

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Luka JAN

**VPLIV MAGNETNEGA POLJA NA STOPNJO RASTI  
IN FOTOKEMIČNO UČINKOVITOST  
VODNEGA MAKROFITA *Lemna minor***

DOKTORSKA DISERTACIJA  
Univerzitetni študij

Ljubljana, 2015

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Luka JAN

**VPLIV MAGNETNEGA POLJA  
NA STOPNJO RASTI IN FOTOKEMIČNO UČINKOVITOST  
VODNEGA MAKROFITA *Lemna minor***

DOKTORSKA DISERTACIJA  
Univerzitetni študij

**EFFECTS OF MAGNETIC FIELD ON GROWTH AND  
PHOTOCHEMICAL EFFICIENCY OF WATER MACROPHYTE  
*Lemna minor***

DOCTORAL DISSERTATION  
University studies

Ljubljana, 2015

Na podlagi Statuta Univerze v Ljubljani ter po sklepu Senata Biotehniške fakultete in sklepa 33. seje Komisije za doktorski študij UL z dne 14. 11. 2012 (po pooblastilu Senata Univerze z dne 20. 1. 2009) je bilo potrjeno, da kandidat izpolnjuje pogoje za neposreden prehod na doktorski študij Bioloških in biotehniških znanosti ter opravljanje doktorata znanosti na znanstvenem področju biologija. Za mentorja je bil imenovan prof. dr. Igor Jerman, za somentorico pa prof. dr. Alenka Gabersčik.

Vse raziskave so bile opravljene na inštitutu BION, Inštitutu za bioelektromagnetiko in novo biologijo d.o.o. v Ljubljani. Del uporabljenih laboratorijskih naprav in merilnih inštrumentov so prispevali:

- Katedra za ekologijo in varstvo okolja (skupina za ekologijo rastlin), Oddelka za biologijo na Biotehnični fakulteti Univerze v Ljubljani
- Laboratorij za bioelektromagnetiko Katedre za osnove elektrotehnike, matematiko in fiziko Fakultete za elektrotehniko Univerze v Ljubljani
- Laboratorij za biotehnologijo Kemijskega inštituta v Ljubljani

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: prof. dr. Marjana REGVAR  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Član: prof. dr. Dušan FEFER  
Univerza v Ljubljani, Fakulteta za elektrotehniko Katedra za merjenja in robotiko

Članica: prof. dr. Mateja GERM  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Datum zagovora: 21. 10. 2015

Podpisani izjavljam, da je disertacija rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Luka Jan

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dd  
DK 581.1:537.212(042.3)=163.6  
KG elektromagnetno polje/magnetno polje/geomagnetno polje/*Lemna minor*/mala vodna leča/stopnja rasti/fluorescenca klorofila/ sedem dnevni test/JIP test  
AV Jan Luka, univ.dipl.biol.  
SA Jerman Igor (mentor) / Gaberščik Alenka (somentor)  
KZ SI- 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti, področje biologije  
LI 2015  
IN VPLIV MAGNETNEGA POLJA NA STOPNJO RASTI IN FOTOKEMIČNO UČINKOVITOST VODNEGA MAKROFITA *LEMNA MINOR*  
TD Doktorska disertacija  
OP XXII, 213 str., 17 pregl., 82 sl., 15 pril., 304 vir.  
IJ sl  
JI sl / en  
AI Zemljino magnetno polje (geomagnetno polje) je prisotno skozi celotno evolucijo življenja na Zemlji, a se večinoma ne obravnava kot dejavnik, ki bi lahko vplival na rast in razvoj rastlin. V naših raziskavah smo želeli preveriti, ali lahko razlike v geomagnetnem polju (GMP: 4  $\mu$ T, 30  $\mu$ T, 100  $\mu$ T) ali pa izpostavitve močnemu statičnemu magnetnemu polju (SMP: 150 mT) in nihajočemu magnetnemu polju (PMP: 80  $\mu$ T – 95  $\mu$ T) spremenijo rast ter fotokemično učinkovitost FSII pri mali vodni leči (*Lemna minor*). Za vsa obravnavanja smo uporabili enak standardiziran sedem dnevni test inhibicije rasti in dodali tudi meritve fluorescence klorofila *a* FSII, s katerimi smo določili karakteristično poli-fazno fluorescenco, ki jo opišemo z OJIP krivuljo (O je minimalna stopnja fluorescence, P je maksimalna stopnja, J in I pa sta značilni vmesni stopnji), in jo številčno ovrednotili z izračunom JIP parametrov. Stopnja rasti za skupno površino stebelnih členkov ( $SR_A$ ) je bila v povprečju 8 % višja za rastline v zmanjšanem geomagnetnem polju (MGP).  $SR_A$  rastlin, ki so rastle v povečanem geomagnetnem polju (VGP) je bila v povprečju 4 % manjša, a razlika ni bila statistično značilna. V poskusih v spremenjenem geomagnetnem polju nismo odkrili razlik v fotokemični učinkovitosti FSII izpostavljenih rastlin v primerjavi z rastlinami kontrole. V poskusih z močnim statičnim magnetnim poljem smo opazili nekoliko višjo OJIP krivuljo izpostavljenih rastlin, ki pa se ni odrazila v stopnjah rasti. Nihajoče magnetno polje v sedmih dneh ni vplivalo na rast in fotokemično učinkovitost FSII rastlin, ne glede na izbor frekvenc. Prav tako nismo opazili učinka nihajočega magnetnega polja na gojišče. Eden pomembnejših doprinosov naših raziskav je jasen in standardiziran postopek, uporaba modelnega organizma in visoko kontrolirane rastne razmere ter večkrat ponovljeni poskusi na eni strani in različna magnetna polja na enakem poskusnem sistemu na drugi strani. Vsekakor pa so učinki magnetnih polj glede na druge objave v znanstveni literaturi nižji od pričakovanih.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Dd  
DC 581.1:537.212(042.3)=163.6  
CX electromagnetic field/magnetic field/geomagnetic field/*Lemna minor*/common duckweed/growth rate/chlorophyll fluorescence/seven day test/JIP test  
AU Jan Luka, univ.dipl.biol.  
AA Jerman Igor (supervisor) / Gaberščik Alenka (co-supervisor)  
PP SI- 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
PB University of Ljubljana, Biotechnical faculty, Postgraduate Study of Biological and Biotechnical Sciences, Field: biology  
PY 2015  
TI EFFECTS OF MAGNETIC FIELD ON GROWTH AND PHOTOCHEMICAL EFFICIENCY OF WATER MACROPHYTE *LEMNA MINOR*  
DT Doctoral dissertation  
NO XXII, 213 p., 17 tab., 8 fig., 15 ann., 304. ref.  
LA sl  
AL sl / en  
AB The geomagnetic field varies over the Earth's surface, and changes over time, but it is generally not considered as a factor that could influence plant growth. The effects of reduced (MGP) and enhanced (VGP) geomagnetic fields (4  $\mu$ T, 30  $\mu$ T, 100  $\mu$ T), strong static magnetic field (SMP: 150 mT) and changing magnetic field (PMP: 80  $\mu$ T – 95  $\mu$ T) on growth and chlorophyll *a* (Chl *a*) fluorescence of *Lemna minor* plants were investigated under controlled conditions. A standard seven day test was conducted. Specific growth rates as well as slow and fast Chl *a* fluorescence kinetics were measured after seven days incubation. The results, compared to those of controls, showed that the reduced geomagnetic field significantly stimulated the growth rate of the total frond area in the magnetically treated plants (8 % difference). However, the enhanced geomagnetic field pointed towards inhibition of the growth rate in the exposed plants in comparison to the control (4 % difference), but the difference was not statistically significant. This trend was not observed in the case of treatments with strong static magnetic field. Our measurements suggest that the efficiency of photosystem II (PSII) is not affected by variations in the geomagnetic field. In contrast, the strong static magnetic field seems to have the potential to increase initial Chl *a* fluorescence and energy dissipation in *Lemna minor* plants. Neither growth nor Chl *a* fluorescence was effected by the changing magnetic field after seven days of exposure regardless of the frequencies used. Similarly we found no effects when we exposed the growth medium to changing magnetic field. One of the more important contributions of our work is the usage of the standardized protocol and simultaneous usage of different magnetic treatments. The found effects of magnetic fields are lower than expected.

## KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	IX
KAZALO SLIK	X
KAZALO PRILOG	XV
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XVI
SLOVARČEK	XIX
<b>1 UVOD</b>	<b>1</b>
1.1 CILJI RAZISKAVE	4
1.2 DELOVNE HIPOTEZE	5
<b>2 PREGLED OBJAV</b>	<b>6</b>
2.1 POMEN OKOLJSKIH DEJAVNIKOV ZA RAST MAKROFITOV	6
2.2 FOTOSINTEZA	8
<b>2.2.1 Fluorescenca klorofila <i>a</i></b>	<b>10</b>
2.2.1.1 Kvantitativna analiza OJIP krivulje	11
2.2.1.2 Pregled raziskav z JIP testom	15
2.3 STRES PRI RASTLINAH	18
<b>2.3.1 Reaktivne kisikove spojine (ROS)</b>	<b>20</b>
<b>2.3.2 Kalcij in od kalcija odvisne signalne poti</b>	<b>21</b>
2.4 GIBERELINI	25
2.5 ELEKTROMAGNETNO VALOVANJE	28
<b>2.5.1 Osnovni fizikalni parametri</b>	<b>28</b>
2.5.1.1 Električno polje	28
2.5.1.2 Magnetno polje	29
2.5.1.3 Elektromagnetno valovanje	30
<b>2.5.2 Električna in magnetna polja v okolju</b>	<b>34</b>
2.5.2.1 Zemljino magnetno polje	34
2.5.2.2 Antropogeni viri magnetnih polj v okolju	38
2.6 ENDOGENA EM POLJA	39
<b>2.6.1 Električno polje</b>	<b>39</b>
<b>2.6.2 Magnetno polje</b>	<b>41</b>
<b>2.6.3 Elektromagnetno polje</b>	<b>42</b>
2.6.3.1 Fröhlichova teorija koherentnih oscilacij	42
2.6.3.2 Kvantna teorija polja	44
2.6.3.3 Ultrašibka bioluminiscenca in biofotonsko polje	45

2.7	NAJVERJETNEJŠI MEHANIZMI NETERMIČNEGA DELOVANJA ZUNANJEGA ELEKTRIČNEGA IN MAGNETNEGA POLJA NA ŽIVE ORGANIZME	47
2.7.1	<b>Ferimagnetizem – navor (sila), ki deluje na ferimagnetne delce</b>	<b>50</b>
2.7.2	<b>Membrana in membranske strukture</b>	<b>52</b>
2.7.3	<b>Elektromagnetna indukcija</b>	<b>53</b>
2.7.4	<b>Sprememba hitrosti prenosa in vezave ionov</b>	<b>54</b>
2.7.5	<b>Sprememba konstant od spina elektronov odvisnih kemičnih reakcij parov radikalov</b>	<b>56</b>
2.7.6	<b>Vpliv EM polj preko kvantne koherence</b>	<b>59</b>
2.7.7	<b>Zanimive raziskave vpliva statičnega in nihajočega magnetnega polja na celične kulture in živali</b>	<b>61</b>
2.8	VPLIVI ELEKTROMAGNETNEGA POLJA NA RASTLINE	63
2.8.1	<b>Raziskave vpliva geomagnetnega polja na rastline</b>	<b>64</b>
2.8.2	<b>Raziskave vpliva močnega statičnega MP na rastline</b>	<b>66</b>
2.8.3	<b>Raziskave vpliva nihajočega MP na rastline</b>	<b>70</b>
2.9	VPLIVI MAGNETNEGA POLJA NA GOJIŠČE	74
3	<b>MATERIALI IN METODE</b>	<b>76</b>
3.1	POSKUSNE RASTLINE	76
3.2	POSKUSNA ZASNOVA IN POSKUSNE ENOTE	78
3.2.1	<b>Vrste poskusov</b>	<b>78</b>
3.2.2	<b>Zasnova poskusa</b>	<b>80</b>
3.2.3	<b>Poskusna enota</b>	<b>85</b>
3.3	GOJIŠČE	87
3.4	RASTNE KOMORE IN RASTNE RAZMERE	89
3.4.1	<b>Rastna komora za poskuse v spremenjenem geomagnetnem polju</b>	<b>89</b>
3.4.2	<b>Rastni komori za poskuse v močnem statičnem in nihajočem MP</b>	<b>91</b>
3.5	GENERIRANJE MAGNETNEGA POLJA	95
3.5.1	<b>Povečano ali zmanjšano geomagnetno polje</b>	<b>95</b>
3.5.2	<b>Močno statično magnetno polje (SMP)</b>	<b>97</b>
3.5.3	<b>Nihajoče magnetno polje (PMPi, PMPs)</b>	<b>98</b>
3.6	SEDEM DNEVNI TEST INHIBICIJE RASTI	104
3.6.1	<b>Potrditev enakosti poskusnih razmer za vse poskusne enote</b>	<b>104</b>
3.6.2	<b>Rastni parametri</b>	<b>105</b>
3.6.2.1	Število stebelnih členkov ( $N$ )	105
3.6.2.2	Skupna površina stebelnih členkov ( $A$ )	105
3.6.2.3	Suha masa ( $SM$ )	108
3.6.2.4	Specifične stopnje rasti ( $SR_N$ , $SR_A$ in $SR_{SM}$ )	108
3.6.2.5	Stopnja inhibicije rasti	108

<b>3.6.3</b>	<b>Fluorescenca klorofila <i>a</i> FSII</b>	<b>109</b>
3.6.3.1	Potencialna fotokemična učinkovitost FSII ( $F_v/F_M$ )	109
3.6.3.2	Dejanska fotokemična učinkovitost FSII ( $Y(II)$ )	110
3.6.3.3	Hitra kinetika in JIP test	110
<b>3.6.4</b>	<b>Določanje vsebnosti fotosinteznih barvil</b>	<b>110</b>
3.7	POSEBNE IZVEDBE SEDEM DNEVNEGA TESTA	112
<b>3.7.1</b>	<b>Vpliv temperature, svetlobe in toksina</b>	<b>112</b>
<b>3.7.2</b>	<b>Podaljšana izpostavitve rastlin magnetnemu polju</b>	<b>112</b>
<b>3.7.3</b>	<b>Povzročitev stresa v rastlinah z dodatkom DKF in faza okrevanja</b>	<b>113</b>
<b>3.7.4</b>	<b>Stimulacija rastlin z dodatkom GA<sub>3</sub></b>	<b>113</b>
<b>3.7.5</b>	<b>Predizpostavitev gojišča nihajočemu magnetnemu polju</b>	<b>113</b>
3.8	STATISTIČNA ANALIZA	114
<b>3.8.1</b>	<b>Mešani model ANOVA</b>	<b>114</b>
<b>3.8.2</b>	<b>Velikost učinka</b>	<b>116</b>
<b>3.8.3</b>	<b>Kontrola napake za mnogotere primerjave</b>	<b>116</b>
3.8.3.1	Družina 1 – rastni parametri	117
3.8.3.2	Družina 2 – parametri povezani s fluorescenco klorofila <i>a</i> FSII	118
<b>4</b>	<b>REZULTATI</b>	<b>121</b>
4.1	SPREMENJENO GEOMAGNETNO POLJE	121
<b>4.1.1</b>	<b>Rastni parametri in fotokemična učinkovitost FSII</b>	<b>121</b>
<b>4.1.2</b>	<b>Hitra kinetika in JIP test</b>	<b>123</b>
4.2	MOČNO STATIČNO MAGNETNO POLJE	125
<b>4.2.1</b>	<b>Rastni parametri in fotokemična učinkovitost FSII</b>	<b>125</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Hitra kinetika in JIP test</b>	<b>126</b>
4.3	NIHAJOČE MAGNETNO POLJE	129
<b>4.3.1</b>	<b>Osnovni vpliv nihajočega magnetnega polja na rast in fotokemično učinkovitost FSII</b>	<b>129</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Domnevno zaviralne frekvence nihajočega magnetnega polja</b>	<b>132</b>
4.3.2.1	Nihajoče magnetno polje v kombinaciji z DKF	139
4.3.2.2	Predizpostavitev rastnega medija nihajočemu MP	148
<b>4.3.3</b>	<b>Domnevno spodbujevalne frekvence nihajočega MP</b>	<b>155</b>
<b>4.3.3.1</b>	<b>Poskus v spreminjajočem magnetnem polju PMPs in tremi koncentracijami GA<sub>3</sub></b>	<b>157</b>
<b>4.3.4</b>	<b>Primerjava vpliva PMPi in PMPs frekvenc nihajočega MP</b>	<b>162</b>
<b>5</b>	<b>RAZPRAVA IN SKLEPI</b>	<b>164</b>
5.1	RAZPRAVA	164
<b>5.1.1</b>	<b>Rast rastlin v različnih magnetnih okoljih</b>	<b>165</b>
<b>5.1.2</b>	<b>Fotokemična učinkovitost FSII in fluorescenca Kla v različnih magnetnih okoljih</b>	<b>172</b>



<b>5.1.3</b>	<b>Mehanizem delovanja in nadaljnje raziskave</b>	<b>174</b>
5.2	SKLEPI	177
<b>5.2.1</b>	<b>Variacije v geomagnetnem polju</b>	<b>177</b>
<b>5.2.2</b>	<b>Močno statično magnetno polje</b>	<b>177</b>
<b>5.2.3</b>	<b>Šibko nihajoče magnetno polje</b>	<b>178</b>
<b>6</b>	<b>POVZETEK</b>	<b>180</b>
6.1	POVZETEK	180
6.2	SUMMARY	183
<b>7</b>	<b>VIRI</b>	<b>186</b>
7.1	CITIRANI VIRI	186
	<b>ZAHVALA</b>	
	<b>PRILOGE</b>	

## KAZALO PREGLEDNIC

Pregl. 1:	JIP parametri, njihov izračun in opis.	14
Pregl. 2:	Težnje JIP parametrov za rastline v stanju stresa.	17
Pregl. 3:	Osnovne količine EM valovanja in pripadajoče enote.	32
Pregl. 4:	Spekter elektromagnetnega valovanja.	33
Pregl. 5:	Možni kvanti dinamični procesi v bioloških sistemih.	61
Pregl. 6:	Različne vrste izvedenih poskusov.	85
Pregl. 7:	Sestava modificiranega Stainbergovega gojišča.	87
Pregl. 8:	Založne raztopine za pripravo mod. Stainbergovega gojišča.	88
Pregl. 9:	Frekvence nihajočega magnetnega polja.	99
Pregl. 10:	Statistična analiza za izbrane JIP parametre rastlin <i>Lemna minor</i> po sedmih dneh izpostavitve močnemu statičnemu magnetnemu polju.	127
Pregl. 11:	Vpliv nihajočega magnetnega polja z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) in 3,5-diklorofenola (DKF) na stopnji rasti in fotokemično učinkovitost FSII rastlin <i>Lemna minor</i> v popolnem dvofaktorskem modelu ANOVA	141
Pregl. 12:	Vpliv nihajočega magnetnega polja z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) in 3,5-diklorofenola (DKF) na izbrane JIP parametre rastlin <i>Lemna minor</i> v mešanem modelu ANOVA.	146
Pregl. 13:	Vpliv predizpostavitve gojišča (GO), izpostavitve rastlin <i>Lemna minor</i> nihajočemu magnetnemu polju z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) in dodatku 2 mg/L DKF v gojišče na stopnji rasti in fotokemično učinkovitost FSII rastlin <i>Lemna minor</i> v popolnem trifaktorskem modelu ANOVA.	151
Pregl. 14:	Vpliv nihajočega magnetnega polja z domnevno spodbujevalnimi frekvencami (PMPs) in dodatkom giberelinske kisline (GA <sub>3</sub> ) na stopnji rasti in fotokemično učinkovitost FSII v mešanem modelu ANOVA z dvema fiksnima dejavnikoma.	156
Pregl. 15:	Rastni parametri in fotokemična učinkovitost FSII rastlin <i>Lemna minor</i> , izpostavljenih nihajočemu magnetnemu polju z domnevno spodbujevalnimi frekvencami pri treh različnih koncentracijah GA <sub>3</sub> .	159
Pregl. 16:	Pregled statistično značilnih razlik med rastlinami kontrole in rastlinami izpostavljenimi magnetnemu polju v enofaktorskih poskusih za različne rastne parametre in parametre fluorescence klorofila <i>a</i> .	164
Pregl. 17:	Pregled statistično značilnih razlik med rastlinami kontrole in rastlinami izpostavljenimi nihajočemu magnetnemu polju za različne rastne parametre in parametre fluorescence klorofila <i>a</i> v posebnih izvedbah poskusov.	165

## KAZALO SLIK

Sl. 1:	Shematski prikaz na tilakoidne membrane vezanih kompleksov FSI, FSII in citokroma b <sub>6</sub> f, ki so glavni elementi pri prenosu elektronov od vode (H <sub>2</sub> O) do NADP <sup>+</sup> .	8
Sl. 2:	Zaporedje reakcij, ki jih sproži svetloba v FSII. Prikazane so spremembe v prosti energiji ( $\Delta G$ ) in časovne konstante za prenos elektronov.	9
Sl. 3:	Tipični primer Kautsky-jevega efekta; prehodi fluorescence temotno prilagojenega lista na izpostavitve saturacijski svetlobi.	11
Sl. 4:	Shema JIP modela in procesov na tilakoidni membrani.	13
Sl. 5:	Faze odziva rastline na stresne razmere.	19
Sl. 6:	Nastanek različnih reaktivnih kisikovih spojin v celici.	20
Sl. 7:	Koncentracija kalcija v različnih organelih rastlinske celice in membranske strukture, ki omogočajo vstop kalcija v citoplazmo in njegovo odstranjevanje.	22
Sl. 8:	Oscilacije koncentracije kalcija in različni odzivi celic zapiralk.	23
Sl. 9:	Delovanje GA na različne celične procese.	26
Sl. 10:	GA signalna pot pri rastlini <i>Arabidopsis thaliana</i> .	27
Sl. 11:	Primeri električnega polja.	29
Sl. 12:	Geomagnetno polje.	35
Sl. 13:	Deformacija magnetosfere Zemlje zaradi vpliva solarnega vetra.	36
Sl. 14:	Variabilnost geomagnetnega polja na površini Zemlje.	37
Sl. 15:	Prikaz različnih možnih mehanizmov, kjer se bioelektromagnetni signali prevedejo v notranjost celice.	41
Sl. 16:	Električna poljska jakost na koaksialni površini 1 nm nad površino mikrotubula.	43
Sl. 17:	Teoretično predpostavljena endogena elektromagnetna polja kot možno vodilo morfološkega razvoja rastline.	44
Sl. 18:	Mehanizem vpliva superparamagnetnih skupkov na odpiranje ionskih kanalov.	51
Sl. 19:	Resonanca EM valovanja z »molekularno ročko«.	52
Sl. 20:	Model kemotaksije (A) in elektrotaksije (B).	53
Sl. 21:	Specializiran membranski receptor s kovalentno vezanimi oligosaharidnimi verigami.	54
Sl. 22:	Vektorska predstavitev 4 položajev spinov elektronov radikalnih parov v magnetnem polju.	57
Sl. 23:	Zeemanov pojav.	58
Sl. 24:	Aktivacija in deaktivacija kriptokroma.	59

Sl. 25:	Mala vodna leča ( <i>Lemna minor</i> ).	77
Sl. 26:	Vrste poskusov.	79
Sl. 27:	Osnovne zasnove poskusov glede na statistično analizo.	81
Sl. 28:	Večfaktorske zasnove poskusov.	82
Sl. 29:	Primerjava podobnih poskusov.	84
Sl. 30:	Poskusna enota na začetku (A) in zaključku (B) poskusa.	86
Sl. 31:	Rastna komora za poskuse v geomagnetnem polju.	89
Sl. 32:	Svetlobne razmere v rastni komori med poskusi v zmanjšanem geomagnetnem polju (MGP).	90
Sl. 33:	Svetlobne razmere v rastni komori med poskusi v povečanem geomagnetnem polju (VGP).	91
Sl. 34:	Enaki termostatski komori s fotoperiodnim sistemom ST3+/FOT6.	91
Sl. 35:	Spektralna sestava svetlobe v rastnih komorah (RK1, RK2) uporabljenih v poskusih SMP in PMP.	92
Sl. 36:	Svetlobne razmere v rastnih komorah med poskusi SMP.	93
Sl. 37:	Količina PAR svetlobe v komorah RK1 in RK2 med poskusi PMP.	94
Sl. 38:	Shema vezja sistema tuljav za generiranje zmanjšane (A) in povečanega (B) geomagnetnega polja.	95
Sl. 39:	Vrednosti zmanjšane in povečanega geomagnetnega polja (F).	96
Sl. 40:	Shema izpostavitve rastlin močnemu magnetnemu polju.	97
Sl. 41:	Magnetno polje v področju poskusne enote za močno statično magnetno polje (SMP) in rastline kontrole (KON).	98
Sl. 42:	Signal za generiranje nihajočega magnetnega polja.	100
Sl. 43:	Shema generiranja nihajočega magnetnega polja.	101
Sl. 44:	Izmerjena napetost na izhodu iz zunanje zvočne kartice in na vhodu v tuljavo ter tok skozi tuljavo.	102
Sl. 45:	Shema stojala za izpostavitve rastlin nihajočemu magnetnemu polju.	103
Sl. 46:	Fotografiranje kristalizirk za določanje skupne površine stebelnih členkov.	106
Sl. 47:	Natančnost meritve določanja skupne površine stebelnih členkov z metodo fotografiranja kristalizirk.	107
Sl. 48:	Kritične $p$ -vrednosti za 37 razvrščenih $p$ -vrednosti glede na različne postopke za kontrolo napake tipa-I.	120
Sl. 49:	Povprečne vrednosti in standardne napake za stopnje rasti 4 poskusov v zmanjšanem (MGP, $n = 4$ ) in 5 poskusov v povečanem (VGP, $n = 19$ ) geomagnetnem polju po sedmih dneh inkubacije.	121
Sl. 50:	Povprečne vrednosti in standardne napake za dejansko fotokemično učinkovitost FSII ( $Y(II)$ ) in potencialno fotokemično učinkovitost FSII ( $F_V/F_M$ ) 4 poskusov v zmanjšanem (MGP, $n = 4$ ) in 5 poskusov v	122

- povečanem (VGP,  $n = 19$ ) magnetnem polju po sedmih dneh inkubacije.
- Sl. 51: Povprečna poli-fazna fluorescenca klorofila *a* FSII po sedmih dneh inkubacije v zmanjšanem (MGP) ali povečanem (VGP) geomagnetnem polju. 124
- Sl. 52: Povprečna stopnja rasti v 3 poskusih rastlin, izpostavljenih močnemu statičnemu magnetnem polju (SMP) po sedmih dneh inkubacije v primerjavi z rastlinami kontrole. 125
- Sl. 53: Povprečna fotokemična učinkovitost FSII v 3 poskusih rastlin, izpostavljenih močnemu statičnemu magnetnem polju (SMP) po sedmih dneh inkubacije v primerjavi z rastlinami kontrole. 126
- Sl. 54: Povprečna poli-fazna fluorescenca klorofila *a* FSII za 3 poskuse v močnem statičnem magnetnem polju (SMP) po sedmih dneh inkubacije 127
- Sl. 55: Povprečne in izmerjene vrednosti stopenj rasti v posameznem poskusu, kjer smo rastline izpostavili nihajočemu magnetnemu polju – primerjava kontrole (K) in izpostavljenih rastlin (M) po sedmih dneh inkubacije ( $n = 3$ ). 129
- Sl. 56: Povprečne in izmerjene vrednosti potencialne ( $F_v/F_M$ ) in dejanske ( $Y(II)$ ) fotokemične učinkovitosti FSII v posameznem poskusu, kjer smo rastline izpostavili nihajočemu magnetnemu polju – primerjava kontrole (K) in izpostavljenih rastlin (M) po sedmih dneh inkubacije ( $n = 3$ ). 130
- Sl. 57: Povprečna stopnja rasti v 5 poskusih rastlin, izpostavljenih nihajočemu magnetnemu polju (PMP) po sedmih dneh inkubacije v primerjavi z rastlinami kontrole (DKF = 0 mg/L, GA = 0 mg/L). 131
- Sl. 58: Prilagojene povprečne razlike med izmerjenimi vrednostmi fotokemične učinkovitosti FSII rastlin, izpostavljenih nihajočemu magnetnemu polju (PMP) po sedmih dneh izpostavitve (DKF = 0 mg/L, GA = 0 mg/L) – povprečna razlika 4 poskusov (2 različna nabora frekvenc). 132
- Sl. 59: Eksponentna rast števila stebelnih členkov (A) in skupne površine stebelnih členkov (B) male vodne leče v prvem in drugem tednu inkubacije, za posamezen poskus v nihajočem magnetnem polju z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi). 133
- Sl. 60: Vpliv nihajočega magnetnega polja z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) na stopnje rasti po prvem in drugem tednu izpostavitve. 134

- Sl. 61: Povprečna stopnja rasti rastlin male vodne leče, ki so bile v 3 poskusih izpostavljene nihajočemu magnetnemu polju z domnevno zaviralnimi frekvencami v primerjavi z rastlinami kontrole po prvem (levo) in drugem tednu inkubacije (desno). 135
- Sl. 62: Povprečna fotokemična učinkovitost FSII rastlin male vodne leče, ki so bile v 3 poskusih izpostavljene nihajočemu magnetnemu polju z domnevno zaviralnimi frekvencami v primerjavi z rastlinami kontrole po prvem (levo) in drugem tednu inkubacije (desno). 136
- Sl. 63: Vsebnost fotosinteznih barvil v stebelnih členkih male vodne leče po sedmih dneh izpostavitve (prvi teden) nihajočem magnetnem polju z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) v dveh ločenih poskusih (PMP 1, PMP 2). 137
- Sl. 64: Povprečna poli-fazna izmerjena (A) in relativna (B) fluorescenca klorofila *a* FSII na logaritemski časovni skali za 3 poskuse v nihajočem magnetnem polju z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) po 7 in 14 dneh inkubacije. 138
- Sl. 65: Vpliv 3,5-diklorofenola (DKF) in nihajočega magnetnega polja z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) na stopnjo rasti rastlin po sedmih dneh izpostavitve. 139
- Sl. 66: Vpliv 3,5-diklorofenola (DKF) in nihajočega magnetnega polja z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) na fotokemično učinkovitost FSII rastlin po sedmih dneh izpostavitve. 140
- Sl. 67: Vpliv 3,5-diklorofenola (DKF) in nihajočega magnetnega polja z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) na stopnjo rasti rastlin po sedmih dneh okrevanja. 142
- Sl. 68: Vpliv 3,5-diklorofenola (DKF) in nihajočega magnetnega polja z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) na fotokemično učinkovitost FSII rastlin po sedmih dneh okrevanja 143
- Sl. 69: Povprečna poli-fazna fluorescenca klorofila *a* FSII za 3 različne koncentracije DKF v gojišču (0 mg/L, 1,5 mg/L, 2,5 mg/L) in z ali brez izpostavitve rastlin nihajočemu magnetnemu polju z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) po sedmih dneh inkubacije. 144
- Sl. 70: Povprečna poli-fazna fluorescenca klorofila *a* FSII za 3 različne koncentracije DKF v gojišču (0 mg/L, 1,5 mg/L, 2,5 mg/L) in z ali brez izpostavitve rastlin nihajočemu magnetnemu polju z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) po sedmih dneh okrevanja. 145
- Sl. 71: Prilagojene povprečne razlike parametrov JIP testa rastlin *Lemna minor*, izpostavljenih nihajočemu magnetnemu polju z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi), v primerjavi z rastlinami kontrole 147

- Sl. 72: Vpliv predizpostavitve gojišča (GO) in nihajočega magnetnega polja z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) na stopnjo rasti rastlin *Lemna minor* po sedem dnevni inkubaciji. 149
- Sl. 73: Vpliv predizpostavitve gojišča (GO) in nihajočega magnetnega polja z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) na fotokemično učinkovitost FSII rastlin *Lemna minor* po sedem dnevni inkubaciji. 150
- Sl. 74: Vpliv predizpostavitve gojišča (GO), izpostavitve rastlin *Lemna minor* nihajočemu magnetnemu polju z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) in dodatku 2 mg/L DKF v gojišče na stopnji rasti in fotokemično učinkovitost FSII rastlin po sedmih dneh inkubacije. 152
- Sl. 75: Vpliv predizpostavitve gojišča nihajočemu magnetnemu polju, izpostavitve rastlin *Lemna minor* nihajočemu magnetnemu polju in 2 mg/L DKF na poli-fazno fluorescenco klorofila *a* po sedmih dneh inkubacije. 154
- Sl. 76: Prilagojene povprečne razlike parametrov JIP testa v primerjavi s kontrolo po sedmih dneh izpostavitve rastlin nihajočemu magnetnemu polju (PMPi) in predizpostavijo gojišča za 2 koncentraciji DKF 155
- Sl. 77: Prilagojene povprečne razlike med izmerjenimi vrednostmi stopnje rasti rastlin, izpostavljenih nihajočemu magnetnemu polju z domnevno spodbujevalnimi frekvencami (PMPs) in dvema različnima koncentracijama GA<sub>3</sub> po 1. in 2. tednu inkubacije v primerjavi z rastlinami kontrole. 157
- Sl. 78: Povprečna poli-fazna fluorescenca klorofila *a* FSII za 3 različne koncentracije giberelinske kisline (0 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L) in z ali brez izpostavitve rastlin nihajočemu magnetnemu polju z domnevno spodbujevalnimi frekvencami (PMPs) po štirinajstih dneh inkubacije. 160
- Sl. 79: Prilagojene povprečne razlike parametrov JIP testa v primerjavi s kontrolo po štirinajstih dneh izpostavitve nihajočemu magnetnemu polju z domnevno spodbujevalnimi frekvencami (PMPs) ob različni koncentraciji giberelinske kisline (GA<sub>3</sub>). 161
- Sl. 80: Vpliv 2 različnih setov frekvenc nihajočega magnetnega polja (set 1 = PMPi in set 2 = PMPs) na stopnje rasti rastlin po sedmih dneh izpostavitve. 162
- Sl. 81: Vpliv 2 različnih setov frekvenc nihajočega magnetnega polja (set 1 = PMPi in set 2 = PMPs) na fotokemično učinkovitost FSII rastlin *Lemna minor* po sedmih dneh izpostavitve. 163
- Sl. 82: Predpostavljen učinek magnetnega polja glede na stanje stresa v rastlini (odgovor rastline) in koncentracijo toksina. 170

## KAZALO PRILOG

PRILOGA A:	Svetlobne razmere med poskusi PMP (RK1 in RK2)
PRILOGA B:	Merjenje magnetnega polja v tuljavi
PRILOGA C:	Vpliv Faradayeve kletke na količino elektromagnetnega smoga v območju poskusnih enot
PRILOGA D:	Učinek temperature, količine svetlobe in koncentracije 3,5 diklorofenola na rast in fotokemično učinkovitost FSII male vodne leče
PRILOGA E:	Kritične vrednosti za različne postopke kontroliranja za napako tipa-I
PRILOGA F:	Potrditev protokola in preverjanje enakosti rastnih razmer
PRILOGA G:	Izmerjene vrednosti poskusov v spremenjenem geomagnetnem polju
PRILOGA H:	OJIP krivulje v posameznih poskusih
PRILOGA I:	JIP parametri v MGP, VGP in SMP
PRILOGA J:	JIP parametri v PMPi
PRILOGA K:	JIP parametri po izpostavitvi PMPi in DKF in okrevanjem
PRILOGA L:	JIP parametri po izpostavitvi PMPs
PRILOGA M:	Stopnje rasti glede na nabor frekvenc PMP
PRILOGA N:	Prilagojene <i>p</i> -vrednosti za 37 JIP parametrov
PRILOGA O:	Mnogotere primerjave s paketom »mutoss«



## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

- AC – izmenični tok, ki ga generira izmenična električna napetost (polariteta napetosti se s časom spreminja)
- A/D – izmenični tok / enosmerni tok
- APX – encim askorbat peroksidaza
- ASH – askorbinska kislina
- CaM – kalcij-kalmodulin kompleks
- CAT – encim katalaza
- CD – koherenčna domena (Coherence Domain)
- DC – enosmerni tok, ki ga generira enosmerna električna napetost (polariteta napetosti se s časom ohranja)
- DKF – 3,5- diklorofenol (C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>O)
- EDTA – etilen dinitriltetraocetna kislina dinatrijev dihidrat
- EHF – ekstremno visoke frekvence (Extremely High Frequency)
- ELF – ekstremno nizke frekvence (Extremely Low Frequency)
- EM – elektromagneten /-no /-ne /-na
- ER – endoplazmatski retikulum
- GA – giberelini
- GMP – geomagnetno polje
- GPX – encim guaiakol peroksidaza
- GRBD – poskusna zasnova s posplošenimi slučajnimi bloki (generalized randomized block design)
- GSH – glutation
- GST – encim glutation S-transferaza
- HF – visoke frekvence (High Frequency)
- ICNIRP – Mednarodna komisija za varstvo pred neionizirnimi sevanji (International Commission on Nonionizing Radiation Protection)
- ICR – ionska ciklotronska resonanca (Ion Cyclotron Resonance)
- IP3 – inozidol trifosfat
- IR – infrardeče valovanje (Infrared)
- Kla – klorofil *a*
- KLP – kloroplast
- LF – nizke frekvence (Low Frequency)
- LW – dolgi valovi (Long Waves)
- MF – srednje frekvence (Medium Frequency)
- MGP – zmanjšano geomagnetno polje (4 μT)
- MIT – mitohondrij
- MP – magnetno polje

MW – mikrovalovi (Microwaves)

$p$  – verjetnost (probability)

PER – peroksisom

PMP – nihajoče magnetno polje (100  $\mu$ T)

PPFD – gostota toka fotonov fotosintezno aktivnega spektra sevanja ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )

FSI – fotosistem 1

FSII – fotosistem 2

RCBD – poskusna zasnova s popolnimi slučajnimi bloki (Randomized complete block design)

RF – radijski valovi (Radio Frequency)

RK1 – rastna komora 1

RK2 – rastna komora 2

RNK – ribonukleinska kislina

ROS – reaktivne kisikove spojine

SHF – super visoke frekvence (Super High Frequency)

SMP – močno statično magnetno polje (150 mT)

SOD – encim superoksid dismutaza

SLF – super nizke frekvence (Super Low Frequency)

UHF – ultra visoke frekvence (Ultra High Frequency)

ULF – ultra nizke frekvence (Ultra Low Frequency)

VGP – povečano geomagnetno polje (100  $\mu$ T)

VHF – zelo visoke frekvence (Very High Frequency)

VLf – zelo nizke frekvence (Very Low Frequency)

TK – toksične kovine

$B$  – gostota magnetnega pretoka ( $T = \text{Vs/m}^2$ )

$c$  – svetlobna hitrost ( $c = 3 \times 10^8 \text{ m/s}$ )

$D$  – električna indukcija ali gostota električnega polja ( $\text{As/m}^2 = \text{C/m}^2$ )

$E$  – električna poljska jakost ( $\text{N/C} = \text{V/m}$ )

$E_n$  – energija

$F$  – sila (N)

$h$  – Planckova konstanta ( $h = 4,1 \times 10^{-15} \text{ eV s}$ )

$H$  – magnetna poljska jakost ( $\text{A/m} = \text{C/ms}$ )

$j$  – gostota električnega toka ( $\text{A/m}^2$ )

$k$  – Boltzmannova konstanta ( $k = 1,381 \times 10^{-23} \text{ J/K}$ )

$q$  – električni naboj ( $\text{C} = \text{As}$ )

$s$  – dotok metabolne energije

$S$  – gostota elektromagnetnega pretoka ( $\text{W/m}^2$ )

$U$  – gostota energije elektromagnetnega polja ( $\text{J/m}^3$ )

$v$  – hitrost (m/s)

$\varepsilon$  – dielektričnost snovi

$\varepsilon_0$  – influenčna konstanta praznega prostora ( $\varepsilon_0 = 8,8 \times 10^{-12} \text{ C}^2 \text{ N}^{-1} \text{ m}^{-2}$ )

$\lambda$  – valovna dolžina (m)

$\mu$  – magnetna permeabilnost snovi

$\mu_0$  – indukcijska konstanta ( $\mu_0 = 4\pi \times 10^{-7} \text{ Vs A}^{-1} \text{ m}^{-1}$ )

$\nu$  – frekvenca valovanja ( $\text{Hz} = \text{s}^{-1}$ )

$\sigma$  – električna prevodnost snovi (S/m)

## SLOVARČEK

Anoda – pozitivno nabita elektroda.

