

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Marjana JELAVIĆ

**VODNA BILANCA S SELENOM TRETIRANE TATARSKE AJDE
(*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.) OB RAZLIČNI
RAZPOLOŽLJIVOSTI VODE V OKOLJU**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**WATER BALANCE OF SELENIUM TREATED TARTARY
BUCKWHEAT (*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.) AT DIFFERENT
WATER AVAILABILITY**

GRADUATION THESIS
University Studies

Ljubljana, 2013

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija agronomije. Delo je bilo opravljeno na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete in na Katedri za aplikativno botaniko, ekologijo, fiziologijo rastlin in infomatiko Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorja diplomske naloge imenovala prof. dr. Dominika VODNIKA in za somentorja akademika prof. dr. Ivana KREFTA.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:	prof. dr. Franc BATIČ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
Član:	prof. dr. Dominik VODNIK Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
Član:	akademik prof. dr. Ivan KREFT Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
Članica:	prof. dr. Marina PINTAR Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Marjana JELAVIĆ

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 633.12:631.82:546.23:581.11 (043.2)
KG	tatarska ajda/selen/vodna bilanca/vodni potencial/fotosinteza
KK	AGRIS F01/F04/F60
AV	JELAVIĆ, Marjana
SA	VODNIK, Dominik (mentor), KREFT, Ivan (somentor)
KZ	SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
LI	2013
IN	VODNA BILANCA S SELENOM TRETIRANE TATARSKE AJDE (<i>Fagopyrum tataricum</i> (L.) Gaertn.) OB RAZLIČNI RAZPOLOŽLJIVOSTI VODE V OKOLJU
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	X, 42 str., 5 pregl., 16 sl., 62 vir.
IJ	sl
JJ	sl/en
AI	Z dodajanjem selena (Se), ki je udeležen pri obrambi pred sekundarnim oksidativnim stresom, bi lahko vplivali na fiziološko stanje rastlin in na njihovo sposobnost premagovanja stresa. Namen diplomskega dela je bil ugotoviti, ali bo s selenom tretirana tatarska ajda v primerjavi z netretirano uspešneje uravnavala svojo vodno bilanco ob slabši razpoložljivosti vode v okolju. Glede na dosedanja znanja smo pričakovali, da se bodo ob različnih rastnih razmerah (različna razpoložljivost vode v tleh, temperatura) rastline, tretirane s Se, drugače odzivale s prevodnostjo listnih rež, fotosintezo in transpiracijo. Poskus je bil postavljen leta 2010 na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete. Izvajali smo ga na prostem, kar pomeni, da je bil prepuščen okoljskim razmeram. V treh različnih terminih in sicer: 1. 7., 5. 7. in 12. 7. 2010. smo merili vodni potencial s tlačno (Scholanderjevo) komoro in fotosintezo oz. prevodnost listnih rež s porometrom (Li-6400, LiCor). Po rezultatih merjenja vodnega potenciala lahko sklepamo, da obravnavane rastline niso utrpеле resnejšega pomanjkanja vode. Značilne razlike med s selenom tretirano in netretirano tatarsko ajdo nismo uspeli dokazati. Možno je, da v našem primeru pomanjkanje vode ni bilo izraženo tako ekstremno, da bi se protistresni potencial selena lahko nakazal.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn
DC UDK 633.12:631.82:546.23:581.11 (043.2)
CX tartary buckwheat/selenium/water balance/water potential/photosynthesis
CC AGRIS F01/F04/F60
AU JELAVIĆ, Marjana
AA VODNIK, Dominik (supervisor), KREFT, Ivan (co-supervisor)
PP SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Fakulteta, Department of Agronomy
PY 2013
TI WATER BALANCE OF SELENIUM TREATED TARTARY BUCKWHEAT
(*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.) AT DIFFERENT WATER AVAILABILITY
DT Graduation Thesis (University Studies)
NO X, 42 p., 5 tab., 16 fig., 62 ref.
LA sl
AL sl/en
AB With addition of selenium, which is involved in defense against secondary oxidative stress, we could affect the physiological condition of plants and their ability to cope with stress. The aim of this study was to estimate whether selenium treated Tartary buckwheat regulates its water balance at low water availability in the environment more effectively compared to untreated one. According to current knowledge, we expected plants treated with Se to respond differently with a conductivity of leaf stomata, photosynthesis and transpiration at different growing conditions (different water availability in soil, temperature). The experiment was conducted in 2010 at the laboratory field of the Biotechnical Faculty. It was performed outside, which means that the plants have been exposed to environmental conditions. Measurements were carried out at three different days as follows: 1.7., 5.7. and 12.07.2010. At the same time we measured the water potential with a pressure (Scholander) chamber and photosynthesis with Li-6400 (LiCor). On the basis of measured water potential values it can be assumed that Se treated plants did not suffer serious water shortage. Significant differences between treated and untreated Tartary buckwheat were not demonstrated. In our case, the lack of water was probably not expressed to such an extent that the antioxidant potential of selenium could be indicated.

KAZALO VSEBINE

	str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	VIII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	X
1 UVOD	1
1.1 OPREDELITEV PROBLEMA IN NAMEN DIPLOMSKE NALOGE	1
1.2 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 SELEN V PREHRANI	3
2.2 OBOGATITEV KULTURNIH RASTLIN S SELENOM	4
2.3 SELEN V RASTLINAH	4
2.4 VPLIV EKSOGENEGA SELENA NA RAST IN RAZVOJ RASTLIN	6
2.5 VPLIV EKSOGENEGA SELENA NA FIZIOLOŠKE PROCESSE	8
2.5.1 Odziv s selenom obogatenih rastlin na abiotske stresne dejavnike	8
2.5.2 Odziv s selenom obogatenih rastlin na pomanjkanje vode	10
3 MATERIAL IN METODE	12
3.1 AJDA	12
3.1.1 Navadna ajda	12
3.1.2 Tatarska ajda	13
3.2 POLJSKI POSKUS	13
3.2.1 Izvor semena	14
3.3 MERITVE	14
3.3.1 Merjenje vodnega potenciala in fotosinteze	14
3.3.2 Merjenje biomase	16
3.4 VREMENSKE RAZMERE	16
3.4.1 Temperatura zraka	17
3.4.2 Padavine	18
3.5 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV	19
4 REZULTATI	20
4.1 MERITVE 1. JULIJA 2010	20
4.1.1 Vremenske razmere in količina vode v tleh	20
4.1.2 Dnevni potek vodnega potenciala in prevodnosti listnih rež	20
4.1.3 Dnevni potek neto fotosinteze in transpiracije	22
4.2 MERITVE 5. JULIJA 2010	23
4.2.1 Vremenske razmere in količina vode v tleh	23
4.2.2 Dnevni potek vodnega potenciala in prevodnosti listnih rež	24
4.2.3 Dnevni potek neto fotosinteze in transpiracije	25

4.3	MERITVE 12. JULIJA 2010	26
4.3.1	Vremenske razmere in količina vode v tleh	26
4.3.2	Dnevni potek vodnega potenciala in prevodnosti listnih rež	27
4.3.3	Dnevni potek neto fotosinteze in transpiracije	29
4.4	MERITVE BIOMASE	30
4.4.1	Meritve biomase tatarske ajde	30
4.4.2	Meritve biomase navadne ajde	32
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	33
6	POVZETEK	37
7	VIRI	38
	ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

str.

Preglednica 1: Učinki različnih Se spojin na različne rastlinske vrste	8
Preglednica 2: Povprečna osvetljenost ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), koncentracija CO_2 ($\mu\text{mol mol}^{-1}$), temperatura ($^{\circ}\text{C}$) in zračna vlaga (%) v treh meritvenih terminih	16
Preglednica 3: Voda v tleh (vol %) ter opoldanski vodni potencial (MPa) navadne ajde (NA), tatarske ajde (TA) ter s selenom tretirane tatarske ajde (TA_{SE}). Meritve so bile opravljene 1. 7. 2010. Prikazana so povprečja 12 ponovitev $\pm$ standardne napake pri vodi v tleh ter povprečja 6 ponovitev $\pm$ standardne napake pri opoldanskem vodnem potencialu. Statistično smo testirali razlike med povprečji.	20
Preglednica 4: Voda v tleh (vol %) ter opoldanski vodni potencial (MPa) navadne ajde (NA), tatarske ajde (TA) ter s selenom tretirane tatarske ajde (TA_{SE}). Meritve so bile opravljene 5. 7. 2010. Prikazana so povprečja 12 ponovitev $\pm$ standardne napake pri vodi v tleh ter povprečja 6 ponovitev $\pm$ standardne napake pri opoldanskem vodnem potencialu. Statistično smo testirali razlike med povprečji.	24
Preglednica 5: Voda v tleh (vol %) ter opoldanski vodni potencial (MPa) navadne ajde (NA), tatarske ajde (TA) ter s selenom tretirane tatarske ajde (TA_{SE}). Meritve so bile opravljene 12. 7. 2010. Prikazana so povprečja 12 ponovitev $\pm$ standardne napake pri vodi v tleh ter povprečja 6 ponovitev $\pm$ standardne napake pri opoldanskem vodnem potencialu. Statistično smo testirali razlike med povprečji.	27

KAZALO SLIK

str.

Slika 1: Razporeditev gredic znotraj štirih ponovitev, kjer je NA navadna ajda, TA tatarska ajda in TA _{SE} tatarska ajda tretirana s selenom	14
Slika 2: Razporeditev meritev s tlačno komoro in porometrom po gredicah, kjer je NA navadna ajda, TA tatarska ajda in TA _{SE} tatarska ajda tretirana s selenom. Številka predstavlja zaporedno meritev.	14
Slika 3: Povprečne (T povp), minimalne (T min) in maksimalne (T max) temperature (°C) za meteorološko postajo Bežigrad v mesecu juniju 2010 (Cegnar, 2010a)	17
Slika 4: Povprečne (T povp), minimalne (T min) in maksimalne (T max) temperature (°C) za meteorološko postajo Bežigrad v mesecu juliju 2010 (Cegnar, 2010b)	18
Slika 5: Količina dnevnih padavin (mm) za meteorološko postajo Bežigrad v mesecu juniju 2010 (Cegnar, 2010a)	18
Slika 6: Količina dnevnih padavin (mm) za meteorološko postajo Bežigrad v mesecu juliju 2010 (Cegnar, 2010b)	19
Slika 7: Povprečni vodni potencial (A) (MPa) in povprečna prevodnost listnih rež (B) (mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹) navadne (označena s Δ), s selenom tretirane tatarske (označena s ■) in netretirane tatarske (označena s □) ajde 1.7.2010	21
Slika 8: Povprečna neto fotosinteza (A) (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹) in transpiracija (B) (mol m ⁻² s ⁻¹) navadne (označena s Δ), s selenom tretirane tatarske (označena s ■) in netretirane tatarske (označena s □) ajde 1.7.2010	23
Slika 9: Povprečni vodni potencial (A) (MPa) in povprečna prevodnost listnih rež (B) (mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹) navadne (označena s Δ), s selenom tretirane tatarske (označena s ■) in netretirane tatarske (označena s □) ajde 5.7.2010	25
Slika 10: Povprečna neto fotosinteza (A) (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹) in transpiracija (B) (mol m ⁻² s ⁻¹) navadne (označena s Δ), s selenom tretirane tatarske (označena s ■) in netretirane tatarske (označena s □) ajde 5.7.2010	26
Slika 11: Povprečni vodni potencial (A) (MPa) in povprečna prevodnost listnih rež (B) (mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹) navadne (označena s Δ), s selenom tretirane tatarske (označena s ■) in netretirane tatarske (označena s □) ajde 12.7.2010	28
Slika 12: Povprečna prevodnost listnih rež (mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹) navadne (označena s Δ), s selenom tretirane tatarske (označena s ■) in netretirane tatarske (označena s □) ajde 12.7.2010 z začetkom ob 10:50	28

- Slika 13:** Povprečna neto fotosinteza (A) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) in transpiracija (B) ($\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) navadne (označena s Δ), s selenom tretirane tatarske (označena s $\blacksquare$) in netretirane tatarske (označena s $\square$) ajde 12.7.2010 30
- Slika 14:** Povprečna sveža in suha masa (g) stebel na rastlino pri netretirani (označena z $\square$) in s selenom tretirani (označena z $\blacksquare$) tatarski ajdi 31
- Slika 15:** Povprečna sveža in suha masa (g) listov na rastlino pri netretirani (označena z $\square$) in s selenom tretirani (označena z $\blacksquare$) tatarski ajdi 31
- Slika 16:** Povprečna sveža in suha masa (g) semen na rastlino pri netretirani (označena z $\square$) in s selenom tretirani (označena z $\blacksquare$) tatarski ajdi 32

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

Se	selen
Cys	cistein
SeCys	selenocistein
SeMet	selenometionin
RDA	priporočen dnevni vnos
GPX	encimi iz družine glutathion peroksidaz
PHGPX	fosfolipid hidroperoksid glutathion peroksidaza
PS II	fotosistem II
MDA	malondialdehid
SOD	superoksid dismutaza
PEG	polietilen glikol
MG	metilglioksal
IRGA	infrardeči CO ₂ analizator
FDR	frequency domain reflectometry
H₂O₂	vodikov peroksid

1 UVOD

Selen (Se) je pomemben kemijski element, ki ga v naravi najdemo v zelo majhnih koncentracijah. Nahaja se v VI. skupini periodnega sistema, med žveplom in telurjem. Spada med metaloide, ki imajo lastnosti tako kovin kot nekovin. Leta 1818 ga je odkril J. J. Berzelius (Partington, 1964).

Se je nujno mikrohranilo za ljudi in živali. Njegova esencialna vloga je znana relativno kratek čas. Schwarz in Foltz sta leta 1957 s pionirskim delom dokazala, da je selen v majhnih koncentracijah pomemben za živali. Nadaljnja raziskovanja so privedla do odkritja, da je sestavni del encima glutation peroksidaze (Rotruck in sod., 1973) in mnogih drugih funkcionalnih selenoproteinov, ki imajo v organizmu številne katalitične vloge. Primarni vir selena za ljudi in živali je hrana. Priporočljiv dnevni vnos za zdravega odraslega človeka znaša 55 µg/dan. Ta količina zadovolji potrebe po 25 znanih selenoproteinih in poskrbi za splošno zdravje. Pogosto je za ljudi značilen manjši vnos od priporočenega in sicer zaradi tal, ki so marsikje revna s selenom. Njegovo pomanjkanje v prehrani lahko preprečimo z uporabo selenovih prehranskih dopolnil. Poleg tega, pa je možno z dodajanjem selena kulturnim rastlinam doseči povečano vsebnost tega elementa v hrani in s tem tudi zagotoviti primeren vnos. Tako obogatena živila prištevamo v skupino »funkcionalnih« živil (Spence, 2006).

V nasprotju s človekom za višje rastline še ni dokazano, ali za svoje delovanje potrebujejo selen, saj selenoproteinov v rastlinah še niso odkrili. Mnoge raziskave kažejo, da imajo majhne količine selena pozitivne učinke na rast in razvoj rastlin. Razlog za povečano rast, bi lahko bil njegov antioksidativni učinek, ki je v stresnih razmerah zelo pomemben. Antioksidanti v rastlinah preprečujejo nastajanje poškodb in pomagajo pri preživetju rastline v slabših razmerah. Torej so ključnega pomena pri uspešnosti posamezne rastlinske vrste v določenem okolju. Te se namreč razlikujejo v antioksidativnih mehanizmi in se posledično različno odzivajo na stresne dejavnike.

Ajda je bila v preteklosti zelo cenjena in pogosta jed predvsem revnih ljudi, nato pa je z umikanjem bolj rodovitnim poljščinam začela toniti v pozabo. Žlahtnjenje in selekcija pri ajdi tako nista močno napredovala v primerjavi z ostalimi žiti (Halbrecq in sod., 2005), kar je razlog, da bi ajda lahko imela vrsto odpornosti proti različnim stresnim dejavnikom.

1.1 OPREDELITEV PROBLEMA IN NAMEN DIPLOMSKE NALOGE

Kmetijske rastline so pogosto izpostavljene neugodnim okoljskim dejavnikom, ki vodijo v stresno stanje. Z dodajanjem selena, ki je udeležen pri obrambi pred sekundarnim oksidativnim stresom, bi lahko vplivali na fiziološko stanje rastlin in na njihovo

sposobnost premagovanja stresa. Z obogatitvijo rastlin bi prav tako povečali količino naravno prisotnega selena in ustvarili funkcijsko živilo, ki bi pomagalo zadostiti človekovo dnevno potrebo po selenu.

Namen diplomskega dela je bil ugotoviti ali bo s selenom tretirana tatarska ajda uspešneje uravnavala svojo vodno bilanco ob slabši razpoložljivosti vode v okolju v primerjavi z netretirano tatarsko ajdo. Prav tako nas je zanimalo ali je regulacija vodne bilance vrstno specifična lastnost, zato smo prevodnost listnih rež in vodni potencial opazovali tudi pri navadni ajdi.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

Predvidevali smo, da se bodo fiziološki parametri med s selenom tretiranimi in netretiranimi rastlinami razlikovali. Glede na dosedanja znanja smo pričakovali, da se bodo ob različnih rastnih razmerah (različna razpoložljivost vode v tleh, temperatura) rastline, tretirane s Se, različno odzivale s prevodnostjo listnih rež, fotosintezo in transpiracijo. Pričakovali smo, da bo vodni potencial pri tretiranih rastlinah manj negativen oz. razpoložljivost vode v rastlini večja, ter da bo večja prevodnost rež omogočala intenzivnejšo fotosintezo.

