prikazani kot povprečne vrednosti \pm SD (n=5). Različne črke zraven vrednosti prikazujejo statistično značilne razlike (Duncanov test, $p < 0,05$).

	POGANJKI		KORENINE	
	sveža masa (g)	suha masa (g)	sveža masa (g)	suha masa (g)
VODA	22,4 \pm 2,17 a	3,03 \pm 0,439 a	5,80 \pm 0,674 a	0,536 \pm 0,070 a
GNOJILO + VODA	20,1 \pm 3,67 a	2,48 \pm 0,447 a	3,53 \pm 0,725 bc	0,266 \pm 0,060 bc
SOL	14,0 \pm 1,96 ab	1,85 \pm 0,293 ab	5,41 \pm 0,670 ab	0,358 \pm 0,040 b
GNOJILO + SOL	11,3 \pm 2,80 b	1,13 \pm 0,298 b	1,95 \pm 0,615 c	0,168 \pm 0,056 c

Tabela 2: Sveža in suha masa poganjkov ter korenin ječmena v odvisnosti od uporabljenega tretmaja. Rezultati so prikazani kot povprečne vrednosti \pm SD (n=5). Različne črke zraven vrednosti prikazujejo statistično značilne razlike (Duncanov test, $p < 0,05$).

	POGANJKI		KORENINE	
	sveža masa (g)	suha masa (g)	sveža masa (g)	suha masa (g)
VODA	4,33 \pm 1,09 a	0,606 \pm 0,176 a	2,35 \pm 0,714 ab	0,390 \pm 0,121 a
GNOJILO + VODA	6,02 \pm 1,11 a	0,618 \pm 0,125 a	1,58 \pm 0,392 b	0,130 \pm 0,035 b
SOL	4,46 \pm 0,495 a	0,598 \pm 0,078 a	4,01 \pm 0,726 a	0,398 \pm 0,077 a
GNOJILO + SOL	3,99 \pm 1,37 a	0,530 \pm 0,170 a	1,53 \pm 0,631 b	0,136 \pm 0,053 b



Slika 1: Vsebnost klorofilov (Chl a, Chl b, Chl a+b) v poganjkih pri fižolu glede na tretma. Rezultati so prikazani kot povprečne vrednosti \pm SD (n=5). Različne črke zraven vrednosti prikazujejo statistično značilne razlike (Duncanov test, $p < 0,05$).

statistično značilno zmanjšanje v primerjavi s kontrolo. Suha masa korenin se statistično značilno zmanjša tako ob dodatku gnojila, kot tudi po izpostavitvi soli. Tudi v tem primeru dodatek gnojila negativno vpliva suho maso korenin po izpostavitvi soli (Tab. 1).

Sveža masa poganjkov in korenin ječmena

Sveža masa poganjkov se med različnimi izpostavitvami statistično značilno ne razlikuje. Sveža masa korenin se ob dodatku gnojila zmanjša, ne glede na to ali so bile korenine izpostavljene soli ali vodi (Tab. 2).

Suha masa poganjkov in korenin ječmena: suha masa poganjkov se med različnimi izpostavitvami statistično značilno ne razlikuje (Tab. 2). Iz preglednice 2 pa lahko vidimo tudi, da je gnojilo negativno vplivalo na suho maso korenin, saj je dodatek gnojila povzročil statistično značilno zmanjšanje suhe mase v primeru izpostavitve vodi, kot tudi soli.