Antropogeno – posledica človekovega delovanja.

Bio-elektromagnetizem – področje, ki se ukvarja s preučevanjem endogenih električnih, magnetnih in elektromagnetnih polj.

Deklinacija – kot med vektorjem geomagnetnega polja in geografskim severom.

Diamagnetizem – diamagnetne snovi imajo magnetno permeabilnost manjšo od permeabilnosti praznega prostora in vpostavijo inducirano magnetno polje, ki je nasprotno zunanjemu. Primeri diamagnetnih snovi: voda, baker, srebro, zlato.

Dielektričnost ( $\epsilon$ ) – lastnost snovi, ki opisuje, kako je material prepusten za električno polje. Odvisna je od možnosti orientacije električnih dipolov snovi glede na smer električnega polja in je definirana kot razmerje med gostoto električnega pretoka,  $D$ , in električno poljsko jakostjo,  $E$ :  $\epsilon = D / E$ .

Dielektrik – snov z visoko dielektričnostjo (izolator), v kateri lahko obstaja električno polje, ne da bi skozi njega tekla tok.

Dipol (električni) – v biologiji označuje lokalno neenakomerno porazdelitev naboja znotraj molekule, ki jo opredelimo z dipolnim momentom; v primeru, da ima vsota vseh dipolnih momentov znotraj molekule vektorsko orientacijo ( $\neq 0$ ) je celotna molekula dipol (polarna molekula).

Dipolni moment (električni) – je mera, ki določa (lokalno ali celotno) stopnjo neenakomernosti porazdelitve nabojev v sistemu. Definiran je kot produkt ločenega naboja  $\delta$  in razdalje med njimi  $d$ :  $\mu = \delta d$ .

Eksogeno – izvira iz okolja.

Elektro-magnetobiologija – področje, ki se ukvarja s preučevanjem vplivov eksogenih električnih, magnetnih in elektromagnetnih polj na organizme.

Elektrotaksija – gibanje vzdolž električnega polja.

Endogeno – izzvira v organizmu.

Ferimagnetizem – je skupek pojavov, ki jih v snoveh povzroča magnetno polje. V ferimagnetnih mineralih so magnetni momenti običajno nasprotno orientirani, kljub vsemu pa je običajno presežek magnetnih momentov orientiran v eno smer in zato močnejše interagirajo z zunanjimi magnetnimi polji kot paramagnetne snovi. Najbolj pogosta ferimagnetna minerala v organizmih sta magnetit ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) in greigit ( $\text{Fe}_3\text{S}_4$ ).

Feromagnetizem – je mehanizem, s katerim nekatere snovi (npr. železo) lahko tvorijo trajne magnete oz. jih magneti privlačijo, saj se v njih magnetni momenti orientirajo vzdolž magnetnega polja, orientacija pa lahko vztraja tudi po prenehanju delovanja magnetnega polja.

Giberelini – so družina terpenoidnih snovi, ki jih uvrščamo med rastlinske hormone. Uravnavajo številne vidike rasti in razvoja rastlin, med njimi tudi kalitev, rast poganjkov in cvetenje.

Hormezija (ang.: hormesis) – pojav, kjer imajo nizke doze (npr. nizke koncentracije toksina, šibko polje ipd.) nasproten učinek na organizem, kot pa visoke doze neke snovi (npr. visoke koncentracije toksina).

Inklinacija – kot med vektorjem geomagnetnega polja in površino Zemlje

Ionizirna sevanja – elektromagnetno valovanje z dovolj visoko energijo, da lahko izbije notranje ali zunanje elektrone iz molekule ( $\gamma$ - in  $X$ -žarki, zgornje območje UV valovanja).

Ionosfera – je sloj v atmosferi med 50 in 600 km nad površino Zemlje, ki je sestavljen iz večjega števila elektronov in nabitih molekul, ki so ionizirane zaradi vpliva UV in drugih visokofrekvenčnih žarkov sonca.

Katoda – negativno nabita elektroda.

Kvantna elektrodinamika (QED) – je splošno sprejeta kvantna teorija, ki opisuje interakcije snovi in svetlobe na ravni delcev. Jedra in elektroni preko električnih nabojev in magnetnih momentov ustvarjajo in interagirajo z elektromagnetnim valovanjem (svetlobo). Je prva teorija, ki je skladna tako s kvantno mehaniko, kot tudi posebno teorijo relativnosti.

Metabolom – predstavlja zbirko vseh metabolitov (produktov celičnih procesov in eksogenih molekul, ki vstopajo v celico), ki so v danem trenutku prisotni v celici oz. tkivu.

Neionizirna sevanja – elektromagnetno valovanje, ki nima dovolj visoke energije, da bi izbila notranje ali zunanje elektrone iz molekul (IR, MW, RF, LW).

Paramagnetizem – pojav, da je gostota magnetnega pretoka v snovi, ki smo jo postavili v zunanje magnetno polje, malo večja od gostote magnetnega pretoka izven te snovi in je posledica delne urejenosti magnetnih momentov elektronov. Govorimo o paramagnetnih snoveh, kamor uvrščamo tudi aluminij, magnezij, mangan, krom, natrij, kalij in kisik.

Permeabilnost – je sposobnost snovi, da vzpostavi notranje magnetno polje kot odziv na zunanje polje – govorimo o stopnji magnetizacije materiala v magnetnem polju ( $\mu$ ), odvisna je od sposobnosti orientacije magnetnih dipolov in je magnetni analog dielektričnosti.

Primarne celične kulture – kulture celic v gojišču, ki so izolirane neposredno iz tkiv in se namnožijo do visoke gostote (konfluentne rasti). Po določenem številu subkultivacij celične linije propadejo ali pa postanejo nesmrtni s procesom transformacije in postanejo trajne celične linije, ki se običajno razlikujejo od primarnih v morfologiji, pogosto pa tudi v kariotipu in genskem zapisu.

Proteom – predstavlja zbirko vseh beljakovin (proteinov), ki so v danem trenutku prisotni v celici oz. tkivu.

Protokorm – razvijajoč se embrij orhidej brez semenske ovojnice iz katerega poženejo lasasti rizoidi.

Resonanca – je tendenca sistema, da pri nekaterih frekvencah oscilira (niha) z večjo amplitudo kot pri drugih. Maksimalno amplitudo doseže, če mu vsilimo nihanje z lastno (resonančno) frekvenco.

Shumannova resonanca – stoječe elektromagnetno valovanje med Zemljinim površjem in ionosfero z osnovno resonančno frekvenco približno 7,8 Hz in višjimi harmoniki (14,1 Hz, 20,3 Hz, 26,4 Hz, 32,5 Hz).

Spin – spin je lastna vrtilna količina delcev (npr. elektronov, protonov) v kvantni mehaniki. Opišemo ga s spinskim kvantnim številom, ki določa projekcijo spina.

Supraprevodnik – snov, ki ima električno upornost enako 0 (nekateri snovi pri ekstremno nizkih temperaturah).

Toksične kovine – so kovine, ki lahko tvorijo topne oblike, le te pa v določenih koncentracija povzročajo negativne učinke različnim oblikam življenja. Mednje uvrščamo krom, kobalt, nikelj, baker, cink, arzen, srebro, kadmij, živo srebro, svinec, berilij, litij in druge kovine.

Transkriptom – je zbirka RNK molekul (mRNK, rRNK, tRNK, in druge nekodirajoče RNK), ki jih v danem trenutku najdemo v celici, tkivu ali v celotnem organizmu.

## 1 UVOD

Zemljino magnetno polje (geomagnetno polje) je prisotno skozi celotno evolucijo življenja na Zemlji, a se večinoma ne obravnava kot dejavnik, ki bi lahko vplival na žive organizme (Markov, 2011a). Kljub vsemu pa so skozi celotno filogenetsko drevo življenja (Bacteria, Archea, Eukaryota) odkrili strukture in kemijske reakcije, ki bi lahko bile občutljive na šibka magnetna polja. Najbolj so poznane v kraljestvu živali (Animalia) in sicer pri mehkužcih (Mollusca), členonožcih (Arthropoda) ter vretenčarjih (Vertebrata) (Vainshtein in sod., 2002; Johnsen in Lohmann, 2005). Njihovo zaznavanje geomagnetnega polja se v večji meri povezuje z orientacijo, t.i. magnetni kompas, podobne strukture in kemijske reakcije pa lahko najdemo tudi pri rastlinah (Planta) in glivah (Fungi), kjer je občutljivost na magnetna polja slabše poznana (Pazur in sod., 2007).

Rastline so podvržene različnim abiotskim okoljskim dejavnikom, ki vplivajo na njihovo rast in razvoj. Med najpomembnejše uvrščamo temperaturo, vlago, svetlobo, sestavo tal, dostopnost hranil in morebitne tuje snovi. Ti dejavniki se spreminjajo s časom, močno pa so odvisni tudi od zemljepisne širine (Larcher, 2003). Tudi geomagnetno polje je podvrženo regijskim spremembam. Njegova intenziteta se več kot podvoji, od 25  $\mu$ T na ekvatorju do 65  $\mu$ T na polu, hkrati pa se spremeni tudi inklinacija (= kot med vektorjem geomagnetnega polja in površino Zemlje), od vzporednega na ekvatorju do pravokotnega na polih, pri čemer je na severnem polu usmerjen navzdol, na južnem pa navzgor (Glassmeier in Vogt, 2010). Geomagnetno polje se spreminja tudi v času: polarizacija (= lega in število polov), intenziteta, inklinacija in deklinacija (= kot med vektorjem geomagnetnega polja in geografskim severom) se spreminjajo v različnih časovnih intervalih, od manjših sprememb znotraj minut, dni in let, do velikih sprememb na ravni stoletij, desetisočletij in stotisočletij (Shemyakin in Tsygankov, 2009; Guyodo in Valet, 1999). Največje spremembe se zgodijo ob geomagnetnih obratih, ko se spremeni lega in število magnetnih polov. Takrat intenziteta geomagnetnega polja za obdobje nekaj sto let pade na nekaj odstotkov današnje vrednosti (Glassmeier in Vogt, 2010). Danes nimamo odgovora ali te razlike kakorkoli vplivajo na rast in razvoj rastlin. Razumevanje potencialnih vplivov bi lahko dodatno pojasnilo različne stopnje rasti, ki jih lahko opazimo pri kozmopolitskih vrstah na različnih zemljepisnih širinah. Obenem bi nam to omogočilo napovedovanje morebitnih posledic neizogibnih geomagnetnih obratov v prihodnosti in njihov vpliv na našo zmožnost pridelovanja poljščin. Kljub vsemu pa geomagnetno polje ostaja prezrt abiotski dejavnik (Galland in Pazur, 2005).

Vse več raziskav v zadnjem času kaže, da se tudi rastline odzivajo na različna magnetna polja. Redke raziskave vpliva geomagnetnega polja kažejo, da lahko majhna naravna nihanja v geomagnetnem polju povzročijo ultrastrukturne spremembe na celični ravni (Nanush'yan in Murashev, 2003), o ultrastrukturnih spremembah pa je poročala tudi Belyavskaya (2001)



v zmanjšanem geomagnetnem polju. Razlike v geomagnetnem polju so vplivale tudi na kalitev in rast rastlin (Belyavskaya, 2004; Es'kov in Rodionov, 2010). Zanimiva je študija smeri olistanosti koksovih palm, ki je nakazala povezavo levosučne in desnosučne olistanosti z regionalnimi razlikami v geomagnetnem polju (Minorsky in Bronstein, 2006).

Bolj pogoste so raziskave vplivov močnih statičnih magnetnih polj ( $10^4$  krat močnejših od geomagnetnega), ki so bile izvedene na številnih rastlinskih vrstah, avtorji pa v večini primerov navajajo spodbujevalne učinke: od izboljšane kalitve, hitrejše rasti in višje fotokemične učinkovitosti FSII (Reina in sod., 2001; Cakmak in sod., 2010; Ahmad in sod., 2007; Hakala-Yatkin in sod., 2011). Nekatere študije navajajo inhibicijo z močnimi magnetnimi polji, opažena je bila predvsem slabša kalitev in rast (Peñuelas in sod., 2004; Galland in Pazur, 2005).

Posebno področje raziskovanj predstavlja vpliv nihajočega magnetnega polja na žive organizme. Nihajoče magnetno polje v okolju je antropogenega izvora (električna napeljava, transformatorji in daljnovodi, radijski valovi, bazne postaje za mobilno telefonijo, radarji v okolici letališč). Najbolje so raziskana nizko frekvenčna (ELF) in radiofrekvenčna (RF) valovanja od 3 Hz do 300 GHz, ki se tudi najpogosteje uporabljajo v medicini. Nizke frekvence in amplitude omenjenih valovanj ne povzročajo termičnih učinkov v tkivih (segrevanje), zato je potrebno iskati drugačne razlage delovanja teh magnetnih polj. Večina poskusov je bila opravljena na živalih ali ljudeh, nekaj pa jih je bilo opravljenih tudi na rastlinah (e.g. Davis, 1996; Pazur in Scheer, 1992; Muraji in sod. 1998; Stange in sod. 2002; Fischer in sod. 2004; Yano in sod. 2004; Payez in sod., 2013). Vendar pa je zaradi velikega nabora različnih možnih valovanj (e.g. frekvenca, amplituda, trajanje izpostavitve, smer, sklopljenost z električnim poljem in prisotnost elektromagnetnega valovanja v ozadju) težko govoriti o enotnih mehanizmih in zakonih za opažene vplive, ki so pogosto antagonistični (Galland in Pazur, 2005).

Na področju bioelektromagnetike so raziskave na rastlinah precej zapostavljene, raziskovalci pa uporabljajo nestandardizirane postopke in različne organizme (Galland in Pazur, 2005). Neposredne ponovitve raziskav so redke, opisi poskusnih razmer pa pogosto pomanjkljivi. Zato smo želeli vpeljati standardiziran in splošno sprejet protokol – sedem dnevni test inhibicije rasti, kot ga predlagata Organizacija za gospodarsko sodelovanje in razvoj OECD in Mednarodna organizacija za standardizacijo ISO (OECD, 2006; ISO 20079, 2005), ki pa ga do sedaj v tej disciplini niso pogosto uporabili. Tkalec in sod. (2005; 2007) so podoben sistem uporabili za preučevanje vpliva 400, 900 in 1900 MHz elektromagnetnega valovanja na rastline *Lemna minor*, po našem vedenju pa so naše raziskave prvi primer, ko se je preučeval vpliv geomagnetnega, močnega statičnega

magnetnega polja ali nizkofrekvenčnega nihajočega magnetnega polja s standardiziranim sedem dnevnim testom.

Osnovni protokol sedem dnevnega testa smo nadgradili z meritvami fluorescence klorofila *a* FSII. Fotosinteza je ključna faza metabolizma rastlin in zelo je občutljiva na spremembe v okolju ter velja za dober kazalnik fiziološkega stanja rastline (Stirbet in Govindjee, 2011). Fluorescenca klorofila *a* (Kla) FSII je hitra, natančna metoda za zaznavanje sprememb fotosinteze rastline, predvsem preko izračunane fotokemične učinkovitosti FSII, ki je merilo stresa rastline (Germ in sod., 2002; Šraj Kržič in Gaberščik, 2005; Eullaffroy in sod., 2009; Kumar in Han, 2011). Še podrobnejšo sliko pa lahko pridobimo z meritvami hitre kinetike fluorescence Kla, ki so jo nekateri avtorji že uporabili za zaznavo šibkih vplivov močnih statičnih magnetnih polj (Ahmad in sod., 2007; Shine in sod., 2011; Shine in Guruprasad, 2012; Small in sod., 2012).

V naših raziskavah smo tako želeli preveriti, ali lahko razlike v geomagnetnem polju ali pa izpostavitve močnemu statičnemu magnetnemu polju in nihajočemu magnetnemu polju vplivajo na rast ter fotokemično učinkovitost FSII rastlin. V primeru nihajočega magnetnega polja smo želeli preveriti tudi pomen fiziološkega stanja, zato smo rastline izpostavili stresnim razmeram – različnim koncentracijam referenčnega toksina 3,5-diklorofenola, saj študije kažejo, da so rastline, ki so izpostavljene stresnim razmeram, bolj občutljive na učinke magnetnega valovanja (Ružič in sod., 1998; Monselise in sod., 2003; Small in sod., 2012).

V znanstveni literaturi je mogoče zaslediti vsaj 5 modelov, ki bi lahko razložili delovanje magnetnih polj na žive organizme. Med njimi imata največ podpore dva: (1) feromagnetizem, pri katerem magnetno polje povzroči navor na feromagnetne delce v specializiranih strukturah, to pa sproži električni ali kemijski signal (Kirschvink, 1989; Shcherbakov in Winklhofer, 1999; Kirschvink in sod., 2001; Pazur in sod., 2007) in (2) sprememba konstant od spina elektronov odvisnih kemijskih reakcij parov radikalov (Eichwald in Walleczek, 1996; Ritz in sod., 2000; Maeda in sod., 2008; Gegear in sod., 2010). Ostali pogosto omenjeni mehanizmi so (3) elektromagnetna indukcija v občutljivih električnih senzorjih (Lorenzinijeve ampule) pri morskih psih in skatih (Elasmobranchii) (Kalmijn, 1981; Paulin, 1995) ali pa v specializiranih mehansko odvisnih ionskih kanalih v celični membrani (Carrubba in sod., 2009; Marino in sod., 2009); (4) model ionske ciklotronske resonance, ki bi lahko vplival na prehajanje ionov skozi ionske kanale (Liboff, 1985; Liboff, 2010) in (5) kvantna koherenca, ki so jo opazili v živih organizmih (Fleming in sod., 2011; Lambert in sod., 2012) oz. je njen obstoj napovedan na osnovi teoretičnih izračunov (e.g. koherentne domene vodnih molekul, ki jih predvideva Del Giudice in sod. (2002)). Poleg omenjenih obstaja še cela vrsta možnih mehanizmov (za pregled glej Binhi,

2001; Funk in sod., 2009). Vendar še nimamo končnih odgovorov o mehanizmih zaznavanja in delovanja zunanjih magnetnih polj na rastline ter o molekularni naravi morebitnih magnetoreceptorjev (Galland in Pazur, 2005). Vrzel v znanju je prevelika, da bi jo zapolnili s pričujočo doktorsko disertacijo.

## 1.1 CILJI RAZISKAVE

Naši glavni cilji raziskave so bili tako povezani z uporabo standardnega poskusnega sistema, strogo kontroliranimi ravnimi razmerami in uporabo različnih magnetnih polj, in sicer:

- Na področje bioelektromagnetike vpeljati standardni protokol z modelnim organizmom.
- V poskusih zagotoviti visoko kontrolirane homogene rastne razmere (temperatura in svetloba).
- Preveriti občutljivost meritev hitre kinetike za zaznavo morebitnih vplivov različnih magnetnih polj.
- Vpeljati kvantitativno analizo izmerjene fluorescence z uporabo JIP testa.
- Preveriti vpliv različnih magnetnih polj, ki še ne povzročajo termičnih učinkov, na rast in fotokemično učinkovitost FSII rastlin male vodne leče, in sicer:
  - zmanjšano geomagnetno polje,
  - povečano geomagnetno polje,
  - močno statično magnetno polje,
  - nihajoče magnetno polje.
- Preveriti pomen stresa rastlin z referenčnim toksinom za morebitne učinke nihajočega magnetnega polja.
- Preveriti morebitni vpliv predizpostavitve gojišča nihajočemu magnetnemu polju v ELF območju na rast in fotokemično učinkovitost FSII rastlin male vodne leče.
- Preveriti pomen izbranih frekvenc nihajočega magnetnega polja v ELF območju na odziv rastlin.

- Primerjati velikost morebitnega opaženega vpliva različnih magnetnih polj na rast in fotokemično učinkovitost FSII rastlin z vplivom klasičnih okoljskih dejavnikov (temperature, svetlobe) in z vplivom dodanega referenčnega toksina.

## 1.2 DELOVNE HIPOTEZE

Iz zastavljenega raziskovalnega problema in sedanjega stanja znanstvenih raziskav po svetu, smo razvili naslednje raziskovalne hipoteze:

- Predpostavljamo, da so rastline občutljive na majhne variacije v magnetnem polju (v razponu variacij geomagnetnega polja Zemlje), ki bodo povzročile statistično značilne razlike v fotokemični učinkovitosti FSII in stopnji rasti pri vodni rastlini *Lemna minor*.
- Izpostavitve vrste *Lemna minor* močnemu statičnemu magnetnemu polju z gostoto magnetnega pretoka 150 mT bo povzročila statistično značilne razlike v fotokemični učinkovitosti FSII in stopnji rasti izpostavljenih rastlin v primerjavi z neizpostavljenimi.
- Izpostavitve vrste *Lemna minor* šibkemu magnetnemu valovanju v ELF območju gostote magnetnega pretoka do 1 mT bo povzročila spremembe fotokemične učinkovitosti FSII in stopnje rasti izpostavljenih rastlin v primerjavi z neizpostavljenimi.
- Predtretiranje gojišča z nihajočim magnetnim poljem v ELF območju bo povzročilo spremembe fotokemične učinkovitosti FSII in stopnje rasti rastlin *Lemna minor* v primerjavi z rastlinami, zraslimi v netretiranem gojišču.
- Hkratna izpostavitve vrste *Lemna minor* 3,5-diklorofenolu v koncentraciji EC<sub>50</sub> in nihajočemu magnetnemu polju v ELF območju bo povzročila drugačno spremembo fotokemične učinkovitosti FSII in stopnje rasti kot samo izpostavitve 3,5-diklorofenolu v koncentraciji EC<sub>50</sub>.
- Predpostavljamo, da bo sprememba v naboru frekvenc nihajočega magnetnega polja v ELF območju povzročila različne učinke na stopnjo rasti in fotokemično učinkovitost FSII izpostavljenih rastlin *Lemna minor*, odvisno od nabora frekvenc.

## 2 PREGLED OBJAV

V prvem delu poglavja bom skušal zajeti ključne informacije, ki so pomembne za razumevanje posebnosti poskusne zasnove (pomen okoljskih dejavnikov), izbranih metod (merjenje fluorescence klorofila *a* in JIP test, dodajanje giberelinov v gojišče) in morebitnih fizioloških mehanizmov (fotosinteza, stres in z njim povezane reaktivne kisikove spojine in kalcijeve signalne poti), ki so potencialne tarče magnetnih polj.

V drugem delu poglavja pa podajam osnovne fizikalne opise električnih in magnetnih polj in možne mehanizme interakcije z organizmi, v zaključku poglavja pa navajam pretekle raziskave o vplivih magnetnih polj na rastline in gojišče.

### 2.1 POMEN OKOLJSKIH DEJAVNIKOV ZA RAST MAKROFITOV

Nadzor rastnih razmer v poskusih z rastlinami je zelo pomembno za zagotovitev ponovljivosti rezultatov. Mala vodna leča (*Lemna minor* L.) je prostoplavajoča rastlina, zato dostopnost vode in relativna zračna vlažnost nista ključna dejavnika, ki bi vplivala na rast. Upoštevati pa je potrebno tudi druge posebnosti vodnih teles.

Makrofiti so vodne rastline, ki rastejo v ali ob vodnih telesih in so vidne s prostim očesom. So primarni proizvajalci in med drugimi nudijo habitat perifitonu, zooplanktonu, nevretenčarjem, ribam in žabam ter vplivajo na fizikalne in kemijske značilnosti vodnega telesa (Bornette in Puijalon, 2009). Makrofite najdemo v različnih sistematskih skupinah, tako so med njimi predstavniki kritosemenk, praproti, mahov, jetrenjakov in sladkovodnih makroalg (Lacoul in Freedman, 2006). Sculthorpe je makrofite razdelil v 4 funkcionalne skupine (Cronk in Fennessy, 2001: str 7–15):

- Emergentni makrofiti so ukoreninjeni in imajo potopljene bazalne dele, steblo z listi in cvetovi pa so običajno nad vodo;
- Potopljeni (submerzni) makrofiti so večinoma ukoreninjeni in imajo vse dele rastline pod vodo z možno izjemo cvetov, ki so pri nekaterih nad vodno gladino;
- Plavajoči (natantni) ukoreninjeni makrofiti so s koreninami pritrjeni v substrat, večina listov pa plava na vodni površini;
- Plavajoči (natantni) neukoreninjeni makrofiti so prosto plavajoče rastline, v kolikor so korenine prisotne, te prosto visijo v vodi in se ne pritrjajo v substrat. V to skupino uvrščamo tudi malo vodno lečo (*Lemna minor*).

Ker makrofiti zasedajo posebno ekološko nišo, je delovanje okoljskih dejavnikov nekoliko drugačno, kot pri terestičnih rastlinah, dejavniki pa so tesno povezani z značilnostmi vodnega telesa (Lacoul in Freedman, 2006). V nadaljevanju bom izpostavil le glavne dejavnike, ki jih bomo simulirali tudi v laboratoriju, in sicer tiste, ki so najbolj pomembni za rast male vodne leče.

**Temperatura** v celinskih vodah je običajno bolj stabilna od terestičnih okolij, po drugi strani pa ima voda večjo toplotno prevodnost, kar pomeni da temperatura vodnih rastlin hitreje sledi temperaturnim spremembam vodnega okolja, kot sledi temperatura terestičnih rastlin temperaturnim spremembam zraka (Santamaría, 2002). Večina rastlin dosega optimalno stopnjo fotosinteze in respiracije med 20°C in 35°C (Bornette in Puijalon, 2009). Za malo vodno lečo je visoka temperatura pogoj za spolno razmnoževanje, sicer pa se v glavnem rastlina razmnožuje vegetativno. Ob nizkih temperaturah tvori zimske brste (Hillman, 1961). Izmed vseh dejavnikov je ravno temperatura tista, ki ima največ posrednega in neposrednega vpliva na fizikalne in kemijske, metabolne in fiziološke procese v vodnih rastlinah (Lacoul in Freedman, 2006).

**Svetloba** je osnovni vir energije za rastline in je ključni dejavnik, ki določa hitrost rasti, v primeru vodnih makrofitov pa tudi njihovo geografsko razširjenost. Za potopljene makrofite je svetloba pogosto omejujoč dejavnik, globina, do katere se še pojavljajo pa je odvisna tudi od barve in presevnosti vode v vodnem stolpcu ter senčenja zaradi drugih rastlin (Lacoul in Freedman, 2006). Za plavajoče vodne rastline pa količino razpoložljive svetlobe določa epifiton (Bornette in Puijalon, 2011).

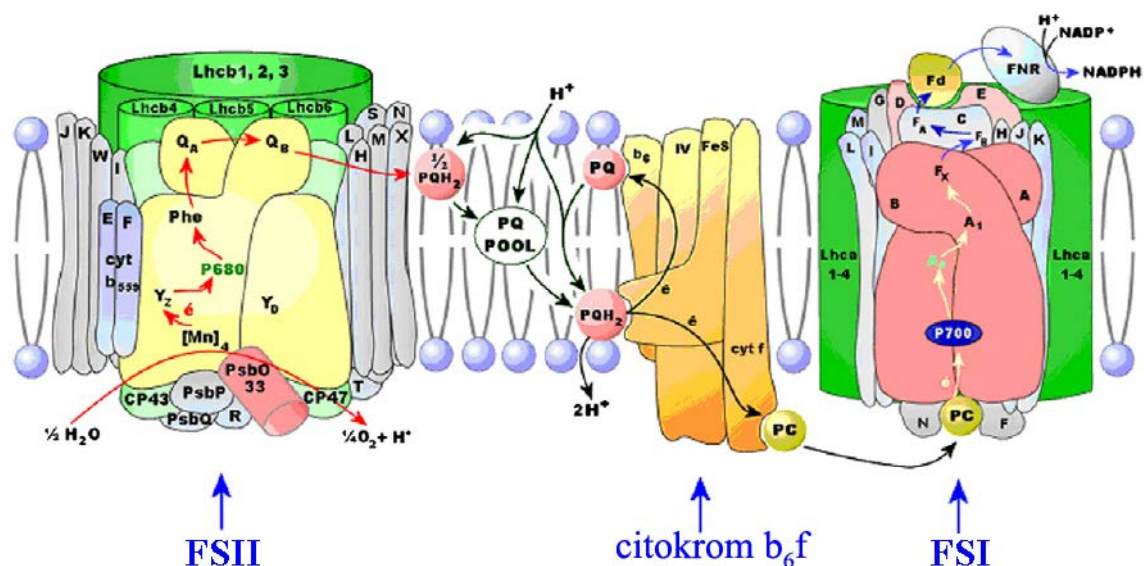
**Dostopnost hranil**, predvsem dušika in fosforja, narekuje primarno proizvodnjo v naravnih habitatih. Ta se odraža na hitrosti rasti vodnih rastlin (Bornette in Puijalon, 2009). Povečana vsebnost nutrijentov lahko spodbudi rast tudi fitoplanktona, kar zmanjša dostopnost svetlobe za submerzne makrofite, povečanje epifitona in nitastih alg pa lahko pripelje do senčenja tudi drugih vodnih rastlin (Irfanullah in Moss, 2004; Hilt in sod., 2010). V laboratorijskih poskusih z ustrezno sestavo gojišč zagotovimo zadostno dostopnost hranil, z aseptičnimi tehnikami pa preprečimo okužbe in rast drugih organizmov v gojišču. Med trajanjem poskusa se sestava gojišča ne sme bistveno spremeniti. To lahko zagotovimo tudi z uvedbo semi-statičnega (periodična menjava gojišča) ali celo pretočnega sistema (konstantna menjava gojišča) (OECD, 2006).

Okoljski dejavniki v vodnem telesu so pogosto posledica drugih vodnih rastlin, predvsem z vidika senčenja in dostopnosti hranil (Bagousse-Pinguet in sod., 2012). Primerni okoljski dejavniki še ne zagotavljajo preživetja vodnih rastlin, so zgolj osnovni pogoj. Za rast vodnih rastlin v naravnem okolju so ključni biotski dejavniki, kot so vrstna pestrost, paša in

tekmovanje z drugimi rastlinskimi vrstami za svetlobo in hranila (Bakker in sod., 2013), kar bomo v laboratorijskih poskusih zanemarili.

## 2.2 FOTOSINTEZA

Fotosinteza je osnovni proces v ekosistemu, saj pretvarja sončevo energijo v kemično vezano energijo, ki jo lahko drugi organizmi izkoriščajo. V procesu fotosinteze ločimo dva tipa reakcij 1) svetlobne, ki potekajo na tilakoidnih membranah kloroplastov in ob absorpciji fotonov vodijo v oksidacijo vode do kisika, redukcije NADP in nastanka ATP ter 2) temotne reakcije, ki potekajo v stromi kloroplastov in kjer prihaja v Kalvinovem ciklu do fiksacije CO<sub>2</sub> (Teiz in Zeiger, 2006: 118).



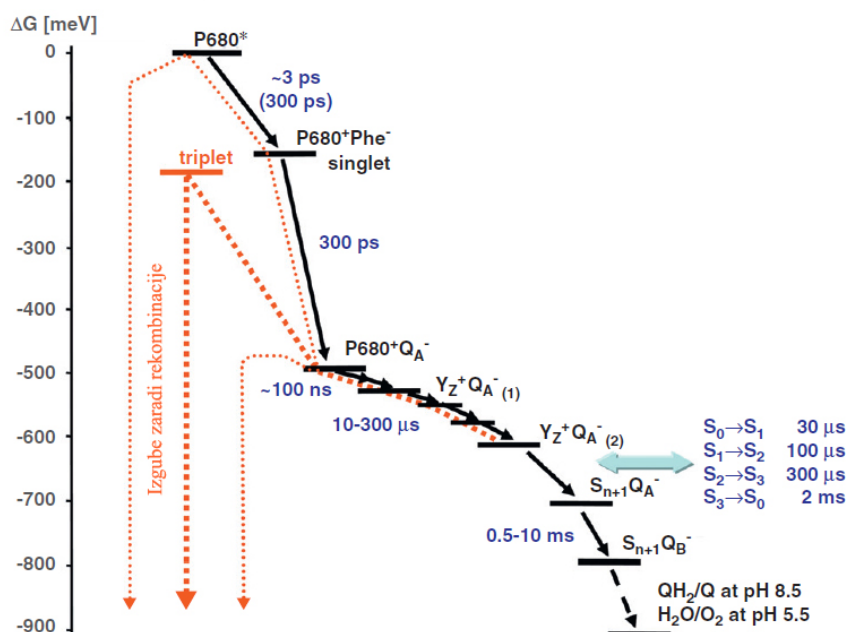
**Slika 1: Shematski prikaz na tilakoidne membrane vezanih kompleksov FSI, FSII in citokroma b<sub>6</sub>f, ki so glavni elementi pri prenosu elektronov od vode (H<sub>2</sub>O) do NADP<sup>+</sup>. P680 – primarni donor elektronov v FSII, Phe – feofitin a, Q<sub>A</sub> in Q<sub>B</sub> – primarni in sekundarni kinon (akceptor elektronov), PQ – mobilni plastokinon, PC – plastocianin, P700 – primarni donor elektronov v FSI, Fd – feredoksin, FNR – feredoksin NADP oksireduktaza (prirejeno po Allakhverdiev, 2011).**

**Figure 1: Schematic representation of the thylakoid membrane and the key elements involved in the electron transfer from water (H<sub>2</sub>O) to NADP<sup>+</sup>. P680 – primary electron donor in PSII, Phe – pheophytin a, Q<sub>A</sub> in Q<sub>B</sub> – primary and secondary quinone (electron acceptor), PQ – mobile plastoquinone, P700 – primary electron donor in PSI, Fd – ferredoxin, FNR – ferredoxin-NADP<sup>+</sup> reductase (adjusted after Allakhverdiev, 2011).**

Pri našem delu se bomo osredotočili na svetlobne reakcije (slika 1). Proces je induciran s svetlobo in kataliziran z membransko vezanimi barvilno proteinskimi kompleksi, imenovanimi fotosintezni centri. V višjih rastlinah poznamo dva centra: FSI in FSII. S svetlobo vzbujeni reakcijski center klorofila v FSII, imenovan P680 (absorbira svetlobo pri 680 nm), prenese elektron na feofitin (Phe). Feofitin prenese elektron na plastokinona Q<sub>A</sub> in

$Q_B$ , nato mobilni plastokinoni (PQ) prenesejo elektron na kompleks citokrom  $b_6/f$ . Ta preda elektron na plastocianin (PC), PC pa na vzbujeni reakcijski center klorofila v FSII, imenovan P700 (absorbira svetlobo pri 700 nm). P700 prenese elektron preko serije membransko vezanih proteinov na ferodoksin (Fd), ki ga preda ferodoksin NADP reduktazi (FNR), ki reducira  $NADP^+$  v NADPH, ta pa nato vstopa v Kalvinov cikel (Krauß, 2003; Allakhverdiev, 2011).

Do izgub učinkovitosti prenosa energije lahko pride predvsem na prvih dveh stopnjah (Dau in Zaharieva, 2009): 1) Po absorpciji fotona preide P680 v vzbujeno stanje  $P680^*$ , ki v 95 % tvori primarni radikalni par s feofitinom, v 5 % pa pride do izgub preko termalnega segrevanja, ali pa  $P680^*$  odda presežno energijo v obliki fluorescence. 2) Rekombinacija nabojev primarnega radikalnega para  $P680^+Phe^-$  (prehod iz singlet v triplet spin stanje). Razlika v spinskem stanju pa lahko vodi v različne kemične poti – nastanek drugačnih produktov (slika 2).



**Slika 2: Zaporedje reakcij, ki jih sproži svetloba v FSII. Prikazane so spremembe v prosti energiji ( $\Delta G$ ) in časovne konstante za prenos elektronov.** Črne puščice nakazujejo potek reakcije, rdeče pa povratne reakcije, ki pomenijo izgubo učinkovitosti. Med njimi je rekombinacija  $P680^+Phe^-$  vodilni proces, ki doprinese k padcu učinkovitosti in vodi v fotoinhibicijo. Vzbujeno stanje  $P680^*$  je 1,83 eV nad osnovnim stanjem P680 in vzeto za 0 točko na  $\Delta G$  osi (prirejeno po Dau in Zaharieva, 2009).

**Figure 2: The sequence of the light triggered reactions in PSII. Free energy changes ( $\Delta G$ ) and time constants for electron transfers are shown.** Black arrows show forward reactions, red arrows show loss paths. Among later the recombination of the  $P680^+Phe^-$  radical pair is the leading process that contributes to efficiency loss. The excited state of  $P680^*$  lies 1.83 eV above ground state and is chosen as the zero point of the  $\Delta G$ -axis (adjusted after Dau and Zaharieva, 2009).