2 PREGLED OBJAV

2.1 SELEN V PREHRANI

Selen (Se) je esencialno mikrohranilo za ljudi in živali. Njegov primarni vir je hrana. V začetku 20. stoletja se je uveljavilo, da je Se toksičen element, saj se je živina, ki je pri paši uživala rastline rodu *Astragalus*, *Xylorrhiza*, *Oonopsis* in *Stanleya*, zastrupila. Te rastline so akumulatorji in lahko kopičijo velike količine Se, kar je bil tudi razlog za zastrupitev. Kasneje sta Schwarz in Foltz (1957) s pionirskim delom dokazala, da Se v majhnih koncentracijah prepreči nekrozo jeter pri podganah, ki jim primanjkuje E vitamina. Nadaljnja raziskovanja so privedla do odkritja, da je Se sestavni del encima glutation peroksidaza (Rotruck in sod., 1973) in številnih drugih funkcionalnih selenoproteinov. Aminokislino selenocistein (SeCys) uvrščamo med 21 esencialnih aminokislin.

Selenoproteini imajo v človeškem organizmu številne vloge. Encimi iz družine glutation peroksidaz (GPX) delujejo kot antioksidanti in sicer odstranjujejo vodikov peroksid (H_2O_2), lipidne in fosfolipidne hidroperoksidge. Selenoproteini iz družine jodotironin dejodinaz sodelujejo pri kontroli metabolizma hormonov žleze ščitnice. Antioksidativno vlogo imajo tudi selenoproteini iz družine tioredoksin reduktaz, ki uravnavajo redoks procese v celici. Selenofosfat sintetaza je encim, ki sodeluje pri izgradnji aminokislina SeCys (Roy in sod., 2005).

Za optimalno izgradnjo selenoproteinov je potrebno zaužiti zadostne količine Se. Leta 1989 je bil določen priporočljiv dnevni vnos (RDA – Recommended Dietary Allowance), ki velja še danes, in znaša 55 $\mu\text{g}/\text{dan}$ za zdravega odraslega človeka. Ta količina zadostuje človekove potrebe po 25 znanih selenoproteinih in poskrbi za splošno zdravje (Reid in sod., 2004).

Kot maksimalna varna zaužita količina Se je bila določena vrednost 400 $\mu\text{g}/\text{dan}$, ker ob večjih količinah lahko pride do zastrupitve (selenoze). Tipični znaki prevelikih zaužitih količin so zadah po česnu, morfološke spremembe in izguba las. Kot znaki selenoze pa se pojavljajo nekrotična degeneracija jeter, fibroza ledvic in miokardialna kongestija. Prevelike zaužite količine lahko povzročajo tudi poškodbe DNA (Letavayova in sod., 2006).

Na drugi strani pomanjkanje Se vodi do sprememb na ožilju, degeneracije pankreasa, zaostajanja v rasti in zmanjšanja plodnosti. Pomembnejši sta dve bolezni, ki sta povezani z dolgoročnim pomanjkanjem Se v prehrani in sicer Keshanova bolezen, ki povzroča težave z delovanjem srca in Kashin-Beckova bolezen, ki prizadene predvsem sklepe in mišice. S pomanjkanjem Se povezujejo tudi multiplo sklerozo, cistično fibrozo, distrofijo mišic, raka, golšavost itd. Mnoge raziskave kažejo, da je s pomanjkanjem povezan oslavljen

imunski odziv in s tem pospešeno napredovanje nekaterih virusnih okužb (npr. HIV). Kot minimalna zahtevana dnevna količina vnosa selen, je bila določena vrednost 40 µg/dan, medtem ko uživanje manjše količine od 11 µg/dan povzroča simptome pomanjkanja (Letavayova in sod., 2006).

2.2 OBOGATITEV KULTURNIH RASTLIN S SELENOM

Se vstopi v prehranjevalno verigo skozi rastline, ki so ga sposobne privzeti iz tal. Njegova količina in dostopnost v tleh je zelo različna, kar je odvisno od vrste tal in klimatskih razmer. Tla v Novi Zelandiji, določenih območjih Kitajske, vzhodnem delu Sibirijske, Koreji in na Finskem so revna s Se, medtem ko večje količine Se najdemo v ZDA, Kanadi, delu Azije in Avstraliji (Combs, 2001). V Sloveniji naj bi se vrednost Se v tleh gibala od 0,1 do 0,7 mg/kg, kar pomeni, da tudi pri nas v tleh primanjkuje Se (Pirc in Šajn, 1997). Zaradi slabše biorazpoložljivosti Se v tleh, je za ljudi značilen manjši vnos od priporočenega.

Pomanjkanje Se lahko preprečimo z uporabo selenovih prehranskih dopolnil, poleg tega, pa je smiselno gojenje s Se obogatenih kmetijskih rastlin in s tem povečanje naravno prisotnega Se v rastlinah. Tako obogatena živila prištevamo v skupino »funkcionalnih« živil (Spence, 2006).

Obogatitev rastlin s selenom lahko dosežemo na različne načine:

- namakanje semen
- dodajanje selen, v zemljo z mineralnimi gnojili
- foliarno škropljenje
- aeroponsko gojenje
- hidroponsko gojenje

2.3 SELEN V RASTLINAH

Živali in bakterije potrebujejo selen za normalno celično delovanje, saj je ta element sestavni del selenoproteinov, kot so npr. glutation peroksidaze, format dehidrogenaze in selenofosfat sintaze, ki imajo v organizmu številne katalitične vloge. Za višje rastline še ni dokazano ali lahko tvorijo selenoproteine, ker jih s klasičnimi postopki določanja proteinov zaenkrat še niso odkrili (Terry in sod., 2000). Obstaja pa nekaj posrednih dokazov o njihovi prisotnosti.

Družina GPX zajema številne izoencime, ki z reduciranim glutationom katalizirajo redukcijo vodikovega peroksida (H_2O_2), organskih in lipidnih hidroperoksidov ter tako obvarujejo celice pred poškodbami po prostih radikalih. Ti encimi vsebujejo aminokislino SeCys, ki nastane z nadomestitvijo žvepla s Se v cisteinu (Cys). V številnih rastlinskih vzorcih so našli reduciran H_2O_2 , ki nakazuje na prisotnost GPX, vendar pa so ti encimi

lahko le encimi s podobnim učinkom. Nekaj takih proteinov, ki so po svojem delovanju podobni živalski GPX, so izolirali iz vrst *Aloe vera* in *Chlamydomonas reinhardtii*. Proteini iz vrste *Chlamydomonas reinhardtii* so v svoji strukturi vsebovali tudi Se (Eshdat in sod., 1997).

Iz številnih rastlinskih vzorcev so izolirali gene z značilno sekvenco, ki je enaka živalskim genom za sintezo encima fosfolipid hidroperoksid glutation peroksidaza (PHGPX), ki pripada GPX družini. PHGPX encim so uspeli izolirati iz citrusov, vendar se je razlikoval od živalskega PHGPX po tem, da je vseboval Cys namesto SeCys (Eshdat in sod., 1997).

SeCys, ki je potreben za sintezo GPX, se vgradi v proteine s pomočjo UGA kodona. Ta kodon je univerzalen, zato je za vgraditev SeCys potrebna ustrezna tRNA, ki vsebuje UGA antikodon. Pri vrsti *Chlamydomonas reinhardtii* in sladkorni pesi je bil odkrita tRNA, specifičen za SeCys (Terry in sod., 2000).

Vsebnost Se v rastlinah je različna in predvsem odvisna od njegove vsebnosti v tleh in sposobnosti rastline za privzem le-tega. Rastline lahko, glede na zmožnost kopičenja Se v tkivu, delimo na neakumulatorje, primarne akumulatorje in sekundarne akumulatorje. K neakumulatorjem prištevamo večino krmnih in kulturnih rastlin, katere vsebujejo koncentracijo od 0,01 do 1,0 mg Se kg⁻¹ suhe mase, če rastejo v tleh, ki so bogata s Se, pa največ 100 mg Se kg⁻¹ suhe mase. V skupino primarnih akumulatorjev (hiperakumulatorjev) uvrščamo številne vrste iz rodu *Astragalus*, *Stanleya*, *Morinda*, *Neptunia*, *Oenopsis* in *Xylorhiza*, ki lahko v tkivu kopičijo velike koncentracije Se in sicer od 100 do več 1000 mg Se kg⁻¹ suhe mase. Najpogosteje jih najdemo na tleh, ki so naravno bogata s Se. Sekundarni akumulatorji (indikatorji) Se pa lahko kopičijo do 1000 mg Se kg⁻¹ suhe mase. V to skupino uvrščamo vrste iz rodu *Aster*, *Astragalus*, *Atriplex*, *Castilleja*, *Comandra*, *Grayia*, *Grindelia*, *Gutierrezia* in *Machaeranthera* (Terry in sod., 2000).

Rastline lahko iz tal privzamejo različne oblike Se: selenat, selenit in organske oblike, kot so selenometionin (SeMet). Najučinkoviteje se absorbira selenat, saj njegov privzem poteka s pomočjo sulfatnih prenašalcev v membrani koreninskih celic. Zato selenat za privzem nenehno tekmuje s sulfatom. Pri velikih koncentracijah žvepla v tleh, lahko opazimo, da se zmanjša privzem selenata. Nasprotno pa se pri akumulatorskih rastlinah njegov privzem ne zmanjša, saj ima prednost pred sprejemom žvepla. Mutanti navadnega repnjakovca (*Arabidopsis thaliana*), ki jim primanjkuje funkcionalnih žveplovih transporterjev, pa so na selenat odporni (Ellis in Salt, 2003).

Po privzemu selenata iz tal, se ta takoj prenese v kloroplaste, kjer se reducira do selenita, ta pa naprej do selenida. Redukcija selenita do selenida poteka brez pomoči encimov, kar je tudi razlog, da se selenit lažje asimilira kot pa selenat. Po redukciji nastanejo selenoaminokisliline, kot npr. SeCys in SeMet. Selenoaminokisliline se lahko neomejeno

vgrajujejo v proteine, kar pripomore k toksičnosti Se. Pri hiperakumulatorjih se SeCys in Cys nato pretvorita v metilselenocistein in metilcistein. Metilacija prepreči nespecifično vgrajevanje SeCys v proteine in njegovo pretvorbo v SeMet, kar omogoča veliko toleranco hiperakumulatorjev na Se (Ellis in Salt, 2003).

Prenos Se od korenin v nadzemne dele je odvisen od oblike spojine. Razmerje koncentracije selenata v poganjkih proti koncentraciji v koreninah lahko doseže vrednost od 1,4 do 17,2, medtem ko je razmerje za SeMet od 0,6 do 1, pri selenitu pa manjše od 0,5. V treh urah se pri fižolu po privzemu iz tal prenese iz korenin v poganjke 50 % selenata, medtem ko selenit večinoma ostane v koreninah. Torej prenos selenata poteka veliko lažje, kot pa prenos selenita ali SeMet, kar je tudi razlog, da je njegova koncentracija v listih večja. Prenos selenita je otežen, ker se le-ta hitro pretvori v organski selen npr. SeMet, ki ostane v koreninah (Terry in sod., 2000).

Razporeditev Se v različnih delih rastline je odvisna od vrste, faze razvoja in fiziološkega stanja. Pri Se-akumulatorjih se Se v zgodnji vegetativni fazi kopiči v mladih listih, v reproduktivni fazi pa je velika vsebnost Se v semenih, medtem ko vsebnost v listih pade. Pri neakumulatorskih rastlinah kot so npr. žita lahko v zreli fazi najdemo enako količino tako v zrnju kot v koreninah, manjše količine pa v steblih in listih. Zastopanost Se v rastlinah je prav tako odvisna od oblike in koncentracije koreninam dovajanega Se ter koncentracije ostalih spojin, še posebej žveplovih (Terry in sod., 2000).

2.4 VPLIV EKSOGENEGA SELENA NA RAST IN RAZVOJ RASTLIN

Čeprav Se za višje rastline ni dokazan kot esencialno mikrohranilo, pa so mnoge raziskave dokazale, da ima v manjših količinah pozitiven učinek na njihovo rast in razvoj. Pri čajevcu (*Camellia sinensis*), ki je bil obogaten s Se, so zaznali 50 % povečanje rasti in števila poganjkov. Rastline so bile foliarno poškropljene tako s selenatom kot s selenitom, vendar odziv rastlin ni bil odvisen od oblike dodanega Se (Hu in sod., 2003). Vpliv Se na povečano rast so potrdile še mnoge druge raziskave na številnih rastlinskih vrstah. Manjša koncentracija selenita je povečala rast riža (Liu, 2004; Zhou, 1990), pšenice za 25 % (Peng, 2000), kave za 10 % (Mazzafera, 1998), solate za 30 % (Hartikainen, 1997). Na rast koriandra pa dodatek Se ni imel nobenega vpliva (Lee, 2000).

Razlog za povečano rast rastlin, ki so obogatene z majhnimi koncentracijami Se, pripisujejo antioksidativnemu učinku le-tega. Hartikainen in sod. (2000) navajajo, da ima Se pri trpežni ljuljki (*Lolium perenne*) dva učinka in sicer pri manjših koncentracijah deluje kot antioksidant, saj zavira peroksidacijo lipidov, medtem ko pri večjih koncentracijah deluje kot pro-oksidant, ker pospeši kopičenje produktov peroksidacije lipidov. Do poškodb biomolekul in peroksidacije lipidov v celici pride zaradi prevelike količine prostih radikalov, ki lahko nastajajo ob presnovnih reakcijah, v katerih se pojavlja kisik

(fotosinteza, respiracija). Dodatek selenata je v manjših koncentracijah pri trpežni ljuljki le-to omilil s tem, ko je povečal aktivnost antioksidantnega encima GPX.

Za senescenco, ki je zadnja faza razvoja rastlin, je značilna razgradnja določenih celičnih organelov, kot npr. kloroplastov. Pospešuje jo lahko nastajanje prostih kisikovih radikalov. Na podlagi antioksidativnega učinka Se, bi bilo teoretično možno, da dodatek Se pri rastlinah zakasni senescenco in poveča rast. Xue in sod. (2001) poročajo, da so majhne koncentracije selenata stimulirale rast senescentnih sadik vrtné solate (*Lactuca sativa*), saj se je suha masa povečala za 14 %, kljub zmanjšani koncentraciji klorofila. Ta učinek so prav tako pripisali povečani aktivnosti GPX in s tem zmanjšanju stopnje peroksidacije lipidov. O podobnih rezultatih poročajo tudi Djanaguiraman in sod. (2005), ki so manjšim koncentracijam selenata izpostavili senescentne sadike soje.

Pozitiven učinek majhnih koncentracij Se pa so zasledili tudi pri metabolizmu ogljikovih hidratov v gomoljih krompirja. Turakainen in sod. (2004) poročajo o večjem pridelku s selenatom obogatenega krompirja (*Solanum tuberosum* L.), kar so pripisali večji vsebnosti ogljikovih hidratov v gomoljih. Kopičenje škroba je bilo prav tako povečano v zgornjih listih obogatenih rastlin, kar bi na splošno lahko bila posledica povečane sinteze škroba, zmanjšanega transporta ali večje fotosinteze. Ker meritve so pokazale, da je bila fotosintetska aktivnost s Se tretiranih rastlin v primerjavi z netretiranimi enaka in je transport asimilatov potekal nemoteno, zato so kopičenje škroba prepisali povečani sintezi škroba.

Lyons in sod. (2009) so preučevali vpliv Se na reproduktivnost. Pri repi (*Brassica rapa*) obogateni s selenitom so opazili povprečno za 43 % povečano število semen. Povprečna masa semena obogatenih rastlin se ni razlikovala od semena neobogatenih. Večje število semen bi lahko bilo v povezavi s povečano respiratorno aktivnostjo, ki so jo izmerili v listih in cvetovih tretiranih rastlin. Ta je bila prav tako izmerjena na mladem grahu (*Pisum sativum* L.), ki je bil obogaten z majhnimi količinami Se (Smrkolj in sod., 2006). Večja respiratorna aktivnost nakazuje na večjo aktivnost mitohondrijev, kar bi lahko bila posledica zaščite teh organelov pred reaktivnimi kisikovimi spojinami. Ker pa je razvoj peloda odvisen od energije v mitohondriju, je možno, da se povečana aktivnost mitohondrija v listih in cvetovih odraža na večji vitalnosti peloda in posledično na večji količini plodnih semen.

Lyons in sod. (2008) poročajo o rezultatih poskusov na vrstah *Arabidopsis thaliana*, *Astragalus sinicus*, *Brassica rapa* in *Triticum aestivum*, ki so podobni in nakazujejo na povečano produktivnost s Se obogatenih rastlin. Pri navadnem repnjakovcu se je povečalo število rodovitnih luskov za 72 %, pri vrsti grahovca *Astragalus sinicus* število semen za 65 % in pri repi (*Brassica rapa*) za 50 %. Nasprotno pa povečanja pridelka niso zaznali pri pšenici. V preglednici 1 so prikazani še nekateri od mnogih učinkov Se na rastline.