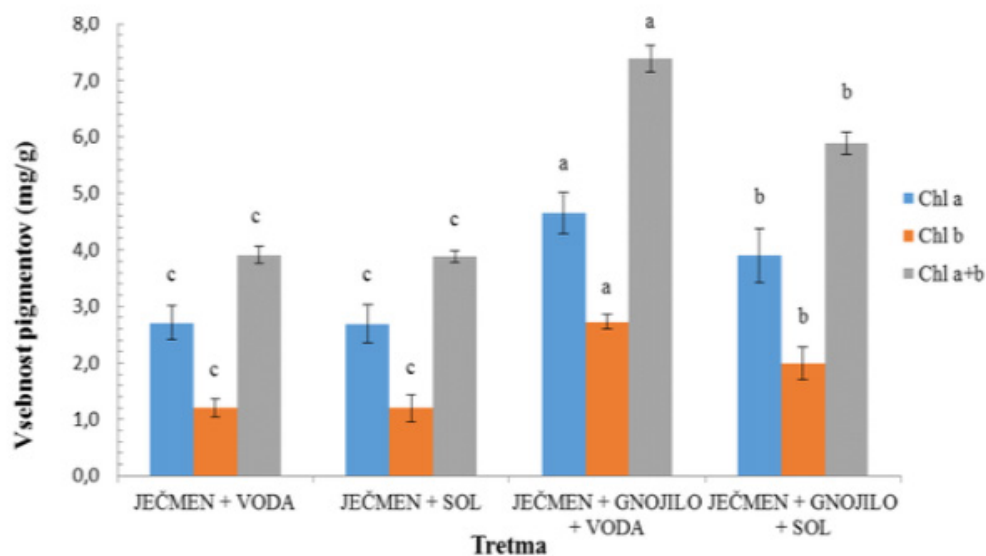
Vsebnost pigmentov

Dodatek gnojila ima statistično značilno pozitiven vpliv na vsebnost klorofilov pri izpostavitvi fižola soli, medtem ko ni bilo signifikantnega vpliva na vsebnost klorofilov pri izpostavitvi vodi (Slika 1).

Na sliki 2 vidimo, da izpostavitve ječmena soli ni imela vpliva na vsebnost klorofilov. Gnojilo je pozitivno vplivalo na vsebnost klorofilov pri ječmenu, saj se vsebnost klorofila a in b ob dodatku gnojila statistično značilno poveča (Slika 2).

Mineralna sestava

Iz preglednice 3 je razvidno, da se po izpostavitvi fižola soli poveča količina klora v poganjkih ter, da gnojilo statistično značilno zmanjša privzem klora v zasoljenih tleh. Izpostavitve soli vpliva na povečano količino fosforja, kalija, kalcija in cinka v poganjkih. Dodatek gnojila in izpostavitve soli pa na povečano količino žvepla in mangana. Vsebnost železa se med različnimi



Slika 2: Vsebnost klorofilov (Chl a, Chl b, Chl a+b) v poganjkih pri ječmenu glede na tretma. Rezultati so prikazani kot povprečne vrednosti \pm SD (n=5). Različne črke zraven vrednosti prikazujejo statistično značilne razlike (Duncanov test, $p < 0,05$).

Tabela 3: Vsebnost makro in mikro elementov (μg rastlina⁻¹) v poganjkih fižola pri dodatku gnojila ali brez dodatka gnojila in izpostavitvi soli ali vodi (oznake: fosfor (P), žveplo (S), klor (Cl), kalij (K), kalcij (Ca), mangan (Mn), železo (Fe) in cink (Zn)). Vrednosti so prikazane kot povprečne vrednosti \pm SD (n=5). Različne črke zraven vrednosti prikazujejo statistično značilne razlike (Duncanov test, $p < 0,05$).

	Vsebnost mineralnih snovi (μg rastlina ⁻¹)							
	P	S	Cl	K	Ca	Mn	Fe	Zn
VODA	124 \pm 13,1 b	49 \pm 7,5 c	823 \pm 201 c	2393 \pm 277 b	1673 \pm 161 b	5,4 \pm 0,4 b	16 \pm 1,7 a	3,3 \pm 0,4 b
GNOJILO + VODA	150 \pm 14,1 b	96 \pm 4,9 b	921 \pm 198 c	2959 \pm 85,5 ab	1662 \pm 117 b	8,4 \pm 0,9 b	26 \pm 8,3 a	4,3 \pm 0,3 b
SOL	204 \pm 10,9 a	90 \pm 8,2 b	6811 \pm 416 a	3905 \pm 520 a	2766 \pm 169 a	5,4 \pm 0,2 b	23 \pm 5,6 a	5,6 \pm 0,9 ab
GNOJILO + SOL	231 \pm 8,60 a	154 \pm 15 a	4332 \pm 376 b	3600 \pm 195 a	2651 \pm 134 a	13 \pm 2,0 a	30 \pm 3,3 a	7,2 \pm 1,2 a