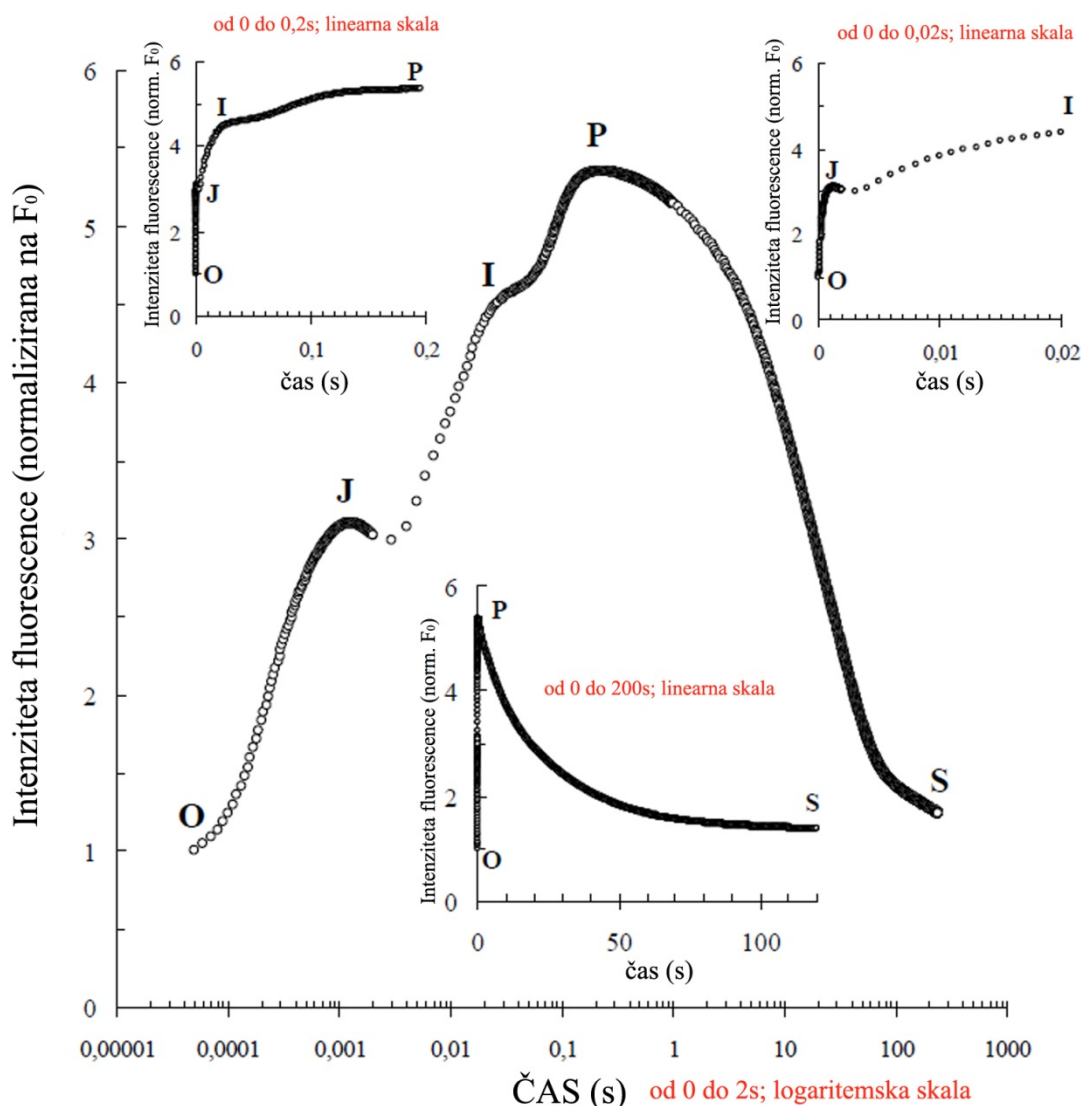


Nastanek triplet stanja je predvsem odvisen od dolgoživosti primarnega radikalnega para. Formiranje triplet stanja traja 10 ns, zato v odprtih reakcijskih centrih, kjer redukcija  $Q_A$  poteče v 0.3 ns praktično ne nastaja triplet stanje. Vendar pa lahko triplet stanje nastane v zaprtih reakcijskih centrih, ki so posledica omejitve fiksacije  $CO_2$  v Kalvinem ciklu, kar lahko privede do akumulacije reducirane oblike  $Q_A$  in blokade prenosa energije iz  $P680^+Phe^-$ . Nastalo triplet stanje  $^3P680^+Phe^-$  reagira z molekulskim kisikom ( $O_2$ ) in tvori reaktiven singlet kisik ( $^1O_2$ ), ki lahko povzroča oksidacijo proteinov, lipidov in nukleinskih kislin ter tako doprinese k fotoinhibiciji (Schweitzer in Schmidt, 2003; Dau in Zaharieva, 2009; Renger in Schlodder, 2011).

### 2.2.1 Fluorescenca klorofila *a*

Ker je fotosinteza osnova v prehranskih verigah, lahko tudi subletalni vplivi na primarne proizvajalce pomenijo resne posledice za ekosistem in sprožijo kaskado sprememb na vseh trofičnih ravneh (Relyea, 2005; Kumar in Han, 2011). Fluorescenca klorofila *a* je še posebej dober pokazatelj stanja stresa rastlin *Lemna* sp. in pogosto kaže večjo občutljivost, kot klasični parametri (število stebelnih členkov, skupna površina stebelnih členkov, suha masa rastlin) (Eullaffroy in sod., 2009).

Znano je, da ob močni ekscitacijski svetlobi temotno prilagojeni listi pokažejo karakteristično poli-fazno fluorescenco poznano kot Kautsky-jev efekt (Kautsky in Hirsch, 1931). Fluorescenca klorofila *a* v manj kot 1s intenzivno naraste iz minimuma (stopnja O), do maksimuma (stopnja P), z dvema vmesnima stopnjama J in I. Temu po približno 60 s sledi padec na polstabilno stanje (stopnja S) (slika 3). O, J, I, in P stopnje odražajo zaporedno polnjenje akceptorjev elektronov v FSII v tilakoidnih membrani, kar lahko uporabimo za oceno učinkovitosti pretvorbe energije v reakcijskih centrih FSII, ki se pogosto uporabljajo za oceno statusa rastline in zaznavo tudi šibkih vplivov različnih okoljskih dejavnikov. Predpostavlja se, da ima v enakem fiziološkem stanju odprt FSII reakcijski center (=  $Q_A$  je oksidiran) nizko (minimalno) emisijo fluorescence in da ima zaprt FSII reakcijski center (=  $Q_A$  je reduciran) visoko emisijo fluorescence. Naraščanje fluorescence je torej posledica redukcije  $Q_A$  (Strasser in sod. 2004; Stirbet in Govindjee, 2011).



**Slika 3:** Tipični primer Kautsky-jevega efekta; prehodi fluorescence temno prilagojenega lista na izpostavitve saturacijski svetlobi. Osrednja slika ima čas na logaritemski skali, manjše vstavljene slike pa prikazujejo čas na linearni časovni skali v različnih razponih. Označene so stopnje O, J, I, P in S (prilagojeno po Strasser in sod., 2004).

**Figure 3:** A typical Kautsky effect; fluorescence transient exhibited upon illumination of a dark-adapted photosynthetic sample by saturating light. The main plot shows time on a logarithmic scale, inserts show the same transient on different linear time scales. O, J, I, P and S phases are shown (adjusted after Strasser et al., 2004).

### 2.2.1.1 Kvantitativna analiza OJIP krivulje

Za kvantitativno analizo OJIP krivulje so Strasser in sod. razvili t.i. JIP test. Gre za matematični model, s pomočjo katerega so izračunali različne številčne parametre (Strasser in Strasser, 1995; Stirbet in Govindjee, 2011). Model upošteva glavne energijske pretvorbe,

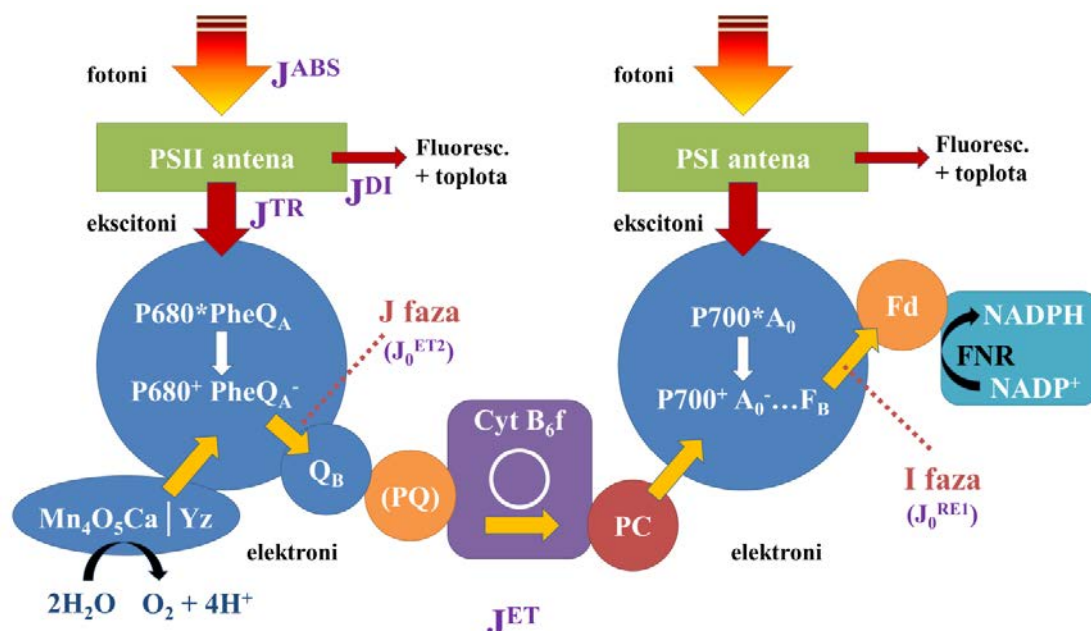
ki so povezane s fluorescenco klorofila *a*: Energijski tok absorbiranih fotonov ( $J^{ABS}$ ; »absorbed photon flux«) predstavlja stopnjo absorpcije fotonov v antenskem kompleksu. Del absorbirane energije se izgubi s sipanjem preko fluorescence in drugih, ne-sevalnih procesov (predvsem toplota), t.j. energijski tok sipanja fotonov ( $J^{DI}$ ; »dissipated energy photon flux«). Preostanek absorbirane energije predstavlja ujete ekscitone v FSII reakcijskem centru P680, t.j. ujeti energijski tok ( $J^{TR}$ ; »trapped exciton flux). Ujeta energija sproži prenos elektronov od vode ( $H_2O$ ) do Fd (FNR je pri temotno adaptiranih vzorcih 1 do 2 sekundi po saturacijskem impulzu neaktiven), t.j. energijski tok elektronskega prenosa ( $J^{ET}$ ); ocenijo ga na dveh časovnih točkah in sicer prenos od  $Q_A$  do  $Q_B$ , ki je povezan s fazo J in ga označujejo z  $J^{ET2}$ , ter na energijski tok elektronskega prenosa do Fd akceptorja v FSI, ki ga označujejo kot  $J^{RE1}$  in je povezan s fazo I (slika 4). Ena od glavnih predpostavk modela je, da so posamezni FSII samostojni, nepovezani z drugimi FSII (Strasser in Strasser, 1995; Stirbet in Govindjee, 2011).

Za osnovo so avtorji vzeli šest izmerjenih vrednosti fluorescence klorofila *a* ob različnih časovnih intervalih po nastopu pulza saturacijske svetlobe in sicer: pri 50  $\mu s$  dobimo prvo zanesljivo (ponovljivo) meritev fluorescence in tako nam ta vrednost predstavlja minimalno fluorescenco ( $F_0$ ) v O fazi. Sledita dve vmesni fluorescenci pri 100  $\mu s$  in 300  $\mu s$  ter fluorescenci v I fazi ( $F_I$ ) pri 2 ms in J fazi pri 30 ms ( $F_J$ ). Kot šesto vrednost vzamejo maksimalno izmerjeno fluorescenco ( $F_M$ ) v fazi P. Zadnja (sedma) vhodna vrednost je čas ( $t(F_M)$ ), ko je bila dosežena maksimalna fluorescenca. S pomočjo teh izmerjenih parametrov najprej izračunajo dodatne 4 tehnične parametre in sicer maksimalno variabilno fluorescenco  $F_V$  ( $F_V = F_M - F_0$ ), relativno variabilno fluorescenco v fazi J ( $V_J = (F_J - F_0) / (F_M - F_0)$ ), relativno variabilno fluorescenco v fazi I ( $V_I = (F_I - F_0) / (F_M - F_0)$ ) in približni izhodiščni naklon krivulje relativne variabilne fluorescence  $M_0$  ( $M_0 = 4ms^{-1} \cdot (F_{300} - F_0) / (F_M - F_0)$ ). Zgornje izmerjene in tehnične vrednosti jim nadalje služijo za izpeljavo več skupin biofizikalnih parametrov, s katerimi opišejo dogodke v FSII in sicer: (1) kvantne izkoristke in učinkovitosti, (2) specifične energijske tokove, (3) fenomenološke energijske tokove, (4) gostoto reakcijskih centrov in (5) kazalce delovanja in gonilne sile; skupno 35 številčnih parametrov, ki so predstavljeni v preglednici 1. Predvsem kazalci delovanja so zelo pogosto uporabljeni za oceno vitalnosti rastlin, saj združujejo več različnih energijskih pretokov (Enačba 1,2; Stirbet and Govindjee, 2011):

$$PI_{ABS}^{total} = \frac{RC}{J^{ABS}} \times \frac{J^{TR}}{J^{DI}} \times \frac{J^{ET2}/J^{TR}}{1-J^{ET2}/J^{TR}} \times \frac{J^{RE1}/J^{ET2}}{1-J^{RE1}/J^{ET2}} \quad \dots (1)$$

$$PI_{CSM}^{total} = \frac{RC}{CSM} \times \frac{J^{TR}}{J^{DI}} \times \frac{J^{ET2}/J^{TR}}{1-J^{ET2}/J^{TR}} \times \frac{J^{RE1}/J^{ET2}}{1-J^{RE1}/J^{ET2}} \quad \dots (2)$$

Kjer je  $PI_{ABS\ total}$  kazalec delovanja za ohranjanje energije od absorbiranih fotonov v FSII antenskem kompleksu do redukcije akceptorjev elektronov v FSI;  $PI_{CSM\ total}$  kazalec delovanja za ohranjanje energije na osnovi vzbujene površine;  $RC$  število reakcijskih centrov  $CSM$  pa površina vzbujenega tkiva.



**Slika 4: Shema JIP modela in procesov na tilakoidni membrani.** Prikazani so glavni energijski tokovi povezani s fluorescenco klorofila *a*.  $J^{ABS}$  – energijski tok absorbiranih fotonov,  $J^{DI}$  – energijski tok sipanja fotonov,  $J^{TR}$  – ujeti energijski tok,  $J^{ET}$  – energijski tok elektronskega prenosa,  $J_0^{ET2}$  – energijski tok elektronskega prenosa od  $Q_A$  do  $Q_B$ ,  $J_0^{RE1}$  – energijski tok elektronskega prenosa do Fd akceptorja v FSI, P680 – primarni donor elektronov v FSII, Cyt  $B_6f$  – citokrom  $B_6f$  Phe – feofitin *a*,  $Q_A$  in  $Q_B$  – primarni in sekundarni kinon (akceptor elektronov), PQ – mobilni plastokinon, PC – plastocianin, P700 – primarni donor elektronov v FSI, Fd – feredoksin, FNR – feredoksin NADP oksireduktaza (prirejeno po Stirbet in Govindjee, 2011).

**Figure 4: JIP model and the processes on the thylakoid membrane.** A schematic representation of the main energy pathway related to chlorophyll *a* fluorescence.  $J^{ABS}$  – absorbed photon flux,  $J^{DI}$  – dissipated energy photon flux,  $J^{TR}$  – trapped exciton flux,  $J^{ET}$  – electron transport flux,  $J_0^{ET2}$  – electron transport flux from  $Q_A$  to  $Q_B$ ,  $J_0^{RE1}$  – electron transport flux until PSI acceptors, P680 – the primary electron donor of PSII, Cyt  $B_6f$  – cytochrome  $B_6f$  Phe – pheophytin *a*,  $Q_A$  in  $Q_B$  – primary and secondary quinone (electron acceptor), PQ – mobile plastoquinone, PC – plastocyanin, P700 – the primary electron donor of PSI, Fd – ferredoxin, FNR – ferredoxin NADP reductase (adapted after Stirbet and Govindjee, 2011).

**Preglednica 1: JIP parametri, njihov izračun in opis (Strasser in Strasser, 1995; Stirbet in Govindjee, 2011).**

**Table 1: JIP parameters derivations and descriptions (from Strasser and Strasser, 1995; Stirbet and Govindjee, 2011).**

<b>Izmerjeni parametri</b>	
$F_0$ (50 $\mu$ s)	prva zanesljiva meritev fluorescence 50 $\mu$ s po iluminaciji, predstavlja izhodiščno vrednost fluorescence (O-točka na OJIP krivulji)
$F_{100}$ (100 $\mu$ s)	fluorescenca pri 100 $\mu$ s
$F_{300}$ (300 $\mu$ s)	fluorescenca pri 300 $\mu$ s
$F_J$ (2 ms)	fluorescenca pri 2 ms (J-točka na OJIP krivulji)
$F_I$ (30 ms)	fluorescenca pri 30 ms (I-točka na OJIP krivulji)
$F_M$ (max)	maksimalna fluorescenca pri saturacijskem impulzu svetlobe (P-točka na OJIP krivulji)
$t(F_M)$ v ms	čas pretečen od nastopa saturacijske svetlobe do dosežene maksimalne fluorescence $F_M$
<b>Tehnični parametri</b>	
$F_V$	maksimalna variabilna fluorescence klorofila $a$ ; $F_M - F_0$
$V_J$	relativna variabilna fluorescence v točki J; $(F_J - F_0) / (F_M - F_0)$
$V_I$	relativna variabilna fluorescence v točki I; $(F_I - F_0) / (F_M - F_0)$
$M_0$	približna vrednost začetnega naklona krivulje relativne variabilne fluorescence ; $4ms^{-1} \cdot (F_{300} - F_0) / (F_M - F_0)$
<b>Definicije energijskih tokov</b>	
$J^{ABS}$	$J^{TR} + J^{DI}$ ; stopnja absorbiranih fotonov s celotnim FSII antenskim kompleksom (energijski tok absorbiranih fotonov)
$J^{TR}$	stopnja ujetih ekscitonov v FSII reakcijskih centrih, ki vodijo do redukcije $Q_A$ (ujeti energijski tok)
$J_0^{TR}$	maksimalni (začetni) ujeti energijski tok
$J^{DI}$	stopnja sipanja energije vseh FSII v drugačnih procesih od ujetih ekscitonov (energijski tok sipanja fotonov)
$J_0^{ET2}$	Energijski tok prenosa elektronov od $Q_A$ do $Q_B$
$J_0^{RE1}$	Energijski tok prenosa elektronov do FSI akceptorjev (definiran pri $t = 30$ ms in predstavlja I točko na krivulji)
<b>Kvantni izkoristki in učinkovitosti / verjetnosti</b>	
$\phi_{P0}$	$J_0^{TR} / J^{ABS}$ ; maksimalni kvantni izkoristek ali potencialna fotokemična učinkovitost FSII; $F_V / F_M$
$\phi_{D0}$	$J_0^{DI} / J^{ABS}$ ; kvantni izkoristek sipanja energije; $F_0 / F_M$
$\phi_{E120}$	$J_0^{ET2} / J^{ABS}$ ; kvantni izkoristek prenosa elektronov od $Q_A$ do $Q_B$ v PS II; $\phi_{P0} \cdot \psi_0$
$\phi_{RE10}$	$J_0^{RE1} / J^{ABS}$ ; kvantni izkoristek redukcije končnega akceptorja elektronov v akceptorju FSI; $\phi_{P0} \cdot \psi_{R0}$
$\psi_{ET20}$	$J_0^{ET2} / J_0^{TR}$ ; izkoristek / verjetnost, da bo ujet elektron v FSII prenesen od $Q_A$ do $Q_B$
$\psi_{RE10}$	$J_0^{RE1} / J_0^{TR}$ ; izkoristek / verjetnost, da bo ujet elektron v FSII prenesen do akceptorja v FSI; $I - V_I$
$\delta_{RE10}$	$J_0^{RE1} / J_0^{ET2}$ ; izkoristek / verjetnost, da bo ujet elektron prenesen od reduciranega PQ do akceptorja v FSI; $\psi_{R0} / \psi_0$
<b>Specifični energijski tokovi (na aktivni FSII reakcijski center)</b>	
$J^{ABS}/RC$	$(J_0^{TR}/RC) / (J_0^{TR} / J^{ABS})$ ; povprečni absorbiran tok elektronov na FSII RC; $(M_0 / V_J) \cdot (1 / \phi_{P0})$
$RC/J^{ABS}$	$(RC/J_0^{TR}) \cdot (J_0^{TR} / J^{ABS})$ ; količina aktivnih FSII RC na absorpcijo; $\phi_{P0} \cdot (V_J / M_0)$
$J_0^{TR}/RC$	maksimalna stopnja ujetih eksciton v RC; $M_0 / V_J$
$J_0^{ET2}/RC$	prenos elektronov na aktivni FSII RC; $(M_0 / V_J) \cdot \psi_{ET20}$
$J_0^{DI}/RC$	$J^{ABS}/RC - J_0^{TR}/RC$ ; sipanje energije na aktivni FSII RC
$J_0^{RE1}/RC$	tok prenosa elektronov do FSI akceptorja na aktivne FSII RC; $(M_0 / V_J) \cdot \psi_{RE10}$

se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice 1: JIP parametri, njihov izračun in opis.

**Fenomenološki energijski tokovi/aktivnosti (na vzbujeno površino)**

$J^{ABS}/CS_M$	povprečni absorbiran tok elektronov na vzbujeno površino; $F_M$
$J_0^{TR}/CS$	$(J_0^{TR} / J^{ABS}) \cdot J^{ABS}/CS$ ; maksimalna stopnja ujetih eksciton na vzbujeno površino; $\phi_{P0} \cdot F_M$
$J_0^{ET2}/CS$	$(J_0^{ET2} / J^{ABS}) \cdot J^{ABS}/CS$ ; prenos elektronov od $Q_A$ do $Q_B$ na vzbujeno površino; $\phi_{ET20} \cdot F_M$
$J_0^{DI}/CS$	$J^{ABS}/CS - J_0^{TR}/CS$ ; sipanje energije na vzbujeno površino
$J_0^{RE1}/CS$	$(J_0^{RE1} / J^{ABS}) \cdot J^{ABS}/CS$ ; tok prenosa elektronov do FSI akceptorja na vzbujeno površino; $\phi_{RE10} \cdot F_M$

**Gostota reakcijskih centrov**

$RC/CS$	$(RC/J^{ABS}) \cdot (J^{ABS}/CS)$ ; število aktivnih FSII $RC$ na vzbujeno površino; $\phi_{P0} \cdot (V_J / M_0) \cdot F_M$
---------	--

**Kazalci delovanja & gonilne sile**

$PI_{ABS}$	$[RC / J^{ABS}] \cdot [\phi_{P0} / (1 - \phi_{P0})] \cdot [\psi_{ET20} / (1 - \psi_{ET20})]$ ; kazalec delovanja za ohranjanje energije od absorbiranih fotonov v FSII antenskem kompleksu do redukcije $Q_B$ ; $[\gamma_{RC2} / (1 - \gamma_{RC2})] \cdot [\phi_{P0} / (1 - \phi_{P0})] \cdot [\psi_{ET20} / (1 - \psi_{ET20})]$
$PI_{ABS\ total}$	$PI_{ABS} \cdot [(\delta_{RE10} / (1 - \delta_{RE10}))]$ ; kazalec delovanja za ohranjanje energije od absorbiranih fotonov v FSII antenskem kompleksu do redukcije akceptorjev elektronov v FSI; $[\gamma_{RC2} / (1 - \gamma_{RC2})] \cdot [\phi_{P0} / (1 - \phi_{P0})] \cdot [\psi_{ET20} / (1 - \psi_{ET20})] \cdot [(\delta_{RE10} / (1 - \delta_{RE10}))]$
$PI_{CSM\ total}$	$F_M \cdot PI_{ABS\ total}$ ; kazalec delovanja za ohranjanje energije na osnovi vzbujene površine; $[RC / CS] \cdot [\phi_{P0} / (1 - \phi_{P0})] \cdot [\psi_{ET20} / (1 - \psi_{ET20})]$
$DF_{ABS\ total}$	$\log[PI_{ABS\ total}]$ ; gonilna sila na osnovi absorpcije; $DF_{RC} + DF_{\phi} + DF_{\psi}$
$DF_{CS\ total}$	$\log[PI_{CS\ total}]$ ; gonilna sila na osnovi vzbujene površine; $DF_{Chl} + DF_{RC} + DF_{\phi} + DF_{\psi}$

### 2.2.1.2 Pregled raziskav z JIP testom

Številni avtorji so uporabili JIP test za oceno stresa oz. fiziološkega stanja rastlin. V nadaljevanju bom predstavil nekaj takih raziskav, v preglednici 2 so podane težnje za vrednosti JIP parametrov, ki jih avtorji navajajo za rastline, ki so izpostavljene različnim stresnim razmeram.

Pri algah vrste *Chlorella vulgaris*, ki so bile 72 ur izpostavljene različnim nanodelcem s toksičnimi kovinami (TK), so ugotovili padec izmerjene fluorescence (padec je bil bolj izrazit ob višjih koncentracijah TK), povečanje  $J^{ABS}/RC$  in  $V_J$  in moten prenos elektronov s plastokinoni (PQ),  $PI_{ABS}$  pa je padel do 20 % vrednosti kontrole (Barhoumi in Dewez, 2013). Višja koncentracija aluminija je podobno vplivala na kalice pomela (*Citrus grandis*), ki so imele sicer povečano  $F_0$  (nakazuje na poškodbe zaradi fotoinhibicije), a so prav tako kot alge *Chlorella* izkazale zmanjšano maksimalno fluorescenco ( $F_M$ ) in povečano  $V_J$  in padec  $PI_{ABS\ total}$  (Jiang in sod., 2009). Avtorji navajajo tudi presežek absorbirane energije v izpostavljenih rastlinah, ki se je kazala v povečanem sipanju energije (višji  $J_0^{DI}/RC$ ,  $J_0^{DI}/CS$  in  $\phi_{D0}$ ) in zmanjšanih izkoristkih ( $\rho_{P0}$ ,  $\delta_{RE10}$ ).

Vodni stres je povzročil padec  $PI_{ABS}$  pri pšenici (*Triticum aestivum*) preden je bilo mogoče zaznati spremembo v klasičnem parametru – potencialna fotokemična učinkovitost FSII ( $F_V/F_M$ ) (Živčak in sod., 2008). Brestič in Živčak (2013) sta pri rastlinah, izpostavljenih vodnemu ali toplotnemu stresu, opazila povečan  $F_0$  in zmanjšano  $F_I$ ,  $F_J$  in  $F_M$ , povečanje  $V_I$  in  $V_J$ . Izkoristki absorbiranih fotonov in izkoristek prenosa elektronov se nista bistveno

spremenila pod vplivom stresnih razmer ( $\rho_{P0}$ ,  $\rho_{Et20}$ ), medtem ko se je razmerje med sipanjem energije in absorbiranim tokom energije povečalo ( $\rho_{D0}$ ). Znižalo se je število aktivnih reakcijskih centrov na enoto površine, padel je obseg fenomenoloških energijskih tokov (razen sipanje energije na vzbujeno površino, ki je ostala nespremenjena), občutno padel pa je kazalec za ohranjanje ravni energije ( $PI_{CSM\ total}$ ). Pomanjkanje vode je tudi pri koruzi (*Zea mays*) vodilo v padec fluorescence ( $F_I$ ,  $F_J$  in  $F_M$ ), povečanje  $J^{ABS}/RC$  in padec verjetnosti za izkoristek ujetih in prenesenih elektronov ( $\phi_{Et20}$ ,  $\phi_{P0}$ ) ter zmanjšan kazalec delovanja ( $PI_{ABS}$ ) (Shao in sod., 2010).

Strauss in sod. (2006) so z JIP testom razvrstili različne genotipe soje (*Glycine max*) glede na odpornost na nizke temperature (6 °C). Rastline z nižjo odpornostjo so imele višje  $V_I$  in  $V_J$  in bistveno nižji kazalec delovanja ( $PI_{ABS}$ ), medtem ko potencialna fotokemična učinkovitost FSII ( $F_V/F_M$ ) ni pokazala razlik med različnimi genotipi. Do podobnih rezultatov so prišli tudi Boisvert in sod. (2006), ki so izolirali tilakoide kloroplastov iz listov špinače (*Spinacia oleracea*) in prav tako ugotovili višje  $V_I$  in  $V_J$  pri nižjih temperaturah.

Rastline tobaka (*Nicotiana tabacum*), izpostavljene različnim koncentracijam herbicida klomazona, so imele povečan tok energijski absorbiranih fotonov ( $J^{ABS}/RC$ ) in sipanje energije ( $J_0^{DI}/RC$ ) ter relativno fluorescenco v fazi J ( $V_J$ ), kar bi naj bila posledica zmanjšane števila delujočih FSII, med tem ko sta se pretok ujetih ekscitonov ( $J_0^{TR}/RC$ ) in prenos elektronov ( $J_0^{Et2}/RC$ ) zmanjšala, prav tako pa se je zmanjšal  $PI_{ABS}$  (Darwish in sod., 2013). Podobne rezultate so dobili Eullaffroy in sod. (2009), ki so rastline *Lemna minor* izpostavili herbicidu Diuronu in po 48 urah opazili zmanjšano fluorescenco ( $F_J$ ,  $F_I$  in  $F_M$ ), povečano  $V_J$ ,  $J^{ABS}/RC$  in  $J_0^{DI}/RC$ , zmanjšano verjetnost, da bo ujet elektron prenesen od  $Q_A$  do  $Q_B$  ( $\psi_{ET20}$ ) ter bolj negativno gonilno silo na osnovi absorpcije ( $DF_{ABS\ total}$ ), kar po njihovem mnenju odraža močno oviran prenos elektronov med  $Q_A$  in  $Q_B$ .

Pomanjkanje fosforja je pri rastlini čajevca (*Camellia sinensis*) vodilo v povečano minimalno in zmanjšano maksimalno fluorescenco ( $F_0$  in  $F_M$ ), povišano  $M_0$ ,  $V_I$  in  $V_J$  ter povečano sipanje energije in padec večine ostalih energijskih tokov (Lin in sod. 2009).

Povečano obsevanje rastlin sibirskega bresta (*Ulmus pumila*) je vodilo v povečano  $F_0$  in zmanjšano  $F_M$ , povečano sipanje ( $J_0^{DI}/RC$ ,  $\rho_{D0}$ ) in zmanjšan izkoristek prenesenih elektronov ( $\rho_{Et20}$ ) ter zmanjšan kazalec učinkovitosti ( $PI_{ABS\ total}$ ) (Pan in sod., 2011).

Rai in sod. (2008) so pokazali korelacijo med kazalcem delovanja ( $PI_{ABS}$ ) in arbuskularno mikorizo pri koruzi (*Zea mays*). Rastline, ki so jih inokulirali z glivo *Piriformospora indica*, so imele višji kazalec delovanja v primerjavi s kontrolo, medtem ko inokulacija z glivo

*Glomus mosseae* ali pa z mešano kulturo (*P. indica* in *G. mosseae*) ni dala statistično značilnih razlik v kazalcu delovanja, so pa imele vse inokulirane rastline hitrejšo rast.

**Preglednica 2: Težnje JIP parametrov za rastline v stanju stresa.**

**Table 2: Trend in JIP parameters for plants under stress conditions.**

Parameter	Težnja pri rastlinah v stresu	Vir
<b>Izmerjeni parametri</b>		
$F_0$ (50 $\mu$ s)	RASTE	b, d, j, k
$F_{100}, F_{300}, F_J, F_I$	PADE	a, d, e, i, j, k
$F_M$ (max)	PADE	a, b, d, e, i, j, k
$t(F_M)$ v ms	PADE	g
<b>Tehnični parametri</b>		
$F_V$	PADE	b, d, j, k
$V_J$	RASTE	a, b, d, f, g, h, i, j, k
$V_I$	RASTE	b, d, f, g, j
$M_0$	RASTE	j
<b>Kvantni izkoristki in učinkovitosti / verjetnosti</b>		
$\phi_{P0}$	PADE NI SPREMEMBE	b, j, e d
$\phi_{D0}$	RASTE	b, d, j, k
$\phi_{Ei20}$	PADE	d, e, j, k
$\phi_{RE10}$	PADE	b, j
$\psi_{ET20}$	PADE NI SPREMEMBE	b, i, j, k d
$\psi_{RE10}$	PADE	j
$\delta_{RE10}$	PADE	b, j
<b>Specifični in fenomenološki energijski tokovi</b>		
$J^{ABS}/RC$	RASTE	a, b, e, h, i, k
$RC/J^{ABS}$	PADE	a, b, e, h, i, k
$J_0^{TR}/RC$	PADE NI SPREMEMBE/ RASTE	h b, i, k
$J_0^{DI}/RC$	RASTE	b, h, i, j, k
$J_0^{RE1}/RC$	PADE	b, j
$J^{ABS}/CS_M$	PADE	d
$J_0^{TR}/CS$	PADE	d, j
$J_0^{ET2}/CS$	PADE	d, j
$J_0^{DI}/CS$	RASTE PADE / NI SPREMEMB	b, j d
$J_0^{RE1}/CS$	PADE	j
$RC/CS$	PADE	d, j
<b>Kazalci delovanja &amp; gonilne sile</b>		
$PI_{ABS}$	PADE	a, c, e, f, h, i, j, l
$PI_{ABS\ total}$	PADE	b, j, k
$PI_{CSM\ total}$	PADE	d
$DF_{ABS\ total}$	PADE	i
$DF_{CS\ total}$	PADE	

a – Barhoumi in Dewez, 2013; b – Jiang in sod., 2009; c – Živčak in sod., 2008; d – Brestič in Živčak, 2013; e – Shao in sod., 2010; f – Strauss in sod., 2006; g – Boisvert in sod., 2006; h – Darwish in sod., 2013; i – Eullaffroy in sod., 2009; j – Lin in sod., 2009; k – Pan in sod., 2011; l – Rai in sod., 2008.



## 2.3 STRES PRI RASTLINAH

Abiotske stresne razmere prizadenejo rast in razvoj rastlin. Rastline se s stresnimi razmerami spopadajo z dvema strategijama: umikom (npr. preživijo v neaktivnih oblikah kot so semena) ali pa se na stresne razmere prilagodijo – razvijejo odpornost. Govorimo o aktivni in reverzibilni prilagoditvi na stresne razmere ali aklimaciji rastlin (Larcher, 2003). Aklimacija poteka preko sprememb v ekspresiji genov, ki vodi v velike spremembe v sestavi transkriptoma, proteoma in metaboloma (Kosova in sod., 2011).

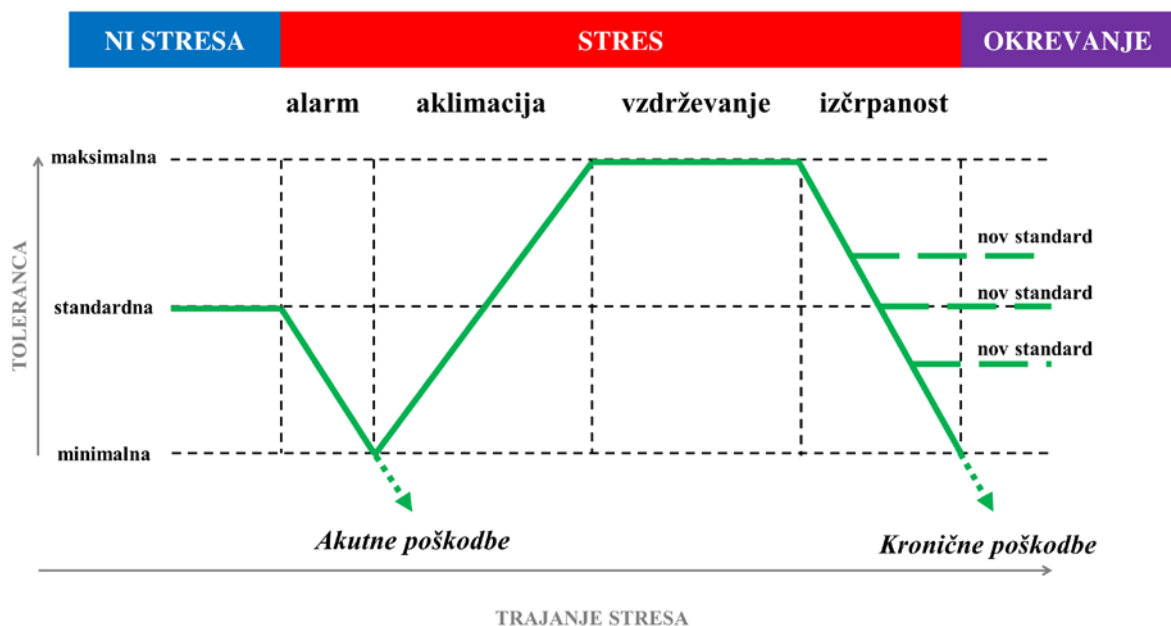
Odziv rastline na stresne razmere je dinamični proces, ki je odvisen od intenzitete in trajanja stresnih razmer. Ločimo lahko različne faze v odzivu rastlin (slika 5; Larcher, 2003; Kosova, 2011):

- Faza alarma, ko stresne razmere povzročijo šok in odpornost rastlin pade. Značilen je porast ROS spojin;
- Faza aklimacije, ki traja več dni in med katero se odpornost na stresne razmere povečuje ter vodi v novo homeostazo metabolizma. Začne se sinteza posebnih proteinov za odziv na stresne razmere, med njimi so tudi šaperoni in antioksidanti;
- Faza vzdrževanja, ko rastlina vzdržuje novo vzpostavljeno homeostazo in stopnjo odpornosti;
- Faza izčrpanosti, ki nastopi v primeru, da stresne razmere traja predolgo in rastlina ne more več vzdrževati homeostaze, zato odpornost pade;
- Po prenehanju stresnih razmer nastopi faza okrevanja, ko se ponovno vzpostavi metabolizem in homeostaza, ki je enaka (ali podobna) stanju pred nastopom stresnih razmer. Zaščitni proteini in spojine se razgradijo, nadaljuje se običajna rast in razvoj rastline.

Aklimacija zahteva velik energijski vložek rastline, zato se običajno v tem času rast in razvoj rastline ustavi. *De novo* sinteza proteinov, ki jo aklimacija zahteva, običajno poteče zgolj v rastlinah, ki lahko ohranijo visoko stopnjo fotosinteze in fiksacije CO<sub>2</sub>.

Različne abiotske omejitve, med njimi ekstremne temperature, visoka jakost sevanja, osmotski stres, izpostavljenost toksičnim kovinam in številni herbicidi ter toksini v začetni fazi sprožijo številne biokemijske poti, od aktivacije ionskih kanalov, protein kinaz, nastajanja reaktivnih kisikovih spojin (ROS), do nalaganja različnih rastlinskih hormonov in spremembe transkripcije genov. Proces vključuje različne celične organele in tkiva ter vodi v specifičen ali splošni odziv na stresne razmere (Fraire-Velazquez in sod., 2011, Ciarmiello in sod., 2009).

Veliko raziskav kaže, da sta kalcij in ROS sekundarna sporočevalca v zgodnjem odzivu na stresne razmere. Raven kalcija v citoplazmi je strogo uravnavana. Povišana koncentracija kalcija v celici sproži številne signalne poti, kot so npr. od kalcija odvisne protein kinaze in kalcij-kalmodulin procesi. ROS v celici konstantno nastajajo in se odstranjujejo – ohranja se ravnotežje, ki se ob nastopu stresnih razmer poruši in koncentracija ROS v celicah naraste (Fraire-Velazquez in sod., 2011).