Preglednica 1: Učinki različnih Se spojin na različne rastlinske vrste

VRSTA	Se SPOJINA	UČINEK SELENA	VIR
Fižol (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	Selenit (SeO_3^{2-})	Povečanje koncentracije glukoze v listih	Arvy (1989)
Kavovec (<i>Coffea arabica</i>)	Selenit (SeO_3^{2-})	Povečanje koncentracije topnih sladkorjev in kofeina v listih	Mazzafera (1998)
Krompir (<i>Solanum tuberosum</i> L.)	Selenit (SeO_3^{2-})	Povečanje vsebnosti aminokislin in proteinov v gomoljih	Munshi in sod. (1990)
Krompir (<i>Solanum tuberosum</i> L.)	Selenit (SeO_3^{2-})	Zmanjšanje kopičenja glikoalkaloidov in nitratov v gomoljih	Munshi in sod. (1992)
Endivija (<i>Cichorium endivia</i>)	Natrijev selenat (Na_2SeO_4) in natrijev selenit (Na_2SeO_3)	Povečana vsebnost skupnih aminokislin	Lee (1998)
Čajevec (zeleni čaj) (<i>Camellia sinensis</i>)	Natrijev selenat (Na_2SeO_4) in natrijev selenit (Na_2SeO_3)	Povečana vsebnost vitamina C in zmanjšana vsebnost polifenolov	Hu in sod. (2001)

2.5 VPLIV EKSOGENEGA SELENA NA FIZIOLOŠKE PROCESSE

2.5.1 Odziv s selenom obogatenih rastlin na abiotske stresne dejavnike

V rastlinah, ki so izpostavljene neugodnim okoljskim dejavnikom, pospešeno nastajajo reaktivne kisikove spojine in sicer superoksidni anion (O_2^-), vodikov peroksid (H_2O_2) in hidroksilni radikal ($\text{OH}^\cdot$), ki lahko povzročijo celične poškodbe zaradi oksidacije lipidov, proteinov in nukleinskih kislin. Ko je rastlina izpostavljena oksidativnemu stresu, se v njej vzpostavijo številni obrambni mehanizmi. Poveča se vsebnost antioksidantov (askorbinska kislina, glutation, fenolne spojine, alkaloidi, neproteinske aminokisline in α -tokoferoli) in aktivnost antioksidantnih encimov (superoksid desmutaze, katalaze, askorbat peroksidaze, glutation reduktaze, glutation peroksidaze itd.). Ti antioksidanti in encimi s svojim usklajenim delovanjem preprečujejo oksidacijo in tako ščitijo celice pred poškodbami. Številne raziskave v zadnjem času kažejo, da Se v majhnih koncentracijah ugodno vpliva na delovanje antioksidantov v rastlinah in tako pripomore k odpornosti rastlin na raznovrstne abiotske stresne dejavnike (Hasanuzzaman in sod., 2011).

Eden od takšnih stresnih dejavnikov je UV-B sevanje. Zemeljska ozonska plast se tanjša, kar je razlog za povečevanje UV-B sevanja na zemeljskem površju. Splošno je uveljavljeno, da UV-B sevanje, enako kot ostali stresni dejavniki, povzroča oksidativen stres v organizmih. Ta se pri rastlinah odraža v slabši rasti in razvoju. Pri obrambi pred škodljivimi posledicami UV-B sevanja so v rastlini pomembnejši antioksidanti antociani, flavonoidi in fenolne spojine. Flavonoidi naj bi zmanjševali prepustnost UV fotonov skozi rastlinsko tkivo. Antociani pa naj bi bili sposobni preprečevati fotooksidativne poškodbe. Xiaoqin in sod. (2009) poročajo o povečanju vsebnosti antocianov za 20 %, fenolnih snovi

za 35 %, aktivnosti antioksidantnih encimov za približno 50 % in zmanjšanju stopnje O_2^- za 50 % pri sadikah pšenice, ki so bile obogatene z manjšimi količinami selenita in izpostavljene UV-B sevanju. Prav tako je bilo opaženo povečanje vsebnosti anticianov pri koruzi, ki je obogatena s Se in izpostavljena UV-B žarkom (Hawrylak-Nowak, 2008).

UV-B sevanje je pri navadni in tatarski ajdi zmanjšalo dejansko fotokemično učinkovitost PS II, kar je dodatek selenata omilil. Povečano UV-B sevanje je vplivalo tudi na rast stebel pri obeh vrstah, ki so bila krajša, kar je prisotnost selenata pri navadni ajdi zmanjšala. Krajša stebila bi lahko bila posledica poškodbe proteinov ali slabših celičnih signalov, ki nastanejo zaradi poškodbe DNA. UV-B sevanje je prav tako povzročilo zmanjšanje suhe mase poganjkov in sicer pri netretiranih rastlinah za 50 %, pri Se tretiranih rastlinah pa za 35 %, kar nakazuje na ugoden antioksidativni učinek Se pri ajdi (Breznik in sod., 2005).

Antioksidativni učinek Se so Pennanen in sod. (2002) preučevali pri vrtni solati, ki je bila izpostavljena UV-B sevanju. Rast tretiranih rastlin se je v primerjavi z netretiranimi povečala, ker je Se najverjetneje zaščitil kloroplastne encime in s tem povečal kopičenje škroba v kloroplastih. Pri bučah, ki so bile izpostavljene okoljskemu UV-B sevanju, je Se povečal pridelek za 40 %. Največji pridelek je bilo zaznati pri bučah, ki so rasle na svetlobi brez UV-B sevanja in so bile poškodovane s Se (Germ in sod., 2005).

V nasprotju pa Se ni omilil negativnega učinka UV-B sevanja na jagodnjaku v rastlinjaku, vendar pa so manjše koncentracije Se povečale rast listov (Heijari in sod., 2006). Valkama in sod. (2003) so dokazali, da večje koncentracije Se povečajo občutljivost jagodnjaka na povečano UV-B sevanje.

Pogost stresni dejavnik v kmetijski pridelavi so nizke temperature. Pri nizkih temperaturah se poveča tveganje nastanka reaktivnih kisikovih spojin zato, ker se mnogo procesov, ki zahtevajo energijo, upočasni in tako se poruši razmerje med porabljeno in presežno energijo, kar je razlog za redukcijo kisika (Seppänen, 2003). Jianzhou in sod. (2009) poročajo o učinkih nizkih temperatur na sadike krušne pšenice (*Triticum aestivum* L.), ki so podobni učinkom UV-B sevanja. V rastlinah obogatenih s selenitom in izpostavljenim nizkim temperaturam se je povečala vsebnost antocianov, flavonoidov in fenolnih spojin, zmanjšala pa se je vsebnost superoksidnega aniona (O_2^-) in malondialdehida (MDA), ki je odgovoren za peroksidacijo lipidov. V rastlinah obogatenih s Se se je za 20 % povečala tudi vsebnost prolina. Metabolizem prolina je tipičen mehanizem v organizmih, ki so izpostavljeni stresnim dejavnikom, saj varuje celice pred peroksidacijskimi procesi. Njegova vsebnost v sadikah pšenice, ki so bile izpostavljene nizkim temperaturam je bila odvisna od koncentracije Se. Porast vsebnosti prolina in zmanjšanje vsebnosti MDA pa so opazili tudi v listih kumar (*Cucumis sativus* L.), ki so jih izpostavili kratkotrajnim nižjim temperaturam in jim dodali selenat. Sedem dni po izpostavljenosti je bila vsebnost MDA v koreninah še vedno manjša (Hawrylak-Nowak in sod., 2010).

Nasprotno so Djanaguiraman in sod. (2010) oksidativni stres pri sirku (*Sorghum bicolor* L.) izzvali z visokimi temperaturami. Visoke temperature so vplivale na zmanjšano

aktivnost antioksidantnih encimov, na večjo vsebnost oksidantov ter povečanje poškodb na membrani. Z dodatkom selenata so povečali aktivnost antioksidantnih encimov (superoksid dezmutaze in katalaze) ter s tem zmanjšali membranske poškodbe za 16 %, kar so opazili na 15 % povečanju pridelka.

Stresni abiotski dejavnik je za rastline tudi prekomerna slanost tal, ki lahko povzroči neravnovesje ionov v rastlinski celici. Rastline, ki so tolerantne na slanost, imajo številne mehanizme, ki pomagajo celici vzdrževati ravnovesje. Eden izmed takšnih mehanizmov, ki sicer ni načilen le za slanostni stres, omogoča, da se O_2^- s pomočjo encima superoksid dismutaze (SOD) pretvarja v H_2O_2 , ta pa nato s pomočjo peroksidaze, ali pa s pomočjo glutationsko-askorbatne verige pretvarja v H_2O . Pomemben mehanizem rastlin, ki so se sposobne prilagoditi na večjo koncentracijo NaCl, je tudi zmožnost kopičenja anorganskih ionov. Dodatek Se rastlinam, ki so bile izpostavljene prekomerni slanosti, pa je vse te mehanizme okrepil. Kong in sod. (2005) so prekomerni slanosti izpostavili kislico (*Rumex patientia* × *R. tianshanicus*), ki so ji dodali selenit. Pri manjših koncentracijah je le-ta povečal aktivnost SOD za 133 % in peroksidaze za 100 %. Za 22 % se je zmanjšalo uhajanje elektrolitov iz celic in povečala se je vsebnost Na^+ in K^+ ionov v listih. Večji koncentraciji NaCl so izpostavili tudi sadike kumar, ki so jih poskropili z manjšimi količinami selenata. V obogatenih rastlinah so v primerjavi s kontrolnimi zaznali večjo vsebnost prolina in fotosintetskih pigmentov (Hawrylak-Nowak, 2009).

2.5.2 Odziv s selenom obogatenih rastlin na pomanjkanje vode

Pomanjkanje vode velja za najpomembnejši problem v kmetijski pridelavi. Rastline so v svojem življenjskem ciklu pogosto izpostavljene sušnemu stresu, kar se zna v prihodnosti zaradi globalnega segrevanja še povečati. Raziskave kažejo, da ima vodni deficit veliko negativnih vplivov na rast rastlin in njihovo produktivnost, saj je prav tako kot ostali stresni dejavniki povezan s povečano stopnjo reaktivnih kisikovih spojin (Xiaoqin in sod., 2009).

Askorbat in glutation sta pomembnejši neencimski spojini, ki sodelujeta pri obrambi proti sušnemu stresu. Askorbat kemično reagira z 1O_2 , O_2^- in $\bullet OH$, ter je sestavni del številnih rastlinskih peroksidaz. Sodeluje tudi pri rasti, uravnavanju genov in nastanku nekaterih encimov. Glutation očisti celice 1O_2 in H_2O_2 . Ko deluje kot antioksidant, se oksidira do glutation disulfida. Metabolizem askorbat-glutationa so pri plazeči detelji (*Trifolium repens* L.), ki je bila obogatena s selenatom in izpostavljena vodnemu deficitu, preučevali Wang in sod. (2011). Sadike so bile tretirane s polietilen glikolom (PEG), ki vpliva na osmotski potencial v celicah in s tem izzove vodni deficit pri rastlinah. V prisotnosti PEG je vsebnost H_2O_2 , askorbata in glutation disulfida narasla, medtem, ko je vsebnost glutationa zanimivo ostala nespremenjena. Aplikacija selena je zmanjšala vsebnost H_2O_2 in glutation disulfida, povečala pa nivo glutationa. Vsebnost askorbata se ni bistveno povečala (Wang in sod., 2011).

Sveža masa in relativna vsebnost vode sta se v listih plazeče detelje ob prisotnosti PEG postopno zmanjševali, koncentracija klorofila pa se je zmanjšala le pri rastlinah, ki so bile izpostavljene daljšemu vodnemu deficitu. Dodatek Se je negativne učinke pomanjkanja vode omilil, poleg tega pa je zmanjšal tudi vsebnost H_2O_2 . Aktivnost encima SOD se je tekom poskusa postopno povečevala, kar je prisotnost Se še pospešila, medtem, ko se vsebnost katalaze z aplikacijo Se ni spremenila (Wang, 2011).

Sušni stres naj bi poleg reaktivnih kisikovih spojin povzročal tudi kopičenje metilglioksala (MG). Velike koncentracije MG v celici preprečujejo proliferacijo celic, kar ima za posledico številne škodljive učinke kot npr. povečano razgradnjo proteinov in slabšo antioksidantno obrambo. Zaradi velike toksičnosti in reaktivne narave, mora biti koncentracija MG v celici striktno omejena. Razstrupljanje MG omogoča homeostaza glutationa, ki jo ohranjajo gliksilazni encimi. Gliksilazni encimi so tako v rastlinah nepogrešljivi pri uravnavanju negativnih učinkov sušnega stresa. Pri oljni ogrščici (*Brassica napus*), ki je bila izpostavljena vodnemu deficitu in dodatku selenata, se je povečala aktivnost gliksilaznih encimov, kar nakazuje na vlogo Se pri uravnavanju MG v celicah. V tretiranih rastlinah se je povečala še vsebnost askorbata in glutationa (Hasanuzzaman in sod., 2011).

Pomanjkanje vode je pri sadikah pšenice povzročilo zaznaven upad parametrov rasti in vsebnosti topnih beljakovin, povečala pa se je aktivnost korenin, vsebnost prolina in aktivnost peroksidaze in katalaze v listih. Aplikacija Se je povzročila povečanje biomase, vendar le pri rastlinah, ki so bile dobro oskrbovane z vodo, medtem ko je pri rastlinah, ki so bile deležne pomanjkanja vode, povečala vsebnost prolina, aktivnost korenin in encimov (peroksidaze in katalaze), ni pa bistveno vplivala na rast (Xiaoqin in sod., 2009).

Fotosinteza, ki je eden izmed glavnih presnovnih procesov v rastlini, ki vplivajo na produktivnost rastlin, je neposredno prizadeta s sušo. Pomanjkanje vode povzroči zaprtje listnih rež in s tem omejitev fotosinteze. Fotosintezo, transpiracijo, fotokemično učinkovitost fotosistema II in respiratorni potencial so opazovali Germ in sod. (2007) na s Se tretiranim krompirju, ki so ga izpostavili vodnemu deficitu. Fotosinteza in respiratorni potencial sta bila zmanjšana pri rastlinah, ki so bile izpostavljene pomanjkanju vode. Se je prispeval k povečanju respiratornega potenciala v listih, ki je bil izmerjen 4 tedne po tretiranju. Večjo učinkovitost pridobivanja energije v PS II je bila zaznana pri rastlinah, ki so bile tretirane s Se, dva tedna po tretiranju. Pri ajdi je vodni deficit povzročil zmanjšanje prevodnosti listnih rež, kombinacija s selenatom pa je imela nasprotni učinek in značilno povečala prevodnost (Tadina in sod., 2007). Tudi pri navadni medeni detelji (*Melilotus officinalis* L.) se je prevodnost listnih rež ob pomanjkanju vode zmanjšala, ob prisotnosti selenata pa je ostala enaka (Kostopoulou in sod., 2010).

Pomanjkanje znanja o vlogi in učinku Se na rast in vodni režim v rastlinah ter znanstvena poročila z različnimi rezultati, kažejo, da bi bil lahko vpliv Se vrstno specifičen ter odvisen od koncentracije in vrste spojine.

3 MATERIAL IN METODE

3.1 AJDA

Ajda je dvokaličnica, ki jo uvrščamo v družino dresnovk (Polygonaceae). Med njene bližnje sorodnike prištevamo številne dresni, rabarbaro in kislico, med daljne pa špinačo in amarant. Botanično ne spada med žita, ki so enokaličnice, vendar pa jo zaradi podobne pridelave in uporabe večkrat uvrščamo mednje. Je enoletna rastlina, ki se razmnožuje s plodovi, ki jim pravimo semena (Kreft, 1995).

Pri nas poznamo dve vrsti ajde, in sicer navadno (*Fagopyrum esculentum* Moench) in tatarsko (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.). Izvira iz kitajske province Yunnan, kjer je bila odkrita divje rastoča ajda, ki pa se je od gojene razlikovala po močnem osipanju zrnja in šopasti razrasti. Iz Kitajske je nato prešla v Butan, Nepal, Indijo in Pakistan. V srednjo Evropo je bila verjetno prenešena preko Sibirije in Rusije v 14. in 15. stoletju (Kreft, 1995).

3.1.1 Navadna ajda

Navadna ajda lahko doseže zelo različno višino, kar je odvisno od rastnih razmer. V ugodnih razmerah v nižinah lahko zraste tudi do 150 cm, v hribovitih območjih približno 70 cm, v slabših razmerah pa le od 20 do 30 cm visoko. Višje rastline rade poležejo in posledično je pridelek manjši ter žetev otežena. Pri hitro rastočih rastlinah je steblo zelene barve, na večjih nadmorskih višinah pa se skupaj z listnimi žilami in cvetovi pogosto obarva rdeče. Listi so srčasto puščičasti in so približno enako dolgi kot široki. Na spodnjem delu rastline so pecljati, na zgornjem pa sedeči. Večina listnih rež se nahaja na spodnji strani listov (Kreft, 1995).

Cvetovi so združeni v socvetja. Stranska socvetja so lahko podobna klasu, le da so cvetovi na kratkih pecljih. Posamezen cvet je sestavljen iz petih cvetnih listov, ki so preobraženi čašni listi. Ti so lahko, odvisno od sorte, beli, rožnati, rdeči ali zelenkasti. Pravih venčnih listov ni, zato ajdo prištevamo k brezvenčnicam. V cvetu se nahaja osem prašnikov in pestič s tremi brazdami. Glede na njihovo lego ločimo dva tipa cvetov: venec in klin. Pri vencu so prašniki daljši od vratov pestičev, pri klinu pa so daljši vratovi pestičev. S tem je preprečena samooplodnja in za opraševanje navadna ajde so potrebne žuželke, med katerimi so pomembnejše čebele (Kreft, 1995).

Plodovi-semena so ponavadi dolga od 4 do 7 mm in so triroba. So različno obarvana, vse od sive, rjave pa do črne. Stranice so pri dobro rodovitnih sortah izbočene, pri slabše napolnjenih semenih pa ravne ali celo vbočene. Ploskve so gladke in se pri svežih semenih svetijo (Kreft, 1995).

Sorta Darja je bolj odporna proti suši in poletni vročine ter je tako bolj primerna za nižinska območja okrog Ljubljane, na Gorenjskem, Štajerskem in v Prekmurju. Nastale je s

križanjem starih slovenskih domačih sort črne ajde z vzorci ruskega izvora (Kreft, 1995).

3.1.2 Tatarska ajda

Tatarska ajda, ki jo drugače imenujemo še zelena ali grenka ajda, je bila pri nas v preteklosti bolj razširjena, danes pa jo najdemo le še kot plevel v navadni ajdi. V Nepalju in Butanu jo še vedno gojijo kot samostojen posevek, njena uporaba pa se širi tudi na Kitajskem. Tatarska ajda je precej podobna navadni ajdi. Stebla in listi so nekoliko bolj zeleni, listi so bolj široki kot dolgi, cvetno odevalo pa je svetlo zelene ali rumenkasto zelene barve. Semena so rjava do rjavo-siva ali nekoliko zelenkasta. Prav tako so triroba, le da imajo površino motno in hrapavo. Tatarska ajda pa se za razliko od navadne ajde ponavadi sama oplodi, saj ima homostilne cvetove (Kreft, 1995).