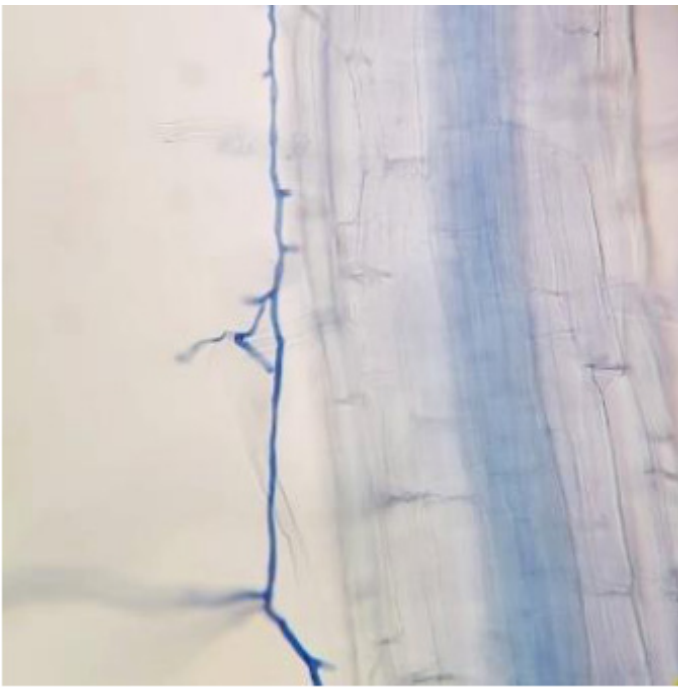
Tabela 4: Vsebnost makro in mikro elementov (μg rastlina⁻¹) v poganjkih ječmena pri dodatku gnojila ali brez dodatka gnojila in izpostavitvi soli ali vodi (oznake: fosfor (P), žveplo (S), klor (Cl), kalij (K), kalcij (Ca), mangan (Mn), železo (Fe) in cink (Zn)). Vrednosti so prikazane kot povprečne vrednosti \pm SD (n=5). Različne črke zraven vrednosti prikazujejo statistično značilne razlike (Duncanov test, $p < 0,05$).

	Vsebnost mineralnih snovi (μg rastlina ⁻¹)							
	P	S	Cl	K	Ca	Mn	Fe	Zn
VODA	72,7 \pm 5,2 c	94,3 \pm 11,6 b	1735 \pm 188 c	4437 \pm 234 ab	281 \pm 31 a	2,3 \pm 0,3 c	17 \pm 8,3 a	3,5 \pm 0,4 c
GNOJILO + VODA	123 \pm 15 b	127 \pm 12,2 ab	1944 \pm 169 c	5310 \pm 393 a	291 \pm 43 a	4,0 \pm 0,3 b	14 \pm 2,2 a	5,4 \pm 0,3 ab
SOL	142 \pm 14 ab	93,6 \pm 3,5 b	5262 \pm 336 a	4901 \pm 296 ab	371 \pm 19 a	2,7 \pm 0,1 c	11 \pm 0,8 a	4,6 \pm 0,3 bc
GNOJILO + SOL	180 \pm 18 a	150 \pm 18,5 a	4195 \pm 540 b	4077 \pm 509 b	350 \pm 39 a	5,3 \pm 0,6 a	13 \pm 0,9 a	6,6 \pm 0,50a

izpostavitvami statistično značilno ne razlikuje (Tabela 3). udi v primeru ječmena, se po izpostavitvi rastlin soli močno poveča količina klora v poganjkih, obenem pa dodatek gnojila zmanjša količino klora v poganjkih. Gnojilo ob izpostavitvi soli vpliva na manjšo količino kalija v poganjkih ječmena v primerjavi z ostalimi izpostavitvami, ter na večji privzem fosforja, žvepla, mangana in cinka. Med različnimi izpostavitvami ne opazimo statistično značilnih razlik med

vsebnostjo kalcija in železa (Tabela 4).