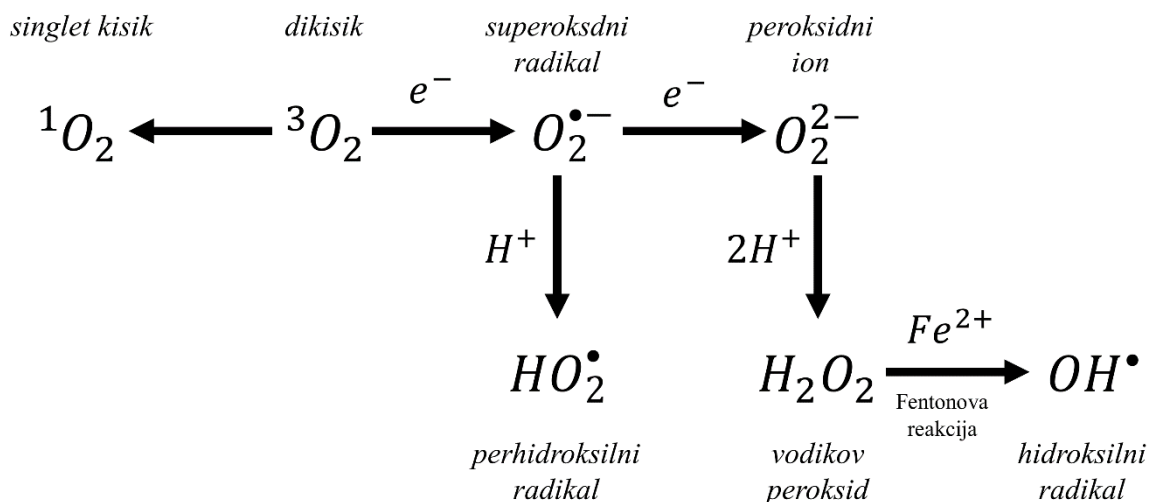
**Slika 5: Faze odziva rastline na stresne razmere (prirejeno po Larcher, 2003).** Prikazana so 4 faze odziva rastlin na stresne razmere in faza okrevanja po prenehanju stresnih razmer. Odpornost na stresne razmere se v posamezni fazi spreminja.

**Figure 5: Phases of plant response to stress conditions (adjusted after Larcher, 2003).** Four phases of plant response to stress conditions are shown and the fifth phase of plant recovery after the termination of the stress conditions. Plant tolerance to stress is different in individual phases.

### 2.3.1 Reaktivne kisikove spojine (ROS)

ROS v celici konstantno nastajajo kot stranski produkti celičnega metabolizma, predvsem v mitohondrijih med celičnem dihanjem, v kloroplastih med fotosintezo in peroksisomih med fotorespiracijo. Zato ima celica vrsto antioksidativnih zaščitnih mehanizmov, ki sproti odstranjujejo ROS. Obstaja ravnotežje med nastajanjem in odstranjevanjem ROS ter encimi superoksid dizmutaza (SOD), askorbat peroksidaza (APX), guaiakol peroksidaza (GPX), glutathion S-transferaza (GST) in katalaza (CAT) ter neencimski metaboliti askorbinska kislina (ASH), glutathion (GSH),  $\alpha$ -tokoferol, karotenoidi in flavonoidi (Mittler in sod., 2004; Gill in Tuteja, 2010).

ROS same po sebi torej ne sprožijo odziva na stresne razmere, pomembno je predvsem razmerje med nastajanjem in odstranjevanjem ROS. V primeru nastopa abiotičnih (in biotičnih) stresnih razmer pa se koncentracija ROS bistveno poveča, kar vodi v poškodbe proteinov, lipidov, ogljikovih hidratov in DNK, in lahko vodi v celično smrt. Najbolj pogoste ROS so (slika 6): superoksidni radikal ( $O_2^{\bullet-}$ ), vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ), singlet kisik ( $^1O_2$ ), perhidroksilni radikal ( $HO_2^{\bullet}$ ) in hidroksilni radikal ( $OH^{\bullet}$ ) (Mittler in sod., 2004; Gill in Tuteja, 2010).



**Slika 6:** Nastanek različnih reaktivnih kisikovih spojin v celici (prirejeno po Gill in Tuteja, 2010). V celici lahko iz kisika nastanejo različne ROS spojine.

**Figure 6:** Generation of reactive oxygen species in the cell (adjusted after Gill and Tuteja, 2010).  $O_2$  may lead to the generation of different ROS in the cell.

### 2.3.2 Kalcij in od kalcija odvisne signalne poti

Tako rastline kot živali uporabljajo proste  $\text{Ca}^{2+}$  ione za sekundarne sporočevalce v transdukcijskih signalnih poteh. Zato je koncentracija kalcija v celici močno nadzorovana: v citoplazmi rastlinske celice je običajno nizka ( $\approx 100$  nM), saj celice dejavno prenašajo  $\text{Ca}^{2+}$  ione v organele ( $\approx 1$  mM) in ustvarjajo 10.000 kratno razliko v koncentraciji  $\text{Ca}^{2+}$ . To pa omogoča generiranje hitrih signalov ob odprtju različnih kalcijevih kanalov na membranah organelov in na plazmalemi. Do sedaj poznamo veliko raznolikih časovno-prostorskih prehodov koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  ionov v citoplazmi, ki nastajajo kot odziv na različne abiotske, biotske in razvojne signale ter preko  $\text{Ca}^{2+}$  senzornih proteinov sprožajo različne transkripcijske in metabolne odzive (Stael in sod., 2012).

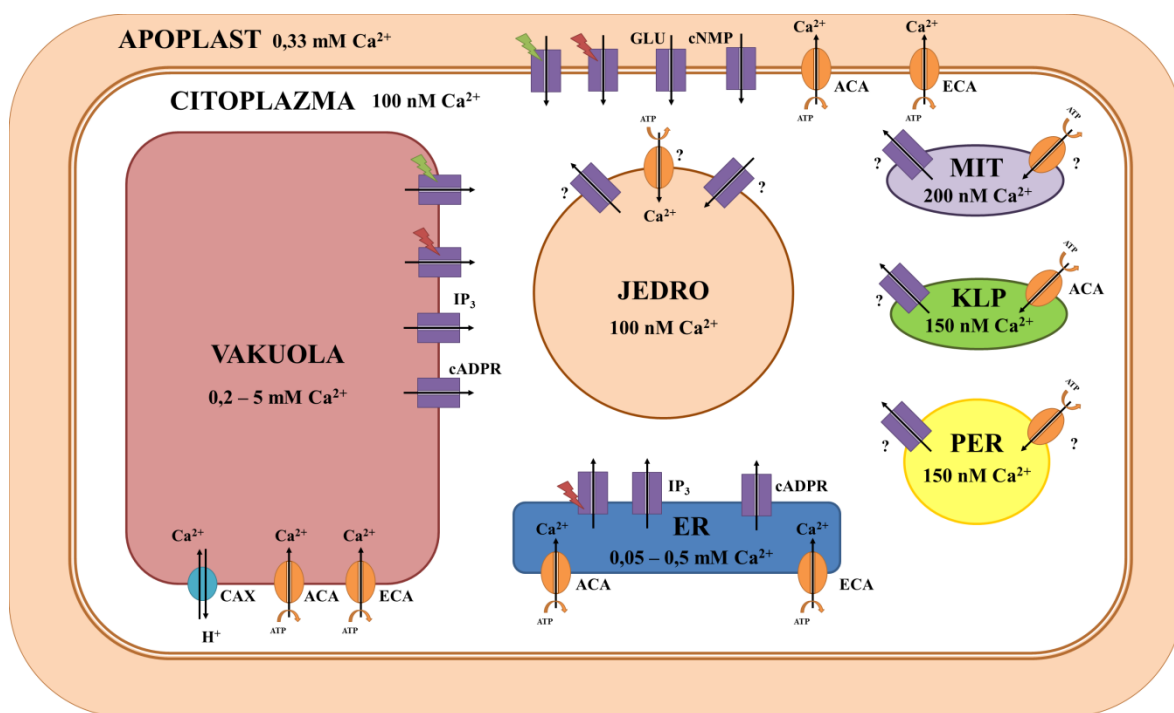
Glavna skladišča  $\text{Ca}^{2+}$  ionov v celici so vakuola, endoplazmatski retikulum in apoplast (= difuzijski kontinuum na zunanji strani plazmaleme, ki je sestavljen iz sosednjih celičnih sten in medceličnih prostorov) (slika 7; Stael in sod., 2012). V vakuoli je koncentracija kalcija med 0,2 mM do 5 mM, skupaj z vezanim kalcijem (vezava na helatne spojine kot so malat, citrat in izocitrat in niso dostopni za celično signaliziranje) pa doseže do 80 mM koncentracijo (Conn in Gilliam, 2010).

Kalcij se v citoplazmo sprošča preko različnih kalcijevih kanalov. Poznamo več vrst kalcijevih kanalov, ki se lahko odprejo ob depolarizaciji (bolj pozitivno kot -150 mV do -100 mV) ali pa ob hiperpolarizaciji (bolj negativno kot -100 mV do -150 mV) in imajo različne biokemijske in elektrofiziološke značilnosti. Poznamo tudi kalcijeve kanale, ki se odprejo ob vezavi ustreznega liganda, npr.: glutamat, inozidol trifosfat ( $\text{IP}_3$ ), ciklična ADP riboza (cADPR) in ciklični nukleotid monofosfat (cNMP). Zelo verjetno pa se nekateri kalcijevi kanali odprejo zaradi mehanske sile, ki nastopi zaradi gravitacije, dotika, pritiska ali pregiba (White in Broadley, 2003).

Kalcij se konstantno odstranjuje iz citoplazme v organele z uporabo ionskih črpalk, ki porabljajo ATP ( $\text{Ca}^{2+}$  ATPaze) in ionskih izmenjevalcev ( $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$  antiporter CAX). ATPaze imajo visoko afiniteto po kalciju in so najverjetneje odgovorne za vzdrževanje kalcijeve homeostaze v celici, medtem ko ima  $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$  antiporter CAX manjšo afiniteto, a večjo kapaciteto, zato je najverjetneje ključen za hitro odstranjevanje  $\text{Ca}^{2+}$  med generacijo signala (White in Broadley, 2003; Conn in Gilliam, 2010).

$\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$  antiporter se nahaja na membrani vakuole in za svoje delovanje (črpanje  $\text{Ca}^{2+}$  proti koncentracijskemu gradientu) izkorišča protonski gradient (visoka koncentracija protonov v vakuoli), ki ga vzdržuje  $\text{H}^+$  ATPaza tipa V na membrani vakuole (Sze in sod., 2000).

Poznamo 2 družini  $\text{Ca}^{2+}$  ATPaz: ACA (tip IIB) imajo visoko afiniteto po  $\text{Ca}^{2+}$  ionih in se inaktivirajo pod vplivom kalmodulina, le ta pa se aktivira ob večji koncentraciji  $\text{Ca}^{2+}$  v citoplazmi – so torej avtozaviralne. ECA (tip IIA) so sprva odkrili na endoplazmatskem retikulumu in niso občutljive na kalmodulin, najdemo pa jih tudi v membrani vakuole in plazmatski membrani (Sze in sod., 2000).

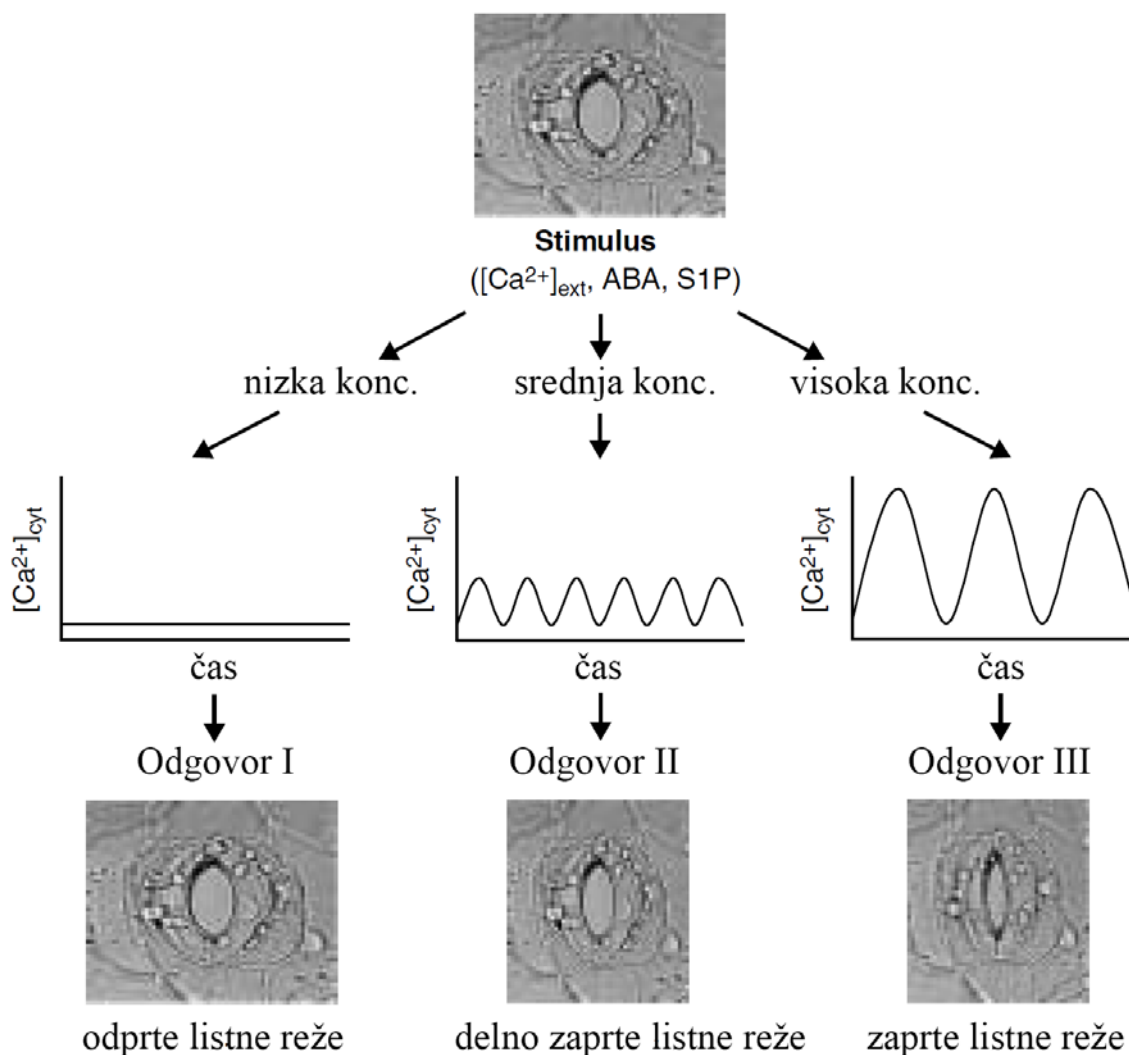


**Slika 7: Koncentracija kalcija v različnih organelih rastlinske celice in membranske strukture, ki omogočajo vstop kalcija v citoplazmo in njegovo odstranjevanje (prirejeno po Boudsoq in Sheen, 2010; Stael in sod., 2012).** Ionski kanali (vijolično), ionski izmenjevalec CAX (modro), ionske črpalke (oranžno). Zelene strele označujejo kanalčke, občutljive na depolarizacijo, rdeče strele označujejo kanalčke, občutljive na hiperpolarizacijo. Od liganda odvisni ionski kanalčki: GLU (glutamat), cNMP (ciklični nukleotid monofosfat),  $\text{IP}_3$  (inozidol trifosfat), cADPR (ciklična adenozin difosfat riboza). ACA avtozaviralne  $\text{Ca}^{2+}$  ATPaze; ECA  $\text{Ca}^{2+}$  ATPaze. MIT – mitohondrij, KLP – kloroplast, PER – peroksisom; ER – endoplazmatski retikulum.

**Figure 7: Calcium concentration in different plant cell organelles and the membrane structures that allow movement of  $\text{Ca}^{2+}$  ions (after po Boudsoq and Sheen, 2010; Stael et al., 2012).** Ion channel (violet), ion transporter CAX (blue), ion pump (orange). Green lightning mark channels that are sensitive to depolarization, red lightning marks channels that are sensitive to hyperpolarization. The ligand-gated channels are: GLU (glutamate), cNMP (cyclic nucleotide monophosphate),  $\text{IP}_3$  (inositol triphosphate), cADPR (cyclic ADP Ribose). ACA (auto-inhibited  $\text{Ca}^{2+}$  – ATPase), ECA (endoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$  – ATPases), MIT – mitochondrion, KLP – chloroplast, PER – peroxisome, ER – endoplasmic reticulum.

Različni okoljski in razvojni dejavniki sprožijo dvig koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  v citoplazmi. Gre za primitiven in univerzalen odziv na stresne razmere. Specifičnost odziva na različne signale je zagotovljena z razporeditvijo raznolikih  $\text{Ca}^{2+}$  kanalov, lokacijo vdora kalcija, hitrostjo naraščanja in upadanja koncentracije kalcija in prisotnosti tarčnih molekul (White in Broadley, 2003). Signal (vdor  $\text{Ca}^{2+}$ ) je lahko enkratno (vrh), dvojni (dvafazen) ali pa

večkratni (oscilacije), oscilacije pa se lahko razlikujejo v trajanju, ritmu in amplitudah. Oscilacije  $\text{Ca}^{2+}$  so tako pomembne tudi pri oblikovanju koreninskih mešičkov (nodulov), rasti pelodne cevke in uravnavanju turgorja v celicah zapiralkah (zapiranje listnih rež), kjer različne oscilacije (glede na frekvenco in amplitudo) sprožijo različno zapiranje listnih rež oz. fiziološki odziv celic zapiralk (slika 8; Evans in sod., 2001).



**Slika 8: Oscilacije koncentracije kalcija in različni odzivi celic zapiralk.** (Prirejeno po Evans in sod., 2001). Na različni ritem in intenziteto vdora  $\text{Ca}^{2+}$  ionov dobimo različno močan odziv celic zapiralk od delno zaprtih rež, do zaprtih listnih rež.

**Figure 8: Oscillations in the calcium concentration and different guard cells responses** (adjusted after Evens et al., 2001). Different frequency and amplitude of  $\text{Ca}^{2+}$  ion influx trigger different response in guard cells and generate different final stomatal aperture.

Kalcij vpliva na ekspresijo genov preko (Boudsocq in Sheen, 2010; Stael in sod., 2012):

- Neposredne vezave na od kalcija odvisne transkripcijske faktorje;
- $\text{Ca}^{2+}$  se pogosto veže na kalmodulin, ki je uravnlalni protein. Ta nadalje vpliva na aktivnost različnih encimov. Kalcij-kalmodulin kompleks (CaM) pogosto aktivira od kalcij-kalmodulina odvisne protein kinaze (= CaM kinaze), ki naprej aktivirajo transkripcijske faktorje in spremenijo ekspresijo genov;
- Vezava na calcinevrin-B in sorodne proteine (CBL proteini; calcineurin B-like proteins), kar sproži konformacijsko strukturo, CBL pa nadalje deluje na Ser/Thr protein kinaze (CIPK). Aktivirane CIPK so pogosto udeležene v aktivacijo membransko vezanih encimov, udeleženi v transdukcijo odziva na stresne razmere.
- Lahko pa kalcij z vezavo na od  $\text{Ca}^{2+}$  odvisne protein kinaze = CDPK (Ca dependent protein kinaze) povzroči fosforilacijo različnih transkripcijskih faktorjev.

Raznolikost kalcijevih kanalov, ionskih črpalk in širok nabor transdukcijskih proteinov (CaM kinaze, CIPK, CDPK) v celicah so ključni za raznovrstnost signalov in odzivov, ki jih lahko sprožijo  $\text{Ca}^{2+}$  signali (Boudsocq in Sheen, 2010).

## 2.4 GIBERELINI

Rastlinski hormoni koordinirajo razvoj rastlin z spreminjanjem rasti pod vplivom notranjih in okoljskih signalov, slednje daje rastlinam plastičnost rasti, ki pri živalih ni poznana. Ključni razvojni hormoni so avksini, brasinosteroidi, citokinini in giberelini, medtem ko so abscizinska kislina, etilen in jasmonska kislina hormoni, ki pretežno sodelujejo v odzivih na stresne razmere (Wolters in Jürgens, 2009).

Ekspresija hormonov in njihovo delovanje je odvisno od vrste tkiva oz. rastlinskega organa, poleg tega pa lahko različne koncentracije istega hormona sprožijo nasprotno učinke (Wolters in Jürgens, 2009).

Giberelini (GA) so velika družina terpenoidnih snovi, ki uravnavajo številne vidike rasti in razvoja rastlin (slika 9), med njimi tudi kalitev, rast poganjkov in cvetenje (Hooley, 1994; Chandler, 2011; Fleet in Sun, 2005). Znano je, da giberelini kontrolirajo tudi rast hipokotila, in sicer tako, da spodbudijo podaljševanje celic. Cowling in Harberd (1999) sta pokazala, da je dolžina hipokotila pri navadnem repnjakovcu (*Arabidopsis thaliana*) neposredno odvisna od koncentracije dodanih eksogenih giberelinov. Širok spekter pomena giberelinov za rast in razvoj rastlin se jasno vidi pri različnih mutantah, ki imajo zmanjšano sintezo giberelinov ali pa imajo okvarjeno GA signalno pot. Ekstremni fenotipi GA mutant so tako temno zelene pritlikave rastline, ki nimajo ustrezne rasti listov in podaljševanje stebela (Thomas in Sun, 2004).

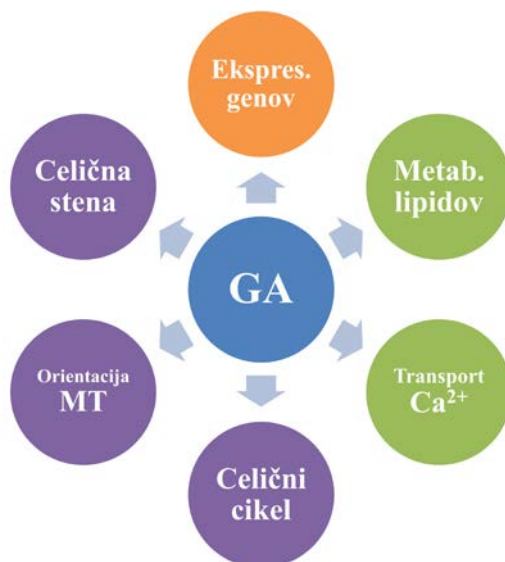
Biosintezo giberelinov lahko razdelimo v tri stopnje, vsaka poteka na svojem delu celice: v plastidih iz geranil-geranil difosfata nastane ent-kauren, ta se v endoplazmatskem retikulumu pretvori v GA<sub>12</sub> ali GA<sub>53</sub>, ki vstopata v citoplazmo, kjer v seriji oksidacij na 20 C atomu z encimom GA 20-oksidado nastanejo druge oblike giberelinov, nekatere med njimi potrebujejo tudi delovanje drugih encimov (npr. GA 3-oksidaza). GA 2-oksidaza inaktivira GA<sub>1</sub> z dodatkom dodatne hidroksilne skupine na 2 C atom (Teiz in Zeiger, 2006: 467).

Večino molekularnih raziskav o vplivu GA na rast in razvoj rastlin je bilo opravljenih na modelni rastlini – *Arabidopsis thaliana*, vendar pa so številne komponente, ki so vključene v signalno kaskado GA zelo konzervativne in so jih našli tudi v drugih vrstah rastlin (Thomas in Sun, 2004).

Geni za biosintezo giberelinov so izraženi v specifičnih celičnih tipih in tkivih med razvojem rastline, njihova transkripcija je močno povečana tudi v hitrorastočih delih rastline. Geni za GA 20-oksidado, ki je eden ključnih encimov v biosintezi giberelinov, so pri rastlinah v vegetativni fazi najbolj izraženi v apikalnem meristemu in mladih listih. Tam nastane



različni giberelini (npr.: GA<sub>12</sub>, GA<sub>53</sub>, GA<sub>15</sub>, GA<sub>44</sub>, GA<sub>24</sub>, GA<sub>19</sub>, GA<sub>9</sub>, GA<sub>20</sub>) nato pa se po floemu prenašajo po rastlini. Pogosto se prenašaja neaktivni prekursorji GA, ki se pod vplivom encimov aktivirajo v tarčnih celicah (Teiz in Zeiger, 2006: 471).



**Slika 9: Delovanje GA na različne celične procese (prilagojeno po Hooley, 1994).** Večinoma GA spremenijo ekspresijo genov z različnimi odzivi, velik del GA vplivov vodi v celično rast (vijolično), v alevronski plasti semen (zeleno) pa GA aktivirajo metabolizem lipidov in vplivajo na prenos Ca<sup>2+</sup> v celici. MT – mikrotubuli.

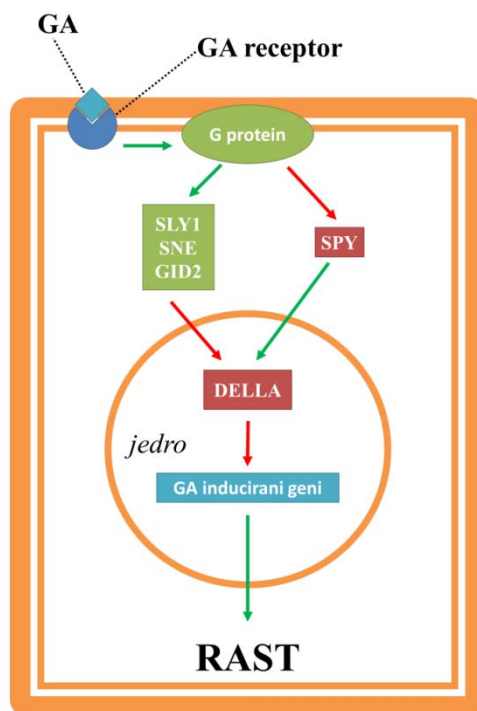
**Figure 9: Different cellular responses to GAs (adjusted after Hooley, 1994).** GAs mostly affect gene expression (orange) that leads to different cellular responses, large part of GA effects leads to cell growth (violet) and in aleveon they activate lipid metabolism and calcium transport in the cell (green). MT – microtubule.

Giberelini se vežejo na receptor na plazmatski membrani, ki nato najverjetneje aktivira G-protein, to pa sproži nadaljnjo signalno kaskado v celici in povečanje transkripcije genov, ki so pod vplivom GA (slika 10). To vodi v različne odzive, večinoma pa giberelini v vegetativnih organih spodbujajo celične delitve in elongacijo celic, ki je posledica povečane raztegljivosti celične stene (Teiz in Zeiger, 2006: 477). DELLA proteini so negativni uravnalci signaliziranja GA. Pri navadnem repnjakovcu je 5 DELLA proteinov, ki delujejo kot inhibitorji transkripcije, kjer sta GAI in RGA proteina glavna represorja GA med vegetativno rastjo in indukcijo cvetenja, RGL2 ima pomembno vlogo pri kalitvi, RGA, RGL1 in RGL3 pa so udeleženi pri razvoju cveta. SPY protein deluje kot dodaten represor GA saj aktivira DELLA proteine (Fleet in Sun, 2005). Ob prisotnosti GA se DELLA proteini razgradijo po ubikvintin-proteosomni poti (Sun in Gubler, 2004).

GA pa imajo tudi lastno negativno povratno zanko, saj aktivirajo transkripcijske faktorje, ki zmanjšajo transkripcijo encimov potrebnih za biosintezo GA, najverjetneje GA 20-oksidaze in povečajo transkripcijo GA 2-oksidaze (Hedden in Kamiya, 1997).

Metabolizem giberelinov je občutljiv na količino svetlobe: v kolikor rastline prestavimo iz kratkega v dolgodnevni cikel svetlobe, to povzroči povečanje koncentracije GA v rastlinah, kar je najverjetneje posledica povečane ekspresije GA 20-oksidaze. Količina giberelinov tudi drastično upade pri rastlinah, ki rastejo v temi, do podobnega učinka pa pride ob zelo močni intenziteti svetlobe (Hedden in Kamiya, 1997).

Cleland in Briggs (1969) sta s poskusi na vrsti *Lemna gibba* (sorodnik vrste *Lemna minor*) ugotovila, da dodatek GA<sub>3</sub> v gojišče pri višjih koncentracijah inhibira rast (zmanjša se suha in sveža masa z minimumom pri 10 mg/L, koncentracija 0,1 mg/L in 100 mg/L GA<sub>3</sub> nista imeli učinka) medtem ko se ob višjih koncentracijah GA<sub>3</sub> poveča število stebelnih členkov (koncentraciji 0,1 mg/L in 1 mg/L nista imeli vpliva, 10 mg/L in 100 mg/L pa sta za 30 % in 40 % povečala število stebelnih členkov). Inada in sod. (2000) so preučevali vpliv eksogenega GA na rast korenine pri vrsti *Lemna minor* in niso zabeležili nobenega vpliva pri koncentracijah od 0,01 do 10 μM. V kolikor pa so v gojišče dodali inhibitor biosinteze GA, se je dolžina korenin značilno skrajšala, učinek pa so izničili z dodatkom eksogenega GA. (Inada in sod., 2000).



Slika 10: GA signalna pot pri rastlini *Arabidopsis thaliana* (prirejeno po Fleet in Sun, 2005 in Teiz in Zeiger, 2006: 483). Zelene puščice so spodbujevalne, rdeče so zaviralne.

Figure 10: GA signaling pathway in *Arabidopsis thaliana* (adjusted after Fleet and Sun, 2005 and Teiz and Zeiger, 2006: 483). Green arrows indicate stimulation, red arrows indicate inhibition.

## 2.5 ELEKTROMAGNETNO VALOVANJE

Pri obravnavi elektromagnetne narave življenja ločimo dve področji: bioelektromagnetizem, ki preučuje endogena polja, ki izvirajo v organizmih in elektromagnetobiologija, ki preučuje vplive izpostavitve bioloških sistemov zunanjim (eksogenim) elektromagnetnim poljem (Popp, 1994; Markov, 2011). V nadaljevanju bom najprej predstavil nekaj osnovnih fizikalnih zakonitosti električnih, magnetnih in elektromagnetnih polj, nato bom navedel vire polj v bioloških sistemih in v okolju ter napravil kratek pregled možnih mehanizmov interakcije med zunanjimi polji in biološkimi organizmi. Poglavje bom zaključil s pregledom raziskav, ki poročajo o vplivih statičnih in nihajočih magnetnih poljih na rastline in na gojišče.

### 2.5.1 Osnovni fizikalni parametri

Polja imajo pomembno vlogo pri opisovanju kakršnekoli fizične realnosti. Tako kot delci, tudi polja prenašajo energijo in imajo gibalno količino (= produkt mase in hitrosti) in prav tako kot delci interagirajo s fizičnim svetom (Rothwell in Cloud, 2001: str. 9). Električni naboj je osnovna lastnost materije, tako kot sta to masa in dimenzija. Električni naboj je kvantiziran – obstaja najmanjša količina naboja, ki jo lahko pripišemo snovi, večje količine pa so deljive z osnovno količino naboja. Električni naboj je nespremenljiv (naboj na delcu ostaja enak, ne glede na hitrost delca, medtem ko se masa s hitrostjo spreminja) (Rothwell in Cloud, 2001: str. 13). Preglednica 3 podaja osnovne elektromagnetne količine.

#### 2.5.1.1 Električno polje

Električni naboj ustvarja električno polje z električno poljsko jakostjo  $E$ . V električnem polju deluje na mirujoč naboj  $q$  električna sila  $\vec{F}_e$  (Popp, 1994):

$$\vec{F}_e = q \vec{E} \quad \dots (3)$$

Izviri električnega polja so pozitivni naboji, ponori pa negativni naboji (slika 11). V prevodni snovi električno polje povzroči polarizacijo in tok prostih nabojev. Gostota električnega toka  $\vec{j}$  je odvisna od električne prevodnosti snovi  $\sigma$  (Popp, 1994):

$$\vec{j} = \sigma \vec{E} \quad \dots (4)$$

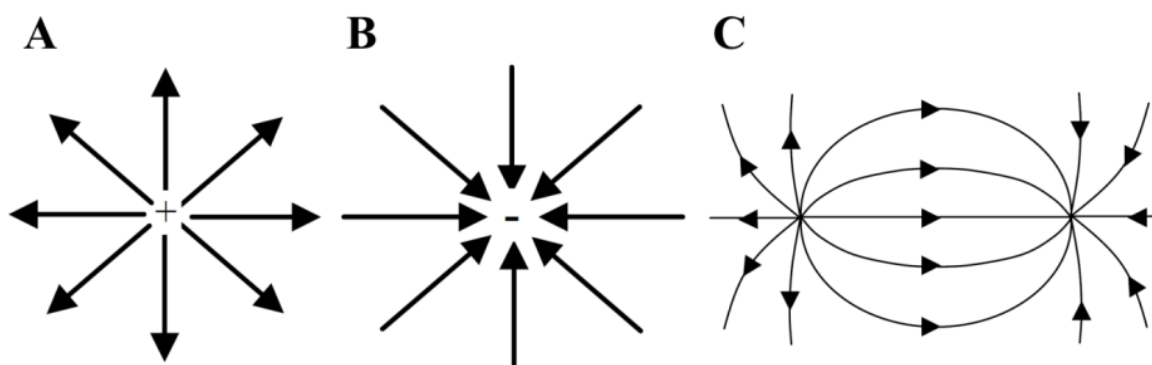
Gostota energije električnega polja ( $U$ ) na enoto prostornine je sorazmerna s kvadratom električne poljske jakosti (enačba 5; Crowell, 2006:156):

$$U = \frac{1}{2} \varepsilon_0 E^2 \quad \dots (5)$$

kjer je  $\varepsilon_0$  influenčna konstanta.

Električna indukcija ( $D$ ) opisuje sposobnost  $E$ , da loči pozitivne in negativne naboje v snovi. Odvisna je od dielektričnosti snovi  $\varepsilon$  (Popp, 1994):

$$\vec{D} = \varepsilon \vec{E} \quad \dots (6)$$



**Slika 11: Primeri električnega polja.** A) Pozitivni točkasti naboj; B) Negativni točkasti naboj; C) Električni dipol s pozitivnim nabojem na levi strani in negativnim nabojem na desni strani (prirejeno po Fleisch, 2008).

**Figure 11: Examples of the electric field.** A) Positive point charge; B) Negative point charge; C) Electric dipole with positive charge on left and negative charge on right side (adjusted after Fleisch, 2008).

### 2.5.1.2 Magnetno polje

Osnovni vir magnetnega polja so električni tokovi ali s časom spreminjajoča električna polja. Osnovni vir magnetnega polja je magnetni dipol, ki ga predstavlja majhna zanka električnega toka ali vrtljiv električni naboj (Rothwell in Cloud, 2001: str. 24). Na gibajoči naboj v magnetnem polju deluje magnetna sila  $\vec{F}_m$  (Popp, 1994):

$$\vec{F}_m = q (\vec{v} \times \vec{B}) \quad \dots (7)$$

kjer je  $\vec{v}$  hitrost naboja in  $\vec{B}$  gostota magnetnega pretoka. Magnetna sila je pravokotna na smer gibanja naboja in smer gostote magnetnega pretoka.

$H$  je magnetna poljska jakost in je v snovi odvisna od magnetne permeabilnosti snovi  $\mu$  (Popp, 1994):

$$\vec{H} = \frac{1}{\mu} \vec{B} \quad \dots (8)$$

Polje lahko tako opišemo s štirimi vektorskimi količinami:  $E$ ,  $D$ ,  $B$  in  $H$ , ki imajo naslednje enote:  $E$  merimo v Voltih na meter (V /m),  $B$  merimo v Teslih (T),  $H$  merimo v amperih na meter (A/m) in  $D$  merimo v Coulombih na kvadratni meter (C/m<sup>2</sup>) (Rothwell in Cloud, 2001: str. 28).

Skupna sila, ki deluje na naboj  $q$ , je vektorska vsota električne in magnetne sile (Popp, 1994):

$$\vec{F} = q (\vec{E} + \vec{v} \times \vec{B}) \quad \dots (9)$$

Gostota energije shranjene v magnetnem polju, na enoto prostornine, je sorazmerna s kvadratom gostote magnetnega pretoka (Crowell, 2006; enačba 10):

$$U = \frac{1}{2} \frac{B^2}{\mu_0} \quad \dots (10)$$

kjer je  $\mu_0$  indukcijska konstanta.

### 2.5.1.3 Elektromagnetno valovanje

Maxwell je pokazal, da spreminjajoče električno polje ustvarja spreminjajoče magnetno polje in slednje ustvarja spreminjajoče električno polje. Tako dobimo elektromagnetno valovanje (EM), ki se širi v prostor. Električna in magnetna komponenta sta v daljnem polju v isti fazi, pravokotna druga na drugo in pravokotni na smer širjenja valovanja (Giancoli, 2000: 787 – 794).

Elektromagnetno valovanje opišemo z valovno dolžino  $\lambda$  v metrih (m), frekvenco  $f$  v Hertzih (Hz), energijo fotonov  $U$  v Joulih (J) in absolutno temperaturo  $T$  v Kelvinih (K). Med njimi veljajo naslednja razmerja (Kato, 2006):

$$\lambda = \frac{c}{f}, U = hf, T = \frac{U}{k} \quad \dots (11)$$

Kjer je  $c$  svetlobna hitrost ( $c = 3 \times 10^8$  m/s),  $h$  Planckova konstanta ( $h = 6,626 \times 10^{-34}$  Js) in  $k$  Boltzmannova konstanta ( $k = 1,381 \times 10^{-23}$  J/K).

Hitrost potovanja EM valov v praznem prostoru je enaka svetlobni hitrosti kar je bil eden glavnih dokazov, da je tudi svetloba EM valovanje (Giancoli, 2000: 787 – 797). V snovi z dielektričnostjo  $\epsilon$  in magnetno permeabilnostjo  $\mu$ , je hitrost potovanja EM valovanja v snovi enaka (Giancoli, 2000: 800):

$$v = \frac{1}{\sqrt{\varepsilon\mu}} \quad \dots (12)$$

Elektromagnetno valovanje prenaša energijo, ki je vezana na gibajoče električno in magnetno polje. Gostota energije elektromagnetnega polja  $U$  je enaka vsoti gostote energije električnega polja in gostoti energije magnetnega polja (Giancoli, 2000: 800):

$$U = \frac{1}{2} \varepsilon_0 E^2 + \frac{1}{2} \frac{B^2}{\mu_0} \quad \dots (13)$$

kjer je  $\varepsilon_0$  influenčna konstanta,  $\mu_0$  pa induksijska konstanta. Gostota energije nam pove, koliko energije je shranjene v prostorninski enoti. Pogosto nas zanima tudi prenos energije v časovni enoti na enoto površine, kar izrazimo z gostoto elektromagnetnega pretoka  $S$  (Giancoli, 2000: 801):

$$S = \frac{1}{\mu_0} (E \times B) \quad \dots (14)$$

Spekter elektromagnetnega valovanja je razpon mogočih elektromagnetnih valovanj glede na njihovo valovno dolžino oz. frekvenco (preglednica 4). Frekvenca je najpomembnejša lastnost EM valovanja, ki določa interakcijo z živo materijo saj je z njo povezana energija EM valovanja (Bistolfi, 1991: 153).

Glede na količino energije, ki jo nosi foton, lahko EM valovanje razdelimo na ionizirno in neionizirno. Prvo ima dovolj energije, da izbije notranje ali zunanje elektrone iz molekule, kar lahko vodi v poškodbe celic in tkiva. V EM spektru so ionizirna sevanja poleg  $\gamma$ - in  $X$ -žarkov tudi zgornje območje ultravijoličnega sevanja. Vidna svetloba lahko spremeni energetska stanja zunanjih elektronov in običajno ni ionizirna (razen v fotosistemih). Ostali del EM spektra so neionizirna sevanja: infrardeči valovi (IR) spremenijo vibracijsko stanje molekul ter vodijo v neposredno segrevanje, mikrovalovi (MW) pa njihovo rotacijsko stanje in zaradi notranjih trenj med molekulami pride do dielektričnega segrevanja (Bistolfi, 1991: 154).