Ajda ima zelo dobro hranilno vrednost. Ker so beljakovine v ajdovih zrnih zelo kakovostne in med njimi ni glutena, je ajda primerna za prehrano bolnikov s celiakijo. V endospermu ima večji delež rezistentnega škroba, ki vpliva na počasnejšo absorpcijo sladkorja iz prebavil in je zato priporočljiva za bolnike s sladkorno boleznijo in za preprečevanje raka na debelem črevesu. Ima veliko vsebnost flavonoidov, ki so naravni antioksidanti, med njimi je pomembnejši rutin. Tatarska ajda vsebuje več rutina kot navadna in sicer v vseh delih rastline, še posebej pa v semenih (od 1 do 6 %) (Kreft in sod., 2010).

Tatarska ajda je primerna za ekološko pridelavo, saj pri njenem gojenju ponavadi ne uporabljamo mineralnih gnojil ali pesticidov. Ker vsebuje fenolne snovi je bolj odporna na škodljivce in bolezni. V primerjavi z navadno ajdo manj plega in se bolje obnese ob vremenskih neprilikah. Vsi ti razlogi so pripomogli, da se je zanimanje za tatarsko ajdo v zadnjem času povečalo (Kreft in sod., 2010).

3.2 POLJSKI POSKUS

Ajdo smo posejali 14.5.2010 na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete. Tla na poskusnem polju so srednje globoka, psevdoglejna in osušena. Tekstura je meljasto-glinasto-ilovnata do težko meljasto-glinasta. Na globini od 0 do 30 cm vsebujejo 4,5 % organske snovi, pH tal je 6,5. Gredo smo pokrili s črno polietilensko folijo in vanjo naredili luknje, tako, da so bile v vrstici 3 luknje, vrstice pa so bile 35 cm narazen. Nato smo gredo razdelili na manjše gredice po 5 vrstic, v katere smo posejali različno seme (navadne ajde, tatarske ajde, tatarske ajde tretirane s selenom), vsako v štirih ponovitvah. Tako smo dobili 12 gredic. V vsako luknjo smo dali približno 8 semen. Znotraj ponovitev so bile gredice razporejene tako, da je imela gredica s tatarsko ajdo škropljeno s selenom, vedno drugačno kombinacijo sosedov. Na sliki 1 je prikazana razporeditev gredic. Posevek je bil v prvem mesecu oskrbovan z vodo s pomočjo namakalnega kapljičnega sistema. V juniju ga je bilo potrebno večkrat opleti.

TA	NA	TA _{SE}	NA	TA	TA _{SE}	NA	TA	TA _{SE}	TA	NA	TA _{SE}
----	----	------------------	----	----	------------------	----	----	------------------	----	----	------------------

Slika 1: Razporeditev gredic znotraj štirih ponovitev, kjer je NA navadna ajda, TA tatarska ajda in TA_{SE} tatarska ajda tretirana s selenom

3.2.1 Izvor semena

Posejali smo 3 različne vrste semena:

- seme navadne ajde (sorte Darja), ki je bilo kupljeno v Semenarni Ljubljana
- netretirano seme tatarske ajde, ki je bilo pridobljeno iz rastlin posejanih leta 2009 v Biljah pri Novi Gorici
- s selenom tretirano seme tatarske ajde je bilo prav tako pridobljeno iz rastlin posejanih leta 2009 v Biljah pri Novi Gorici, ki so bile 21. avgusta poškropljene s selenom (selenat s koncentracijo 5 mg/l)

Tatarska ajda, ki je bila posejana v Biljah izvira iz domače populacije, ki je rasla leta 1999 v severnem delu Luksemburga (Bonafaccia, 2003).

3.3 MERITVE

3.3.1 Merjenje vodnega potenciala in fotosinteze

Meritve so potekale v 3 različnih terminih in sicer: 1. 7., 5. 7. in 12. 7. 2010. Tekom dneva smo sočasno merili vodni potencial s tlačno (Scholanderjevo) komoro in fotosintezo oz. prevodnost listnih rež s porometrom (Li-Cor 6400). Meritve so potekale v približno 1 urnih ciklih z začetkom okrog 8.00. Izmerili smo tudi vsebnost vode v tleh.

Od vsake vrste ajde oz. vsakega obravnavanja (navadna, tatarska in tatarska s selenom) smo v enem ciklu izmerili 6 ponovitev. Na sliki 2 je prikazana razporeditev meritev s tlačno komoro in porometrom po gredicah. Kot je razvidno iz slike je bila na polovici gredic opravljena po ena meritev, na drugi polovici pa po dve.

TA1	NA1	TA _{SE} 1	NA2 NA3	TA2 TA3	TA _{SE} 2 TA _{SE} 3	NA4 NA5	TA4 TA5	TA _{SE} 4 TA _{SE} 5	TA6	NA6	TA _{SE} 6
-----	-----	--------------------	------------	------------	--	------------	------------	--	-----	-----	--------------------

Slika 2: Razporeditev meritev s tlačno komoro in porometrom po gredicah, kjer je NA navadna ajda, TA tatarska ajda in TA_{SE} tatarska ajda tretirana s selenom. Številka predstavlja zaporedno meritev.

Za merjenje s porometrom smo označili liste, tako da so bile meritve istega dne opravljene vedno na istem listu. Ker pa merjenje s tlačno komoro ne more potekati na istem listu, saj je metoda destruktivna, smo izbirali enako razvite liste na enake višini.

3.3.1.1 Merjenje vodnega potenciala s tlačno (Scholanderjevo) komoro

V rastlini je vodni potencial odvisen od tlaka, koncentracije topljencev in gravitacije. Vendar pa za merjenje vodnega potenciala ni potrebno upoštevati vseh parametrov, ampak predpostavimo, da je vrednost ksilemskega vodnega potenciala blizu vrednosti vodnega potenciala za cel organ. Ta predpostavka je verjetna zaradi:

- zanemarljivo majhnega prispevka osmotske komponente h ksilemskemu potencialu
- neposrednega stika ksilema z večino celic v listu.

V ksilemu pa je najpomembnejša komponenta vodnega potenciala negativni potencial tlaka (tenzija). Tako lahko ostale dejavnike zanemarimo in vodni potencial enačimo s potencialom tlaka. Izmerimo ga s tlačno (Scholanderjevo) komoro (Scholander in sod., 1964). Ko odrežemo poganjek z rastline, vodni stolpec pade, saj se voda umakne v sosednje celice, ki imajo bolj negativen vodni potencial. To lahko opazimo, saj voda izgine iz odrezane površine. Poganjek zapremo v tlačno komoro in ga pri tem dobro zatesnimo. Del poganjka z odrezano ploskvijo ostane zunaj. Postopoma v komoro spuščamo stisnjen zrak iz jeklenke in pri tem kontroliramo odrezano ploskev. Vodni stolpec se dviga in ko se na odrezani ploskvi pojavi ksilemska tekočina, odčitamo količino zraka iz jeklenke, ki smo ga za to potrebovali. Ta količina je enaka tenziji oz. ksilemskemu vodnemu potencialu (Vodnik, 2012).

3.3.1.2 Merjenje fotosinteze, transpiracije in prevodnosti listnih rež s porometrom

Sodobni sistemi za merjenje fotosinteze so prenosljivi in omogočajo merjenje na terenu. Od teh so najbolj razširjeni sistemi z infrardečim CO₂ analizatorjem – IRGA. Ti delujejo na principu, da CO₂ močno absorbira infrardeče sevanje in na podlagi tega lahko izračunamo njegovo koncentracijo. V merilno komoro zapremo list oz. del rastline in dovajamo zrak z znano koncentracijo CO₂ in vlažnostjo. List v komori porablja CO₂ zaradi fotosinteze, zato se njegova količina v zraku zmanjša. Potrebna sta dva analizatorja, prvi meri koncentracijo CO₂ v zraku, ki prihaja iz listne komore, drugi pa referenčno vrednost koncentracije CO₂ v zraku, ki gre mimo komore. Zaradi transpiracije se koncentracija vodne pare v komori poveča. Princip meritve vodne pare je naslednji: relativna vlaga v kiveti zaradi oddajanja vodne pare naraste, ta porast pa izničimo z dovajanjem potrebne količine suhega zraka. Preko pretoka suhega zraka lahko ovrednotimo intenziteto transpiracije. S primerjavo vrednosti lahko izračunamo še stomatalno prevodnost. Če meritve potekajo v realnih rastnih razmerah, sistem spremlja okoljske parametre (jakost sevanja, zračno vlago, temperaturo) (Vodnik, 2012). Za merjenje smo uporabili merilnik fotosintetske aktivnosti Li-6400 (LiCor, ZDA), ki ga uvrščamo med diferencialne odprte sisteme. Meritve so potekale v okoljskih razmerah s tem, da so bile v enem ciklu zajete meritve na navadni, tatarski in tatarski ajdi s selenom; torej so bile razmere za vse tri vrste podobne. Meritve so bile na posamezni rastlini izvedene v približno 2 minutah. V preglednici 2 so prikazane povprečne vrednosti za nekatere parametre, ki smo jih izmerili s porometrom.

Preglednica 2: Povprečna osvetljenost ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), koncentracija CO_2 ($\mu\text{mol mol}^{-1}$), temperatura ($^{\circ}\text{C}$) in zračna vlaga (%) v treh meritvenih terminih

DATUM	OSVETLJENOST ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	KONCENTRACIJA CO_2 ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)	TEMPERATURA ($^{\circ}\text{C}$)	ZRAČNA VLAGA (%)
1.7.	1145	386	33	43
5.7.	478	412	28	53
12.7.	829	393	36	38

Količino vode v tleh smo merili s sondo SM 200 (Delta-T Devices Ltd., Cambridge), ki deluje na principu FDR (frequency domain reflectometry). Na vsaki ploskvici smo opravili meritve na treh naključno izbranih mestih, na globini 10 cm. Meritve so potekale okoli poldneva. Predhodno nismo opravili kalibracij.

3.3.2 Merjenje biomase

Tatarsko ajdo (tretirano s selenom in netretirano) smo pobrali 12. 8. 2010 ločeno po ponovitvah in sicer le sredinske vrstice. Najprej smo prešteli, koliko rastlin se je nahajalo v sredinski vrstici posamezne ponovitve, nato pa smo ločili liste, stebela in semena, ter izmerili njihovo svežo in suho maso. Za tehtanje smo uporabili tehtnico Mettler PM2000.

Navadno ajdo smo pobrali 17. 8. 2010, prav tako ločeno po ponovitvah in prešteli koliko rastlin je bilo v sredinski vrstici posamezne ponovitve. Izmerili smo celotno svežo biomaso sredinske vrstice vseh ponovitev. Suho maso smo izmerili le pri ponovitvi, ki je bila najbližje povprečju.

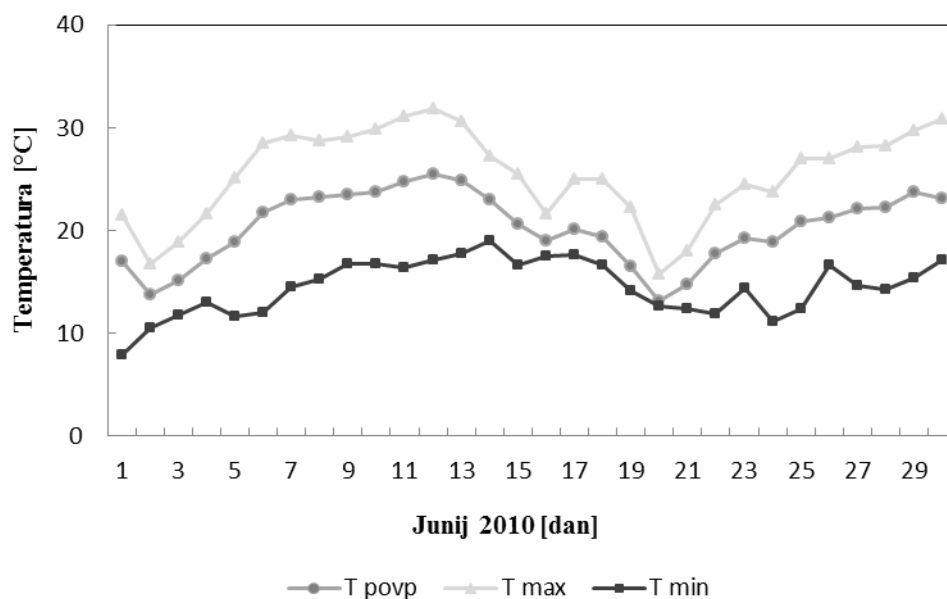
3.4 VREMENSKE RAZMERE

Po podatkih Agencije Republike Slovenije za okolje je bila povprečna letna temperatura v letu 2010 le malo nad dolgoletnim povprečjem obdobja 1961 – 1990. Do največjih odklonov k višjim temperaturam je prišlo v poletnih mesecih. Tako je bil z izjemo visokogorja najtoplejši mesec julij (meteorološka postaja Lj–Bežigrad). To je drugi najtoplejši julij od leta 1948, ko so se začele meritve na tej vremenski postaji. Letna vsota padavin v Ljubljani je bila izmerjena 1798 mm, kar je največ po letu 1965. Od tega jih je največ padlo v jesenskih mesecih (meteorološka postaja Lj–Bežigrad). Trajanje sončnega obsevanja je v juliju preseglo dolgoletno povprečje za 15 % (meteorološka postaja Lj–Bežigrad).

Vodni potencial, prevodnost listnih rež, fotosinteza in transpiracija so neposredno povezani z meteorološkimi parametri. Ker so meritve potekale v juliju, se bomo v nadaljevanju osredotočili na vremenske razmere meseca junija in julija. Za poskus sta bila pomembnejša predvsem temperatura zraka in količina padavin, ki močno vplivata na fiziološko stanje rastlin. Podatki se nanašajo na meteorološko postajo Bežigrad in smo jih dobili v Mesečnem biltenu Agencije Republike Slovenije za okolje (Cegnar, 2010a, 2010b).

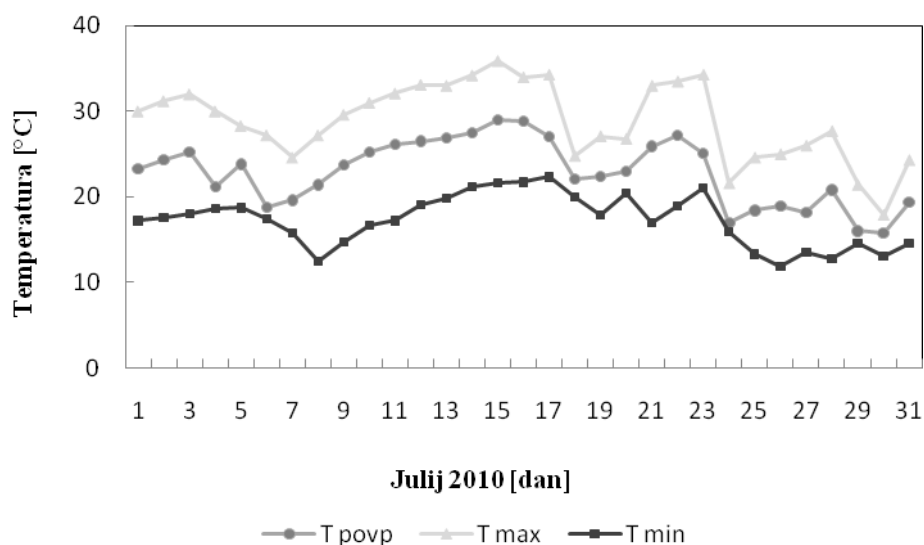
3.4.1 Temperatura zraka

Na sliki 3 so prikazane povprečne, minimalne in maksimalne temperature v juniju 2010, ki so bile izmerjene na meteorološki postaji Bežigrad. Povprečna junijska temperatura je znašala 20,3 °C, kar je 2,5 °C nad dolgoletnim povprečjem. Povprečna najnižja dnevna temperatura je bila 14,5 °C, povprečna najvišja pa 24,2 °C. Prva je tako presegla dolgoletno povprečje za 2,1 °C, druga pa za 1,9 °C. Absolutni minimum je bil 7,9 °C, maksimum pa 31,8 °C. Dnevov z najvišjo dnevno temperaturo 25 °C ali več je bilo 19 (Cegnar, 2010a).



Slika 3: Povprečne (T povp), minimalne (T min) in maksimalne (T max) temperature (°C) za meteorološko postajo Bežigrad v mesecu juniju 2010 (Cegnar, 2010a)

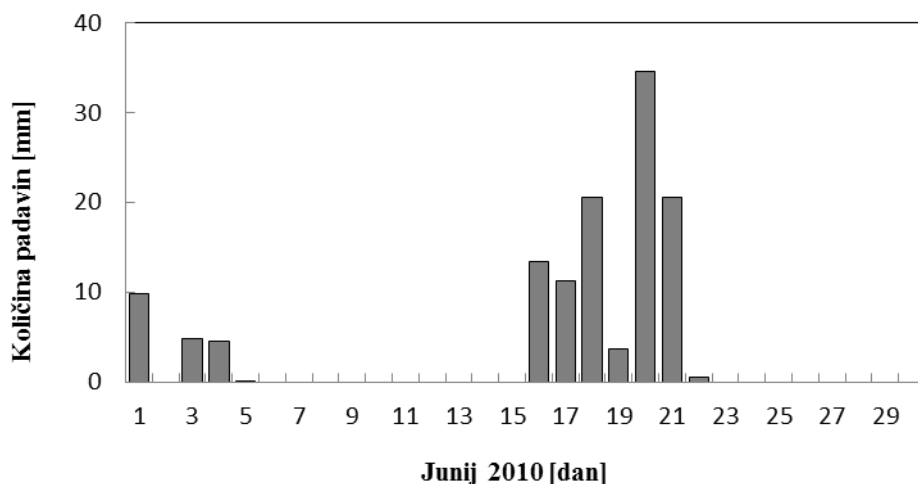
Na sliki 4 so prikazane povprečne, minimalne in maksimalne temperature v juliju 2010, ki so bile izmerjene na meteorološki postaji Bežigrad. Povprečna julijska temperatura je bila 22,9 °C, kar je 3 °C nad dolgoletnim povprečjem. To je bil drugi najtoplejši julij odkar potekajo meritve. Povprečna najnižja dnevna temperatura je znašala 17,3 °C in s tem za 3,2 °C presegla dolgoletno povprečje. Prav tako je za 2,8 °C presegla dolgoletno povprečje najvišja dnevna temperatura in sicer je znašala 28,9 °C. Absolutni minimum je bil 11,9 °C, maksimum pa 35,9 °C. Zabeležili so kar 15 dni, ko je temperatura dosegla ali celo presegla 30 °C, kar je 10 dni več od dolgoletnega povprečja. Dnevov s temperaturo 25 °C ali več so našli 24 (Cegnar, 2010b).