Iz rezultatov je razvidno, da je imelo ob dodatku soli gnojilo pozitiven učinek na vsebnost žvepla in mangana tako pri fižolu, kot tudi pri ječmenu, pri slednjem tudi na koncentracijo fosforja in cinka. Mangan je pri rastlinah pomemben za fotosintezo, je tudi kofaktor številnih encimov (Ishimaru in sod., 2012). Cink je sestavni del številnih transkripcijskih faktorjev in ion prisoten v vseh razredih encimov (Gupata in



Slika 3: Mikroskopski preparat (40-kratna povečava) korenine, kjer endomikoriza ni prisotna, vidimo pa hifo zunaj korenine.

sod., 2016). Žveplo je pomembno za sintezo aminokislin Cys in Met, kakor tudi za širok nabor metabolitov (Saito, 2004). Pomanjkanje elementov se lahko odrazi v zmanjšani rasti rastlin, zato bi lahko na podlagi mineralne sestave pričakovali izboljšanje rasti ob dodatku gnojila, kar pa ni razvidno iz

rezultatov analize mase poganjkov in korenin. Kakor prenizke, lahko tudi previsoke koncentracije elementov povzročijo zmanjšanje rasti in posledično biomase rastlin, kar bi lahko pojasnilo nižjo biomaso rastlin ob dodatku gnojila. Brez analize vsebnosti elementov v prsti brez gnojila in z gnojilom ne moremo razpravljati o tovrstnih vzrokih za negativen učinek gnojila na biomaso.

Mikorizna kolonizacija

Preverili smo ali je bila zaradi uporabe organskega gnojila pri rastlinah prisotna arbuskularna mikoriza. Po pregledu preparatov korenin endomikorize nismo zaznali, opaziti je bilo le nekaj hif zunaj korenin (Slika 3).

V primeru, ko smo rastline obravnavali z organskim gnojilom, smo na vrhu opazili pojav micelija gliv (Slika 4a). Ta je bil prisoten tudi v samem organskem gnojilu (Slika 4b).

Zaključki

Predpostavljali smo, da gnojilo vsebuje koristne mikrobo, ki bodo pomagali rastlinam preživeti solni stres. S pripravo in pregledom preparatov pod mikroskopom smo ugotovili, da endomikoriza ni bila prisotna. Opazili pa smo pojav plesni na gnojilu in v prsti, kjer smo gnojilo dodali; predvidevamo, da gre za drugo vrsto, ne-mikoriznih gliv. Ugotovili smo, da se gnojenje z izbranim pripravkom ne odrazi v boljši rasti rastlin. V nobenem primeru (pri fižolu ali ječmenu) ob dodatku gnojila ne opazimo statistično značilno večje suhe mase poganjkov ali korenin v primerjavi s kontrolo, ki gnojila ni vsebovala, je pa bila enako izpostavljena vodi ali pa raztopini 0,1 M NaCl. S tem smo



Slika 4: Opazovana plesen na površini prsti (4a) in na površini organskega gnojila (4b), ki se je tekom poskusa razširila. Gnojilo ni omogočilo uspešne kolonizacije korenin z mikoriznimi glivami (Slika 3). Pojav micelija na površini gnojila v kateri smo gojili rastline ter na preparatih nakazuje prisotnost ne-mikoriznih gliv. Nadaljnje morfološke analize podprte z molekularnimi pristopi za identifikacijo gliv bi lahko potrdile ali gre na površini gnojila in prsti za isto vrsto gliv.