**Preglednica 3: Osnovne količine EM valovanja in pripadajoče enote.**

**Table 3: Basic EM quantities and units.**

<b>Simbol</b>	<b>Količina</b>	<b>Enota</b>
$q$	Električni naboj	C = As
$j$	Gostota električnega toka	A/m <sup>2</sup>
$E$	Električna poljska jakost	N/C = V/m
$D$	Električna indukcija (gostota električnega polja)	As/m <sup>2</sup> = C/m <sup>2</sup>
$H$	Magnetna poljska jakost	A/m = C/ms
$B$	Gostota magnetnega pretoka	T = Vs/m <sup>2</sup>
$U$	Gostota energije EM polja	J/m <sup>3</sup>
$S$	Gostota EM pretoka	W/m <sup>2</sup>
$\nu$	Frekvenca valovanja	Hz = s <sup>-1</sup>
$\lambda$	Valovna dolžina	m

**Preglednica 4: Spekter elektromagnetnega valovanja (Prirejeno po: Giancoli, 2000: 798; Popp, 1994; Electromagnetic radiation..., 2014).** ELF – ekstremno nizke frekvence, SLF – super nizke frekvence, ULF – ultra nizke frekvence, VLF – zelo nizke frekvence, LF – nizke frekvence, MF – srednje frekvence, HF – visoke frekvence, VHF – zelo visoke frekvence, UHF – ultra visoke frekvence, SHF – super visoke frekvence, EHF – ekstremno visoke frekvence, LW – dolgi valovi, RF – radijski valovi, MW – mikrovalovi, IR – infrardeče valovanje, UV – ultravijolično valovanje.

**Table 4: Electromagnetic spectrum (adjusted after Giancoli, 2000: 798; Popp, 1994; Electromagnetic radiation..., 2014).** ELF – Extremely low frequency, SLF – Super-low frequency, ULF – Ultra-low frequency, VLF – Very low frequency, LF – Low frequency, MF – Medium frequency, HF – High frequency, VHF – Very high frequency, UHF – Ultrahigh frequency, SHF – Super-high frequency, EHF – Extremely high frequency, LW – long waves, RF – radio frequency, MW – microwaves, IR – infrared waves, UV – ultraviolet waves.

RAZRED		FREKVENCA	VALOVNA DOLŽINA	ENERGIJA FOTONA
LW	ELF	3 Hz – 3 x 10 <sup>1</sup> Hz	100 Mm – 10 Mm	12,4 feV – 124 feV
	SLF	3 x 10 <sup>1</sup> Hz – 3 x 10 <sup>2</sup> Hz	10 Mm – 1 Mm	124 feV – 1,24 peV
	ULF	3 x 10 <sup>2</sup> Hz – 3 x 10 <sup>3</sup> Hz	1 Mm – 100 km	1,24 peV – 12,4 peV
	VLF	3 x 10 <sup>3</sup> Hz – 3 x 10 <sup>4</sup> Hz	100 km – 10 km	12,4 peV – 124 peV
RF	LF	3 x 10 <sup>4</sup> Hz – 3 x 10 <sup>5</sup> Hz	10 km – 1 km	124 peV – 1,24 neV
	MF	3 x 10 <sup>5</sup> Hz – 3 x 10 <sup>6</sup> Hz	1 km – 100 m	1,24 neV – 12,4 neV
	HF	3 x 10 <sup>6</sup> Hz – 3 x 10 <sup>7</sup> Hz	100 m – 10 m	12,4 neV – 124 neV
	VHF	3 x 10 <sup>7</sup> Hz – 3 x 10 <sup>8</sup> Hz	10 m – 1 m	124 neV – 1,24 µeV
MW	UHF	3 x 10 <sup>8</sup> Hz – 3 x 10 <sup>9</sup> Hz	1 m – 1 dm	1,24 µeV – 12,4 µeV
	SHF	3 x 10 <sup>9</sup> Hz – 3 x 10 <sup>10</sup> Hz	1 dm – 1 cm	12,4 µeV – 124 µeV
	EHF	3 x 10 <sup>10</sup> Hz – 3 x 10 <sup>11</sup> Hz	1 cm – 1 mm	124 µeV – 1,24 meV
IR		3 x 10 <sup>11</sup> Hz – 3,95 x 10 <sup>14</sup> Hz	1 mm – 760 nm	1,24 meV – 1,63 eV
Vidna svetloba		3,95 x 10 <sup>14</sup> Hz – 7,69 x 10 <sup>14</sup> Hz	760 nm – 390 nm	1,63 eV – 3,18 eV
UV		7,69 x 10 <sup>14</sup> Hz – 3 x 10 <sup>16</sup> Hz	390 nm – 10nm	3,18 eV – 124 eV
X - žarki		3 x 10 <sup>16</sup> Hz – 3 x 10 <sup>19</sup> Hz	10 nm – 10 pm	124 eV – 124 keV
γ - žarki		3 x 10 <sup>19</sup> Hz –	10 pm –	124 keV –



## 2.5.2 Električna in magnetna polja v okolju

Naravna elektromagnetna polja izvirajo iz lastnosti stopljenega jedra v zemeljski skorji, električnih razelektritev v atmosferi in solarne aktivnosti. Antropogeni viri v glavnem izvirajo iz 50 Hz ali 60 Hz daljnovidov, nekaj pa je tudi višjefrekvenčnih, predvsem povezanih s komunikacijskimi sistemi in radarji.

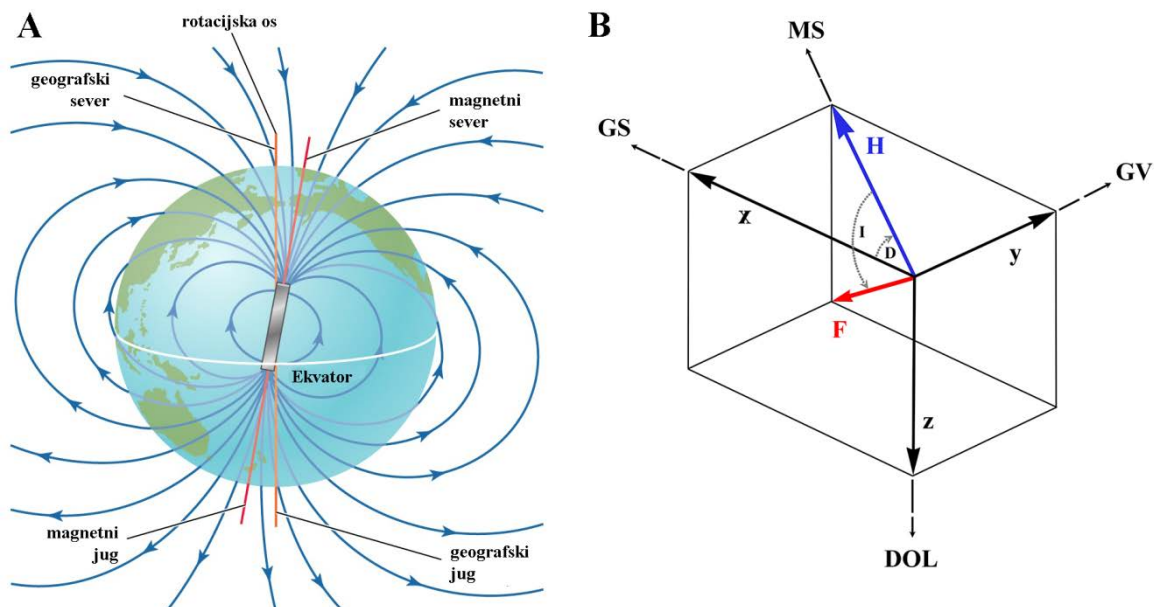
Kvazi-statično električno polje se vzpostavi med negativno nabito površino Zemlje in pozitivno nabito atmosfero in na površini Zemlje znaša 0,1 kV/m, med nevihtami pa lahko to polje doseže tudi 100 kV/m (Kato in Shigemitsu, 2006). Nekaj mikrosekund trajajoče strele lahko generirajo AC električna polja na globalni ravni in povzročijo tokove od nekaj kA do nekaj sto kA. Ob udarcu strele sproži tudi vrsto različnih elektromagnetnih valovanj od nekaj Hz do GHz, valovanje pa lahko zaznamo od 50 km do 15.000 km od udarca, ki na razdalji 1.000 km dobi ustaljeno periodo. Valovanje so odbija med Zemljinim površjem in ionosfero in se tako širi na velike razdalje, nizke frekvence celo večkrat obkrožijo Zemljo. Vzpostavi se stoječe valovanje z osnovno resonančno frekvenco približno 7,8 Hz in višjimi harmoniki (14,1 Hz, 20,3 Hz, 26,4 Hz, 32,5 Hz). Pojav imenujemo Shumannova resonanca, po Shumannu, ki je prvi predpostavil stabilno resonančno frekvenco med ionosfero in Zemljo pri cca. 10 Hz (Schumann, 1952, cit po Kato in Shigemitsu, 2006). Električna komponenta tega valovanja je približno 0,01 V/m, magnetna pa 1 nT do 10 nT (Funk in sod., 2009). Poleg Shumannovih frekvenc so König in sod. 1981 (cit po Kato in Shigemitsu, 2006) odkrili tudi 3 Hz – 6 Hz valovanje in 0,7 Hz valovanje, ki nastane zaradi lokalnih razlik v električnem polju. Ti trije tipi elektromagnetnega valovanja so stalno prisotni v okolju.

### 2.5.2.1 Zemljino magnetno polje

Zemljino magnetno polje ali geomagnetno polje je posledica gibanja staljenih železovih zlitin v zunanjem jedru Zemlje, do katerih pride zaradi termičnih gibanj, rotacije Zemlje in električnih sil (Markov, 2011a). Podobno je polju magnetnega dipola, ki je za 11° zamaknjeno glede na rotacijsko os Zemlje (slika 12 a; Galland in Pazur, 2005). Je statično magnetno polje z nizko gostoto magnetnega pretoka: 35  $\mu$ T v bližini ekvatorja in 65  $\mu$ T v bližini Zemljinih magnetnih polov (slika 14).

Za razliko od magnetnega dipola se Zemljino magnetno polje spreminja skozi čas kot posledica sprememb tokov v Zemljini sredici, na kratki rok pa predvsem zaradi spremenjene dejavnosti Sonca (npr. magnetna nevihta), vendar so te spremembe relativno majhne (cca 1  $\mu$ T), le nekaj odstotkov njegove intenzitete (Zhadin, 2001). Klub temu pa lahko v Zemljinem magnetnem polju zasledimo različne ritme sprememb, kot so 1 dnevni cikel zaradi rotacije Zemlje, 6 – 7 in 13 – 14 dnevni cikel zaradi sončevega vetra, 27 dnevni cikel

zaradi rotacije sonca okoli svoje osi, 1 letni cikel zaradi kroženja Zemlje okrog Sonca, 11 letni cikel (posledica sončeve dejavnosti, magnetnih neviht) in druge (Zhadin, 2001).



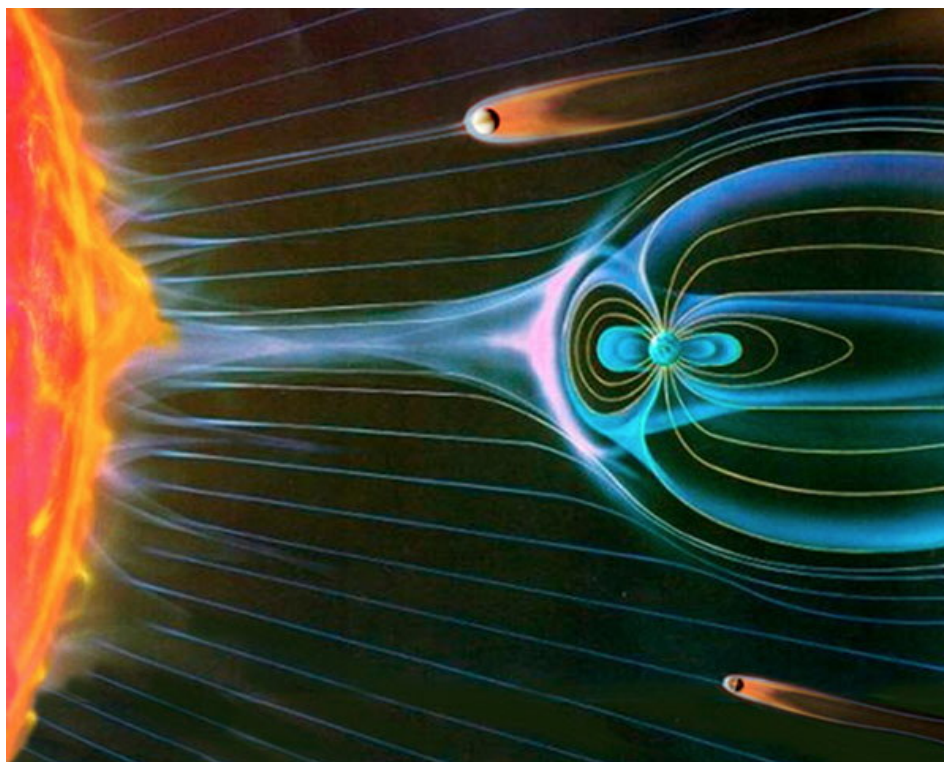
**Slika 12: Geomagnetno polje.** A) Silnice Zemljinega magnetnega polja predstavljene kot magnetni dipol (Anrophysics, 2007). B) Vektor geomagnetnega polja na severni polobli ( $F$ ) in njegove komponente ( $x, y, z$ ). GS – geografski sever; GV – geografski vzhod; MS – magnetni sever;  $I$  – magnetna inklinacija;  $D$  – magnetna deklinacija.

**Figure 12: Geomagnetic field.** A) Geomagnetic field lines represented as a magnetic dipole (Anrophysics, 2007). B) Geomagnetic field vector (on the northern hemisphere) ( $F$ ) and its components ( $x, y, z$ ). GS – geographic north; GV – geographic east; MS – magnetic north;  $I$  – magnetic inclination;  $D$  – magnetic declination.

V preteklosti je večkrat prišlo do obrata polarnosti Zemljinega magnetnega polja, takrat se je jakost geomagnetnega polja znižala na nekaj procentov sedanje jakosti za dobo 5.000 do 10.000 let, kolikor traja obrat in se severni in južni magnetni pol zamenjata. Do zadnjega obrata je prišlo pred 780.000 leti, med geofiziki pa ni soglasja, kako blizu smo naslednjemu obratu (od nekaj 10 let do nekaj 10 milijonov let) (Glatzmaier in Roberts, 1995; Guyodo in Valet, 1999). Paleomagnetne študije so tudi pokazale, da je bil pred 12.000 leti magnetni dipol do 50 % močnejši kot današnji, kljub vsemu pa je zdajšnja vrednost skoraj dvakratnik dolgoročne povprečne intenzitete polja (Korte in Constable, 2006).

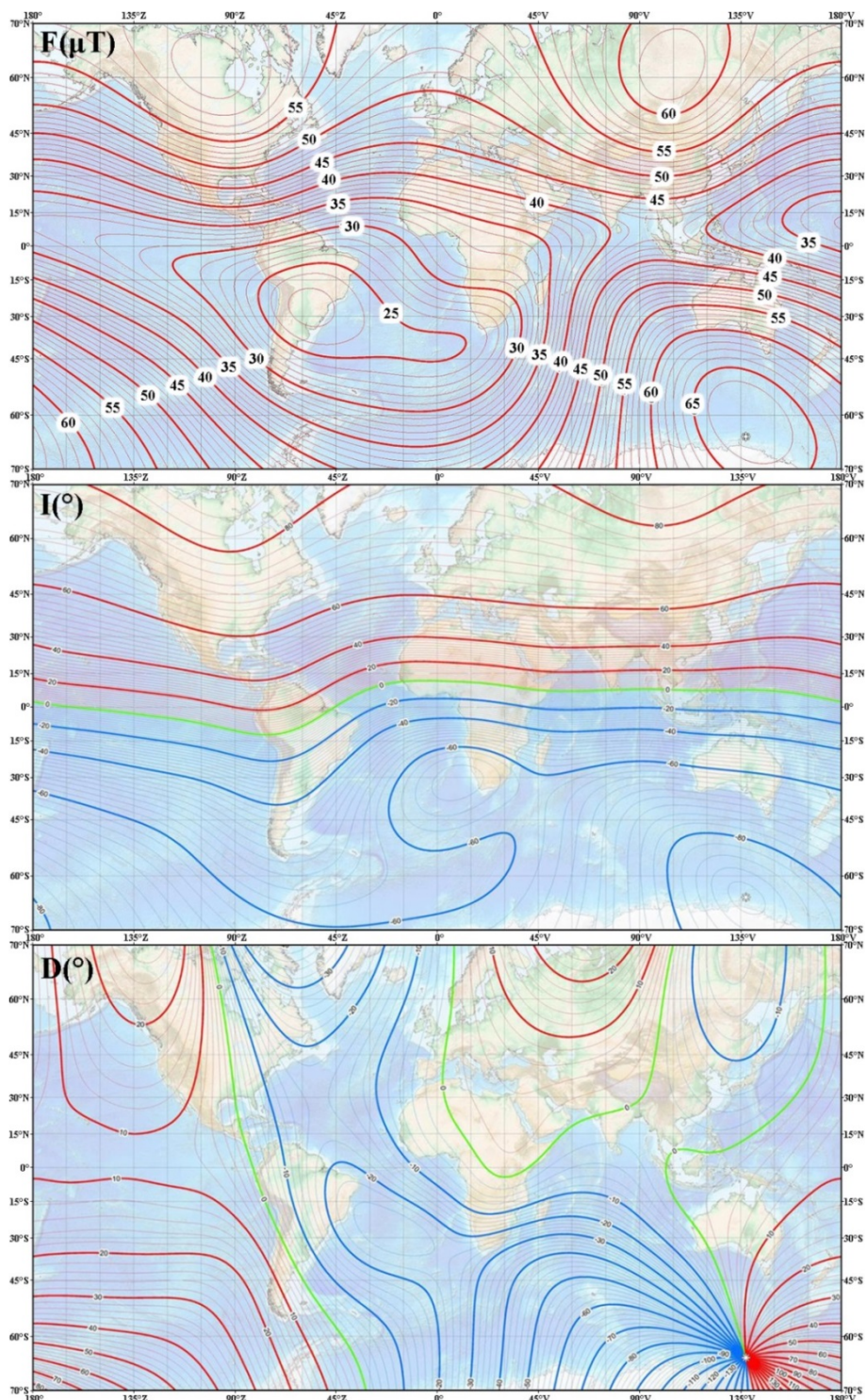
Geomagnetno polje ima pomembno vlogo pri ohranjanju življenja na Zemlji, saj preprečuje, da bi ionizirana plazma sončevega vetra dosegla biosfero. Zemljino magnetno polje, sončevo magnetno polje in magnetna polja ostalih planetov oblikujejo magnetosfero, kjer so elektromagnetne sile močnejše od gravitacije in »ulovijo« nabite delce solarne plazme (slika 13; po Markov, 2011a). Solarni veter močno vpliva na obliko magnetosfere in jo splošči na

strani bližje soncu. Običajno se meja magnetosfere ustavi na 57.000 km oddaljenosti od Zemljine površine, v času šibkega geomagnetnega polja zaradi obratov polov pa je prišla tudi do 38.000 km (cca  $3\times$  premer Zemlje) (Glassmeier in Vogt, 2010). V tem času v biosfero prodre več kratkovalovnega sevanja (UV sevanje, X-žarki), poveča pa se tudi število (in hitrost) solarnih delcev, ki dosežejo površino Zemlje in imajo lahko zelo negativne posledice na živa bitja, do sprememb pa pride tudi v troposferi, najverjetneje povečana kondenzacija oblakov in ohladitev troposfere (Glassmeier in Vogt, 2010). V času magnetnega obrata dipolni moment prehaja v kvadripolnega in oktopolnega, konstantne spremembe pa najverjetneje generirajo oscilacije magnetnega polja v območju ekstremno nizkih frekvenc (ELF), ki bi lahko učinkovale na žive organizme (Liboff, 2013). Nekateri avtorji celo predpostavljajo, da so obrati geomagnetnega polja v preteklosti povzročili množična izumrtja (Shemyakin in Tsygankov, 2009; Markov, 2011a) vendar pa o tem vprašanju ni širšega soglasja (Glassmeier in Vogt, 2010).



**Slika 13: Deformacija magnetosfere Zemlje zaradi vpliva solarnega vetra (po Markov, 2011a).**  
**Figure 13: Earth's magnetosphere deformations due to the solar wind (after Markov, 2011a).**

Poleg velikosti se vektorju geomagnetnega polja ( $F$ ) v času in prostoru spreminja tudi inklinacija, t.j. kot med vektorjem in površino Zemlje ter deklinacija, t.j. kot med magnetnim in geografskim severom (slika 12b; slika 14) (Finlay in sod., 2010).



**Slika 14:** Variabilnost geomagnetnega polja na površini Zemlje (Maus in sod., 2010). Zgoraj – intenziteta  $F$  v  $\mu\text{T}$ ; na sredini – inklinacija  $I$  v  $^\circ$ ; spodaj – deklinacija  $D$  v  $^\circ$ . Narisane so izočrte, ki predstavljajo pozitivne (rdeča) in negativne (modra) vrednosti na določeni sferni koordinati (Mercatorjeva projekcija).

**Figure 14:** Variation in the geomagnetic field on the Earth's surface (Maus et al., 2010). Up – intensity  $F$  in  $\mu\text{T}$ ; center – inclination  $I$  in  $^\circ$ ; down – declination  $D$  in  $^\circ$ . Isolines are shown as red (positive) or blue (negative) at different coordinates (Mercator projection).

### 2.5.2.2 Antropogeni viri magnetnih polj v okolju

Antropogeni viri električnih in magnetnih polj so pogosto močnejši od naravnih, vendar pa moč polja pada s kvadratom razdalje od vira in so zato pomembni zgolj v neposredni bližini virov (Kato in Shigemitsu, 2006). Najpomembnejši viri nizkofrekvenčnih magnetnih polj v okolju so električne napeljave, transformatorji in daljnovodi, ki delujejo pri frekvenci 50 Hz. ICNIRP (2010) pri tej frekvenci določa mejno vrednost gostote magnetnega pretoka na 200  $\mu\text{T}$ . Gostota magnetnega pretoka je odvisna od vrste daljnovoda in sega od 90  $\mu\text{T}$  do 30  $\mu\text{T}$ , vendar običajno gostota magnetnega pretoka pod daljnovodi ne preseže 40  $\mu\text{T}$ , večinoma je le nekaj  $\mu\text{T}$  in z oddaljenostjo od daljnovoda hitro pada in je pri oddaljenosti 100 m že enaka vrednostim, ki so prisotne v poseljenem okolju (Austin, 1997; Gajšek, 2011).

Električna poljska jakost pod visokonapetostnem daljnovodom je odvisna od vrste daljnovoda in ne presega 13 kV/m. Električna poljska jakost pod običajnimi vodniki v naseljih je običajno manjša od 50 V/m, gostota magnetnega pretoka pa je manjša od 2  $\mu\text{T}$  (Tenforde, 1995).

Glavni antropogeni viri RF (30 kHz do 300 GHz) valovanja v okolju so komunikacijski sistemi, radar in bazne postaje za mobilno telefonijo (900 MHz in 2200 MHz) (Tenforde, 1995).

## 2.6 ENDOGENA EM POLJA

V organizmih je veliko virov endogenih polj, ki izvirajo iz razporeditve nabojev, strukture biomolekul in raznolikih fizioloških procesov. Posebno zanimiva so elektromagnetna valovanja, ki izvirajo iz oscilacij nabitih delcev. EM frekvence v telesu so običajno v območju ekstremno nizkih frekvenc (ELF) in vključujejo akcijske potenciale živčevja, kontrakcije srčne in skeletne miškulature in razne ritmične aktivnosti, možna pa so tudi višjefrekvenčna EM valovanja tudi v GHz območju (npr. v bližini mikrotubulov). Eno od ključnih vprašanj bioelektromagnetike je, ali imajo ta polja tudi biološko vlogo ali gre zgolj za epifenomen. Eksogena in endogena EM polja delujejo na nabite delce v organizmih in spreminjajo EM okolje v organizmih (Cifra in sod., 2011).

### 2.6.1 Električno polje

Primeri endogenih električnih polj (Popp, 1994):

- visoka gostota naboja ob proteinih  $> 10^8$  V/m,
- membranski potencial, aktivni transport  $\geq 10^6$  V/m,
- živčni impulzi, akcijski potenciali, mišična aktivnost  $\approx 10^6$  V/m –  $10^7$  V/m,
- elektronavigacija; elektrorepcija  $10^6$  V/m.

Meritve gradienta napetosti v organizmu pogosto korelirajo z morfogeneznimi spremembami v času rasti in razvoja tako živali kot tudi rastlin (Levin, 2003; McCaig in sod., 2005). Neinvazivne tehnike merjenja ionskih tokov v organizmu so razkrile, da so ti tokovi pogosto specifični glede na fazo razvoja in lahko delujejo kot signali v različnih procesih, od razvoja zarodkov do celjenja ran (Levin, 2007). *In vitro* raziskave so pokazale značilno elektrotaksijo celic (Zhao in sod., 2002), t.j. migracijo celic vzdolž električnega polja ob uporabi zunanega DC električnega polja v fiziološkem velikostnem razredu (0,1 V/cm – 10 V/cm). Večina tipov celic (npr. celice nevrálnega grebena, fibroblasti, keratinocite, hondrocite, številne celice epitela) migrira proti katodi, med tem ko nekateri tipi celic migrirajo proti anodi. Hitrost in smer gibanja sta odvisni od napetosti med elektrodama, od celičnega tipa ter vrste organizma in celo od tipa substrata, po katerem celice potujejo (Funk in sod., 2009).

Danes sodobne citološke metode omogočajo bistveno večjo možnost iskanja vzročnih povezav med EM polji in procesi v celici, še posebej z dobrim poznavanjem dinamike ionov ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{K}^+$ ), delovanja ionskih črpalk in senzorjev napetosti ter njihovo povezavo s signalnimi molekulami (Funk in sod., 2009). Levin in sod. so pokazali, da DC električna polja, ki se ustvarijo na račun delovanja različnih ionskih kanalov, tvorijo specifične signale, ki uravnavajo delovanje celic med embrionalnim razvojem, običajnim obnavljanjem tkiva

in regeneracijo poškodb (Levin, 2007). Tovrstna endogena električna polja lahko služijo kot hitri in daljnosežni nosilci informacij v organizmu in imajo morda pomembno vlogo pri medcelični komunikaciji (Funk in sod, 2009).

Za razliko od kratkoživih akcijskih potencialov se lahko statična električna polja v celici ohranijo nekaj dni ali celo tednov in lahko delujejo kot elektroforeza za številne majhne nabite molekule (npr. serotonin). Ionski tokovi lahko prehajajo med celicami, ki so med seboj povezane s presledkovnimi stiki («gap junctions») in generirajo daljnosežno električno polje, ki nosi informacije splošnega značaja, medtem ko so npr. akcijski potencialni nevronov omejeni in usmerjeni znotraj ene celice (Funk in sod., 2009).

Glede na razporeditev in ritem delovanja ionskih črpalk, ki je pogosto povezan z metabolizmom celice, lahko posamezne celice generirajo vrsto različnih EM vzorcev. Endogena električna polja lahko igrajo pomembno vlogo pri hitrih celičnih delitvah z uravnavanjem delitvene ravnine in uravnavanjem orientacije delitvenih vreten (Funk in sod., 2009).

Membransko vezani proteini imajo lastnosti, ki jih lahko naredijo občutljive na endogena električna polja (slika 15) npr. napetostno odvisni ionski kanali in napetostno občutljiva fosfataza (VSP), ki neposredno povezuje električno polje s signalnimi kaskadami (Funk in sod., 2009).

Pri malignih celicah so opazili povečan negativni naboj na površini in padec transmembranskega potenciala pod -10 mV. Nizek membranski potencial je značilen tudi za nekatere hitro deleče celice (-12 mV do -25 mV), medtem ko imajo zrele in diferencirane celice visok transmembranski potencial nad -50 mV, ki je največji pri nevronih (-75 mV), glia celicah (-90 mV) in skeletnih mišicah (več kot -90 mV) (Binggeli in Weinstein, 1986).

Električna polja lahko vplivajo tudi na proliferacijo celic, Wang in sod. (2003) so pokazali, da prisotnost zunanjih enosmernih električnih polj (2 V/cm) zmanjša koncentracijo ciklina E in poveča koncentracijo inhibitorja ciklin E/Cdk2 kompleksa v žilnem endotelu in epitelu goveje leče ter ustavi celični cikel v G<sub>1</sub>/S fazi. Yamada in sod. (2007) pa so pokazali, da z električnimi polji lahko vplivajo na diferenciacijo zarodnih celic v živčne celice, kar so pripisali povečanemu vstopu kalcija v izpostavljene celice.





vsebujoče molekule kot npr. hemoglobin pa so paramagnetne ( $\mu > 1$ ). V paramagnetnih snoveh se magnetni momenti elektronov delno uredijo tako, da je gostota magnetnega pretoka malo večja od gostote magnetnega pretoka izven te snovi (Polk, 1991).

### 2.6.3 Elektromagnetno polje

Obstajajo različni biofizikalni modeli, ki opisujejo vzpostavitev endogenih elektromagnetnih polj v organizmih. Modeli se med seboj pogosto dopolnjujejo, žal pa nam tehnološke omejitve še ne dopuščajo natančnih meritev teh polj. Kljub vsemu pa so različne skupine že uspele izmeriti endogena elektromagnetna valovanja, ki izvirajo v organizmu, z nadaljnjim razvojem nano tehnologije pa bi lahko dobili izpopolnjeno orodje za poskusno preverjanje modelov (Tyner in sod., 2007; Cifra in sod., 2011).

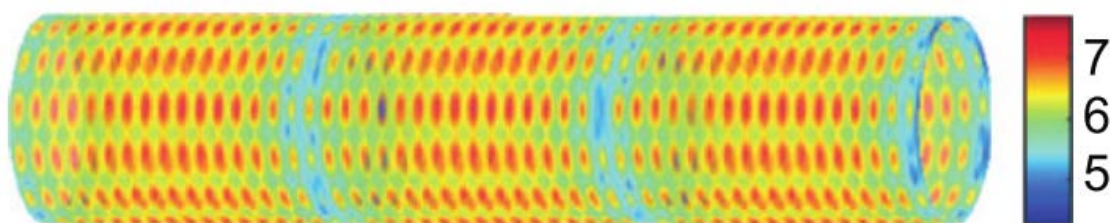
#### 2.6.3.1 Fröhlichova teorija koherentnih oscilacij

Herbert Fröhlich je v šestdesetih in sedemdesetih letih s teorijo endogenih koherentnih elektromagnetnih oscilacij v organizmu postavil teoretične osnove sodobnih konceptov endogenih polj (Jerman in Štern, 1999). V svoji teoriji je v organizmih predpostavil obstoj koherentnih oscilacij (elementi sistema oscilirajo v enakem ritmu in v isti fazi). Teorija izhaja iz treh bistvenih lastnosti živih sistemov: (1) so relativno stabilni in daleč od termodinamskega ravnotežja (metastabilno stanje), (2) kažejo kompleksen, nelinearen in dinamičen red in (3) imajo izredne dielektrične lastnosti, katerih osnova so močna električna polja čez membrano. Vse tri lastnosti privedejo do koherentnih oscilacij endogenega celičnega EM polja (Hyland, 1998; Jerman in Štern, 1999). Fröhlich je pokazal, da se ob ustreznem dotoku metabolne energije, ta ne spremeni v celoti v toploto, ampak se del kanalizira v najnižjo frekvenco vibracijskega načina, vezanega na celoten makroskopski sistem identičnih dipolov, znotraj katerega se shrani in se lahko uporabi v bioloških procesih (Hyland, 1998). Po določenem času se te vibracije sklopijo z elastičnimi vibracijami, tako da sistem postane močno mehnično vzbujen do vrednosti, daleč od termodinamskega ravnovesja. Sistem deluje kot orjaški dipol in doseže makroskopski pomen kot koherentna ekscitacija elektromagnetne in mehanske narave (Hyland, 2003a).

Fröhlich (1978) kot najprimernejši sistem za vzpostavitev koherentnega režima navaja regije celične membrane z vezanimi proteini in kompleksne makromolekule z lastnostmi elektretov kot so npr. mikrotubuli. Pri tem izpostavlja pomen močnega transmembranskega električnega polja ( $10^6$  V/m –  $10^7$  V/m), ki povzroča visoko električno polarizacijo molekul. Nastale frekvenčne oscilacije molekul bi naj imele razpon med  $10^9$  Hz in  $10^{12}$  Hz, pri čemer so zaradi specifičnih lastnosti dipolov možni različni harmoniki (Fröhlich, 1975).

Sistemi s koherentnimi vibracijami enakih frekvenc v mediju z ustreznimi dielektričnimi lastnostmi se bodisi privlačijo, bodisi odbijajo, interakcija na daljavo pa je bistveno močnejša (sorazmerna z  $r^{-3}$ , kjer je  $r$  razdalja med sistemi) od van der Waalsovih interakcij (sorazmerne z  $r^{-6}$ ) (Fröhlich, 1978). Predlagan model omogoča visoko specifično prepoznavanje celičnih komponent na velike razdalje na osnovi frekvence oscilacij. Vzpostavitev koherentnega režima je uravnana s stopnjo dotoka metabolne energije, potrebno energijo pa lahko priskrbijo tudi zunanja EM sevanja, zato je to eden od možnih načinov mehanizma interakcij zunanjih EM polj in organizmov (Fröhlich, 1975; Hyland, 2003b).

Fröhlich je spodbudil nadaljnje raziskave, ki so za eno od možnih struktur, ki bi vzpostavila koherentne oscilacije, identificirali mikrotubule, saj v popolnosti zadostijo Fröhlichovim kriterijem: zgrajeni so iz električno dipolarnih molekul tubulina (Havelka, 2011), GTP dovaja metabolno energijo pri tvorjenju polimerov, možni pa so tudi drugi viri metabolne energije (gibanje mikrotubulov zaradi delovanja motorni proteinov in ATP iz mitohondrijev) (Pokorny in sod., 1997; Pokorny in sod., 1998). V bližini mitohondrijev imamo tudi močno statično električno polje v območju  $10^6$  V/m, ki se širi nekaj mikrometrov stran od mitohondrija (Tyner in sod., 2007). Mikrotubuli lahko vibrirajo v kHz in GHz frekvenčnem območju (Portet in sod., 2005; Wang in sod., 2006; Wang in Zhang, 2008; Wang in sod., 2009), Havelka in sod. (2011) pa so z modelom mreže mikrotubulov pokazali, da lahko generirajo oscilirajoča električna polja s frekvenco 1 kHz do 100 kHz (slika 16).

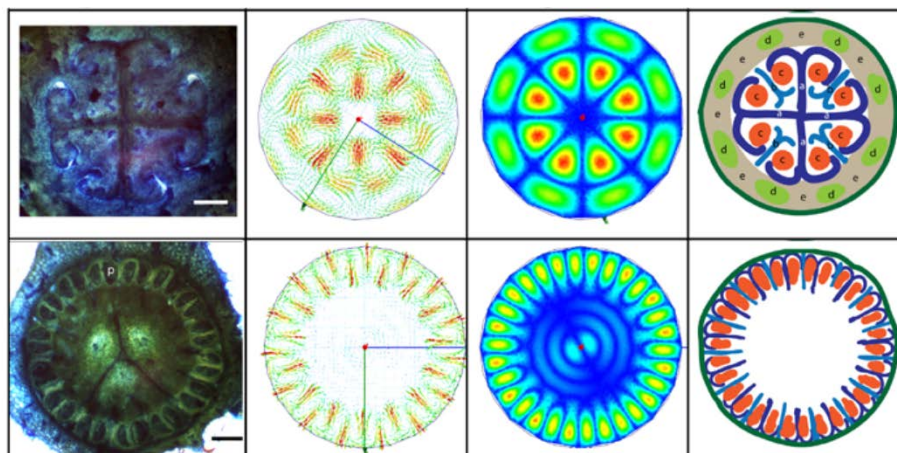


**Slika 16:** Električna poljska jakost na koaksialni površini 1 nm nad površino mikrotubula (Havelka in sod., 2011). Prikazan je  $\log(E)$  v V/m.

**Figure 16:** The intensity of electrical field on the coaxial surface 1 nm above microtubule wall (Havelka et al., 2011).  $\log(E)$  in V/m is shown.

Pietakova je na osnovi Fröhlichove teorije razvila fizikalne modele različnih delov rastlin, s katerimi dokazuje, da je možno s preprostimi endogenimi električnimi in magnetni polji poustvariti vzorce, ki odsevajo dejansko morfologijo rastlin. Tako predvideva vzpostavitev resonančnih endogenih elektromagnetnih polj, ki odražajo simetrijo žil v listih dvokaličnic v modelu listnega primordija s podobnimi dielektričnimi lastnostmi kot dejansko listno tkivo (Pietak, 2009; Pietak, 2011). S podobnimi modeli pa je pokazala tudi nastajanje resonančnih vzorcev endogenih elektromagnetnih polj, ki lahko odražajo daljnosežne strukturne lastnosti

razvijajočih se semenskih zasnov in različnih odraslih plodov (slika 17: Pietak, 2012), vendar pa obstoj teh polj še niso potrdili s poskusi.



**Slika 17: Teoretično predpostavljena endogena elektromagnetna polja kot možno vodilo morfološkega razvoja rastline (Pietak, 2012).**

**Figure 17: Proposed endogenous electromagnetic fields as possible force in plant morphological development (Pietak, 2012).**

#### 2.6.3.2 Kvantna teorija polja

Italijanski znanstveniki pod vodstvom del Giudiceja so na podlagi Fröhlichove teorije razvili kvantno teorijo polja. Poudarjajo, da klasična fizika ne more pojasniti nekaterih pojavov, kot npr. visoko selektivnost in učinkovitost encimov, nizko električno upornost žive materije in visoko učinkovitost pretvorbe kemične energije v mehansko kljub majhnim temperaturnim razlikam (Giudice in sod., 2005).

Po njihovi teoriji postanejo polarizacijske oscilacije ob ustrezni gostoti električnih dipolov in pri stalnem dotoku energije koherentne, t.j. vse molekule enotno oscilirajo med osnovno in vzbujeno konfiguracijo skladno s frekvenco kvantne fluktuacije (Giudice in sod., 2005). Osnovna prostorsko-časovna enota takega sistema je koherentna domena (CD), ki ima premer 1 valovne dolžine nastalega EM valovanja. Med posameznimi CD se ob prekrivanju silnic njihovih EM polj okrepijo disperzivne sile, tako se CD medsebojno privlačijo ali odbijajo. Tako se na mejnem območju CD dveh molekul med njima pojavi privlačna ali odbojna sila glede na frekvenci njunih CD (Giudice in sod., 2005). Na ta način naj bi se tvorile celične membrane (Giudice in Preparata, 1994), pospešile encimske in multiencimske reakcije preko interakcij molekul hitrejših od naključnega termičnega gibanja (Giudice in sod., 2005).