Slika 4: Povprečne (T povp), minimalne (T min) in maksimalne (T max) temperature (°C) za meteorološko postajo Bežigrad v mesecu juliju 2010 (Cegnar, 2010b)

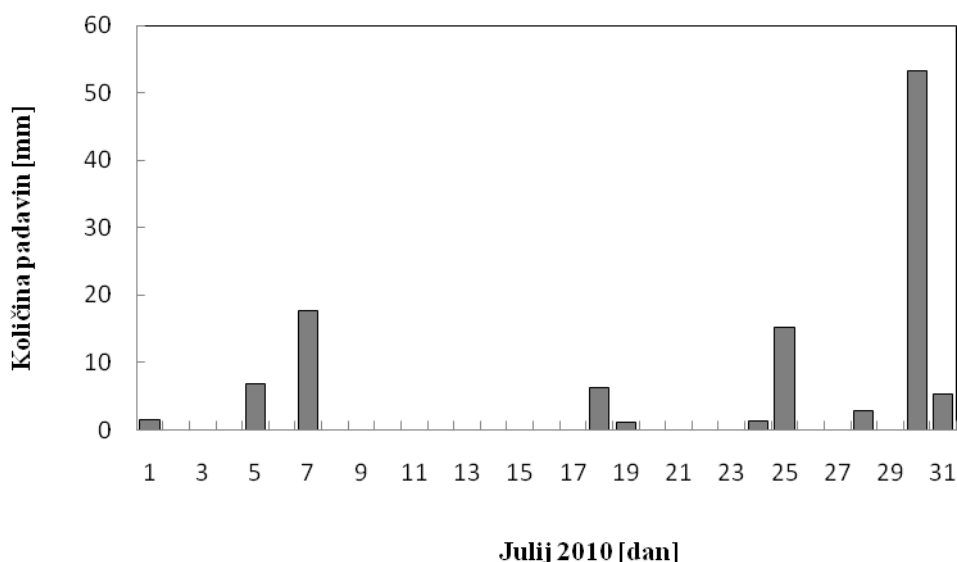
3.4.2 Padavine

Na sliki 5 so prikazane dnevne količine padavin, ki so bile izmerjene v mesecu juniju na meteorološki postaji Bežigrad. Junija je padlo skupaj 124 mm padavin, kar je le 80 % dolgoletnega povprečja. Padavinskih dni je bilo 9. Največ padavin je padlo v drugi dekadi. V tem mesecu so bili tudi 3 nevihtni dnevi (Cegnar, 2010a). Potrebno je upoštevati, da je meteorološka postaja Bežigrad oddaljena več kot kilometer zračne linije od laboratorijskega polja, kjer smo izvajali meritve in posledično se podatki za dnevno količino padavin lahko razlikujejo.



Slika 5: Količina dnevnih padavin (mm) za meteorološko postajo Bežigrad v mesecu juniju 2010 (Cegnar, 2010a)

Na sliki 6 so prikazane dnevne količine padavin, ki so bile izmerjene v mesecu juliju na meteorološki postaji Bežigrad. Julija so našteali 10 padavinskih dni. Skupna količina padavin je znašala 112 mm, kar je 8 % manj od dolgoletnega povprečja. Nevihtnih dni je bilo 8 (Cegnar, 2010b).



Slika 6: Količina dnevnih padavin (mm) za meteorološko postajo Bežigrad v mesecu juliju 2010 (Cegnar, 2010b)

3.5 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

Za statistično obdelavo podatkov in grafične prikaze smo uporabili program Excel (Microsoft Co., USA). Vse rezultate meritev smo obdelali z metodami opisne statistike (povprečje, standardna napaka). Z enosmerno analizo variance smo testirali parametre pri treh različnih skupinah rastlin (navadna, tretirana in netretirana tatarska ajda). Nato smo s t-testom testirali še parametre s selenom tretirane in netretirane tatarske ajde in sicer le v primerih, ko je bilo o značilni razliki možno sklepati iz grafov. Upoštevali smo 5 % tveganje. Vse statistične analize smo opravili s prosto dostopnim statističnim programom R (R Development core team, 2007).

4 REZULTATI

Rezultati so prikazani po posameznih merilnih dnevih.

4.1 MERITVE 1. JULIJA 2010

4.1.1 Vremenske razmere in količina vode v tleh

Zjutraj je do 7. ure padlo 1,6 mm padavin. Nato je bilo delno jasno, kasneje pa zmerno do pretežno oblačno. Povprečna temperatura zraka je bila 23,3 °C, maksimalna pa 30 °C. Sončno obsevanje je trajalo 9,3 ure, povprečna oblačnost pa je bila 53 %. Pihal je severni do severozahodni veter (meteorološka postaja Lj–Bežigrad).

V preglednici 3 sta prikazana količina vode v tleh, po parcelicah z različnim posevkom, ter vodni potencial poskusnih rastlin. Količina vode v tleh, ki smo jo izmerili na gredicah tatarske ajde tretirane s selenom, se statistično razlikuje od ostalih gredic ($p=0,01$). Med vrednostmi opoldanskega vodnega potenciala ni statistično značilnih razlik.

Preglednica 3: Voda v tleh (vol %) ter opoldanski vodni potencial (MPa) navadne ajde (NA), tatarske ajde (TA) ter s selenom tretirane tatarske ajde (TA_{SE}). Meritve so bile opravljene 1. 7. 2010. Prikazana so povprečja 12 ponovitev $\pm$ standardne napake pri vodi v tleh ter povprečja 6 ponovitev $\pm$ standardne napake pri opoldanskem vodnem potencialu. Statistično smo testirali razlike med povprečji.

	VODA V TLEH (vol %)	OPOLDANSKI VODNI POTENCIAL (MPa)
NA	16,9 $\pm$ 1,6	-0,65 $\pm$ 0,14
TA	16,6 $\pm$ 1,1	-0,27 $\pm$ 0,04
TA_{SE}	11,7 $\pm$ 1,1	-0,58 $\pm$ 0,13
ANOVA	0,01	0,065

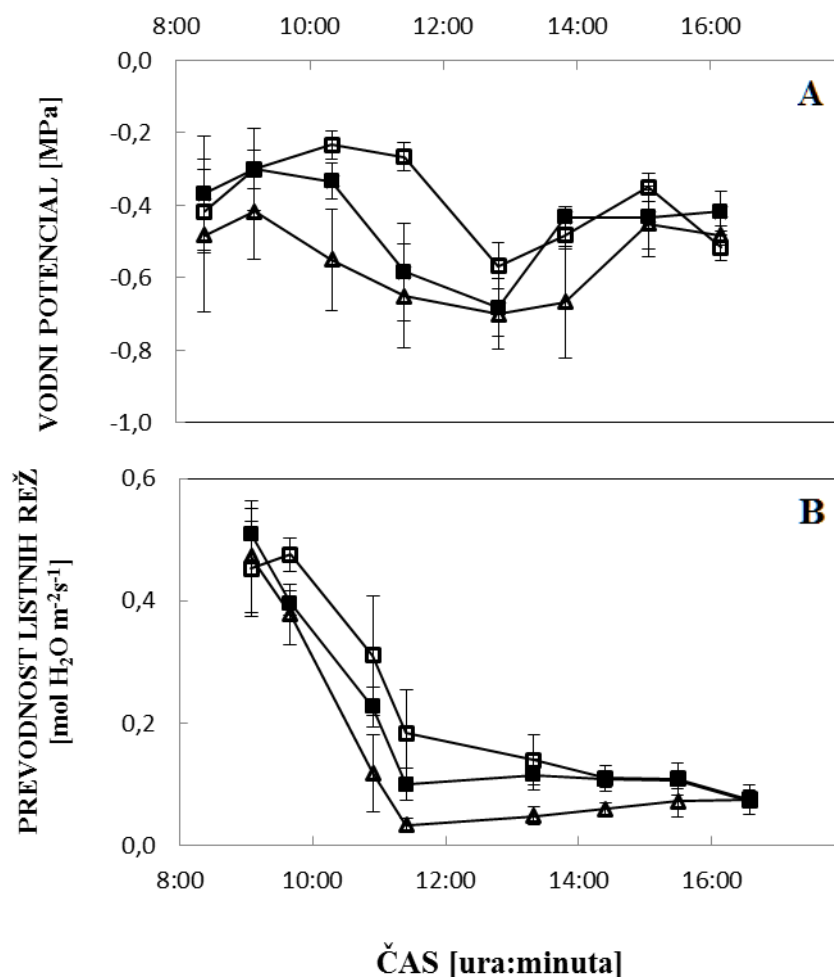
4.1.2 Dnevni potek vodnega potenciala in prevodnosti listnih rež

Na sliki 7 je prikazan potek povprečnega dnevnega vodnega potenciala in prevodnosti listnih rež, ki sta bila izmerjena 1. 7. 2010 pri navadni ajdi in s selenom tretirani oz. netretirani tatarski ajdi.

Vrednosti meritev vodnega potenciala merjenega zjutraj so se gibale od -0,3 do -0,5 MPa. Tekom dneva so vrednosti počasi padale in bile najnižje okrog 13. ure, pri čemer so dosegle povprečno vrednost -0,7 MPa. Nato se je vodni potencial počasi dvigal in okrog 16. ure se je približal jutranjim vrednostim. Največji vodni potencial tekom dneva ohranja

netretirana tatarska ajda, sledi ji s selenom tretirana tatarska ajda. Enosmerna analiza variance ni pokazala statistično značilnih razlik med opoldanskim vodnim potencialom treh skupin rastlin. Prav tako se statistično nista razlikovali s selenom tretirana in netretirana tatarska ajda, vendar bi lahko te razlike potrdili z malo večjim statističnim tveganjem ($p=0,065$), kar bi lahko bila posledica različne količine vode v tleh v gredicah tretirane in netretirane tatarske ajde.

Listne reže so bile najbolj odprte zjutraj, nato pa je njihova prevodnost hitro padla in ostala na prebližno enaki vrednosti do zadnje meritve (16:35). Manjše vrstno značilne razlike je možno razbrati s slike 7B. Največja prevodnost je značilna za netretirano tatarsko, najmanjša pa za navadno ajdo. Analiza variance razlik med vsemi tremi skupinami rastlin ni potrdila, statistično mejno značilna razlika pa je bila opažena pri tretiranju s selenom (primerjava TA/TA_{SE}; $p=0,059$).



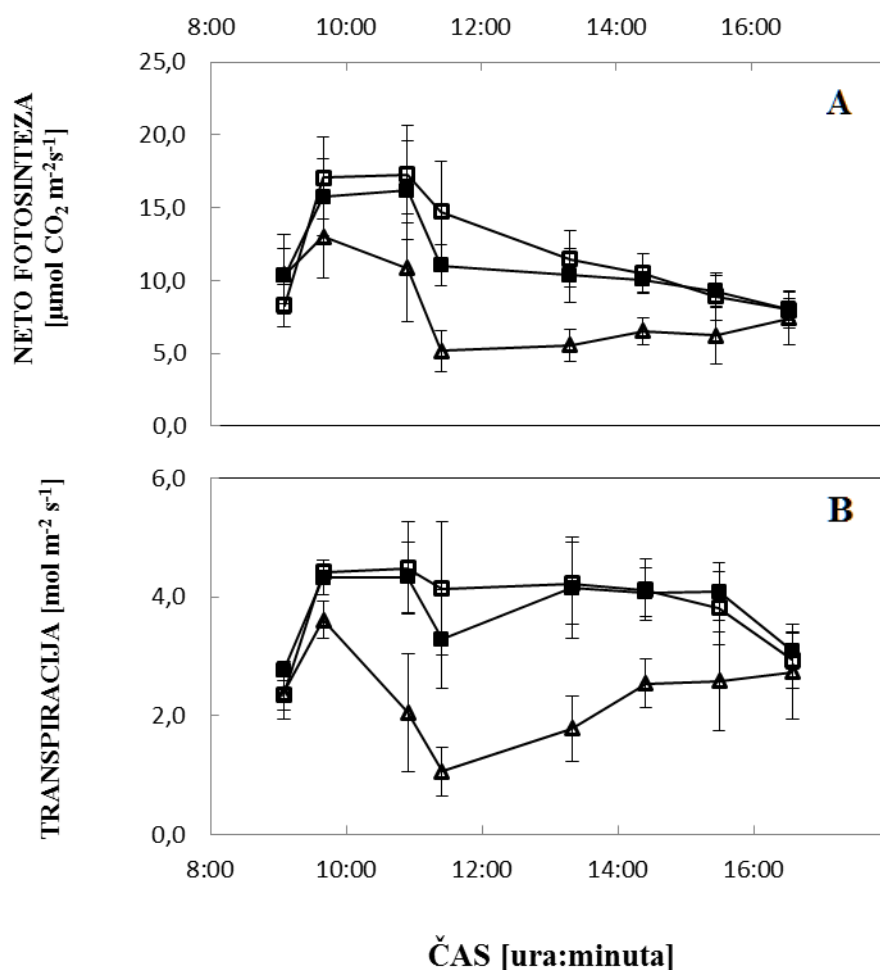
Slika 7: Povprečni vodni potencial (A) (MPa) in povprečna prevodnost listnih rež (B) (mol H₂O m⁻² s⁻¹) navadne (označena s Δ), s selenom tretirane tatarske (označena s ■) in netretirane tatarske (označena s □) ajde 1.7.2010

4.1.3 Dnevni potek neto fotosinteze in transpiracije

Na sliki 8 je prikazan potek povprečne dnevne neto fotosinteze in transpiracije, ki sta bili izmerjeni 1.7.2010 pri navadni ajdi in s selenom tretirani oz. netretirani tatarski ajdi.

Tretirana in netretirana tatarska ajda se tekom dneva precej podobno odzivata s fotosintetsko aktivnostjo, medtem ko je večjo variabilnost možno opaziti pri navadni ajdi. Ta je imela jutranjo povprečno vrednost primerljivo s tatarsko ajdo, nato pa smo lahko zaznali hitrejše zmanjševanje fotosintetske aktivnosti. Minimalno vrednost, ki je znašala $5,2 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ in se je statistično značilno razlikovala od tretirane in netretirane tatarske ajde, je dosegla okoli poldneva, kasneje pa se je njena fotosintetska aktivnost postopoma dvigovala in pri zadnji meritvi dosegla raven fotosinteze tatarske ajde.

Transpiracija je bila pri prvi meritvi približno enaka pri vseh vrstah ajde, nato pa je pri navadni postopoma padala in dosegla najmanjšo vrednost, ki je znašala $1 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, medtem ko se je pri tatarski ajdi postopoma povečevala. Vendar pa razlike niso statistično značilne.



Slika 8: Povprečna neto fotosinteza (A) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) in transpiracija (B) ($\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) navadne (označena s Δ), s selenom tretirane tatarske (označena s $\blacksquare$) in netretirane tatarske (označena s $\square$) ajde 1.7.2010

4.2 MERITVE 5. JULIJA 2010

4.2.1 Vremenske razmere in količina vode v tleh

Povprečna temperatura zraka je bila 23,8 °C, najvišja pa 28,3 °C. Dnevna količina padavin je znašala 6,9 mm. Padavine so nastopile do 7. ure. Sončno obsevanje je trajalo 6,9 ur. Povprečna oblačnost je bila 60 % (meteorološka postaja Lj–Bežigrad).

V preglednici 4 sta prikazana količina vode v tleh, po parcelicah z različnim posevkom, ter vodni potencial poskusnih rastlin. Količina vode v tleh se na različnih gredicah ni

statistično razlikovala. Prav tako ni bilo možno zaznati, da bi vrsta ajde oz. tretiranje vplivalo na opoldanski vodni potencial.

Preglednica 4: Voda v tleh (vol %) ter opoldanski vodni potencial (MPa) navadne ajde (NA), tatarske ajde (TA) ter s selenom tretirane tatarske ajde (TA_{SE}). Meritve so bile opravljene 5. 7. 2010. Prikazana so povprečja 12 ponovitev ± standardne napake pri vodi v tleh ter povprečja 6 ponovitev ± standardne napake pri opoldanskem vodnem potencialu. Statistično smo testirali razlike med povprečji.