našo hipotezo, da bo organsko gnojilo prispevalo k boljši rasti rastlin, zavrnilo, saj v večini primerov gnojilo celo negativno vpliva na suho maso poganjkov in korenin. Izkazalo se je, da ima gnojilo pozitiven vpliv na vsebnost pigmentov (klorofila a in b) v poganjkih. Ugotovili smo, da izpostavitve soli bolj vpliva na zmanjšanje pigmentov pri fižolu, ki je dvokaličnica, kot pri ječmenu, ki je enokaličnica. To je posledica povečanega privzema klorida pri fižolu (dvokaličnica). Na⁺ in Cl⁻ ioni znižujejo aktivnost encimov, ki sodelujejo pri biosintezi klorofilov in motijo integracijo molekul klorofila v stabilni kompleks. Nižja vsebnost klorofila omejuje fotosintezo in posledično primarno produktivnost v rastlinah (Garriga in sod., 2014). Da izpostavitve fižola NaCl vpliva na zmanjšanje klorofila v svoji študiji poročajo že Bhivare in sod. (1984). V primeru izpostavitve rastlin soli (0,1 M NaCl) opazimo pričakovano povečanje koncentracije klorida (Cl) tako pri fižolu, kot tudi pri ječmenu v primerjavi s kontrolo. Izkaže se, da rastline v prisotnosti soli nekoliko bolje privzemajo fosfor (P) glede na kontrolo. Enako kot v študiji Bhivare in sod. (1984), tudi pri naših rezultatih opazimo, da tretiranje fižola z NaCl vpliva na večjo količino fosforja (P) v poganjkih. Gnojilo je pri obeh vrstah zmanjšalo privzem klorida v slanih tleh.

Literatura

- Atkinson S. F., Miller G. D., Curry D. S., Lee S. B. 2018. Salt water intrusion. Boca Raton, Environmental and ground water institute, CRC Press: 387 str.
- Bhivare V. N., Nimbalkar J. D. Salt stress effects on growth and mineral nutrition of French beans. *Plant and Soil*, 80: 91-98
- Garriga M., Retamale J.B., Romero-Bravo S., Caligari P.D.S., Lobos G.A. 2014. chlorophyll, anthocyanin, and gas exchange changes assessed by spectroradiometry in *Fragaria chiloensis* under salt stress. *Journal of intergrative plant biology*, 56, 5: 505-515
- Gupta, N., Ram, H., and Kumar, B. 2016. Mechanism of Zinc absorption in plants: uptake, transport, translocation and accumulation. *Rev. Environmental Science and Biotechnology*. 15, 89–109. doi: 10.1007/s11157-016-9390-1
- Ishimaru, Y., Bashir, K., Nakanishi, H., and Nishizawa, N. K. 2012. OsNRAMP5, a major player for constitutive iron and manganese uptake in rice. *Plant Signaling and Behaviour*, 7: 763–766. doi: 10.4161/psb.20510
- Maček I. 2008. Molekularni pristopi pri raziskavah arbuskularne mikorize. *Acta agriculturae slovenica*, 93: 77-85
- Monni S., Uhlig C., Hansen E., Magel E. 2000. Ecophysiological responses of *Empetrum nigrum* to heavy metal pollution. *Environmental pollution*: 112-123
- Nečemer M., Kump P., Ščančar J., Jačimović R., Simčič J., Pelicon P., Budnar M., Jeran Z., Pongras P., Regvar M., Vogel-Mikuš K. 2008. Application of X-ray fluorescence analytical techniques in phytoremediation and plant biology studies. *Spectrochimica acta part B: Atomic spectroscopy*, 63, 11: 1240-1247
- Saito K 2004. Sulfur assimilatory metabolism. The long and smelling road. *Plant Physiology* 136: 2443–2450
- Sayeed Akhtar M., Siddiqui Z. A, Wiemken A. 2011. Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Rhizobium to Control Plant Fungal Diseases. V: *Alternative Farming Systems, Biotechnology, Drought Stress and Ecological Fertilisation*. Lichtfouse E. (ur.). Springer Science+Business Media B.V.: str. 263 -292