CD pa obstajajo le kratek čas in neprestano prehajajo iz koherentne v nekoherentno fazo. Temperatura sistema se ob koherentnih oscilacijah molekul v EM polju ne spremeni. Če tak

sistem postavimo v toplotno kopel, pa dotok toplote v sistem ruši koherentne oscilacije, saj se poveča število trkov molekul okolja z molekulami CD. Z naraščanjem temperature postaja vedno več molekul nekoherentnih, dokler se število koherentnih molekul ne zmanjša pod kritično število in koherentni sistem razpade (Giudice in sod., 2005).

#### 2.6.3.3 Ultrašibka bioluminiscenca in biofotonsko polje

V dvajsetih letih 20. st. je ruski znanstvenik Aleksander Gurwitsch opazil, da se celice čebulnega stebela množijo hitreje, če stebelu v pravokotni smeri približamo koreninski vršiček druge čebule (Bischof, 2003), pri čemer je vmes postavil pregrado iz kvarčnega stekla. Ugotovil je, da učinek izgine, če je za pregrado med obema vršičkoma namesto kvarčnega uporabil navadno steklo. Tako je predpostavil, da je učinek posledica UV svetlobe. Poimenoval ga je mitogenetski učinek (Mei, 1994). Kasneje je razvoj tehnologije fotopomnoževalk omogočil detekcijo šibkega sevanja fotonov iz tkiv organizmov. Colli in Facchini (1954, cit. po Bischof, 2003) sta s fotopomnoževalkami nedvoumno dokazala, da različni kalčki oddajajo svetlobo med zeleno in rdečo barvo intenzitete nekaj 100 fotonov na kvadratni centimeter na sekundo, kar je  $\sim 10^{-18}$  jakosti dnevne svetlobe.

Med raziskovalci pojava je danes najbolj uveljavljen nemški biofizik Fritz A. Popp. Po njegovi teoriji izhajajo biofotoni iz delokaliziranega koherentnega EM polja v živem tkivu imenovanem biofotonsko polje (Popp, 2003).

Popp je pokazal, da so emisije biofotonov močnejše v delečih se celicah kot v celicah v  $G_0$  fazi (oddajanje biofotonov je najmočnejše med  $G_1$  fazo), poškodovane in umirajoče celice oddajajo  $100\times$  več biofotonov, pri čemer vzrok smrti ne vpliva na moč emisije (Bistolfi, 1991: 93, 94).

Ultrašibka bioluminiscenca je popolnoma drugačen pojav kot klasična bioluminiscenca (npr. kresnic), ki je mnogo močnejša in izvira iz drugačnih kemijskih reakcij (Mei, 1994). Šibko biološko sevanje fotonov ima običajno valovno dolžino med 200 nm in 800 nm, fotonska emisija pa znaša le nekaj 10 do nekaj 100 fotonov/cm<sup>2</sup>/s in so jo do danes odkrili v večini organizmov (Mei, 1994; Bistolfi 1991: 93,94). Kljub šibkosti bioluminiscence, pa bi naj bila svetloba v organizmih dokaj intenzivna, a se večina izsevanih fotonov takoj ponovno absorbira in sproži različne fotokemične procese v celici (Jerman in Štern, 1996). Na veliko lastnosti biofotonskega polja sklepajo iz poskusov z zakasnelo bioluminiscenco, kjer žive objekte obsevajo z močno svetlobo in nato merijo povečano bioluminiscenco, ki se lahko šele po dveh urah vrne na prvotno raven (Cifra in sod., 2011). Njen časovni potek ima hiperbolično naravo in kaže na koherentno naravo biofotonskega polja (Popp, 1993).

Slawinski in Popp (1987) sta pokazala, da je emisija fotonov lahko odziv na temperaturni stres, pri čemer se je spremenila tudi spektralna sestava. Emisija fotonov je tako vezana na fiziološke procese, hkrati pa bi naj bili fotoni uravnalci procesov in so nosilci bioinformacije o procesih v organizmu (Mei, 1994; Popp in sod. 2003). Slawinski je opisal tudi t.i. smrtni blisk (and. death flash), ki ga je moč zaznati, ko celice ireverzibilno poškodujemo (Slawinski, 2005).

## 2.7 NAJVERJETNEJŠI MEHANIZMI NETERMIČNEGA DELOVANJA ZUNANJEGA ELEKTRIČNEGA IN MAGNETNEGA POLJA NA ŽIVE ORGANIZME

Zaradi izrazite elektromagnetne narave organizmov, so le ti občutljivi na zunanja električna, magnetna in elektromagnetna polja, ki lahko interagirajo z nabitimi delci v organizmih in endogenimi elektromagnetnimi polji.

EM valovanje s frekvenco nižjo od 100 kHz in statična magnetna polja do 400 mT zaradi prešibke energije ne povzročajo temperaturnih sprememb tkiva (ICNIRP, 2010; ICNIRP, 2009; enačba 10 in 11). Govorimo o netermičnih učinkih EM valovanja na tkiva. Do netermičnih učinkov pride tudi v primeru EM valovanj z višjo frekvenco in majhno intenziteto. Zanje je značilno, da učinkov ne spremlja zaznaven dvig temperature in se jih ne da reproducirati s kakršnimi koli drugimi načini segrevanja.

V nasprotju s termičnimi učinki imajo netermični učinki resonančni značaj in tako izkazujejo visoko frekvenčno odvisnost (Hyland, 1998; Bistolfi, 1993: 105). Še več, ostrina resonančnega odziva narašča z manjšanjem moči sevanja. Od termičnih učinkov se netermični pogosto razlikujejo tudi po tem, da se pojavijo šele po določenem času izpostavitve in samo, če presežemo prazno jakost dražljaja, sam odziv pa ostaja relativno nespremenjen, če nato jakost dražljaja še povečujemo (Hyland, 1998).

Živ organizem je skoraj popoln prevodnik v primerjavi s suhim zrakom, zato se zunanje električno polje v okolici telesa popači, linije pa se postavijo pravokotno na površino telesa (Polk, 1991). Telo organizma je tako v primerjavi z zrakom  $14\times$  do  $15\times$  bolj prevodno, zato zunanja električna polja z nizkimi frekvencami večinoma ne predirajo epidermisa. Del polja vseeno vstopa v organizme ( $E_i$ ), vendar je to polje, v primerjavi s prvotnim ( $E_0$ ),  $10^7\times$  manjše, kot kaže enačba 15 (Tenforde, 1991).

$$E_i \sim \frac{2\pi f \epsilon_0 E_0}{\kappa} \leq 10^{-7} E_0 \quad \dots (15)$$

Kjer je  $f$  frekvenca,  $\epsilon_0$  električna prevodnost prostega prostora in  $\kappa$  električna prevodnost tkiva.

Debelina celične membrane je približno 10 nm, preko nje pa je mirovni membranski potencial v razredu 0,1 V, kar povzroči močno statično električno polje  $10^6$  V/m –  $10^7$  V/m. To polje deluje kot blokada za šibka zunanja DC električna polja, ki ne morejo neposredno prodreti v celico, lahko pa generirajo ionske tokove v medceličnini. Močno transmembransko električno polje ne zadrži statičnih magnetnih polj in magnetne

komponente EM valovanj. DC električna polja lahko vplivajo preko interakcije s senzornimi strukturami na membrani in sprožajo različne signalne poti v celici (Funk in sod., 2009).

Hyland (2003a) izpostavlja tri glavne posledice zunanje električnega polja v organizmih: inducira nastanek tokov prostih nabojev ( $J$ ), ki so odvisni od prevodnosti tkiva (Enačba 4), povzroči polarizacijo vezanih nabojev in nastanek dipolov ter reorientacijo stalnih dipolov.

Če so zunanja električna polja omejena s površino organizma in celičnimi membranami, pa magnetna polja neovirano prehajajo v organizem in imajo zato možnost vplivati na globoko ležeča tkiva vse do posameznih signalnih poti in biokemijskih reakcij (Funk in sod., 2009). Statično magnetno polje interagira z električnimi tokovi in magnetnimi momenti v organizmu (Hyland, 2003a), pri čemer je pomembna orientacija polja glede na smer toka, saj je sila, ki deluje na naboje, odvisna od kota med magnetnim poljem in smerjo toka (Enačba 7).

Šibka statična magnetna polja ( $< 1\mu\text{T}$ ) imajo premalo energije, da bi kljubovala Brownovemu gibanju molekul, vseeno pa lahko vplivajo na ritmične, gibajoče dele (krvni obtok, premikajoči se organeli in makromolekule) preko Larmorjeve frekvence, t.j. frekvenca s katero elektroni, ioni in drugi nabiti delci krožijo okoli osi magnetnega momenta in v zunanjih magnetnih poljih narašča z naraščanjem magnetnega polja, npr. ion vezan na protein bo v magnetnem polju krožil pri Larmorjevi frekvenci okoli osi magnetnega momenta v ravnini pravokotni na vektor magnetnega polja (Funk in sod., 2009).

Zunanja magnetna polja morda igrajo vlogo pri vzdrževanju endogenih ritmov. Če npr. ljudi zaščitimo pred okoljskim magnetnim poljem se značilno desinhronizirajo cikradijski ritmi, ki se ob ponovni izpostavitvi okoljskemu magnetnemu polju postopoma resinhronizirajo (Funk in sod., 2009).

Kot tarča magnetnega polja se pogosto omenja membrana, kjer bi naj magnetna polja spreminjala stopnjo vezave ionov ali ligandov na receptorje ter posledično sprožala signalne kaskade, najverjetneje preko kalcij-kalmodulin procesov, cAMP in rastnih hormonov (Pilla in sod., 1997; Markov, 2007).

Absorpcija EM valovanja v tkivih je odvisna od frekvence in je zelo podobna absorpciji EM valov v vodi, ki narašča s frekvenco do prvega maksimuma v IR območju, sledi strm padec z zelo majhno absorpcijo v predelu vidne svetlobe in nato zopet doseže vrh v UV območju ter postopno pade z naraščajočo frekvenco ionizirnega sevanja (Bistolfi, 1991: 154, 155).

IR sevanje povečuje vibracijsko energijo molekul in vodi v neposredno segrevanje tkiv, MW in RF pa povečujejo rotacijsko energijo molekul in povzročajo posredno segrevanje preko dielektrične izgube, kjer notranja trenja med molekulami povzročijo razpršitev rotacijske energije v vibracijsko (Hyland, 2003a).

Nihajoče magnetno polje skladno s Faradayevim zakonom povzroči nastanek internega električnega polja, ki povzroči nastanek električnih tokov v tkivu (Popp, 1994). Zunanje magnetno valovanje tako v organizmih povzroči nastanek električnih polj, pogosto pa fiziološke učinke opazimo le znotraj nekaterih oken (ELF 8 Hz – 60 Hz) in pri nizkih amplitudah ( $< 100 \mu\text{T}$ ) (Funk in sod., 2009). Tako lahko s šibkimi pulznimi magnetnimi polji ob pravi frekvenci dosežemo biološki učinek (Pilla in sod., 1997).

Trenutno na področju bioelektromagnetike še ni soglasja o ključnih fizioloških mehanizmu delovanja EM polja na žive organizme, različni avtorji tako podajajo različne razlage in mehanizme delovanja (Binhi, 2001), njihova uporabnost pa je omejena na vrsto in jakost polja (statično električno polje, statično magnetno polje, elektromagnetno valovanje). Nekaj bolj uveljavljenih bom predstavil v nadaljevanju, večina pa izhaja iz naslednjih biofizikalnih mehanizmov (Funk in sod., 2009):

- Sila, ki deluje na ferimagnetne in paramagnetne delce;
- Gibanje in difuzija prostih elektronov, protonov in ionov, ker nanje deluje električna sila, kar vodi v prerazporeditev nabitih delcev in generiranje novega (drugačnega) električnega in magnetnega polja v celici;
- Polarizacija vezanih nabojev in orientacija polarnih molekul – sicer nevtralne molekule postanejo polarizirane, polarne molekule pa se orientirajo vzdolž polja in generirajo svoje električno polje;
- Spremembe v konformaciji molekul, še posebej spremenjeno delovanje napetostno občutljivih encimov, kot na primer napetostno občutljiva fosfataza;
- Vezava ali sprostitvev ionov iz proteinov (Liboff, 2003);
- Prerazporeditev membranskih proteinov – ionskih kanalov, integrinov in G proteinov kot posledica elektrostatskega gradienta;
- Vpliv na reakcijske konstante kemičnih reakcij radikalnih parov;
- Vpliv na kvantne procese v organizmih.

Popp (1994) izpostavlja naslednje parametre poskusa, ki lahko vplivajo na učinkovanje zunanjih EM polj na biološke sisteme: (1) postavitvev biološkega sistema glede na polje, (2) katera komponenta deluje (električna ali magnetna ali obe), (3) amplituda polj, (4) frekvenca in faza, (5) gradient polja in (6) smer polarizacije. Že majhna sprememba kateregakoli od naštetih parametrov lahko dramatično spremeni biološki učinek. Ta izjemno širok spekter



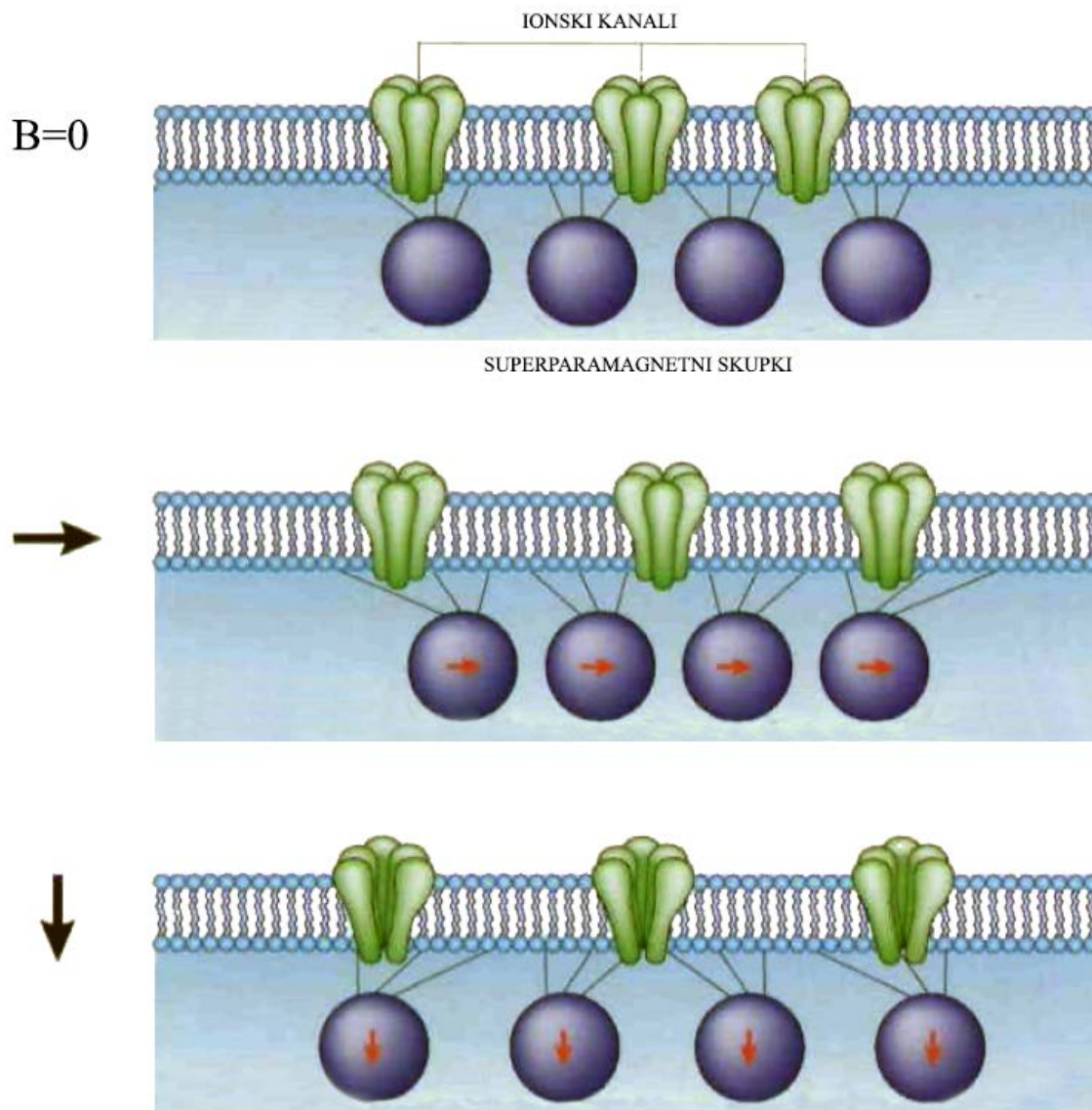
informacij omogoča visoko stopnjo uravnavanja v in med živimi sistemi in hkrati oteži sistematičnost, natančnost in ponovljivost raziskav elektromagnetnih interakcij.

### 2.7.1 Ferimagnetizem – navor (sila), ki deluje na ferimagnetne delce

Glavni fizikalni mehanizmi delovanja magnetnih polj so neposredno delovanje na molekule preko magnetomehanskih interakcij: 1) rotacijsko gibanje snovi v homogenem polju, dokler ne doseže minimalno raven energije, 2) translacijska sila (sila v smeri silnic), ki deluje na paramagnetne in ferimagnetne snovi (Markov, 2007).

Feromagnetni minerali (npr. trajni magneti) imajo vzporedne in enako orientirane magnetne momente elektronov, v ferimagnetnih mineralih pa so ti magnetni momenti nasprotni (antiparalelni) (Galland in Pazur, 2007). Kljub vsemu pa ferimagnetni kristali več kot milijonkrat močnejše interagirajo z magnetnimi polji kot diamagnetni ali paramagnetni materiali. Ferimagnetna minerala magnetit ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) in greigit ( $\text{Fe}_3\text{S}_4$ ) sta udeležena pri bakterijski magnetotaksiji, protistih, enoceličnih algah in živalih, za praprotnice in semenke pa do nedavnega nista bila poznana (Blakemore, 1982; Galland in Pazur, 2005). Gajdardziska-Josifovska in sod. (Gajdardziska-Josifovska in sod. 2001; Gajdardziska-Josifovska in sod. 2002, McClean in sod., 2001) so opisali “botanični” magnetit – fitoferitin v obliki kristalnega magnetita in hematita, ki so ga izolirali iz listov trave (*Festuca* spp.). Kristali so veliki od 30 nm do 4  $\mu\text{m}$  in se razlikujejo od bakterijskega magnetita. O splošni razširjenosti takih kristalov v rastlinskem svetu še ni moč govoriti.

Večina odkritega magnetita v živih bitjih spominja na kristale pri magnetotaktičnih bakterijah, kjer so kristali magnetita organizirani v magnetosome, ki tvorijo dolge verige in orientirajo bakterije vzdolž silnic geomagnetnega polja. Energija, ki bi jo absorbiral 100 nm kristal magnetita, ki bi ga izpostavili magnetnemu polju 100  $\mu\text{T}$  s frekvenco 60 Hz bi teoretično zadostovala, da bi presegla termalni šum (Kobayashi in sod., 1995). Možno je tudi, da majhni kristali, povezani z receptorji tenzije ali pa preko cilij povzročijo zaznavno silo. Vendar pa bi lahko tudi manjši nanokristali magnetita (1 do 5 nm) imenovani superparamagnetni kristali, vezani na ionske kanale, vplivali na prehajanje ionov preko membrane (slika 18; Davila in sod., 2003). Kristali ob odsotnosti magnetnega polja ne povzročajo sile, v primeru polja, orientiranega vzdolž membrane se privlačijo, v primeru pravokotne orientacije polja na membrano pa se odbijajo. Mehansko odvisni ionski kanali se tako odpirajo ali zapirajo glede na jakost in smer magnetnega polja (Davila in sod., 2003). Tovrstni superparamagnetni kristali bi lahko reagirali na geomagnetno polje (Johnsen in Lohmann, 2005).



**Slika 18:** Mehanizem vpliva superparamagnetnih skupkov na odpiranje ionskih kanalov (prirejeno po Johnsen in Lohmann, 2005; Davila in sod., 2003).  $B$  – gostota magnetnega pretoka.

**Figure 18:** Proposed mechanism of action of super paramagnetic clusters on the opening and closing of ion channels in cell membrane (Adjusted after Johnsen and Lohmann, 2005; Davila et al., 2003).  $B$  – magnetic flux density.

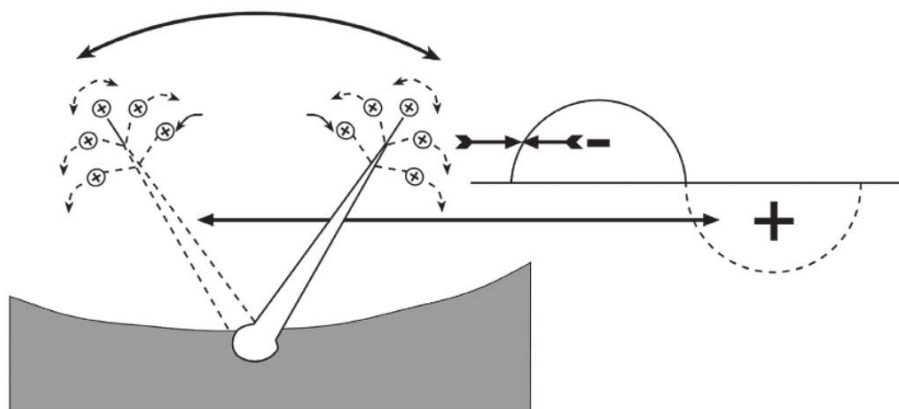
Kljub temu, da so bili kristali magnetita odkriti le pri nekaterih organizmih, pa je to morda zgolj posledica raziskovalnih ovir: 1) kristale v velikosti 50 nm je težko opaziti pod mikroskopom, 2) železovi oksidi so pogosti v okolju in so lahko zgolj artefakti v preučevanih vzorcih in 3) mnogo fiksatorjev bioloških membran raztaplja magnetit, zato je težko zaznati njegove kristale v celici (Johnsen in Lohmann, 2005).

V organizmih so bolj pogoste paramagnetne snovi, še posebej zanimive bi lahko bile različne kovine, ki so pomembne za delovanje encimov, npr. dopamin beta hidrosilaza vključuje dva atoma bakra, ki je paramagnetni, glutamin sintetaza potrebuje za aktivnost paramagnetni mangan (Binhi in sod., 2001). Možen je tudi vpliv na transferine, ki imajo specifične receptorje na površini celic in hem proteine, ki povezujejo nekatere membransko vezane receptorje in encime (Markov, 2007).

## 2.7.2 Membrana in membranske strukture

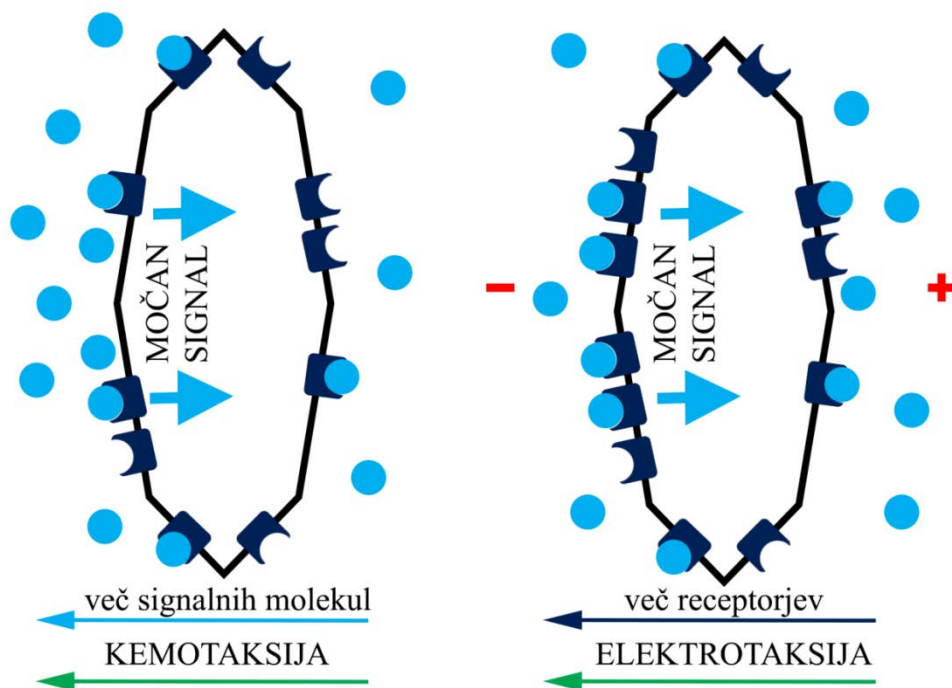
Membrana in membranski receptorji so mediatorji EM valovanja pri prenosu signalov. Različni avtorji so predpostavili različna možna mesta delovanja EM polj (Funk in sod., 2009):

- Spremenjeno vezavno razmerje ionov na receptorje oz. encime v membrani zaradi zunanjega EM valovanja.
- Larmorjeva precesija, ki je odvisna od trajanja vezave ion – ligand. V kolikor je vezavni čas daljši od 1s (npr.  $\text{Ca}^{2+}$  – kalmodulin kompleks) lahko takšni vezani oscilatorji reagirajo že z magnetnimi polji od 0,1  $\mu\text{T}$  – 1  $\mu\text{T}$ .
- Faradayeva vezava – EM valovanje inducira naboj na površini membrane, kar lahko vpliva na obliko membrane in pod njo ležeči citoskelet.
- Receptorji z vezanimi naboji lahko resonirajo z EMF, kar lahko spremeni njihovo delovanje (slika 19).
- Združevanje ionskih kanalov v klastre v celični membrani, kot posledica dolgotrajno delujočega električnega polja (npr. elektrotaksija; slika 20).



**Slika 19: Resonanca EM valovanja z »molekularno ročko«.** Ročka je lahko del receptorja in spremeni konformacijo ob ustreznem EM signalu, resonanca pa je odvisna od dolžine molekularne ročke (po Funk in Monsees, 2006).

**Figure 19: Resonance of molecular lever with electromagnetic field.** Molecular lever could be part of a receptor and could cause a change in the receptor conformation at the right EM signal. The resonance depends mostly on the length of the molecular lever (adjusted after Funk and Monsees, 2006).



**Slika 20: Model kemotaksije (A) in elektrotaksije (B).** Pri kemotaksiji gradient liganda povzroči, da se na strani z višjo koncentracijo aktivira več receptorjev, ki so sicer simetrično razporejeni po površini celice. Pri elektrotaksiji zunanje električno polje povzroči reorganizacijo receptorjev, zato dobimo na eni strani močnejši signal kot na drugi (po McCaig in sod., 2005).

**Figure 20: Model proposed for chemotaxis (A) and electrotaxis (B).** In chemotaxis a gradient of a ligand causes activation of more receptors on one side of the cell. In electrotaxis the asymmetric response comes from different density of the receptors on cell membrane. The difference in density of the receptors is a consequence of external electric field (after McCaig et al., 2005).

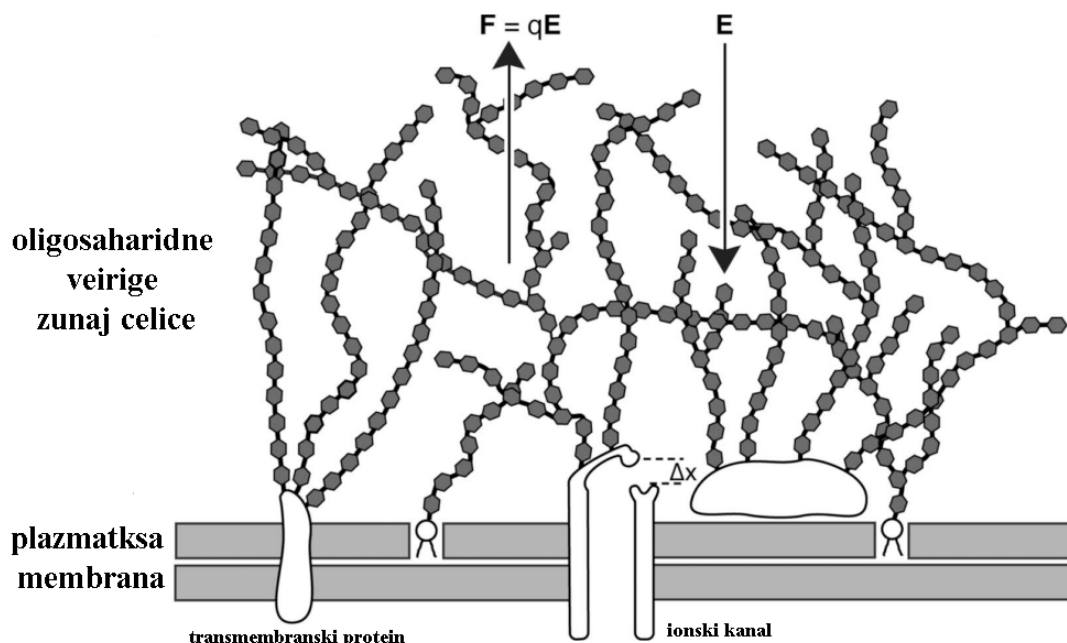
### 2.7.3 Elektromagnetna indukcija

Zunanja EM polja lahko v organizmih inducirajo nastanek električne napetosti in posledično nastanek električnih tokov, kar se imenuje elektromagnetna indukcija (Carrubba in sod., 2009).

Elektromagnetna indukcija bi lahko bila pomembna v dveh različnih senzornih strukturah:

- V specializiranih organih – Lorenzinijevih ampulah, s pomočjo katerih lahko morski psi in skati (*Elasmobranchii*) zaznavajo šibke električne tokove in bi potencialno lahko zaznali tudi spremembe v magnetnem polju Zemlje (Kalmijn, 1981; Paulin, 1995);
- Elektromagnetna indukcija bi lahko aktivirala potencialne specializirane mehanske receptorje na plazmatski membrani – ionske kanale s kovalentno vezanimi negativno

nabitimi oligosaharidnimi verigami (slika 21). Vzpostavljena napetost povzroča mehansko silo, ki je premosorazmerna z inducirano napetostjo in nabojem oligosaharidnih verig. Sila povzroči mehansko odpiranje ionskega kanalčka (Carrubba in sod., 2009; Marino in sod., 2009).



**Slika 21: Specializiran membranski receptor s kovalentno vezanimi oligosaharidnimi verigami (prirejeno po Carrubba in sod. 2009).**  $F$  – sila, ki deluje na negativno nabite oligosaharidne veirige zaradi prisotnega električnega polja ( $E$ ), kar povzroči strukturno spremembo ionskega kanala ( $\Delta x$ ).

**Figure 21: Specialized membrane receptor with covalently bound oligosaccharide chains (adjusted after Carrubba et al., 2009).**  $F$  – Force acting on negatively charged oligosaccharide chains due to applied electric field ( $E$ ). This causes the conformational change of the ion channel ( $\Delta x$ ).

#### 2.7.4 Sprememba hitrosti prenosa in vezave ionov

##### a) Model ionske ciklotronske resonance

Ionsko ciklotronsko resonanco je prvi predpostavil Liboff (1985), razlaga pa predvsem vpliv nizkofrekvenčnega MV na fiziološko dostopnost majhnih ionov, predvsem  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  (Pazur in Rassadina, 2009). Na nabiti delec, ki se giblje pravokotno na magnetno polje deluje Lorenzeva sila, ki delec sili v kroženje oz. spiralno pot, v kolikor je kot gibanja manj kot  $90^\circ$  glede na magnetno polje. Kadar je magnetni moment vezan na elektron, ki kroži okrog jedra, zunanje magnetne polje spremeni kroženje elektrona z Larmorjevo obodno hitrostjo. V prisotnosti statičnega (npr. geomagnetnega) in nihajočega magnetnega polja obstaja resonančna frekvenca, ki pospešuje kroženje elektronov (ionska ciklotronska resonanca). Določa jo enačba 16:

$$f = \frac{B_{DC} \times q}{2\pi \times m} \quad \dots (16)$$

Kjer je  $f$  resonančna frekvenca,  $B_{DC}$  gostota magnetnega pretoka statičnega magnetnega polja,  $q$  naboj iona in  $m$  njegova masa. Frekvenca je tako odvisna od iona, in se pri gostoti statičnega polja  $50 \mu\text{T} - 65 \mu\text{T}$  giblje okoli  $50 \text{ Hz} - 60 \text{ Hz}$  za večino najpogostejših ionov v celici. Liboff (1985) tako predpostavlja, da bi z ustreznim nizkofrekvenčnim magnetnim poljem (MP) lahko pospešili  $\text{Ca}^{2+}$  ione in povečali njihovo prehajanje skozi kanale, ki bi bili poravnani z geomagnetnim poljem. Model ponuja razlago za frekvenčno specifične odzive, ki so jih opazili v živih organizmih (Galland in Pazur, 2005).

Model ionske ciklotronske resonance (ICR) mnogi zavračajo, ker bi naj bil premer krožnice, po kateri potuje ion, prevelik in potrebna energija previsoka in je zato malo verjeten v realnih bioloških razmerah zaradi termalnega šuma. Liboff še vedno predpostavlja, da je teoretično možen znotraj ionskih kanalov, kjer so ioni zaščiteni pred termalnim šumom, vendar pa je ta mehanizem manj verjeten zaradi velikega energijskega vložka in manjšega premera ionskih kanalov (Pilla, 2007). Model ostaja zanimiv ob nadgradnji z ugotovitvami nekaterih drugih skupin (glej vpliv EM polj preko kvantne koherence), ki napovedujejo manjši termalni šum znotraj nekaterih odsekov celice.

Model ICR je zanimiv, ker daje možnost pojasniti številne rezultate poskusov, predvsem na videz nepovezane učinke, ostra frekvenčna okna in manjšo odvisnost od prejete doze valovanja (Galand in Pazur, 2005). Ravno zaradi potencialnega vpliva na  $\text{Ca}^{2+}$  ione se ICR model pogosto navaja kot mehanizem delovanja magnetnih polj. Večkrat ponovljene raziskave so namreč dokazale, da šibko nizkofrekvenčno MV odstrani  $\text{Ca}^{2+}$  ione, ki sicer stabilizirajo membrano, zaradi česar nastane več poškodb na celični membrani ter tako poveča njeno prepustnost. Sproščeni kalcij tudi deluje kot metabolni signal in odvisno od fiziološkega stanja celice sproži različne celične procese, ki lahko privedejo tudi do izboljšane rasti. Spremenjen transmembranski potencial lahko povzroči tudi dodatno odpiranje napetostno odvisnih kalcijevih kanalov na membrani in tako še okrepi prvotni inducirani signal (Goldsworthy, 2006; Roux in sod., 2008).

#### b) Model ionske parametrične resonance in ionske interference

Lednev (1991) je ICR model nadgradil v model ionske parametrične resonance, ki poleg resonančne frekvence upošteva tudi učinke subharmonikov (nižje frekvence, ki jih dobimo če osnovno frekvenco delimo s celim številom, npr. 1,2,3,...) in možne vplive na ione, ki so vezani na proteine, svojo dopolnjeno razlago pa ponujajo tudi drugi, npr.: model ionske interference (Binhi, 1997), vendar ti modeli še niso širše sprejeti.

### c) Vpliv EM na dostopnost ionov

Polielektreti so različni polianioni v celici, običajno v kortikalnem citoskeletu pod membrano (npr. poliamini, filamenta aktina). Nanje so šibko vezani  $\text{Ca}^{2+}$  in drugi kationi. Tako lahko polielektreti delujejo kot skladišče kationov, ki se ob ustrezni frekvenci magnetnega polja sprostijo in sprožijo vrsto kaskadnih reakcij (Adey, 2003; Liboff in sod., 2003).

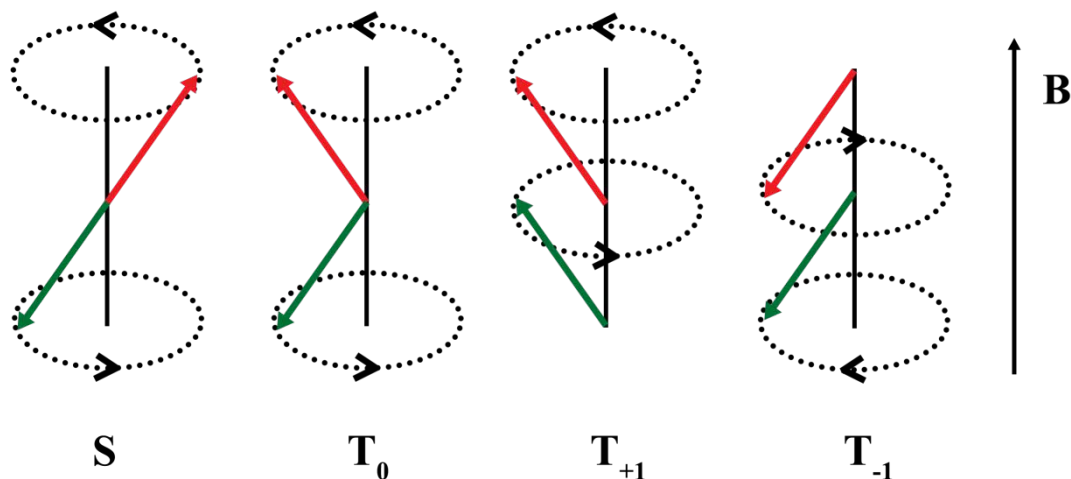
### 2.7.5 Sprememba konstant od spina elektronov odvisnih kemičnih reakcij parov radikalov

EM valovanje lahko vpliva na kemijske konstante reakcijskih hitrosti biokemijskih reakcij, kjer se kot vmesni produkt pojavljajo radikalni pari. Kemijske vezi so magnetne vezi, ki se tvorijo med atomi preko skupnih elektronskih parov, ki imajo nasproten spin in se zato magnetno privlačijo. Ob prekinitvi teh vezi v kemijskih reakcijah, vsak atom običajno prejme en elektron in tako nastane prosti radikal. Če se relativna orientacija spina spremeni (iz singlet v triplet stanje), se spremeni kinetika rekombinacije in nastanejo lahko drugačni produkti. Na spin elektronov lahko vplivajo trije procesi povezani z EM valovanjem: 1) sprememba hiperfine strukture zaradi interakcije magnetnega momenta jedra in magnetnega momenta elektrona; 2) razlike v Larmorjevi precesiji in 3) Zeemanov pojav, t.j. energijski prehod elektrona v zunanem statičnem magnetnem polju, ki lahko zavzame več različnih energijskih ravni (Funk in sod., 2009).

Spinsko kvantno število elektrona lahko zavzame le dve vrednosti:  $+\frac{1}{2}$  ali  $-\frac{1}{2}$  in opisuje spinsko vrtilno količino ali spin. Ob interakciji dveh radikalov sta lahko spina njunih elektronov ali antiparalelna ( $\uparrow\downarrow$  oz.  $\downarrow\uparrow$ ) – dobimo spinsko število 0 – tako orientacijo označujemo kot singlet stanje ( $S = 0$ ), ali pa paralelna ( $\uparrow\uparrow$  oz.  $\downarrow\downarrow$ ) – dobimo spinsko število 1 ali -1 – ki ga označimo kot triplet stanje ( $S = \pm 1$ ). Spin ima v singlet stanju eno, v triplet stanju pa tri možne kombinacije (slika 22; Brocklehurst in McLauchlan, 1996). V stanju  $T_0$  kažeta vrtilni količini radikalnega para v nasprotno smer (antiparalelno), a sta v isti fazi in je zato njuna projekcija pravokotna na polje. V singlet stanju sta vrtilni količini popolnoma antiparalelni. Prehodi med singlet in triplet stanji so običajni, pri močnejših poljih pa postanejo preklopi v  $T_{+1}$  oz.  $T_{-1}$  manj verjetni.