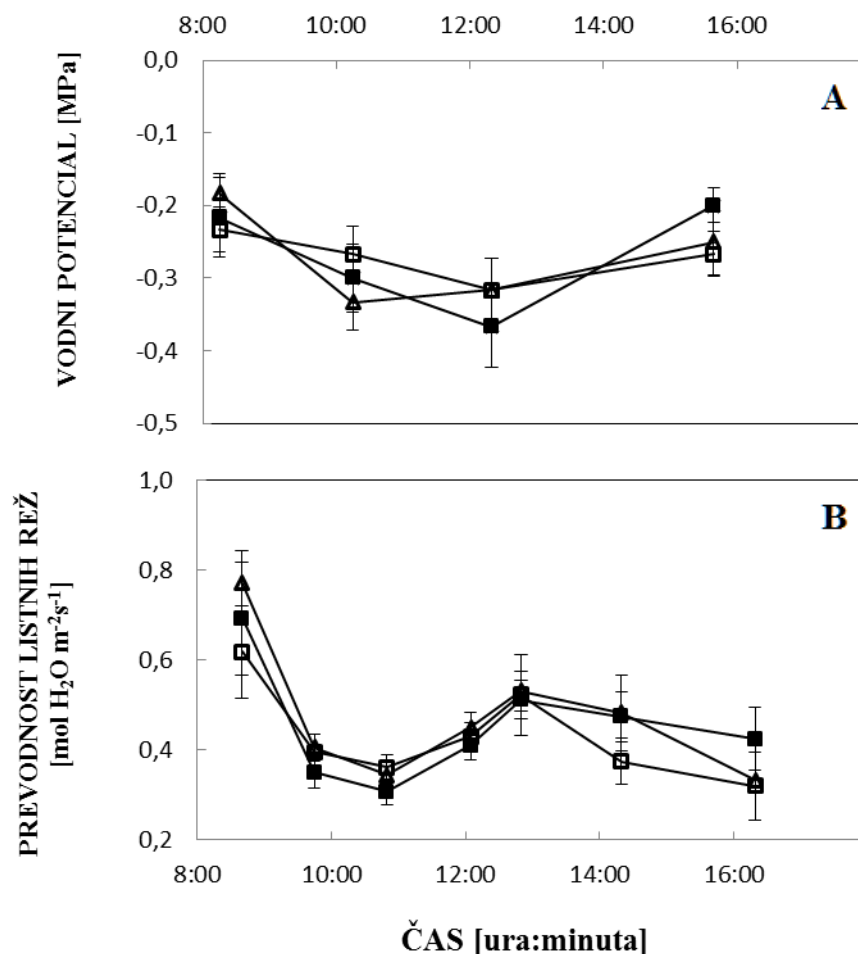
	VODA V TLEH (vol %)	OPOLDANSKI VODNI POTENCIAL (MPa)
NA	30,2 ± 1,2	-0,32 ± 0,04
TA	30,2 ± 1,8	-0,32 ± 0,04
TA _{SE}	27,5 ± 1,4	-0,37 ± 0,06
ANOVA	0,349	0,459

4.2.2 Dnevni potek vodnega potenciala in prevodnosti listnih rež

Na sliki 9 je prikazan potek povprečnega dnevnega vodnega potenciala in prevodnosti listnih rež, ki sta bila izmerjena 5.7.2010 pri navadni ajdi in s selenom tretirani oz. netretirani tatarski ajdi.

Vrednosti vodnega potenciala, ki smo ga izmerili pri prvi jutranji meritvi, so se gibale od -0,18 do -0,23 MPa. Nato so se vrednosti do opoldneva zmanjševale, pri čemer so dosegle veliko manj negativne vrednosti, kot so bile izmerjene 1.7. in sicer do -0,4 MPa, kar je v povezavi z večjo razpoložljivostjo vode v okolju. Med navadno in tatarsko tretirano oz. netretirano ajdo nismo zaznali statistično značilne razlike.

Prevodnost listnih rež je bila največja pri jutranji meritvi, nato se zmanjševala in dosegla minimum okoli 11. ure. Proti popoldnevu lahko opazimo trend počasnega naraščanja, pri zadnji meritvi pa so vrednosti ponovno padle in bile podobne opoldanskim. V danih razmerah vrsta ajde in oskrba s selenom nista imeli vpliva na prevodnost listnih rež.



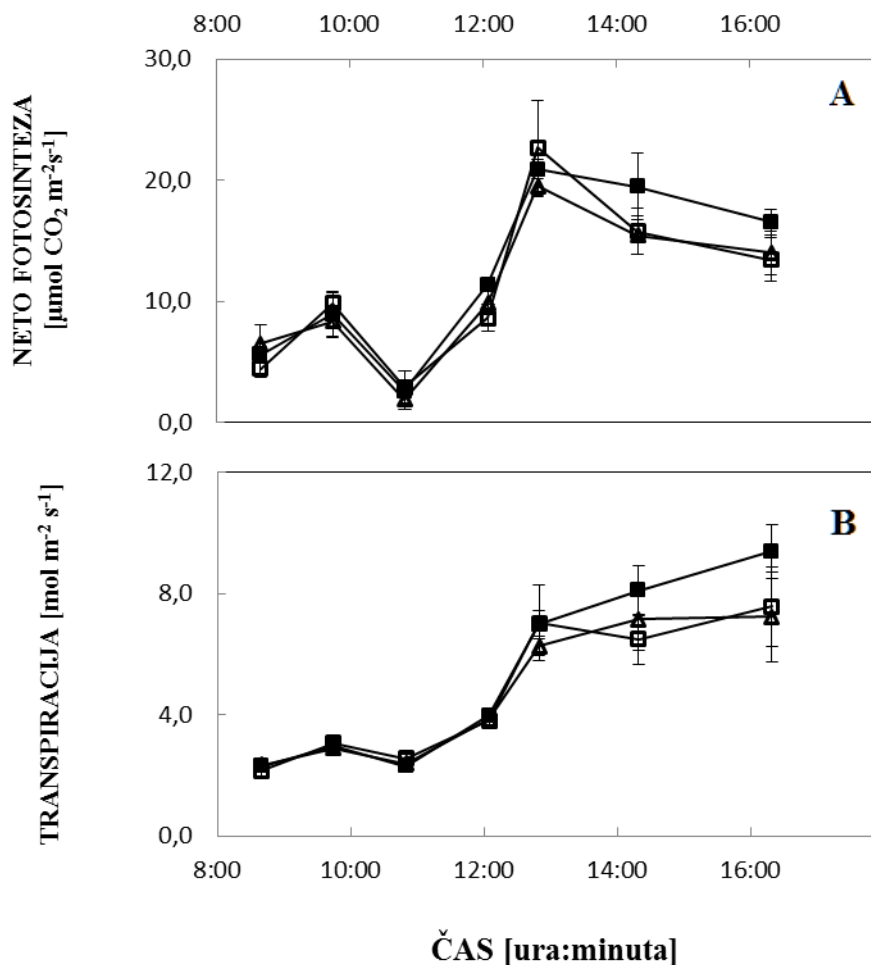
Slika 9: Povprečni vodni potencial (A) (MPa) in povprečna prevodnost listnih rež (B) (mol H₂O m⁻² s⁻¹) navadne (označena s Δ), s selenom tretirane tatarske (označena s $\blacksquare$) in netretirane tatarske (označena s $\square$) ajde 5.7.2010

4.2.3 Dnevni potek neto fotosinteze in transpiracije

Na sliki 10 je prikazan potek povprečne dnevne neto fotosinteze in transpiracije, ki sta bili izmerjeni 5.7.2010 pri navadni ajdi in s selenom tretirani oz. netretirani tatarski ajdi.

Tako navadna kot tretirana in netretirana tatarska ajda so se tekom dneva podobno odzivale s fotosintetsko aktivnostjo in med njimi ni bilo možno opaziti statistično značilne razlike. Najmanjše vrednosti je fotosinteza dosegla dopoldan in sicer do 1,9 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Fotosinteza je zatem strmo naraščala in dosegla maksimalno vrednost okoli 13. ure.

Transpiracija je tekom dneva počasi naraščala pri čemer ni bilo možno zaznati statistično značilnih razlik med različnimi skupinami rastlin oz. različnimi obravnavanji.



Slika 10: Povprečna neto fotosinteza (A) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) in transpiracija (B) ($\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) navadne (označena s Δ), s selenom tretirane tatarske (označena s $\blacksquare$) in netretirane tatarske (označena s $\square$) ajde 5.7.2010

4.3 MERITVE 12. JULIJA 2010

4.3.1 Vremenske razmere in količina vode v tleh

Povprečna dnevna temperatura je znašala $26,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, maksimalna pa $33,1\text{ }^{\circ}\text{C}$, torej je bil od merilnih dni ta najtoplejši. Padavin ni bilo, sončno obsevanje je trajalo 11,6 ur, prekritost neba pa je znašala 33 % (meteorološka postaja Lj–Bežigrad).

V preglednici 5 sta prikazana količina vode v tleh, po parcelicah z različnim posevkom, ter vodni potencial poskusnih rastlin. Količina vode v tleh se na različnih gredicah ni

statistično razlikovala. Prav tako ni bilo možno zaznati, da bi vrsta ajde oz. tretiranje vplivalo na opoldanski vodni potencial.

Preglednica 5: Voda v tleh (vol %) ter opoldanski vodni potencial (MPa) navadne ajde (NA), tatarske ajde (TA) ter s selenom tretirane tatarske ajde (TA_{SE}). Meritve so bile opravljene 12. 7. 2010. Prikazana so povprečja 12 ponovitev $\pm$ standardne napake pri vodi v tleh ter povprečja 6 ponovitev $\pm$ standardne napake pri opoldanskem vodnem potencialu. Statistično smo testirali razlike med povprečji.

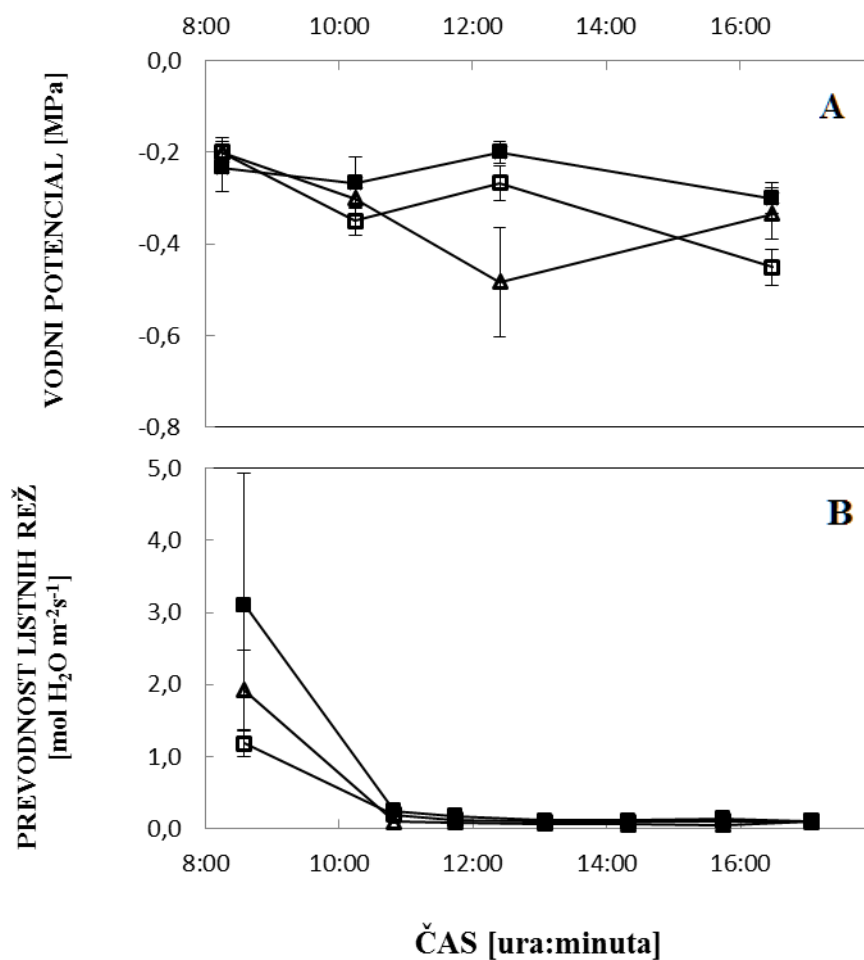
	VODA V TLEH (vol%)	OPOLDANSKI VODNI POTENCIAL (MPa)
NA	12,5 $\pm$ 1,2	-0,48 $\pm$ 0,12
TA	8,4 $\pm$ 1,3	-0,27 $\pm$ 0,04
TA_{SE}	9,6 $\pm$ 1,1	-0,20 $\pm$ 0,02
ANOVA	0,07	0,061

4.3.2 Dnevni potek vodnega potenciala in prevodnosti listnih rež

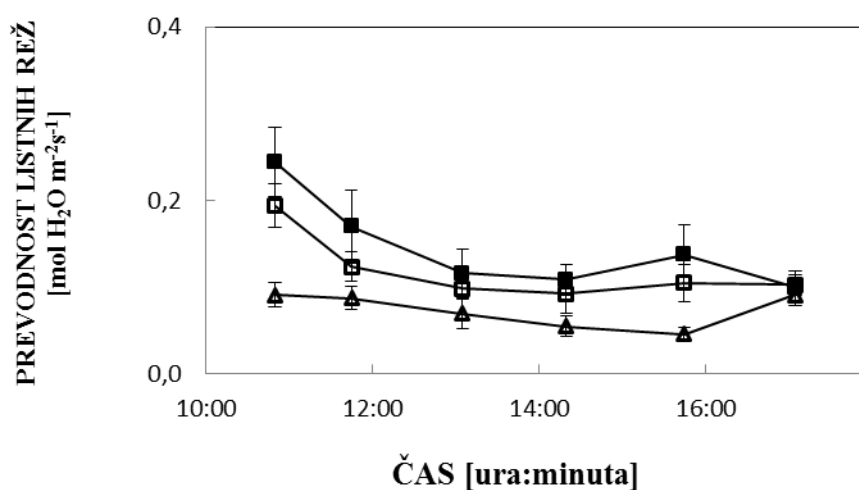
Na sliki 11 je prikazan potek povprečnega dnevnega vodnega potenciala in prevodnosti listnih rež, ki sta bila izmerjena 12.7.2010 pri navadni ajdi in s selenom tretirani oz. netretirani tatarski ajdi.

Povprečne vrednosti vodnega potenciala so se pri jutranji meritvi gibale od -0,2 do -0,23. Pri tretirani in netretirani tatarski ajdi so nato vrednosti tekom dneva minimalno nihale, medtem ko se je navadna ajda odzvala z bolj negativnim vodnim potencialom. Ta je okoli 12. ure dosegel minimalno povprečno vrednost, ki je znašala -0,48 MPa. Vrednosti vodnega potenciala treh različnih skupin ajde se v opoldanskem času niso statistično razlikovale ($p=0,061$). Opazili pa smo vpiv selena na vodni potencial pri zadnji meritvi, ki je potekala ob 16:30 ($p=0,024$). Razpoložljivost vode je bila v tem času dneva pri s Se tretirani tatarski ajdi v primerjavi z netretirano manjša.

Prevodnost listnih rež je bila največja v jutranjih urah, nato pa smo lahko opazili trend pospešenega zapiranja listnih rež. Kot je razvidno iz slike 12, se je majhna prevodnost ohranjala tekom celotnega dneva, kar je bila najverjetneje posledica visokih temperatur. Tako navadna kot tatarska ajda sta se odzivali podobno, statistično značilno razliko smo opazili le pri meritvi, ki je potekala okoli 11. ure. Navadna ajda je imela manjšo prevodnost, ki se je razlikovala od tretirane in netretirane tatarske z vrednostjo $p=0,010$.



Slika 11: Povprečni vodni potencial (A) (MPa) in povprečna prevodnost listnih rež (B) (mol H₂O m⁻² s⁻¹) navadne (označena s Δ), s selenom tretirane tatarske (označena s $\blacksquare$) in netretirane tatarske (označena s $\square$) ajde 12.7.2010



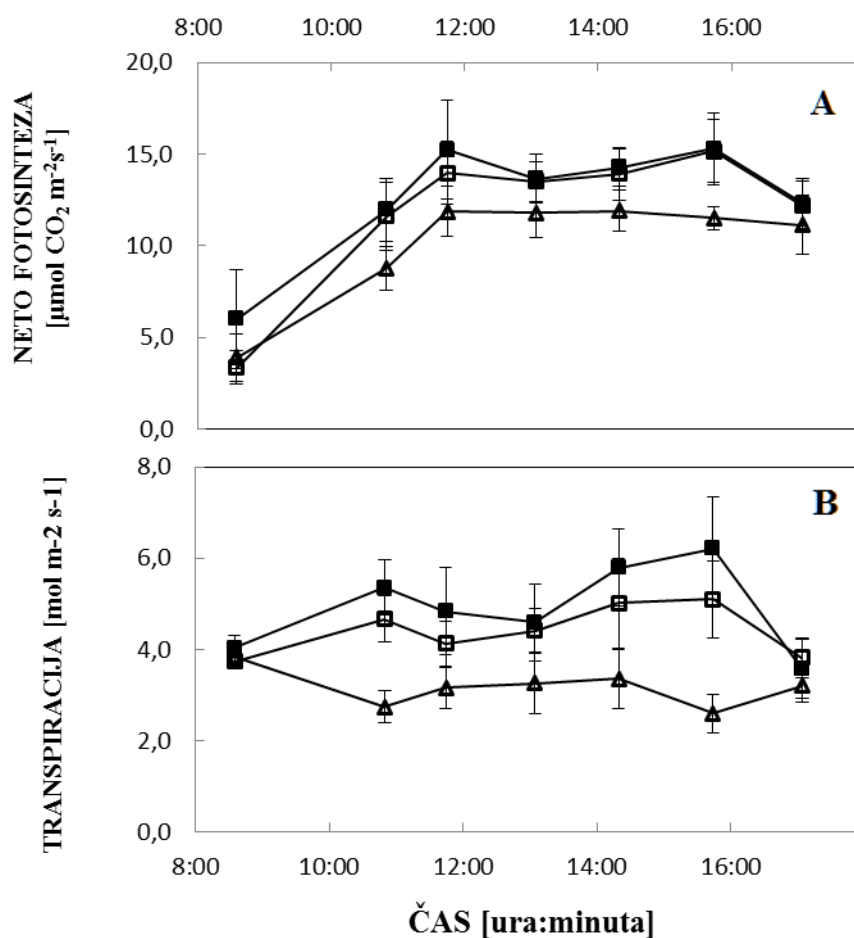
Slika 12: Povprečna prevodnost listnih rež (mol H₂O m⁻² s⁻¹) navadne (označena s Δ), s selenom tretirane tatarske (označena s $\blacksquare$) in netretirane tatarske (označena s $\square$) ajde 12.7.2010 z začetkom ob 10:50

4.3.3 Dnevni potek neto fotosinteze in transpiracije

Na sliki 13 je prikazan potek povprečne dnevne neto fotosinteze in transpiracije, ki sta bili izmerjeni 12.7.2010 pri navadni ajdi in s selenom tretirani oz. netretirani tatarski ajdi.