V prisotnosti zunanjega magnetnega polja imajo spinska stanja različne energijske ravni, odvisno od gostote magnetnega pretoka ( $B$ ), kar imenujemo Zeemanov pojav (slika 23a; Tipler in Llewellyn, 2012). Število različnih energijskih ravni je odvisno od orbitalnega kvantnega števila  $l$  in je enako  $2l+1$  (Funk in sod., 2009). Pri šibkem magnetnem polju so hiperfine interakcije močnejše od energijskih razlik Zeemnaovega pojava, ob večji gostoti

magnetnega pretoka, pa se energijske ravni ločijo preveč in prehodi med  $T_{+1}$  in  $T_{-1}$  niso več mogoči (slika 23b; Brocklehurst in McLauchlan, 1996)

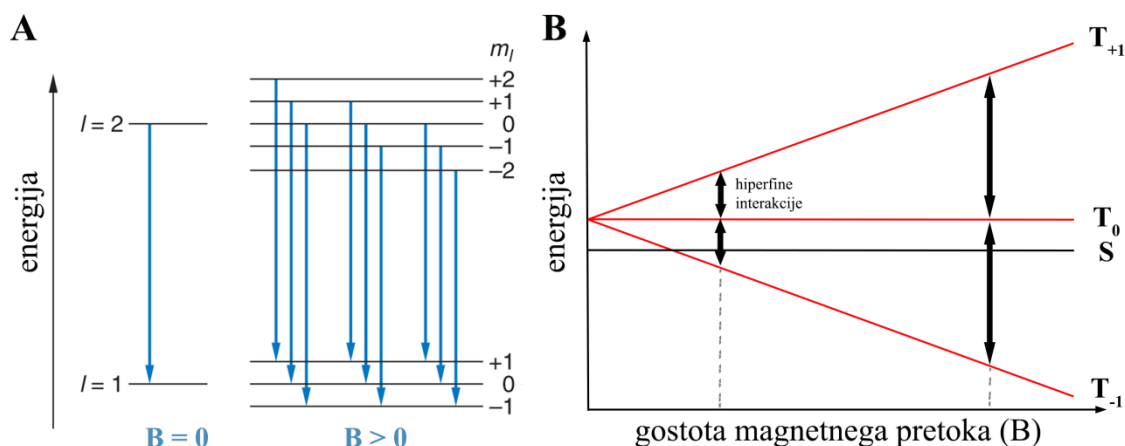


**Slika 22: Vektorska predstavitev 4 položajev spinov elektronov radikalnih parov v magnetnem polju.** Rdeča in zelena puščica predstavljata spinsko vrtilno količino dveh ločenih radikalov. Prehod iz  $S$  v  $T_0$  se lahko zgodi s preprosto spremembo v fazi obeh spinov, medtem ko prehod v drugi dve triplet stanji zahteva preskok iz enega v drugo spinsko stanje (prirejeno po Brocklehurst in McLauchlan, 1996).

**Figure 22: Vector representation of the  $S$  and  $T_0$  states of radical pair in magnetic field.** Red and green arrows represent spin magnetic moment of two separate radicals. Transition from  $S$  to  $T_0$  can happen with a spatial change in the phase of both spins, transition in other states involves changing between electron spin states (adjusted after Brocklehurst in McLauchlan, 1996).

Radikalni pari lahko nastanejo na več načinov, med drugim tudi s homolizo molekule, npr. AD molekula se razbije na dva radikala  $A\cdot$  in  $D\cdot$ , ki tvorita radikalni par  $^1[A\cdot D\cdot]$  v singlet obliki. Zaradi vpliva magnetnega polja lahko pride do spremembe spinskih stanj in nastanek triplet stanja  $^3[A\cdot D\cdot]$ . Pogosto imata singlet in triplet obliki različne biokemijske poti, singlet oblika se lahko neposredno pretvori v izhodiščno molekulo, medtem ko triplet stanje običajno potrebuje več korakov, včasih pa vodi v druge produkte, pri fotosintezi na primer lahko tako nastaja singlet kisik v fotosinteznih centrih (Pazur in sod., 2007). Prisotnost magnetnega polja povzroči spremembo deleža singlet in triplet radikalnih parov (inducira nastanek triplet radikalov), ti pa imajo različne usode. Singlet radikalni par je običajna oblika in vodi v običajne produkte reakcije. Ker triplet radikal pogosto vodi v druge produkte, kar lahko zmanjšuje učinkovitost kemijskih reakcij ali celo povzroča poškodbe v celicah. Vpliv magnetnega polja na nastajanje radikalnih parov ni odvisen od temperature (ni ovir zaradi termičnega šuma).

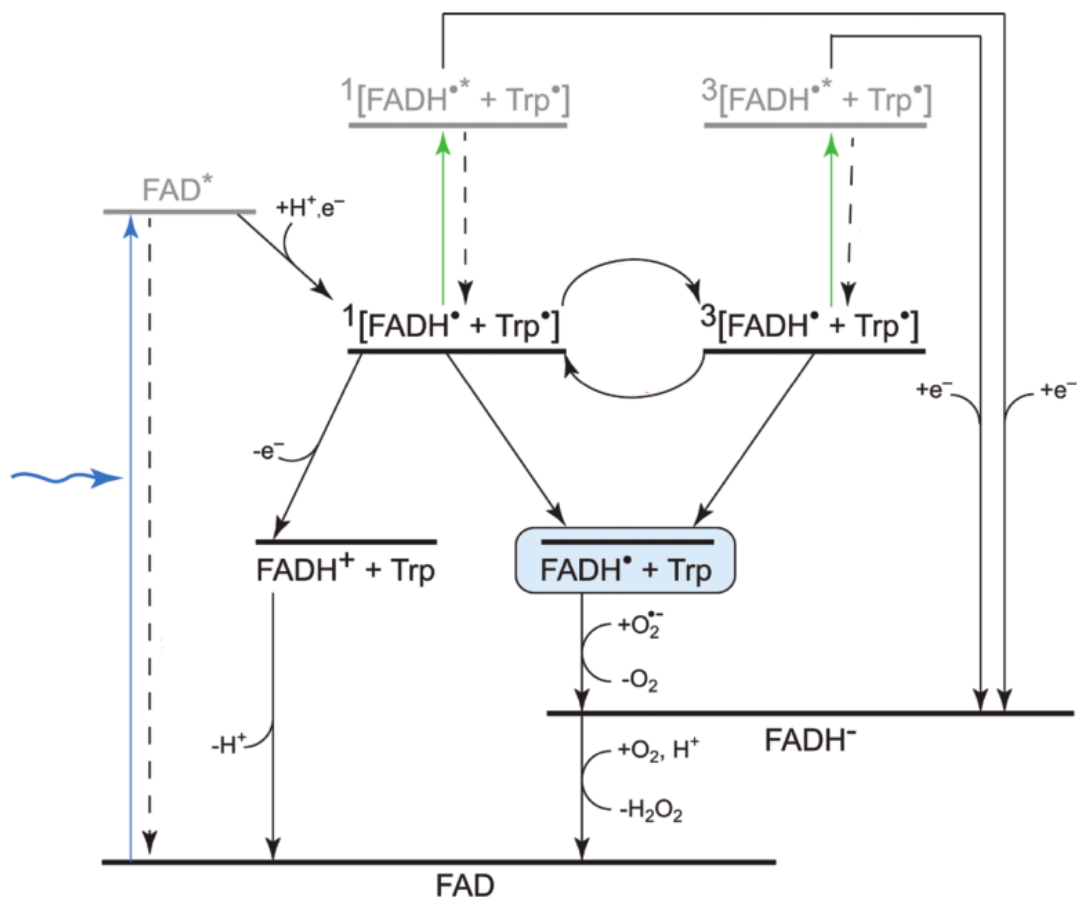




**Slika 23: Zeemanov pojav.** A) Število različnih energijskih ravni ob uporabi zunanega magnetnega polja glede na orbitalno kvantno število  $l = 1$  in  $l = 2$ . Vsak energijski nivo se razdeli v  $2l+1$  energijskih ravni, za prehod iz  $l = 2$  v  $l = 1$  pa so ob prisotnosti zunanega polja možni le trije energijski prehodi (prirejeno po Tipler in Llewellyn, 2012). B) Ločitev energijskih ravni singlet in triplet stanj glede na gostoto magnetnega pretoka. Ob šibkem polju hiperfine interakcije še omogočajo prehajanje med različnimi triplet stanji, pri močnih poljih pa zaradi velikih energijskih razlik prehodi niso več mogoči (prirejeno po Brocklehurst in McLauchlan, 1996).  
**Figure 23: Zeeman effect.** A) Energy-level splitting after application of external magnetic field depends upon magnetic quantum number  $l = 1$  in  $l = 2$ . Each energy level is split into  $2l+1$  energy levels. There are only 3 energy transitions possible from  $l = 2$  to  $l = 1$  when external field is applied (after Tipler and Llewellyn, 2012). B) Splitting of the energy levels of singlet and triplet states depended on the magnetic field intensity. In weak fields hyperfine interaction still allow transitions from different triplet states, at high densities this differences block the transition from one state to the other (after Brocklehurst and McLauchlan, 1996).

Biokemijske reakcije, ki vključujejo spinsko vezane radikalne pare, so občutljive na zunanja magnetna polja. Daljši kot je obstojni čas radikalnega para, bolj izraziti so lahko vplivi magnetnega polja: v primerih, ko so ti časi  $>$  od 100 ns, so že pokazali vplive magnetnih polj velikosti 100  $\mu$ T (Galand in Pazur, 2005; Simko, 2007). Primer so encimi, ki imajo radikalni par kot intermediat, kot npr.  $B_{12}$  etanolamin amonij liaza (Harkins in Grissom, 1994), v rastlinah pa tudi radikalni pari klorofila (Schweitzer in Schmidt, 2003; Renger in Schlodder, 2011) in radikalni pari kriptokroma, ki nastanejo ob fotoaktivaciji (Chaves in sod., 2011; Solov'yov in Schulten, 2012). Kriptokrom je fotoreceptor, ki absorbira modro svetlobo in je udeležen v različnih rastnih, razvojnih in cirkadianih odgovorih pri zelo različnih organizmih in bi potencialno lahko pojasnil številne opažene učinke magnetnih polj na rastline (in živali). Flavin v kriptokromu lahko zavzame tri osnovna stanja: FAD, FADH $\bullet$ , FADH $^-$ . FAD je neaktivna oblika, ki se običajno akumulira v temi. Po fotoaktivaciji z modro svetlobo nastane vzbujena oblika FAD $^*$ , ki tvori radikalni par [FADH $\bullet$  Trp $\bullet$ ], to je signalna oblika kriptokroma, ki je lahko v singlet ali triplet stanju. Ta se lahko ob absorpciji zeleno-modre svetlobe pretvori v reducirano nesignalno obliko FADH $^-$ , ki se v temi ponovno oksidira v FAD. Singlet radikalni par se lahko pretvori tudi v neaktivno obliko FADH $^+$  + Trp in ob deprotonaciji nazaj v FAD. Slednja pot ni mogoča za triplet radikalni par. Zunanje magnetno

polje lahko poveča nastajanje triplet stanja in s tem podaljša čas, ko je kriptokrom v aktivni (signalni) obliki (slika 24; Solov'yov in Schulten, 2012).



**Slika 24: Aktivacija in deaktivacija kriptokroma.** Oksidiran FAD se ob absorpciji modre svetlobe pretvori v vzbujeno stanje FAD\*, ki nato tvori radikalni par z triptofanom (Trp) v singlet ali triplet obliki. Obliki imata različne poti, ki vodijo v neaktivno FADH<sup>-</sup> in FAD in različni čas obstanka (prirejeno po Solov'yov in Schulten, 2012).

**Figure 24: Cryptochrome activation and inactivation reactions.** FAD is activated after absorption of blue light, oxidized FAD becomes promoted to an excited FAD\* state that forms a radical pair with tryptophan (Trp) in singlet or triplet state. Both states have different lifetimes and different paths that lead to inactive FADH<sup>-</sup> and FAD (adjusted after Solov'yov and Schulten, 2012).

### 2.7.6 Vpliv EM polj preko kvantne koherence.

Kvantna teorija polja je nujna za razlago nekaterih pojavov v živih sistemih, ki jih s klasičnimi fizikalnimi in kemijskimi teorijami ne moremo pojasniti, kot na primer prostorsko in časovno urejenost, ki jo najdemo v živih sistemih, selektivnost bioloških interakcij, nizko upornost in termični paradoks (visoka učinkovitost pretvorbe energije kljub nizkim

temperaturnim razlikam, ki postavljajo teoretični izkoristek okoli 1 %, medtem ko je opažen izkoristek tudi 50 %) (Del Giudice in sod., 2005).

Po mnenju Milanske skupine je v bioloških sistemih nujna vzpostavitev kolektivne dinamike biomolekul, kjer posamezne molekule ne morejo delovati neodvisno, saj bi to moralo povzročati visoke temperaturne oscilacije v živih sistemih, podobne oscilacijam v biokemijskih reaktorjih. Izkoristek kemijskih reakcij se mora zato prenašati neposredno kot elektrokemijska energija, kar je možno le, če je združena v kolektivne stopinje prostosti, kjer se prenaša med klastri molekul naenkrat (Del Giudice in sod., 2005). Tega pa klasična fizika ne more pojasniti, zato je nujna vpeljava kvantne fizike, ki omogoča vzpostavitev koherentnih (sovisnih) stanj – kjer imajo elementarni delci enak ritem in fazo oscilacij (Fröhlich, 1968).

Po teoriji kvantne elektrodinamike se ob presežku gostote molekul ( $N/V$ ) pri dani temperaturi vzpostavi nova faza, kjer molekule oscilirajo koherentno skladno z elektromagnetnim valovanjem, ki se vzpostavi zaradi oscilacij. Kolektivna dinamika molekul zajema območje imenovano koherentna domena (CD), ki ima premer enak valovni dolžini vzpostavljenega elektromagnetnega valovanja;  $2r = \lambda$  (Arani in sod., 1995). Stabilnost koherentne domene je pri vodi posledica razlike v energijskem stanju med koherentno in nekoherentno fazo, pri čemer je koherentna nižja za 0,26 eV. Temperatura vpliva na velikost koherentne domene, na njenem robu molekule konstantno prehajajo iz koherentne v nekoherentno stanje. Znotraj koherentne domene imamo oblak prostih elektronov, ki lahko prehajajo v vzbujeno stanje – dobimo vzbujeno koherentno domeno, ki ji daje možnost opravljanja elektrokemijskega dela (Del Giudice in sod., 2005, Plankar in sod., 2012). V prosti vodi imajo koherentne domene sferično obliko s premerom valovne dolžine, okoli makromolekul pa se vzpostavi več plasti vode, vsaka plast predstavlja svojo koherentno domeno (do 10 plasti) (Del Giudice in sod., 2005).

Fleming in sod. (2011) naštevajo številne biološke pojave in kvantne procese, ki bi jih morali vključiti v razlago delovanja živih sistemov (preglednica 5). Osnovni model za kvantno biologijo, so procesi povezani s fotosintezo. Barvilno proteinski kompleksi zbirajo sončevo svetlobo, ki vodi v vzbujeno stanje elektronov, ki vodi v ločitev nabojev in nadalje poganja biokemijo. Kvantna učinkovitost je izjemno visoka, običajno >95 %, za kar sta zelo pomembni superpozicija in kvantna koherenca. V klorofilskem kompleksu zelenih žveplovih bakterij so izmerili dolgo stabilno koherenco, ki bi naj omogočala resonančni prenos energije (Engel in sod., 2007). Z upoštevanjem kvantne mehanike lahko fotoni (tudi elektroni in protoni) prehajajo fizične bariere preko daljnosežnega tuneliranja, kar lahko bistveno poveča reakcijske konstante in nudi možnost za neposredni prenos elektronov med proteini, kar so že potrdili s poskusi (Nagy in sod., 2006; Marcus, 2006; Marcus, 2007).

Raziskave navigacije ptic močno nakazujejo na obstoj od svetlobe odvisnih reakcij, ki so občutljive na zunanja magnetna polja in nakazujejo na pomen radikalnih parov (Ritz in sod., 2000; Ritz in sod., 2004).

**Preglednica 5: Možni kvanti dinamični procesi v bioloških sistemih (po Fleming in sod., 2011)**

**Table 5: Possible quantum dynamical processes in biological systems (adjusted after Fleming et al., 2011).**

	<b>Vzbujena stanja</b>	<b>Svetlobni delci</b>	<b>Radikalni pari</b>
<b>Biološki pojavi</b>	Začetni koraki pri fotosintezi	Katalizatorji (encimi)	Navigacija ptic
	Vid	Fotosinteza	
<b>Kvantni procesi</b>	Prenos energije	Daljnosežno tuneliranje elektronov	Reakcije z radikalnimi pari
	Prenos elektronov	Prenos vodikovih atomov	
	Tvorba izomerov	Protonsko vezan prenos elektronov	

### 2.7.7 Zanimive raziskave vpliva statičnega in nihajočega magnetnega polja na celične kulture in živali

Statično magnetno polje lahko vpliva na transkripcijo genov za proteine toplotnega šoka. Tako so Laramee in sod. (2014) v primarnih celičnih kulturah fibroblastov (RAT1) podgan, ki so jih izpostavili polju 1 mT do 440 mT za čas 16, 24 ali 48 ur preverjali ekspresijo genov v družini HSP70 (stresni proteini). Ekspresija genov za proteine toplotnega šoka je bila odvisna od gostote magnetnega pretoka in trajanja izpostavitve. Maksimalna stimulacija ekspresije genov je bila 3,5× večja ekspresija pri 48h izpostavitvi 100 mT.

V celični kulturi človeških celic MCF-7 in HeLa linij so Wang in sod. (2014) z uporabo mikroskopije na atomsko silo ugotovili vpliv statičnega magnetnega polja z gradientom od 260 mT do 330 mT na ultrastrukturo membrane, s konfokalnim mikroskopom pa so pokazali prerazporeditev filamentov aktina izpostavljenih celic. Vplivi so bili opaženi zgolj pri MCF-7 celicah, SMP ni vplival na HeLa celice. Na drugi strani Miyakoshi (2005) v pregledu vplivov močnih statičnih polj na celične procese ugotavlja odsotnost ali pa minimalne vplive na genotoksičnost, ekspresijo in metabolno aktivnost, razlike pa so se povečale, v kolikor je SMP delovalo v kombinaciji z drugim dejavnikom (npr. X-žarki in nekateri reagenti). Zato je težko zaključiti, kakšen je dejanski vpliv SMP na celični ravni.

Zanimive so raziskave grške skupine Evangelou in sod., ki so s skrbno izbranimi frekvencami, izpeljanimi iz  $^1\text{H-NMR}$  (protonska nuklearna magnetna resonanca) spektrov spojin (npr. morfij in SnMNA kompleks) ali pa na osnovi EPR (elektronska paramagnetna resonanca) spektrov izbranih celičnih kultur, generirali nihajoče magnetno polje, ki je povzročilo podobne učinke v celičnih kulturah (Karkabounas in sod., 2006; Verginadis in sod., 2011), wistar podganah (Avdikos in sod. 2007; Verginadis in sod., 2012) in ljudeh (Evangelou in sod., 2011), kot spojina sama oz. podobno fiziološko stanje, kot ga je imela donorska celična kultura. Obstoječi poznani mehanizmi ne pojasnijo njihovih rezultatov in nakazujejo še neodkrite EM lastnosti organizmov.

## 2.8 VPLIVI ELEKTROMAGNETNEGA POLJA NA RASTLINE

Prvi, ki je izvedel večje poskuse o vplivu električnih polj na rastline, je bil finski profesor fizike Karl Lemström. Opazil je, da je vegetacija na Arktiki kljub nizkim temperaturam in malo svetlobe zelena in vitalna. Ko je pogledal letni prirastek dreves je ugotovil, da je ta povečan v času največje aktivnosti severnega sija (aurora borealis) – takrat je v atmosferi največ šibkih električnih tokov. V številnih poskusih je nad polja obesil žico pod visoko napetostjo (električna poljska jakost je bila okrog 10 kV/m) in v povprečju ugotovil 45 % povečanje pridelka, rastline pa so bile bolj zelene in robustne od kontrol (Lemström, 1904).

Kasnejše raziskave Blackmana (1924, cit. po Goldsworthy, 2006) in Blackmana in Legga (1924, cit. po Goldsworthy, 2006) so pokazale, da je za učinke pomemben tok, ki se ob izpostavitvi električnemu polju, pojavi v rastlinah ječmena (*Hordeum vulgare*), pšenice (*Triticum aestivum*) in ovsa (*Avena sativa*). Tok med  $10^{-11}$  A in  $10^{-8}$  A je stimuliral rast rastlin, večje vrednosti pa so povzročale poškodbe. Pri tem je pomembno poudariti, da je do stimulacije rasti prišlo v 14 od 18 primerov; Briggs in sod. (1926) niso ugotovili nobenih učinkov, medtem ko je Murr (1963) opazil le bolj zeleno barvo izpostavljenih rastlin.

Freeman in sod. (1999) so primerjali liste soje (*Glycine max*) pod daljnovodi visoke napetosti. Listi v bližini daljnovoda, ki so bili izpostavljeni pulzirajočemu magnetnemu polju z gostoto magnetnega pretoka od manj kot 0,3  $\mu$ T do več kot 5  $\mu$ T, so bili asimetrični, medtem ko so bili listi rastlin 50 m in 100 m stran od daljnovoda nespremenjene oblike. Razlike niso bile posledica različnih velikosti rastlin ali napak pri meritvah. Asimetrija kaže na razvojno nestabilnost oz. izpostavitvev stresnim razmeram, kar bi naj pokazala tudi raziskava Zverve in sod. (1997 cit. po Freeman in sod., 1999), ki je ugotovila, da so listi na zunanem delu krošnje vrste *Ficus carica* bolj asimetrični kot listi v notranjem delu krošnje.

Goldsworthy (1996 cit. po Goldsworthy, 2006) predpostavlja, da rastline izkoriščajo močna elektrostaticna polja kot signal za prihajajoče nevihte kar sproži sintezo novih proteinov v rastlini in pripravo na privzem vode ter rast veliko prej, kot pa bi do tega prišlo šele ob signalu iz korenin. Schonland (1928 cit. po Goldsworthy, 2006) je pred nevihtami izmeril močna električna polja do 16 kV/m, kar povzroča podoben gradient kot že omenjeni poskusi na kulturah Lemströma in Blackmana. Podobne vplive na rastline dobimo tudi, če tkivne kulture stimuliramo z DC električnimi tokovi nekaj mikroamperov, kar kaže na mehanizme na celični ravni (Goldsworthy, 2006).

### 2.8.1 Raziskave vpliva geomagnetnega polja na rastline

Semena ječmena (*Hordeum vulgare*), ovsa (*Avena sativa*), rži, (*Secale cereale*) pšenice (*Triticum aestivum*) in lana (*Linum usitatissimum*) so kalila in rasta hitreje, če so bila orientirana vzdolž silnic geomagnetnega polja, kot pa če so bila orientirana prečno na silnice geomagnetnega polja (Pittman, 1963). Korenine različnih zimskih žit so se ob kalitvi orientirale vzdolž horizontalnih silnic geomagnetnega polja, medtem ko so korenine rži rasle neodvisno od orientacije magnetnih silnic (Pittman, 1964). Korenine divjega ovsa (*Avena fatua*) so se orientirale vzdolž magnetnih silnic geomagnetnega polja in so dobro sovpadale z magnetno deklinacijo na 27 poljih na različnih lokacijah po ZDA in v laboratoriju. Če so rastline v laboratoriju dnevno obračali za 90° so dosegli naključno orientacijo korenin (Pittman, 1970).

Nanush'yan and Murashev (2003) sta ugotovila, da že majhne fluktuacije v geomagnetnem polju ob geomagnetnih nevihtah lahko povzročijo kromosomske nepravilnosti kot so poliploidnost, povečana jedra in večjedrne celice v apikalnem meristemu čebule (*Allium cepa*). To je še posebej zanimivo, saj geomagnetne nevihte povzročijo zelo majhno povečanje gostote megnetnega pretoka Zemljinega magnetnega polja, približno 1 % (500 nT).

Minorsky in Bronstein (2006) sta preučevala vpliv majhnih razlik v geomagnetnem polju na smer olistanosti kokosovih palm (*Cocos nucifera*) in ugotovila povezavo med polarnostjo geomagnetnega polja in frekvenco pojavljanja levo oz. desno sučno olistanih palm, ki bi morala biti sicer naključna. Vpliv razlagata zaradi različno induciranih električnih tokov v rastlini med zgodnjim razvojem, ki se lahko spremenijo zaradi nihanj v geomagnetnem polju, smer teh nihanj pa je odvisna od lokalne narave geomagnetnega polja (Minorsky, 1998; Minorsky in Bronstein, 2006). Podobne učinke predpostavljata tudi Mina and Goldsworthy (1992).

Že leta 1978 je Fraser-Smith ugotovil, da se v hrastovih drevesih pojavljajo spontani električni pulzi v območju velikosti 100  $\mu\text{V}$ , ki so frekvenčno odgovaljali Pc1 geomagnetnim nihanjem. To so konstantne oscilacije v Zemljinem geomagnetnem polju (Pc = continuous pulsation) s frekvenco med 0,2 Hz in 5 Hz (Saito, 1969). Električni pulzi so izginili, v kolikor so jih merili na mrtvih drevesih ali preko tranzistorja. Ugotovitve kažejo, da so nekatere rastline kot velike antene, ki zaznavajo nihanja v geomagnetnem polju, ekološki in fiziološki pomen teh nihanj pa za zdaj ni poznan (Minorsky, 2007). Pc1 geomagnetne oscilacije s frekvenco med 0,2 Hz in 0,5 Hz je na različnih rastlinah s pomočjo elektroencefalografa in frekvenčnega analizatorja izmeril tudi Semenko (Semenko, 1972, cit. po Minorsky, 2007). Amplituda nihanj je bila med 100  $\mu\text{V}$  in 250  $\mu\text{V}$  in je bila odvisna

od časa v dnevu, z najmočnejšimi oscilacijami ob zori in mraku, oscilacije pa so pogosto sovpadale s premiki listov.

Periodične oscilacije v geomagnetnem polju Zemlje so možen mehanizem za nekoliko sporno teorijo o eksogenem izvoru bioloških ritmov, ki jo je razvil Brown (1976) in so jo kasneje ovrgli, ko je bilo dokazano, da je cirkadiani ritem (24h ritem) endogene narave, eden ključnih poskusov pa je dokazal, da se cirkadiani ritem ohranil tudi v vesoljskem plovilu, ki kroži okrog Zemlje, torej izven geomagnetnega polja Zemlje (Sulzman in sod., 1984). Vendar pa se je skupaj s cirkadianim ritmom tako pozabilo na vrsto necirkadianih pojavov, ki pa v zadnjem času ponovno prihajajo v ospredje (Minorsky, 2007).

Pri rastlinah, ki rastejo v zmanjšanem geomagnetnem polju, pride do sprememb v apikalnem meristemu korenine. Fomichjova in sod. so v zmanjšanem geomagnetnem polju opazili do 75 % znižanje proliferacije v meristemu korenine lana (*Linum usitatissimum*), graha (*Pisum sativum*) in leče (*Lens culinaris*) ter zmanjšano aktivnost funkcionalnega genoma (Fomichjova in sod., 1992a, cit. po Zhadin, 2001; Fomichjova in sod. 1992b, cit po Zhadin, 2001). Belyavskaya (2001) je pri kaljenju semen graha (*Pisum sativum*) v zmanjšanem geomagnetnem polju opazila ultrastrukturne spremembe v celicah koreninskega meristema (akumulacija lipidih telesc, povečanje litičnih organelov in znižanje fitoferitina v plastidih), spremembe v številu in velikosti mitohondrijev ter zmanjšane kriste, učinke pa je pripisala motnjam v različnih metabolnih sistemih, predvsem pa spremembam  $Ca^{2+}$  homeostaze.

Belyavskaya (2004) v pregledu raziskav ruskih znanstvenikov navaja poskuse, kjer kaljenje graha (*Pisum sativum*), leče (*Lens culinaris*) in lana (*Linum usitatissimum*) ostane nespremenjeno, tudi če semena zaščitimo pred geomagnetnim poljem (Gavoroon in sod., 1992, cit. po Belyavskaya, 2004). Številni drugi raziskovalci so ugotovili inhibicijo rasti kalic sladkorne pese (*Beta vulgaris*), ozimne grašice (*Vicia villosa*), prosa (*Panicum miliare*), ječmena (*Hordeum sativum*) in graha (*Pisum sativum*) v zmanjšanem geomagnetnem polju (Belyavskaya, 2004).

V zmanjšanem geomagnetnem polju (5 nT) so Kato in sod. (1989) opazil 50 % večjo stopnjo rasti lasastih korenin pri volčji češnji (*Atropa belladonna*) v primerjavi s kontrolo, pri korenju (*Daucus carota*) pa ni bilo razlik po 40 urni inkubaciji. V kolikor so vrsti dali v zelo močno statično magnetno polje (500 mT), sta obe izkazali 25 % povečano rast lasastih korenin.

Negishi in sod. (1999) so pri grahu (*Pisum sativum* var. Alaska) opazili hitrejšo rast epikotila v zmanjšanem geomagnetnem polju. Celestino in sod. (1998) so tudi opazili hitrejšo rast



somatskih zarodkov hrasta plutovca (*Quercus suber*) v celični kulturi, če so s Hemlmolzevo tuljavo izničili naravno geomagnetno polje in zarodke razmnoževali 30 dni.

Rast navadnega repnjakovca (*Arabidopsis thaliana*) v zmanjšanem geomagnetnem polju je bila počasnejša na prehodu iz vegetativne rasti v reprodukcijsko rast, rastline pa so imele posledično zakasnelo cvetenje (Xu in sod., 2013). Bolj zgodne in kasnejše faze rasti se niso razlikovale v prirastu biomase. Rastline v zmanjšanem geomagnetnem polju so imele manj luskov (mnogosemnski suhi plod križnic) ti pa so imeli  $\approx 20$  % manj semen na lusk v primerjavi z rastlinami kontrole.

Možno je tudi, da so različne vrste in celo varietete različno občutljive na variacije v geomagnetnem polju. Rakosy-Tican in sod. (2005) so namreč ugotovili, da so se različne vrste krompirja in njemu sorodnih rastlin (*Solanum*) različno odzvale na zmanjšano geomagnetno polje. Avtorji navajajo stimulirano rast korenin in stebela v nekaterih primerih pa celo inhibicijo. So pa opazili tudi, da je do največjih razlik prišlo pri poskusih, ki so sovpadali z geomagnetnimi nevihtami.

### **2.8.2 Raziskave vpliva močnega statičnega magnetnega polja na rastline**

Močna statična magnetna polja so bila uporabljena v številnih poskusih, nekaj smo jih navedli že v prejšnjem poglavju. Avtorji navajajo izboljšano rast, pa tudi slabšo rast izpostavljenih rastlin, spremembo aktivnosti encimov in vpliv na vodni status rastlin. Pri tem je potrebno razlikovati med vplivi izpostavitve semen in izpostavitve mladih rastlin.

Pittmanovi poljski poskusi (1977) so pokazali, da izpostavitve semen ječmena (*Hordeum vulgare*) in pšenice (*Triticum aestivum*) magnetnemu polju z gostoto magnetnega pretoka 5 mT pred sajenjem vodi do večjih pridelkov, medtem ko izpostavitve semen ovsa (*Avena sativa*) ni imela učinkov.

Tridnevna izpostavitve kalic kumare (*Cucumis sativus*) mnogo močnejšemu magnetnemu polju z gostoto magnetnega pretoka 10 T je povzročila, da so se poganjki orientirali vzdolž apliciranega polja proti največji gostoti, korenine pa v obratno smer – stran od največje gostote magnetnega pretoka. V odsotnosti polja so vse kontrolne rastline rasle pravokotno na podlago. Rezultat je bil večkrat ponovljen, poravnava pa je bila bolj izrazita pri 10 T kot pri 7 T. Avtorji predpostavljajo, da je magnetno polje spremenilo prenos avksina in posledično orientacijo rasti rastlin (Hirota in sod., 1999).

Semena solate (*Lactuca sativa*), izpostavljena statičnemu magnetnemu polju z gostoto magnetnega pretoka do 10 mT, so imela hitrejši privzem vode, kar avtorji razlagajo z

interakcijo magnetnega polja in ionskih tokov na celični membrani (Reina in sod., 2001; Reina in Pascual, 2001). Martinez in sod. (2000) so semena ječmena (*Hordeum vulgare*) za različno trajanje izpostavili polju z gostoto magnetnega pretoka 125 mT in ugotovili povečano dolžino in biomaso kalic po 3 dneh rasti, z največjim vplivom pri najdaljši izpostavitvi (24h). Spodbujevalen učinek so opazili tudi pri kratki izpostavitvi (do 24 ur) semen pšenice (*Triticum aestivum*) 125 mT in 250 mT, ki je vodila v 7 % in 31 % višje kalice in 18 % ter 30 % povečanju suhe mase (Martinez in sod. 2002). Ista skupina je kasneje semena koruze (*Zea mays*) za različno trajanje izpostavila SMP z gostoto magnetnega pretoka 125 mT in 250 mT ter opazila hitrejšo kalivost semen. Vzklila semena so presadili in opazovali rast po 7 in 10 dneh ter opazili povečano rast rastlin izpostavljenih SMP, daljša izpostavitvev je imela večje učinke (Florez in sod., 2007). Tudi Cakmak in sod. (2010) so pri izpostavitvi semen fižola (*Phaseolus vulgaris*) in pšenice (*Triticum aestivum*) SMP z gostoto magnetnega pretoka 4 mT in 7 mT opazili povečano kalivost, rastline pa so po sedmih dneh imele 30 % in 40 % večjo dolžino listov in 60 % višja stebela, pri čemer je imelo polje z gostoto magnetnega pretoka 7 mT večji vpliv kot polje z gostoto magnetnega pretoka 4 mT.

Payez in sod. (2013) so opazili hitrejšo kaljenje semen pšenice (*Triticum aestivum*) v prisotnosti SMP z gostoto magnetnega pretoka 30 mT, kar pa ni vplivalo na odstotek kalivosti. Biokemijska analiza je pokazala povečano aktivnost katalaze (CAT) in vsebnost prolinov ter zmanjšano stopnjo peroksidacije lipidov in zmanjšano aktivnost peroksidaze (PO). Flores-Tavizón in sod. (2012) so semena meskvita (*Prosopis juliflora x P. velutina*) za 30 min izpostavili SMP z gostoto magnetnega pretoka 1T ter jih dali kaliti in kasneje prenesli v hidroponično kulturo. Po 5 dneh rasti so bile kalice izpostavljene magnetnemu polju 2× daljše, imele pa so tudi povečano aktivnost aktivnosti amilaze.

Shine in sod. (2011) so semena soje (*Glycine max*) za kratek čas (30 min do 90 min) izpostavili magnetnemu polju z gostoto magnetnega pretoka od 0 mT do 300 mT in s tem povečali privzem vode v semena, hitrost kalitve in rast rastlin. Natančne meritve fluorescence v O-I-J-P fazah so pokazale hitrejšo redukcijo elektronskih akceptorjev v fotosintezni verigi in posledično višjo fotokemično učinkovitost FSII rastlin, zraslih iz izpostavljenih semen v primerjavi s kontrolnimi. Ugotovljene razlike pojasnjujejo z ionsko ciklotronsko resonanco, predvsem v povečanju prostega  $\text{Ca}^{2+}$  v kalečih semenih.

Če so semena soje (*Glycine max*) za 60 min izpostavili močnemu statičnemu magnetnemu polju z gostoto magnetnega pretoka 150 mT in 200 mT, se je v razvijajočih se semenih in hipokotilu po 8 dneh rasti povečala koncentracija reaktivnih kisikovih spojin (ROS), predvsem superoksidnega in hidroksilnega radikala obenem pa so imele rastline v magnetnem polju  $\approx 40\%$  in  $\approx 55\%$  večji hipokotil in  $\approx 45\%$  večjo suho maso (Shine in sod., 2012). Podobno so ugotovili tudi Cakmak in sod. (2012), ki so čebulice šalotke (*Allium*

*ascalonicum*) gojili v posodicah z bogatim gojiščem sedem dni in jih hkrati izpostavili statičnemu magnetnemu ali električnemu polju (7 mT, 20 kV/m). Opazili so povečano suho maso korenin in listov rastlin izpostavljenih magnetnemu polju, ter povečano aktivnost encimov katalaze (CAT), superoksid dizmutaze (SOD), prav tako pa je narasla koncentracija antioksidantov askorbata in glutationa. Na drugi strani je električno polje delovalo šibko zaviralno na rast rastlin, v obeh primerih pa so spremembe opazili tako v simplastu kot tudi v apoplastu.

Shine in Gurupasad (2012) sta podoben spodbujevalen učinek ugotovila tudi, če sta semena koruze (*Zea mays*) za 1 h oz. 2 h izpostavila močnemu statičnemu magnetnemu polju z gostoto magnetnega pretoka 200 mT oz. 100 mT. Rastline so imele po 1 mesecu daljše korenine in večjo listno površino, zmanjšano vsebnost superoksidnega radikala in brez spremembe v hidroksilnem radikal. Izpostavljene rastline so z meritvami fluorescence klorofila *a* pokazale višjo stopnjo fotosinteze. Izmerili so višje vrednosti maksimalne fluorescence ( $F_M$ ), izboljšane kvantne učinkovitosti ( $\phi_{PO}$ ,  $\phi_{E120}$  in  $\psi_{ET20}$ ), zmanjšane specifične energijske tokove ( $J^{ABS}/RC$ ,  $J_0^{TR}/RC$ ,  $J_0^{ET2}/RC$  in  $J_0^{DI}/RC$ ) izboljšano razmerje v številu reakcijskih centrov na enoto površine  $RC/CS$  ter višji kazalec delovanja ( $PI_{ABS}$ ).

Nekateri avtorji navajajo inhibicijo kalitve pod vplivom močnih statičnih polj. Tako so Peñuelas in sod. (2004) pokazali, da izpostavitve semen polju z gostoto magnetnega pretoka 17,6 mT zmanjša rast korenine pri leči, soji in pšenici za 15 % do 30 %, polje z gostoto 2,1 mT pa zmanjša rast korenine za 10 % do 20 %, vendar le pri leči in soji, kar avtorji razlagajo z diamagnetno občutljivostjo, ki se je med semeni razlikovala.

Majhno SMP (505  $\mu$ T) je zadostovalo za povečano rast kalic čebule (*Allium cepa*), ki se je najbolj odrazila v povečani listni površini rastline pa so imele tudi višjo vsebnost klorofila in proteinov (Novitsky in sod., 2001).