Najmanjše vrednosti je dosegla fotosinteza v jutranjih urah in sicer je bila povprečna vrednost pri netretirani tatarski ajdi 3,3, pri navadni 3,9 in pri s selenom tretirani tatarski ajdi 6,0 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Nato je fotosinteza strmo naraščala, pri čemer sta tretirana in netretirana tatarska ajda dosegli podobne vrednosti, večjo variabilnost pa lahko opazimo pri fotosintezi navadne ajde. Ta je tekom celotnega merilnega dneva dosegala za približno 3 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ manjše vrednosti od tatarske ajde. Vendar pa analiza variance ni pokazala, da bi vrsta pri ajde vplivala na fotosintezo.

Transpiracija je bila pri prvi meritvi približno enaka pri vseh skupinah ajde. Pri navadni ajdi je nato postopoma padala in dosegla manjše vrednosti v primerjavi s tretirano in netretirano tatarsko ajdo, ki pa sta tekom dneva povečali transpiracijo. Statistično značilne razlike med navadno in tatarskima ajdama so bile le pri dveh meritvah (10:50 in 15:45). Analiza variance je pokazala, da selen ni vplival na transpiracijo.

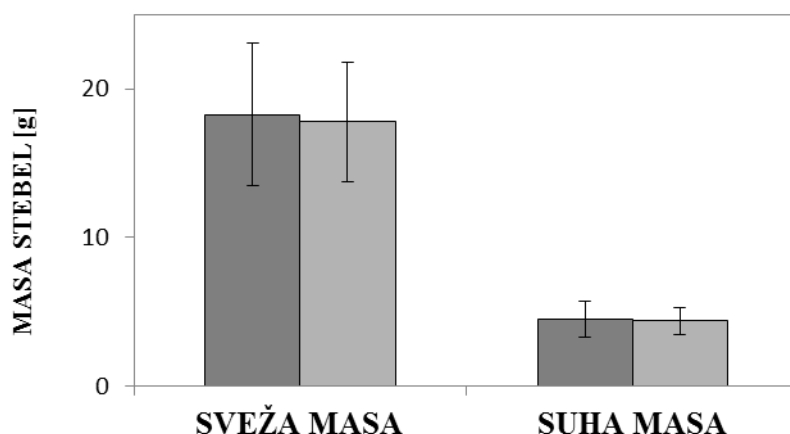


Slika 13: Povprečna neto fotosinteza (A) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) in transpiracija (B) ($\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) navadne (označena s Δ), s selenom tretirane tatarske (označena s $\blacksquare$) in netretirane tatarske (označena s $\square$) ajde 12.7.2010

4.4 MERITVE BIOMASE

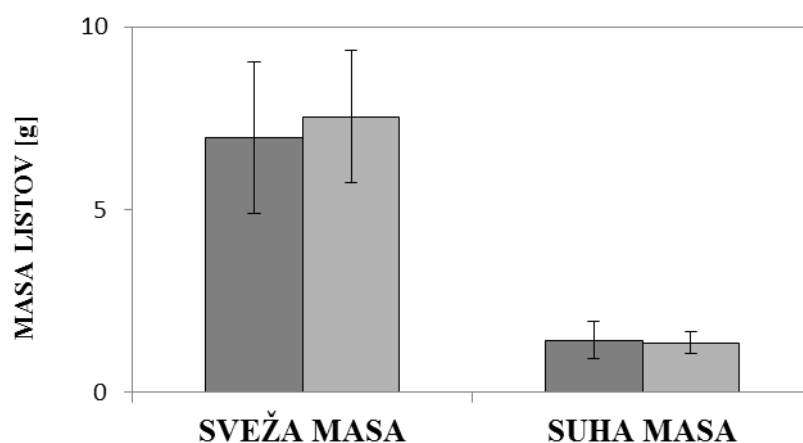
4.4.1 Meritve biomase tatarske ajde

Na sliki 14 je prikazana povprečna sveža in suha masa stebel v gramih na rastlino pri netretirani in s selenom tretirani tatarski ajdi. Iz slike lahko razberemo, da je masa stebel s selenom tretirane tatarske ajde enaka masi netretirane tatarske ajde.



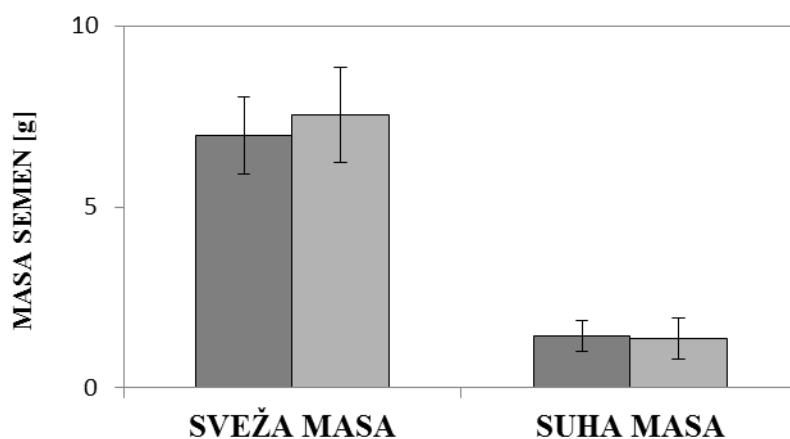
Slika 14: Povprečna sveža in suha masa (g) stebel na rastlino pri netretirani (označena z □) in s selenom tretirani (označena z ■) tatarski ajdi

Na sliki 15 je prikazana povprečna sveža in suha masa listov v gramih na rastlino pri netretirani in s selenom tretirani tatarski ajdi. Sveža masa listov netretirane tatarske ajde je nekoliko presegla s selenom tretirano tatarsko ajdo, vendar pa razlika ni bila statistično značilna. Medtem ko sta suhi masi skoraj izenačeni.



Slika 15: Povprečna sveža in suha masa (g) listov na rastlino pri netretirani (označena z □) in s selenom tretirani (označena z ■) tatarski ajdi

Na sliki 16 je prikazana povprečna sveža in suha masa semen v gramih na rastlino pri netretirani in s selenom tretirani tatarski ajdi. Podobno kot pri listih je bila povprečna sveža masa semen nekoliko večja pri netretirani tatarski ajdi.



Slika 16: Povprečna sveža in suha masa (g) semen na rastlino pri netretirani (označena z $\square$) in s selenom tretirani (označena z $\blacksquare$) tatarski ajdi

4.4.2 Meritve biomase navadne ajde

Pri navadni ajdi smo tehtali celotno biomaso. Povprečna sveža masa je znašala na rastlino 82,4 g, povprečna suha masa pa 17,8 g.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

Selen naj bi povečal antioksidantni potencial rastlin in s tem pripomogel k odpornosti rastlin na različne stresne dejavnike. V diplomski nalogi smo želeli ovrednotiti odziv s selenom tretirane tatarske ajde na različno razpoložljivost vode, s katero so se rastline soočile v danih razmerah. Odziv rastlin smo spremljali z naslednjimi fiziološkimi parametri: vodnim potencialom, prevodnostjo listnih rež, transpiracijo in neto fotosintezo, ki smo jih primerjali z izmerjeno količino vode v tleh. Ajdo smo izbrali za poskusno rastlino, saj žlahtnjenje in selekcija pri njej nista močno napredovali v primerjavi z žiti (Halbrecq in sod., 2005), kar je razlog, da bi ajda lahko imela vrsto odpornosti proti različnim stresnim dejavnikom. S pomočjo povečane antioksidativne aktivnosti bi se lahko te odpornosti še bolje izrazile.

Poskus smo izvajali na prostem, kar pomeni, da je bil prepuščen okoljskim razmeram. Ker se v zadnjih letih pogosto tudi pri nas srečujemo s sušo, pri poskusu nismo aktivno omejevali vode. Rastline so bile posajene 14.5. in so bile sprva oskrbovane z vodo s pomočjo kapljičnega sistema, ki je bil vključen po vizulani potrebi in ne v skladu z namakanjem do stanja poljske kapacitete. S koncem meseca smo prenehali z namakanjem. V juniju je skupno padlo 124 mm padavin, kar je le 80 % od dolgoletnega povprečja, vendar pa je bila glavnina padavin okoli 20. junija. Zatem je sledil teden suhega vremena, manjša količina padavin pa je ponovno nastopila v noči na 1. merilni dan (1.7.). Enako se je pripetilo 2. merilni dan (5.7.), ko je bila količina padavin 6,9 mm. 3. merilni dan (12.7.) je bil brez padavin, vendar pa je predhodno (7.7.) padlo okoli 20 mm. Čeprav je povprečna temperatura presegala dolgoletno povprečje za kar 3 °C in je bilo posledično večje izhlapevanje vode iz tal, količina padavin pa je bila podpovprečna, poskusnih rastlin nismo ujeli v razmerah močnega pomanjkanja vode, kar lahko sklepamo iz izmerjenega rastlinskega vodnega potenciala. To se je najverjetneje zgodilo zaradi neugodne razporeditve padavin.

Razpoložljivost vode za rastline smo ocenili z merjenjem vode v tleh. Na vsaki ploskvici smo opravili meritev na treh naključno izbranih mestih na globini 10 cm. Količino vode v tleh smo merili s sonda SM 200 (Delta-T Devices Ltd., Cambridge), ki pa izmeri vodo le na določeni točki. Izmerjeni rezultati so se tako na isti ploskvici lahko zelo razlikovali in so znašali na primer od 3 do 18 vol %. Zato bi bilo najverjetneje bolje, da bi opravili večje število meritev na ploskvico. S tem ko bi povečali vzorec, bi izmerjeno povprečje bolj približali dejanski povprečni vodi v tleh in odpravili možnost napak. Pri meritvah 1.7. se je povprečna količina vode na ploskvicah s selenom tretirane tatarske ajde (11,7 vol %) statistično značilno razlikovala od ploskvic netretirane tatarske (16,6 vol %) in navadne ajde (16,9 vol %). Možnost, da je bila dejanska voda v tleh manjša pri s selenom tretirani tatarski ajdi, se zdi manj verjetna, saj so bile parcelice naključno razporejene. Glede na

varibilnost izmerjenih rezultatov, je bolj verjetno, da so bila na parcelicah TA_{SE} izbrane naključne točke, kjer je bila vlažnost tal manjša.

Rastline so ob jutranjih urah izgledale vitalne in dobro preskrbljene z vodo, v opoldanskem času pa so povesele liste in so delovale uvelo, kot da bi jim primanjkovalo vlage. Iz meritev vodnega potenciala lahko razberemo, da rastline najverjetneje niso utpele močnega pomanjkanja vode, torej pojav povešanja listov lahko pripišemo obrambi rastline pred pretiranim sončnim obsevanjem. V opoldanskem času tako pade na liste ajde manj sončnih žarkov, če so povešeni, kot če bi bili vodoravno. Tak odziv je sicer znan pri nekaterih rastlinah, ki s tem uravnavajo svojo toplotno in vodno bilanco, branijo pa se tudi pred fotoinhibicijo (Larcher, 2003).

Najboljši kazalec vodnega stresa je sprememba v vodnem potencialu tkiva. Kot že prej omenjeno, lahko po rezultatih merjenja vodnega potenciala, sklepamo, da obravnavane rastline najverjetneje niso utpele močnega pomanjkanja vode. Nekoliko manjši vodni potencial smo lahko zaznali le 1.7.2010 pri vseh treh skupinah rastlin, ko so jutranje in popoldanske vrednosti znašale okoli -0,4 MPa, opoldan pa so vrednosti padle do približno -0,7 MPa, kar je bil tudi povprečni najmanjši vodni potencial izmerjen v vseh merilnih dnevih. S to vrednostjo smo se tako najbolj približali točki venenja, ki je v literaturi na splošno navedena kot vrednost -1,5 MPa. Ostala merilna dneva so bile vrednosti vodnega potenciala večje in so se gibale od -0,2 do -0,4 MPa pri vseh skupinah rastlin. Količino vode v tleh smo 1.7. izmerili 16,9 vol % za parcelice navadne ajde, 16,6 vol % za tatarsko ajdo in 11,7 vol % za tatarsko ajdo tretirano s selenom. Če izvezemo tatarsko ajdo tretirano s selenom, ki se je statistično razlikovala od ostalih dveh skupin rastlin, je bila količina vode v tleh občutno večja od količine vode 12.7., ko je povprečje za vse skupine parcelic znašalo 10,2 vol %. Če le-to navežemo na vodni potencial rastlin, je zanimivo, da je bil vodni potencial tekom dneva kljub manjši količini vode v tleh 12.7. večji kot pa 1.7., torej se ni skladal s količino vode v tleh.

Če upoštevamo količino vode v tleh 1.7. na parcelicah tatarske ajde tretirane s selenom, ki se je statistično razlikovala od parcelic navadne in netretirane tatarske ajde, kot realno vrednost, je zanimivo, da s selenom tretirana tatarska ajda ni imela najmanjšega vodnega potenciala, kljub manjši količini vode v tleh.

Izmerjene vrednosti prevodnosti listnih rež so se na splošno gibale od 0,1 do 0,8 mol H₂O m⁻²s⁻¹. Tadina in sod. (2007) so dosegli pri zalivanih rastlinah tatarske ajde nekoliko večje vrednosti (0,8 do 1,2 mol H₂O m⁻²s⁻¹), medtem ko so bile vrednosti pri rastlinah izpostavljenih vodnemu deficitu bližje našim (0,1 do 0,2 mol H₂O m⁻²s⁻¹).

Deficit tlaka vodne pare se je tekom dneva povečal, rastline ajde pa so posledično zapirale listne reže in s tem omejile prevodnost. Večje vrednosti stomatalne prevodnosti in sicer od

0,3 do 0,8 mol H₂O m⁻²s⁻¹, so bile izmerjene 5.7., ko je bilo delno do pretežno oblačno, maksimalne temperatura pa je bila nižja kot ostala merilna dneva. Nasprotno so bile najmanjše vrednosti izmerjene 12. 7. (0,1 do 0,2 mol H₂O m⁻²s⁻¹), ko so bile temperature višje v primerjavi z ostalima merilnima dnevoma. Prevodnost listnih rež se je ta dan pri opoldanski meritvi statistično razlikovala med navadno in tatarsko ajdo. Pri nadaljnjih meritvah do statističnih razlik ni več prišlo, vendar pa je bilo povprečje navadne ajde še vedno manjše od tatarske. Močna priprtost listnih rež in posledično omejena transpiracija je najbrž tudi razlog, da so rastline lahko obdržale tako velik vodni potencial kljub manjši količini vode v tleh v primerjavi s predhodnima meritvama.

Pri navadni ajdi je zanimivo, da je 1. 7. in 12. 7. dosegla klub manjši prevodnosti listnih rež manjši vodni potencial. Glede na to, da so bile njene reže bolj priprte od tatarske ajde, bi lahko sklepali, da bo zaradi manjših izgub njen vodni potencial večji. Poleg tega je bila izmerjena količina vode v tleh na parcelicah navadne ajde oba merilna dneva večja kot pri ostalih skupinah rastlin, iz česar bi prav tako lahko predvidevali, da bo vodni potencial večji kot pa pri obeh skupinah tatarske ajde.

Podobne trende lahko opazimo tudi pri fotosintezi. 1.7. in 12.7. so bile vrednosti fotosinteze manjše kot pa 5. 7. in so se gibale okoli 15 μmol CO₂ m⁻²s⁻¹, kar je bila posledica zmanjšane stomatalne prevodnosti. Zopet je izstopala navadna ajda, ki je imela manjše vrednosti fotosinteze, vendar pa do statističnih razlik pri večini meritev ni prišlo. Manjše vrednosti fotosinteze so posledica manjše prevodnosti listnih rež.

Ajda si ne privošči močnega zmanjšanja vodnega potenciala, saj je ob manj vode v tleh zaprla listne reže in omejila transpiracijo. Posledično lahko sklepamo, da je točka venenja manj negativna od vrednosti -1,5 MPa, ki je v literaturi navedena kot splošna meja. Povprečno najmanjši vodni potencial, ki smo ga izmerili v vseh merilnih dnevih, je znašal -0,7 MPa. S to vrednostjo točke venenja najverjetneje nismo dosegli, saj so se rastline preko noči opomogle in zjutraj izgledale ponovno vitalne. Prav tako transpiracija ni bila popolnoma omejena, kar dokazuje, da se meja venenja pri ajdi najverjetneje nahaja med -0,7 in -1,5 Mpa.

Se v našem primeru ni vpival na rast. Pri meritvah biomase ni bilo moč zaznati statistično značilne razlike med s selenom tretirano in netretirano tatarsko ajdo. Do manjše razlike je prišlo pri sveži masi semen in listov, medtem ko so bile suhe mase skoraj popolnoma izenačene.

V nasprotju z našimi raziskavami številni avtorji navajajo, da je Se pripomogel k povečani rasti vrtné solate (Xue in sod., 2001), krompirja (Turakainen in sod., 2004) in listih čajevca (Hu in sod., 2001). Enak učinek je imel tudi pri tatarski ajdi (Tadina in sod., 2007). Vendar je bil za razliko v vseh teh študijah vir Se foliarno škropljenje. Če bi v našem primeru

uporabili enako tretiranje, bi bilo možno, da bi bila koncentracija Se v rastlinah večja in posledično bi lahko imel Se večji vpliv na rast. Možno je tudi, da bi se učinek Se na rast izrazil ob močnejšem sušnem stresu.

Tudi v prihodnosti bo tatarska ajda ena izmed pomembnejših kandidatk za pridelavo funkcionalne hrane. Njena prednost je, da ima zelo dobro hranilno vrednost in da je primerna za ekološko pridelavo, kar je v današnjem času zelo pomembno.

Pomanjkanje vode velja za najpomembnejši problem v kmetijski pridelavi. Rastline so v svojem življenjskem ciklu pogosto izpostavljene sušnemu stresu, kar se zna v prihodnosti zaradi globalnega segrevanja še povečati. Raziskave kažejo, da ima vodni deficit veliko negativnih vplivov na rast rastlin in njihovo produktivnost, saj je prav tako kot ostali stresni dejavniki povezan s povečano stopnjo reaktivnih kisikovih spojin (Xiaoqin in sod., 2009). Zato bo v prihodnosti še pomembneje poiskati alternativne rešitve, ki bodo pripomogle k povečanju odpornosti kulturnih rastlinskih vrst na pomanjkanje vode. Učinke selena na rastline v razmerah sušnega stresa bi bilo zato potrebno do dobra raziskati. Rezultati opravljenih študij so zelo različni, kar nakazuje, da bi bil lahko vpliv selen vrstno specifičen ter odvisen od koncentracije in vrste spojine.

Po prikazanih rezultatih lahko podamo naslednje sklepe:

- V danih razmerah značilne razlike med s selenom tretirano in netretirano tatarsko ajdo ni bilo moč dokazati. Možno je, da v našem primeru pomanjkanje vode ni bilo izraženo tako ekstremno, da bi se protistresni potencial selena lahko nakazal.
- Verjetno bi z drugačno metodo aplikacije selena npr. s foliarnim škropljenjem rastlin, dosegli večjo koncentracijo selena, ki bi lahko imela večji vpliv na merjene fiziološke vrednosti.
- Ajda si ne privošči močnega zmanjšanja vodnega potenciala, saj je ob manj vode v tleh zaprla listne reže in omejila transpiracijo. Posledično lahko sklepamo, da je točka venenja manj negativna od vrednosti -1,5 MPa, ki je v literaturi navedena kot splošna meja.
- Možno je, da se navadna ajda od tatarske nekoliko razlikuje po uravnavanju količine vode. Kljub manjši prevodnosti listnih rež je navadna dosegla manjši vodni potencial v primerjavi s tatarsko ajdo. Razlike smo opazili tudi pri fotosintezi, ki je bila pri navadni ajdi nekoliko manjša.
- S predhodnim tretiranjem semen s Se nismo dosegli povečane rasti. Predvidevamo, da bi prišli do drugačnih rezultatov, če bi rastline foliarno škropili.

6 POVZETEK

Kmetijske rastline so pogosto izpostavljene neugodnim okoljskim dejavnikom, ki vodijo v stresno stanje kot je npr. sušni stres. Z dodajanjem selena, ki je udeležen pri obrambi pred sekundarnim oksidativnim stresom, bi lahko vplivali na fiziološko stanje rastlin in na njihovo sposobnost premagovanja stresa. Namen diplomskega dela je bil ugotoviti, ali bo s selenom tretirana tatarska ajda v primerjavi z netretirano uspešneje uravnavala svojo vodno bilanco ob slabši razpoložljivosti vode v okolju. Prav tako nas je zanimalo, ali je regulacija vodne bilance vrstno specifična lastnost, zato smo prevodnost listnih rež in vodni potencial opazovali tudi pri navadni ajdi. Predvidevali smo, da se bodo fiziološki parametri med s selenom tretiranimi in netretiranimi rastlinami razlikovali. Ajdo smo izbrali za poskusno rastlino, ker žlahtnenje in selekcija pri njej nista močno napredovali v primerjavi z ostalimi žiti (Halbrecq in sod., 2005), kar je razlog, da bi ajda lahko imela vrsto odpornosti proti različnim stresnim dejavnikom. S pomočjo povečane antioksidativne aktivnosti bi se lahko te odpornosti še bolje izrazile.

Poskus je bil postavljen leta 2010 na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete. Izvajali smo ga na prostem, kar pomeni, da so bile rastline izpostavljene okoljskim razmeram. Ker se v zadnjih letih pogosto tudi pri nas srečujemo s sušo, pri poskusu nismo aktivno omejevali vode. Poskusna parcela je bila razdeljena na 12 gredic, kjer je bilo posejano seme navadne ajde, s selenom tretirano seme tatarske ajde in netretirano seme tatarske ajde in sicer vsako v štirih ponovitvah. Znotraj ponovitev so bile gredice razporejene tako, da je imela gredica s tatarsko ajdo s selenom, vedno drugačno kombinacijo sosedov. S selenom tretirano seme tatarske ajde je bilo pridobljeno iz rastlin posejanih leta 2009 v Biljah pri Novi Gorici, ki so bile 21. avgusta poškrpljene s selenom (selenat s koncentracijo 5 mg/l). Meritve so potekale v 3 različnih terminih in sicer: 1.7., 5.7. in 12.7.2010. Vzporedno smo merili vodni potencial s tlačno (Scholanderjevo) komoro in fotosintezo oz. prevodnost listnih rež z porometrom (Li-Cor 6400). Meritve so potekale v približno 1 urnih ciklih z začetkom okrog 8.00.

Odziv rastlin smo spremljali z naslednjimi fiziološkimi parametri: vodni potencial, prevodnost listnih rež, transpiracijo in neto fotosintezo, ki smo jih primerjali z izmerjeno količino vode v tleh. Po rezultatih merjenja vodnega potenciala lahko sklepamo, da obravnavane rastline niso utrpel ekstremnega pomanjkanja vode. Značilne razlike med s selenom tretirano in netretirano tatarsko ajdo nismo uspeli dokazati. Možno je, da v našem primeru pomanjkanje vode ni bilo izraženo tako ekstremno, da bi se protistresni potencial selena lahko nakazal. Nakazale pa so se določene razlike med navadno in tatarsko ajdo. Sklepamo, da se vrsti nekoliko razlikovali po uravnavanju vode. Navadna ajda je kljub manjši prevodnosti listnih rež dosegla manjši vodni potencial v primerjavi s tatarsko ajdo. Razlike smo opazili tudi pri fotosintezi, ki je bila pri navadni ajdi nekoliko manjša. Ugotovili smo tudi, da se v našem primeru ni vpival na rast.

7 VIRI

- Arvy M. P. 1989. Some factors influencing the uptake and distribution of selenite in bean plant (*Phaseolus vulgaris*). Plant and Soil, 117: 129-133
- Bonafaccia G., Gambelli L., Fabjan N., Kreft I. 2003. Trace elements in flour and bran from common and tartary buckwheat. Food Chemistry, 83, 1: 1-5
- Breznik B., Germ M., Gaberšnik A., Kreft I. 2005. Combined effects of elevated UV-B radiation and the addition of selenium on common (*Fagopyrum esculentum* Moench) and tartary [*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.] buckwheat. Photosynthetica, 43, 4: 583-589
- Cegnar T. 2010a. Klimatske razmere v juniju 2010. Mesečni bilten: Agencija RS za okolje, 17, 6: 3-16
- Cegnar T. 2010b. Klimatske razmere v juliju 2010. Mesečni bilten: Agencija RS za okolje, 17, 7: 3-16
- Combs Jr. G.F. 2001. Selenium in global food system. British Journal of Nutrition, 85: 517-547
- Djanaguiraman M., Durga Devi D., Shanker A.K., Sheeba J.A., Bangarusamy U. 2005. Selenium - an antioxidative protectant in soybean during senescence. Plant and Soil, 272: 77-86
- Djanaguiraman M., Prasad P.V.V., Seppänen M. 2010. Selenium protects sorghum leaves from oxidative damage under high temperature stress by enhancing antioxidant defense system. Plant Physiology and Biochemistry, 48: 999-1007
- Ellis D.R., Salt D.E. 2003. Plants, selenium and human health. Current Opinion in Plant Biology, 6: 273-279
- Eshdat Y., Holland D., Faltin Z., Ben-Hayyim G. 1997. Plant glutathione peroxidases. Physiologia Plantarum, 100: 234-240
- Germ M., Kreft I., Osvald J. 2005. Influence of UV-B exclusion and selenium treatment on photochemical efficiency of photosystem II, yield and respiratory potential in pumpkins (*Cucurbita pepo* L.). Plant Physiology and Biochemistry, 43: 445-448
- Germ M., Kreft I., Stibilj V., Urbanc-Berčič O. 2007. Combined effects of selenium and drought on photosynthesis and mitochondrial respiration in potato. Plant Physiology and Biochemistry, 45: 162-167

- Halbrecq B., Romedenne P., Ledent J.F. 2005. Evolution of flowering, ripening and seed set in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench): quantitative analysis. *European Journal of Agronomy*, 23: 209-224
- Hartikainen H., Ekholm P., Piirongen V., Xue T.L., Koivu T., Yli-Halla M. 1997. Quality of the ryegrass and lettuce yields as affected by selenium fertilization. *Agricultural and Food Science in Finland*, 6: 381-387
- Hartikainen H., Xue T., Piironen V. 2000. Selenium as an anti-oxidant and pro-oxidant in ryegrass. *Plant and Soil*, 225: 193-200
- Hasanuzzaman M., Fujita M. 2011. Selenium pretreatment upregulates the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system and confers enhanced tolerance to drought stress in rapeseed seedlings. *Biological Trace Element Research*, 143: 1758-1776
- Hasanuzzaman M., Hossain M.A., Fujita M. 2011. Selenium-induced up-regulation of the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system reduces salinity-induced damage in rapeseed seedlings. *Biological Trace Element Research*, 143: 1704-1721
- Hawrylak-Nowak B. 2008. Changes in anthocyanin content as indicator of maize sensitivity to selenium. *Journal of Plant Nutrition*, 31: 1232-1242
- Hawrylak-Nowak B. 2009. Beneficial effects of exogenous selenium in cucumber seedlings subjected to salt stress. *Biological Trace Element Research*, 132: 259-269
- Hawrylak-Nowak B., Matraszek R., Szymanska M. 2010. Selenium modifies the effect of short-term chilling stress on cucumber plant. *Biological Trace Element Research*, 138: 307-315
- Heijari J., Kivimäenpää M., Hartikainen H., Julkunen-Tiitto R., Wulff A. 2006. Responses of strawberry (*Fragaria × ananassa*) to supplemental UV-B radiation and selenium under field conditions. *Plant and Soil*, 282: 27-39
- Hu Q., Xu J., Pang G. 2003. Effect of selenium on the yield and quality of green tea leaves harvested in early spring. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 3379-3381
- Hu Q., Xu J., Pang G. 2001. The effect of the selenium spraying on green tea quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 1387-1390
- Jianzhou C., Xiaoqin Y., Zhuona Z. 2009. Responses of wheat seedlings to exogenous selenium supply under cold stress. *Biological Trace Element Research*, 136: 355-363

- Kong L., Wang M., Bi D. 2005. Selenium modulates the activities of antioxidant enzymes, osmotic homeostasis and promotes the growth of sorrel seedlings under salt stress. *Plant Growth Regulation*, 45: 155-163
- Kostopoulou P., Barbayiannis N., Noitsakis B. 2010. Water relations of yellow sweetclover under the synergy of drought and selenium addition. *Plant and Soil*, 330: 65-71
- Kreft I. 1995. Ajda. Ljubljana, ČZD Kmečki glas: 112 str.
- Kreft I., Germ M., Vomberger B. 2010. Pridelovanje in uporaba tatarske ajde – nov izziv v Sloveniji. V: Novi izzivi v poljedelstvu 2010: zbornik simpozija, Rogaška Slatina, Slovensko agronomsko društvo, 2. in 3. december: 155-159
- Lee M.J., Kang H.M., Park K.W. 2000. Effects of Se on growth, storage life, and internal quality of coriander (*Coriandrum sativum* L.) during storage. *Journal of the Korean Society for Horticultural Science*, 41: 490-494
- Lee G.P., Park K.W. 1998. Effect of Se concentration in the nutrient solution on the growth and internal quality of endive. *Journal of the Korean Society for Horticultural Science*, 39: 391-396
- Letavayova L., Vlčkova V., Brozmanova J. 2006. Selenium: From cancer prevention to DNA damage. Review. *Toxicology*, 227: 1-14
- LI-COR.: Using the LI-6400 Portable Photosynthesis System.1999. Lincoln, ZDA (navodila za uporabo)
- Liu Q., Wang D.J., Jiang X.J., Cao Z.H. 2004. Effects of the interactions between selenium and phosphorus on the growth and selenium accumulation in rice (*Oryza Sativa*). *Environmental Geochemistry and Health*, 26: 325-330
- Lyons G.H., Genc Y., Soole K., Stangoulis J.C.R., Liu F., Graham R.D. 2009. Selenium increases seed production in Brassica. *Plant and Soil*, 318: 73-80
- Mazzafera P. 1998. Growth and biochemical alterations in coffee due to selenite toxicity. *Plant and Soil*, 201: 189-196
- Munshi C.B., Combs Jr. G.F., Mondy N.I. 1990. Effect of selenium on the nitrogenous constituents of the potato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38: 2000-2002
- Munshi C.B., Mondy N.I. 1992. Glycoalkaloid and nitrate content of potatoes as affected by method of selenium application. *Biological Trace Element Research*, 33: 121-127

- Partington J.R. 1964. History of Chemistry, 4. izdaja. London, Macmillan: 621 str.
- Peng A., Xu Y., Lu J.H., Wang Z.J. 2000. Study on the dose-effect relationship of selenite with the growth of wheat. Biological Trace Element Research, 76: 175-181
- Pennanen A., Xue T., Hartikainen H. 2002. Protective role of selenium in plant subjected to severe UV irradiation stress. Journal of Applied Botany and Food Quality, 76: 66-76
- Pirc S., Šajn R. 1997. Vloga geokemije v ugotavljanju kemične obremenitve okolja. V: Projekt evropskega leta varstva narave 1995. Kemizacija okolja in življenja. Do katere meje? Ljubljana, Slovensko ekološko društvo: 165-185
- R – development core. 2007. R - 2.15.1 for Windows.
<http://cran.r-project.org/bin/windows/base/> (avgust, 2013)
- Reid M.E., Stratton M.S., Lillico A.J., Fakih M., Natarajan R., Clark L.C., Marshall J.R. 2004. A report of high-dose selenium supplementation: response and toxicities. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 18: 69-74
- Rotruck J.T., Pope A.L., Ganther H.E., Hafeman D.G., Swanson A.B., Hoekstra W.G. 1973. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. Science, 179: 588-590
- Roy G., Sarma B.K., Phadnis P.P., Mugesh G. 2005. Selenium-containing enzymes in mammals: Chemical perspectives. Journal of the Chemical Science, 117, 4: 287-303
- Scholander P.F., Hemmingsen E.A., Hammel H.T., Bradstreet E.D.P. 1964. Hydrostatic pressure + osmotic potential in leaves of mangroves + some other plants. The Proceedings of the National Academy of Sciences, 52: 119-125
- Schwarz K., Foltz C.M. 1957. Selenium as integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. Journal of the American Chemical Society, 79: 3292-3293
- Seppänen M., Turakainen M., Hartikainen H. 2003. Selenium effects on oxidative stress in potato. Plant Science, 165: 311-319
- SM200 Soil Moisture Sensor User Manual. 2006.
<http://www.delta-t.co.uk/plant-soil-sciences.html> (januar, 2013)
- Smrkolj P., Germ M., Kreft I., Stibilj V. 2006. Respiratory potential and Se compounds in pea (*Pisum sativum* L.) plants grown from Se-enriched seeds. Journal of Experimental Botany, 57: 3595-3600

- Spence J.T. 2006. Challenges related to the composition of the functional foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: S4-S6
- Tadina N., Germ M., Kreft I., Breznik B., Gaberščik A. 2007. Effects of water deficit and selenium on common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.) plants. *Photosynthetica*, 45, 3: 472-476
- Terry N., Zayed A.M., de Souza M.P., Tarun A.S. 2000. Selenium in higher plants. *Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51: 401-32
- Turakainen M., Hartikainen H., Seppänen M.M. 2004. Effects of selenium treatments on potato (*Solanum tuberosum* L.) growth and concentrations of soluble sugars and starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 5378-5382
- Valkama E., Kivimäenpää M., Hartikainen H., Wulff A. 2003. The combined effects of enhanced UV-B radiation and selenium on growth, chlorophyll fluorescence and ultrastructure in strawberry (*Fragaria × ananassa*) and barley (*Hordeum vulgare*) treated in the field. *Agricultural and Forest Meteorology*, 120: 267-278
- Vodnik D. 2012. Osnove fiziologije rastlin. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 141 str.
- Wang C.-Q. 2011. Water-stress mitigation by selenium in *Trifolium repens* L. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 174: 276-282
- Wang C.-Q., Xu H.-J., Liu T. 2011. Effect of selenium on ascorbate–glutathione metabolism during PEG-induced water deficit in *Trifolium repens* L. *Journal of Plant Growth Regulation*, 30: 436-444
- Xue T., Hartikainen H., Piironen V. 2001. Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. *Plant and Soil*, 237: 55-61
- Xiaoqin Y., Jianzhou C., Chaojie B. 2009. Antioxidant responses of wheat seedlings to exogenous selenium supply under enhanced ultraviolet-B. *Biological Trace Element Research*, 136: 96-105
- Xiaoqin Y., Jianzhou C., Guangyin W. 2009. Effects of drought stress and selenium supply on growth and physiological characteristics of wheat seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31: 1031-1036
- Zhou M.H. 1990. Influence of selenium on growth, root vigor and seed morphology of rice. *Journal of Agricultural Science (China)*, 15: 57-59

ZAHVALA

Mentorju prof. dr. Dominiku Vodniku se iskreno zahvaljujem za strokovno pomoč, koristne nasvete in potrpežljivost pri nastanku diplomske naloge.

Hvala tudi somentorju prof. dr. Ivanu Kreftu.

Hvala Nejc, družini in prijateljem za vso podporo.

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Marjana JELAVIĆ

**VODNA BILANCA S SELENOM TRETIRANE
TATARSKE AJDE (*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.)
OB RAZLIČNI RAZPOLOŽLJIVOSTI VODE V
OKOLJU**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2013