Small in sod. (2012) so s statičnim magnetnim poljem (10 mT) vplivali na podvojitev rasti alge *Chlorella kessleri*. Izpostavljene alge so imele tudi višje koncentracije fotosinteznih barvil, proteinov, Ca in Zn, neto fotosinteza in respiracija sta se povečali za faktor 2,1 in 3,1, hkrati pa so zabeležili večji oksidacijski stres pri obsevanih algah. Wang in sod. (2008) so alge *Chlorella kessleri* za 12h izpostavili SMP z gostoto magnetnega pretoka 10 mT – 50 mT, s čemer se je povečala aktivnost superoksid dismutaze in peroksidaze v izpostavljenih celicah, 72h po prenehanju izpostavitve pa so opazili povečano stopnjo rasti pri algah izpostavljenih 10 – 35 mT.

Yao in sod. (2005) so namočena semena kumare (*Cucumis sativus*) izpostavili SMP z gostoto magnetnega pretoka 200 mT in 450 mT ter jih posadili v rastlinjak s povečanim UV-

B sevanjem. Izpostavljena semena so imela višjo kalivost, hitrejšo rast in razvoj kalic, obenem pa so imele kalice višjo vsebnost askorbinske kisline in povečano oksidacijo lipidov. V koncentraciji klorofila *a* ni bilo zaznavnih razlik. V kolikor pa so kalice izpostavili povečanemu UV-B sevanju, pa so bile kalice, zrasle iz semen izpostavljenih SMP, bolj občutljive, imele so manjšo rast, povečano koncentracijo ROS in zmanjšano fotokemično učinkovitost FSII.

Hakala-Yatkin in sod. (2011) so z izpostavitvijo listov buče (*Cucurbita maxima*) in navadnega repnjakovca (*Arabidopsis thaliana*) magnetnim poljem z gostoto magnetnega pretoka od 100 mT do 300 mT spremenili ravnovesje in znižali nastajanje triplet stanja primarnega radikalnega para ter posledično tvorbe reaktivnega singlet kisika ( $^1\text{O}_2$ ), kar je pomenilo manjši padec fotosinteze ob izpostavitvi rastlin močni svetlobi. Vpliv magnetnega polja na fotokemično učinkovitost FSII razlagajo z mehanizmom radikalnih parov, kot kaže pa tako nastali singlet kisik predvsem zmanjša aktivnost popravljalnih mehanizmov.

Van in sod. (2011) so preučevali rast protokormov orhidej (*Phalaenopsis*) v močnem statičnem magnetnem polju z gostoto magnetnega pretoka 100 mT, 150 mT in 200 mT. Po 7 tednih so preverili svežo in suho maso ter število protokormov in opazili različne vplive glede na gostoto magnetnega pretoka in glede na polariteto (sever, jug) pri čemer je magnetno polje zmanjšalo število protokormov a hkrati povečalo svežo in suho maso protokormov, južni pol pa je imel večji spodbujevalen učinek na maso kot severni. Krajša izpostavitvev protokormov (2 tedna) ni imela statistično značilno različnega vpliva.

Zelo zanimivo je delo Ahmada in sod. (2007), ki so pokazali, da je magnetno polje (500  $\mu\text{T}$ ) vplivalo na inhibicijo rasti hipokotila navadnega repnjakovca (*Arabidopsis thaliana*) preko od kriptokroma odvisnih poti. Avtorji so v svojih poskusih uporabili divji tip in pa mutanto z okvarjenima genoma *cry1* in *cry2*. Obe so izpostavili modri svetlobi, temi in rdeči svetlobi; vsako obravnavanje s svetlobo so kombinirali še s prisotnostjo MP z gostoto magnetnega pretoka 500  $\mu\text{T}$  ali pa v prisotnosti naravnega geomagnetnega polja z gostoto magnetnega pretoka 33  $\mu\text{T}$ . Rastline, ki so rasle ob modri svetlobi, so imele statistično značilno krajše hipokotile, če so bile izpostavljene magnetnemu polju z gostoto magnetnega pretoka 500  $\mu\text{T}$ . Modra svetloba inhibira rast hipokotila preko kriptokroma, pri rastlinah, izpostavljenih 500  $\mu\text{T}$ , je bila inhibicija še bolj izrazita. Magnetno polje ni imelo vpliva na kalice, ki so rasle v temi. Da bi preverili vlogo kriptokroma so poskus ponovili pri rdeči svetlobi, ki tudi zavira rast hipokotila vendar pod vlivom fitokroma. V tem primeru niso opazili razlik med izpostavljenimi in kontrolnimi rastlinami. Prav tako niso opazili učinka pri mutantah, ki so rasle pri modri svetlobi, a so imele okvarjene *cry* gene. Avtorji učinke razlagajo z mehanizmom radikalnih parov, ki jih tvori kriptokrom po aktivaciji z modro svetlobo v

magnetnem polju pa bi naj nastajalo več singlet radikalov (manj stranskih produktov zaradi triplet radikalov) in tako povečana inhibicija ob prisotnosti modre svetlobe.

Paul in sod. (2006) so z uporabo ekspresijske mikromreže zelo močnih statičnih magnetnih polj (gostota magnetnega pretoka nad 15 T), s katerimi so rastline navadnega repnjakovca 2,5 ur ali 6,5 ur izpostavili močnemu magnetnemu polju pokazali spremembo v ekspresiji pri izpostavljenih rastlinah. Od 8000 preučevanih genov jih je imelo 114 za faktor več kot 2,5 povečano ekspresijo, kar so za 4 izbrane gene potrdili tudi z obratno transkripcijo in verižno reakcijo s polimerazo v realnem času (qRT-PCR).

### 2.8.3 Raziskave vpliva nihajočega magnetnega polja na rastline

Številni raziskovalci so ugotovili zanimive učinke predvsem nizkovalovnega nihajočega magnetnega polja na rast in razvoj rastlin. Učinki variirajo od stimulacije kalitve, razvoja poganjkov, dolžine in mase rastlin ter razvoja plodov. Opazili pa so tudi različne učinke na ekspresijo genov, biosintezo proteinov, celične delitve, fotokemično učinkovitost FSII, stopnjo respiracije in dejavnosti encimov.

Ružič in sod. (1998) so ugotovili, da je odziv kalic smreke (*Picea abies*) na izpostavitve šibkemu magnetnemu polju (50 Hz, 26  $\mu$ T in 105  $\mu$ T, 12 h/dan) odvisen od stresnega stanja rastlin. Ob odsotnosti stresa je magnetno polje stimuliralo kalitev in rast oz. ni dalo statistično značilnih razlik, medtem ko je inhibiralo kalitev in rast kalic izpostavljenim vodnemu stresu. Ružič in Jerman (2002) sta opravila tudi raziskave na vrtni kreši (*Lepidium sativum*), kjer sta pokazala, da kratka izpostavitve rastlin šibkemu magnetnemu polju (50 Hz, 100  $\mu$ T) pred toplotnim stresom ublaži zaviralni učinek toplotnega stresa na rast kalic, medtem ko izpostavitve kalic magnetnemu polju po toplotnem stresu ni imela učinka.

Piacentini in sod. (2001) so etiolirane kalice kumare (*Cucumis sativus*) v temi za dobo 2 tednov izpostavili 50 Hz (100  $\mu$ T) sinusnem EM valovanju. Izpostavljene rastline so imele boljšo rast in podaljšano preživetje, povečano aktivnost superoksid dismutaze (SOD), katalaze in glutation reduktaze – antioksidativnih encimov v listih kotiledona. Monselise in sod. (2003) so žabjo lečo (*Spirodela oligorrhiza*) v temi izpostavili šibkim sinusoidnim magnetnim poljem s frekvenco 60 Hz in 100 Hz, kar je povzročilo akumulacijo alanina. Alanin je znan univerzalni signal za prisotnost stresa v rastlinah (anoksija, osmotski stres, ekstremne temperature, izpostavljenost toksičnim kovinam). Ob dodatku vitamina C, ki zmanjša prisotnost prostih radikalov, se je proizvodnja alanina zmanjšala za 82 %, kar nakazuje njihovo prisotnost ob stresu s šibkim magnetnim poljem. V odsotnosti magnetnega polja ni bilo prekomernega nastajanja alanina.

Tkalec in sod. (2007) so pokazali, da elektromagnetno valovanje v območju RF, predvsem pri 900 MHz povzroči oksidativni stres pri rastlini *Lemna minor*. Njihovi rezultati so pokazali visoko odvisnost od frekvence, jakosti in časa izpostavitve rastlin elektromagnetnemu valovanju. Tudi Roux in sod. (2008) so kmalu po 10 min izpostavitvi rastlin paradižnika (*Lycopersicon esculentum*) šibkemu elektromagnetnemu valovanju (900 MHz, 5 V/m) zaznali povečano koncentracijo mRNA povezano s stresom (mRNA za kalmodulin, od kalcija odvisne protein kinaze in inhibitor proteinaze), vzorec akumulacije pa je spominjal na stresni odziv. Odziv je bil najmočnejši pri običajni koncentraciji  $\text{Ca}^{2+}$  ionov, ter manjši ob povečani koncentraciji. 30 min po izpostavitvi je padla tudi koncentracija ATP.

Na učinke lahko vpliva oblika pulzov nihajočega polja. Huang in Wang (2007) sta semena mungo fižola (*Vigna radiata*) namočila in za 24 h izpostavila 60 Hz sinusnemu ali pulznemu valovanju. Nato sta preverila rast kalčkov, sinusno valovanje je rast izboljšalo, med tem ko ga je pulzno celo nekoliko inhibiralo. Obenem pa je prišlo do zmanjšanja kalivosti izpostavljenih semen, učinek pa je bil večji pri sinusnem polju.

Radhakrishnan in Kumari (2012), ki sta semena soje (*Glycine max*) 20 dni, 5 h na dan izpostavila šibkim pulzom magnetnega polja z gostoto magnetnega pretoka 1,5 mT, pustila kaliti in po 8 dneh rasti primerjala različne parametre. Izpostavljene rastline so se močno razlikovale, imele so boljšo kalivost, večjo biomaso, spremenjen proteinski profil, izmerila pa sta tudi spremenjeno aktivnost številnim encimov (povečana aktivnost  $\beta$ -amilaze, kisle fosfataze, polifenol oksidaze in katalaze ter zmanjšana aktivnost  $\alpha$ -amilaze, alkalne fosfataze, proteaze in nitrat reduktaze). Payez in sod. (2013) so opazili hitrejšo privzem vode in hitrejšo kaljenje semen pšenice (*Triticum aestivum*), če so jih 4 dni zapored za 5 ur izpostavili EM polju s frekvenco 10 kHz, pri čemer so uporabili kvadratne pulze (električna komponenta  $\approx 300$  V/m, magnetna komponenta  $\approx 650$  mA/m). Izpostavljene kalice so bile manjše, obenem pa se je povečala aktivnost katalaze in zmanjšala aktivnost peroksidaze.

Številne druge študije navajajo vplive šibkih elektromagnetnih valovanj na stopnjo aktivnosti membransko vezanih encimov. Blank in sod. (1995) so pokazali, da nihajoča magnetna polja povečajo, električna pa zmanjšajo delovanje Na/Ka ATPaze, pri čemer je vpliv magnetnega polja odvisen od frekvence, manj pa od intenzitete. Učinek je bil večji, če so encim izpostavili neoptimalnim pogojem (nizka temperatura, staranje encima, inhibitorji). Podobno sta Blank in Soo (1998a, 1998b, 2001) pokazala, da 60 Hz nihajoče polje z nizko gostoto magnetnega pretoka (do 10  $\mu\text{T}$ ) poveča aktivnost mitohondrijske citokrom oksidaze v izoliranih mitohondrijih, vpliv pa je odvisen od stanja encima. Bližje kot je optimalni aktivnosti, manjši je učinek magnetnega polja. Tudi v tem primeru je bil vpliv magnetnega polja na citokrom oksidazo odvisen od frekvence, testirala sta frekvence med 10 Hz in

2500 Hz, največjo povečanje stopnje delovanja encima pa sta dobila pri 500 Hz – 1000 Hz. Obratno so Morelli in sod. (2005) z EM valovanjem pri 75 Hz v z gostoto magnetnega pretoka od 73  $\mu\text{T}$  do 151  $\mu\text{T}$  za  $\approx 50\%$  znižali aktivnost nekaterih membransko vezanih encimov (alkalne fosfataze, fosfoglicerat kinaze in acetilholin esteraze). Po drugi strani isto polje ni imelo učinka na  $\text{Ca}^{2+}$  ATPazo,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPazo in sukcinil dehidrogenazo. Zmanjšanje aktivnosti omenjenih encimov je bilo odvisno od časa izpostavljenosti polju in je bilo reverzibilno. Če so encime spravili v raztopino s Tritonom (na ta način so jih ločili od membrane), so učinki EM polja izginili, kar po mnenju avtorjev nakazuje ključno vlogo membrane v samem mehanizmu učinkovanja EM polja na delovanje encimov.

Aleman in sod. (2014) so kalice kave (*Coffea arabica* var. Catuai) v treh različnih fazah rasti za 3 minute izpostavili sinusnemu magnetnemu polju z gostoto magnetnega pretoka 2 mT in s frekvenco 60 Hz. Embrije so najprej 6 tednov gojili *in vitro* in nato prenesli zdrave kalice z 2 listoma v prvo fazo (establishment). Po nadaljnjih 6 tednih so kalice dosegle drugo fazo – fazo pomnoževanja (multiplication phase) – ob kateri so imele rastline 3 liste in primarno korenino. Rastline so nato presadili v 30 mililitrske lončke, napolnjene s prstjo in organskim substratom, in jih gojili še nadaljnje 4 tedne v tretji fazi – fazi aklimacije (acclimation phase). Liste rastlin v različnih fazah so pogledali pod vrstičnim elektronskim mikroskopom in ugotovili večjo nagubanost in debelejšo kutikulo listnih rež izpostavljenih rastlin v fazi pomnoževanja, v fazi aklimacije pa so na izpostavljenih rastlinah zaznali večje količine voska. V parenhimu niso zaznali učinkov, medtem ko so bile stene ksilema bolj debele pri izpostavljenih rastlinah. Zanimivo je tudi, da so opazili različne učinke na neto fotosintezo rastlin, v prvi fazi je bila ta manjša pri izpostavljenih rastlinah, v fazi pomnoževanja in aklimacije pa približno  $2\times$  večja. Prav tako so imele izpostavljene rastline povečano vsebnost klorofila *a* in *b*, ekspresije gena *rbcS1* pa je bila pri izpostavljenih rastlinah povečana le v fazi aklimacije.

Koncentracija  $\text{Ca}^{2+}$  pri navadnem repnjakovcu se tudi spreminja pod vplivom 50 Hz elektromagnetnega valovanja, saj je ta frekvenca enaki  $\text{Ca}^{2+}$  ionski ciklotronski resonanci. Pazur in Rassadina (2009) sta v statičnem magnetnem polju z gostoto magnetnega pretoka 65  $\mu\text{T}$  (velikosti Zemljinega magnetnega polja) kalice navadnega repnjakovca (*Arabidopsis thaliana*) hkrati izpostavila tudi 50 Hz sinusnemu elektromagnetnemu valovanju 30, 60 ali 90 min. Kmalu po izpostavitvi sta opazila povečano koncentracijo prostega kalcija, ki se je nato normalizirala, do porasta pa je prišlo ponovno po prenehanju elektromagnetnega valovanja. Učinek je bil najbolj izrazit, v kolikor sta gostota magnetnega pretoka statičnega polja in frekvenca nihajočega polja odgovarjali  $\text{Ca}^{2+}$  ciklotronski resonanci.

Bilalis in sod. (2012) so skupaj s pulznim magnetnim poljem neukoreninjene potaknjence (=potaknjene brez kalusa in korenin) origana (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum* (Link)

Ietsw) izpostavili tudi hormonskemu pripravku za stimulacijo rasti korenin (vsebujoč indol-3-butanojsko kislino IBA). Izpostavitvev polju je trajal 30 min (1 MHz, 12,5 mT), nato pa so potaknjence gojili 51 in 91 dni ter primerjali rast in razvitost korenin. EM polje je v obeh poskusih povečalo dolžino korenin, površino korenin in suho maso korenin v primerjavi z rastlinami kontrole vsaj za toliko, kot hormonski pripravek (ali bolje), medtem ko je hkratna izpostavitvev pulznemu magnetnemu polju in hormonskemu pripravku dala najslabše rezultate.



## 2.9 VPLIVI MAGNETNEGA POLJA NA GOJIŠČE

Poleg vpliva na organizem, pa EM polja lahko vplivajo tudi na fizikalne lastnosti gojišča. Eden prvih opaženih vplivov magnetnega polja na vodo je bilo spremenjeno nalaganje kalcijevega karbonata na cevi, skozi katere je tekla voda. Čeprav so rezultati poskusov včasih nasprotujoči, pa večji del literature kaže, da magnetno polje vpliva na percipitacijo kalcijevega karbonata (Baker in Judd, 1996)

Tako se je v vodi, ki so jo za 5 do 30 min izpostavili močnemu statičnemu magnetnemu polju (160 mT) zmanjšala topnost kalcijevega karbonata ( $\text{CaCO}_3$ ) in povečalo njegovo izločanje v vodi brez nalaganja na stene cevi iz različnih materialov (Alimi in sod., 2006; Alimi in sod., 2009). Mwaba in sod. (2007) so opazili spremembe v kristalni strukturi izločenega kalcijevega sulfata ( $\text{CaSO}_4$ ) v vodi, izpostavljeni magnetnemu polju z gostoto magnetnega pretoka do 100 mT (stoječa voda je bila izpostavljena magnetnemu polju 60 s, 2 h, 4 h), nastali kristali pa bi naj bili bolj krhki in zato je verjetnost nalaganja kalcija na stene cevi manjša. Tudi visokofrekvenčno električno polje 13,56 MHz in 27,12 MHz do 50 % zmanjša izločanje kalcijevega karbonata iz vode, ki so jo črpali skozi bakreno cev (Tijing in sod., 2011).

Holysz in sod. so npr. ugotovili, da 5 minutna izpostavitvev statičnemu magnetnemu polju spremeni prevodnost elektrolitov v odvisnosti od lastnosti ionov in debeline njihovega hidratacijskega ovoja ter vpliva na hitrost evaporacije vode tako pri stoječih vzorcih, kot v pretočnem sistemu (Holysz in sod., 2007; Szczes in sod., 2011). Chang in Weng (2008) pa sta pokazala, da izpostavitvev zelo močnemu statičnemu magnetnemu polju z gostoto magnetnega pretoka 1 T do 10 T poveča število vodikovih vezi v šibkih elektrolitih (1 M NaCl) in zmanjša število vodikovih vezi v močnih elektrolitih (5 M NaCl), v vsakem primeru pa se zaradi vpliva magnetnega polja poveča mobilnost ionov.

Pang in Deng sta tudi ugotovila, da izpostavitvev vode močnemu statičnemu magnetnemu polju (440 mT) za 15 min zmanjša njeno površinsko napetost in viskoznost, poveča električno prevodnost in dielektrično konstanto ter spremeni absorpcijski spekter vode v območju UV in IR svetlobe (Deng in Pang, 2007; Pang in Deng, 2008; Pang in Deng, 2009).

Mohassel in sod. (2009) so pokazali, da uporaba močnega statičnega magnetnega polja (700 mT) zmanjša površinsko napetost vode in tako poveča učinkovitost delovanja izbrane aktivne snovi (herbicide), vendar manj učinkovito kot uporaba kemičnih pripravkov za zniževanje površinske napetosti, hkratna uporaba obojega pa je dala najboljše rezultate.

Poleg vpliva na fizikalne lastnosti pa ima magnetno obdelana voda tudi opažene spodbujevalne biološke učinke na rastline. Grewal in Maheshwari (2011) sta tako ugotovila izboljšano rast rastlin čičerike (*Cicer arietinum*) in graha (*Pisum sativum*), če sta semena pred kalitvijo izpostavila magnetnemu polju z gostoto magnetnega pretoka med 3,5 mT in 136 mT. Prav tako je bila rast boljša, če sta magnetnemu polju izpostavila zgolj vodo za zalivanje poskusnih rastlin. Izpostavljene rastline so hitreje kalile, po 20 dneh imele večjo suho maso (čičerika 25 %, grah 20 %) in imele povečano vsebnost hranil. Opaženi učinek pripisujeta ugotovljenemu znižanju pH in povišani električni prevodnosti.

Dubois in sod. (2013) ugotavljajo, da se v plodovih paradižnika (*Solanum lycopersicum*) podvoji vsebnost antioksidantov (polifenolne in flavinoidne spojine), v kolikor so rastline zalivali z vodo, ki so jo izpostavili statičnemu magnetnemu polju z gostoto magnetnega pretoka 30 mT, 100 mT in 150 mT.

Rastline boba (*Vicia faba*), ki so jih zalivali z vodo izpostavljeno magnetnemu polju, so bile višje, imele so večje liste in večjo suho maso. Izpostavljene rastline so imele tudi višjo vsebnost fotosinteznih barvil in višjo fotokemično učinkovitost FSII ter višjo vsebnost hranil (Sayed, 2014).

Opaženi učinki so v večini primerov povezani z zelo močnimi statičnimi magnetnimi polji, zato bi v našem primeru največje učinke pričakovali v poskusih v močnem statičnem polju.

### 3 MATERIALI IN METODE

#### 3.1 POSKUSNE RASTLINE

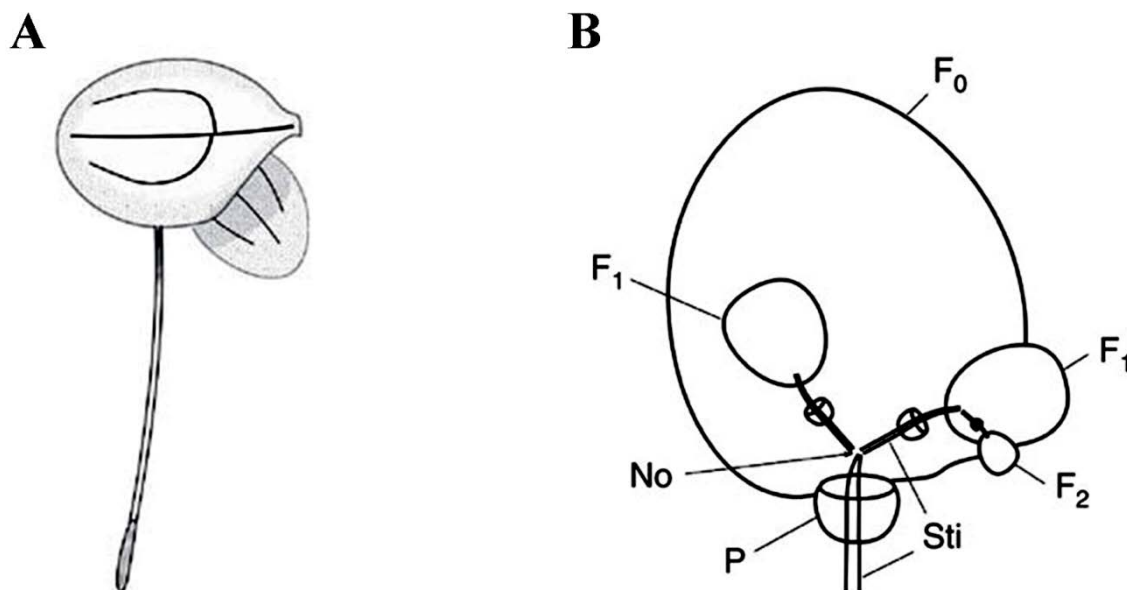
Za poskusni objekt smo izbrali organizem mala vodna leča (*Lemna minor* L.). Vrsta *Lemna minor* je vodni makrofit, in sodi med modelne poskusne objekte. Njena majhnost, preprosta zgradba, hitrost rasti in sposobnost, da tvori genetsko enake klone, jo uvršča med priljubljene poskusne objekte na področju rastlinske genetike, fiziologije rastlin, ekologije rastlin in monitoringa. Zelo pogosto se uporablja za testiranje vplivov različnih pesticidov (Kumar in Han, 2011).

Vrsto *Lemna minor* uvrščamo v družino vodolečevk (Lemnaceae), ki združuje več drobnih vodnih enokaličnic, za katere je značilna redukcija in zmanjšanje organov ter kozmopolitska razširjenost, kar dodatno otežuje njihovo taksonomijo in sistematiko. Običajno jo delimo v dve poddružini: parafiletsko Lemnoideae z rodovi *Spirodela*, *Landoltia* in *Lemna* ter monofiletsko Wolffioideae z rodovoma *Wolffiella* in *Wolffia* (Les in sod., 2002).

V naravi najbolje uspeva v mirnih vodnih telesih (ribniki, mlake, vodni jarki) z večjo koncentracijo nitratov in fosfatov (Martinčič in sod., 1999). Zaradi hitre vegetativne rasti lahko preraste večje vodne površine, tvori svojevrsten habitat za številne nevretenčarje, zaradi senčenja pa lahko zmanjšuje rast alg in potopljenih makrofitov. Je pomemben vir hrane številnim vodnim organizmom, tudi herbivornim ribam (Hillman, 1961).

Rastlina *Lemna minor* ima steblo preoblikovano v stebelni členek, ki je ovalne oblike 3 do 6 mm dolg in 1,5 do 4 mm širok. Stebelni členki imajo običajno 3 žile in eno ali več plasti aerenhima (zračnega gobastega tkiva), sicer pa vsebuje večino nestrukturiranega metabolno aktivnega tkiva. Hranila sprejemajo skozi celotno površino lista (in ne zgolj preko korenine). Rastline rastejo posamič ali v koloniji iz 2 do 5 stebelnih členkov z eno korenino. Ob ugodnih rastnih razmerah (visoke temperature in dolga fotoperioda) lahko rastline cvetijo, en členek pa v svojem življenju proizvede največ 1 cvet, ki je brez cvetnega odevala in sestoji iz 1 pestiča in 1 do 2 prašnikov, ki so nameščeni na zgornji strani členka v vrečasti vdolbinici (Hillman, 1961; Daubs, 1965).

Večinoma se rastlina *Lemna minor* razmnožuje vegetativno. Novi stebelni členki nastajajo v meristemih na bazi členka v brstnem mešičku kot kaže slika 25. Hčerinski členki (F<sub>1</sub>) izvirajo iz nodija materinskega členka in z materinsko rastlino ostanejo povezani preko stipule (prilista – St). Na hčerinskih členkih lahko začnejo poganjati novi členki (F<sub>2</sub>), preden so prvi v celoti dozoreli. Adventne korenine so pritrjene v brakteji (ovršni list, P) (Wang in sod., 2014).



**Slika 25:** Mala vodna leča (*Lemna minor*) (Wang in sod., 2014). A) Kolonija rastline *Lemna minor* sestavljena iz 1 materinskega in 1 hčerinskega stebelnega členska. B) Nastajanje novih členkov: No – nodij, Sti – stipula, P – brakteja, F<sub>0</sub> – materinski členek, F<sub>1</sub> – hčerinski členek prve generacije, F<sub>2</sub> – hčerinski členek druge generacije.

**Figure 25:** Lesser duckweed (*Lemna minor*) (Wang et al., 2014). A) *Lemna minor* colony consists from 1 mother frond and 1 daughter frond. B) Forming of new fronds: No – node, Sti – stipule, P – prophyllum, F<sub>0</sub> – mother frond, F<sub>1</sub> – first generation daughter frond, F<sub>2</sub> – second generation daughter frond.

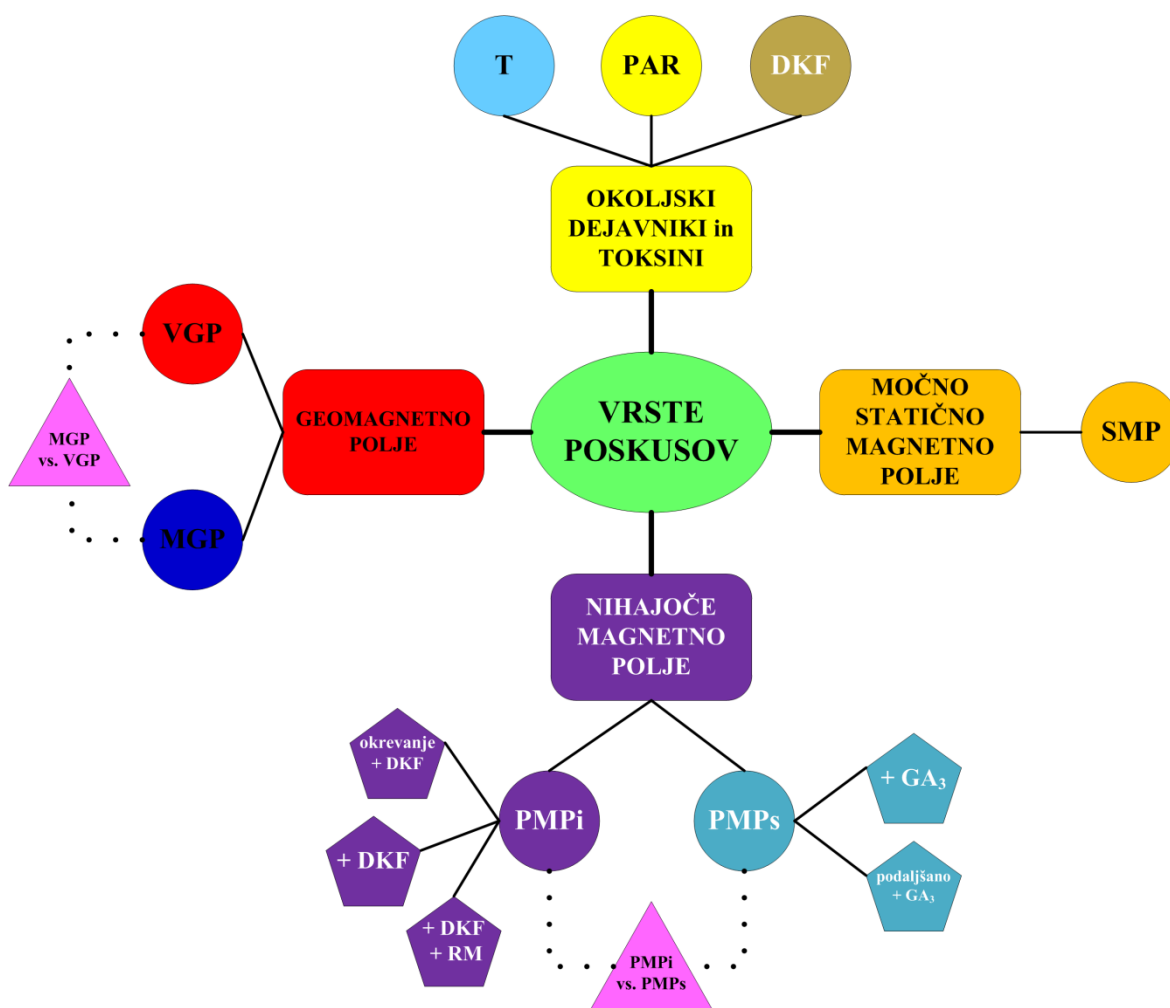
Rastline za trajno kulturo smo pridobili pri doc. dr. Andreji Žgajnar Gotvajn iz laboratorijske kulture Katedre za kemijsko, biokemijsko in ekološko inženirstvo Fakultete za kemijo in kemijsko tehnologijo Univerze v Ljubljani. Trajno kulturo rastlin smo vzdrževali v 2 L čašah, ki so bile pokrite s steklenim pokrovom petrijevke. V čašo smo dodali 1 L sterilnega gojišča (modificirano Steinbergovo gojišče) in nekaj na videz zdravih in nepoškodovanih rastlin. Trajno kulturo smo inkubirali v termostatski komori IS-190 (Kambič, Semič, Slovenija) pri 25 °C in 24 h osvetlitvi z gostoto toka fotonov fotosintezno aktivnega spektra (PPFD)  $\approx 65 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , ki so ga zagotavljale fluorescentne sijalke s hladno belo svetlobo. Kulturo smo tedensko obnavljali tako, da smo nekaj rastlin sprali v sterilni destilirani vodi in jih prenesli v drugo sterilno čašo s svežim gojiščem. V enem poskusu smo uporabili le rastline iz iste čaše.

## 3.2 POSKUSNA ZASNOVA IN POSKUSNE ENOTE

### 3.2.1 Vrste poskusov

V času od 19.2.2012 do 22.4.2014 smo izvedli več serij različnih poskusov, ki so na sliki 26 prikazane s krogom. Del poskusov se je nanašal na oceno vpliva temperature (T), svetlobe (PAR) in 3,5-diklorofenola (DKF) na stopnjo rasti in fotokemično učinkovitost FSII ter JIP parametre rastlin *Lemna minor*. Enak poskusni sistem smo uporabili za preverjanje treh različnih magnetnih polj na iste parametre: vpliv zmanjšanega (MGP) in povečanega (VGP) geomagnetnega polja ter njuna primerjava; vpliv močnega statičnega magnetnega polja (SMP); vpliv nihajočega magnetnega polja, kjer smo uporabili 2 različna nabora frekvenc (PMPs in PMPi) ter njuna primerjava. V sklopu poskusov v nihajočem magnetnem polju smo izvedli tudi dodatne poskuse (na sliki 26 prikazani kot petkotnik) kjer smo:

- preverjali vpliva nihajočega magnetnega polja in koncentracije DKF (+DKF) ter v nadaljevanju poskusa preverjali tudi vpliv na hitrost okrevanja rastlin po odstranitvi stresnih razmer (okrevanje +DKF) na spremljane parametre rastlin *Lemna minor*,
- preverjali vplive nihajočega magnetnega polja, koncentracije DKF in predizpostavitve gojišča (+GO) nihajočemu magnetnemu polju na spremljane parametre rastlin *Lemna minor*,
- preverjali vpliva nihajočega magnetnega polja in koncentracije giberelinske kisline (+GA<sub>3</sub>) na spremljane parametre rastlin *Lemna minor*,
- preverjali vplive nihajočega magnetnega polja, koncentracije GA<sub>3</sub> in podaljšane inkubacije (podaljšano +GA<sub>3</sub>) na spremljane parametre rastlin *Lemna minor*,



**Slika 26: Vrste poskusov.** Pravokotnik – kategorija poskusov, krog – serija poskusov z istim fiksnim dejavnikom, petkotnik – posebne izvedbe poskusov z dodatnimi fiksnimi dejavniki, trikotnik – primerjava sorodnih serij poskusov z uporabo normiranih podatkov. VGP – povečano geomagnetno polje; MGP – zmanjšano geomagnetno polje; SMP – močno statično magnetno polje; PMPi – nihajoče magnetno polje z naborom frekvenc »i«; PMPs – nihajoče magnetno polje z naborom frekvenc »s«; GO – predizpostavitev gojišča; DKF – dodatek 3,5-diklorofenola; GA<sub>3</sub> – dodatek giberelinske kisline.

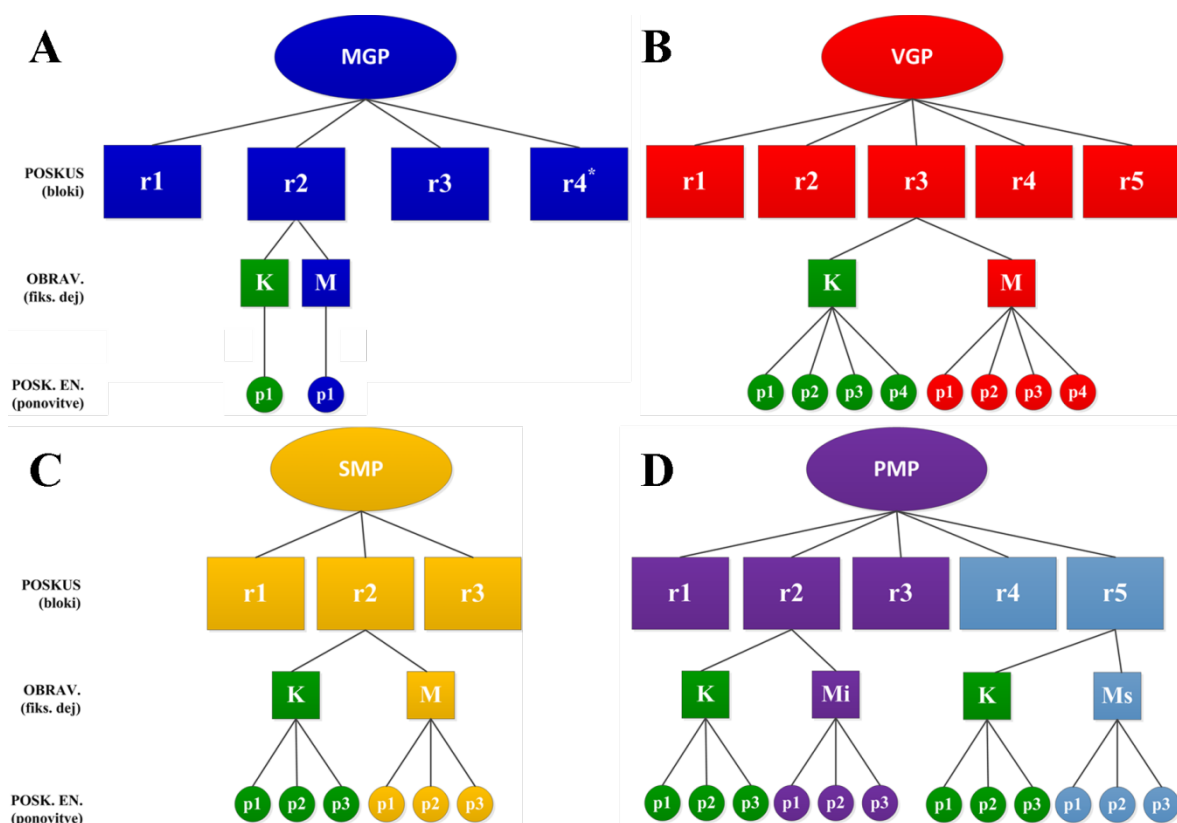
**Figure 26: Type of experiments.** Rectangle – experiment category, circle – series of experiments with the same fixed factor, pentagon – special experiments with more fixed factors, triangle – comparison of normalized data from similar experiments. VGP – enhanced geomagnetic field; MGP – reduced geomagnetic field; SMP – strong static magnetic field; PMPi – changing magnetic field with “i” frequency set; PMPs – changing magnetic field with “s” frequency set; GO – pre-exposure of the growth media; DKF – addition of 3,5-dichlorophenole to the growth media; GA<sub>3</sub> – addition of gibberellic acid to the growth media.

### 3.2.2 Zasnova poskusa

V večini primerov je poskusna zasnova ustrezala popolnim slučajnim blokom (RCBD – randomized complete block design; slika 27 A) ali posplošenim slučajnim blokom (GRBD – generalized randomized block design) (slika 27 B, C, D). RCBD zasnova pomeni, da imamo v vsakem bloku po eno ponovitev vsakega obravnavanja (eno poskusno enoto), enote pa so znotraj bloka slučajno dodeljene obravnavanjem (Montgomery, 2000: str. 127). GRBD je podoben RCBD, le da imamo znotraj enega obravnavanja v bloku več ponovitev (poskusnih enot) (Addelman, 1969; Gates, 1995).

Posebne izvedbe poskusov v nihajočem magnetnem polju smo analizirali kot polni dvo ali trofaktorski poskus (Slika 28), kjer smo poleg prvega dejavnika (magnetno polje) obravnavali tudi drugi dejavnik strup 3,5-diklorofenol ali pa giberelinsko kislino, ki smo ju dodali v gojišče. V enem izmed poskusov smo kot tretji dejavnik uporabili tudi predizpostavitev gojišča nihajočemu magnetnemu polju.

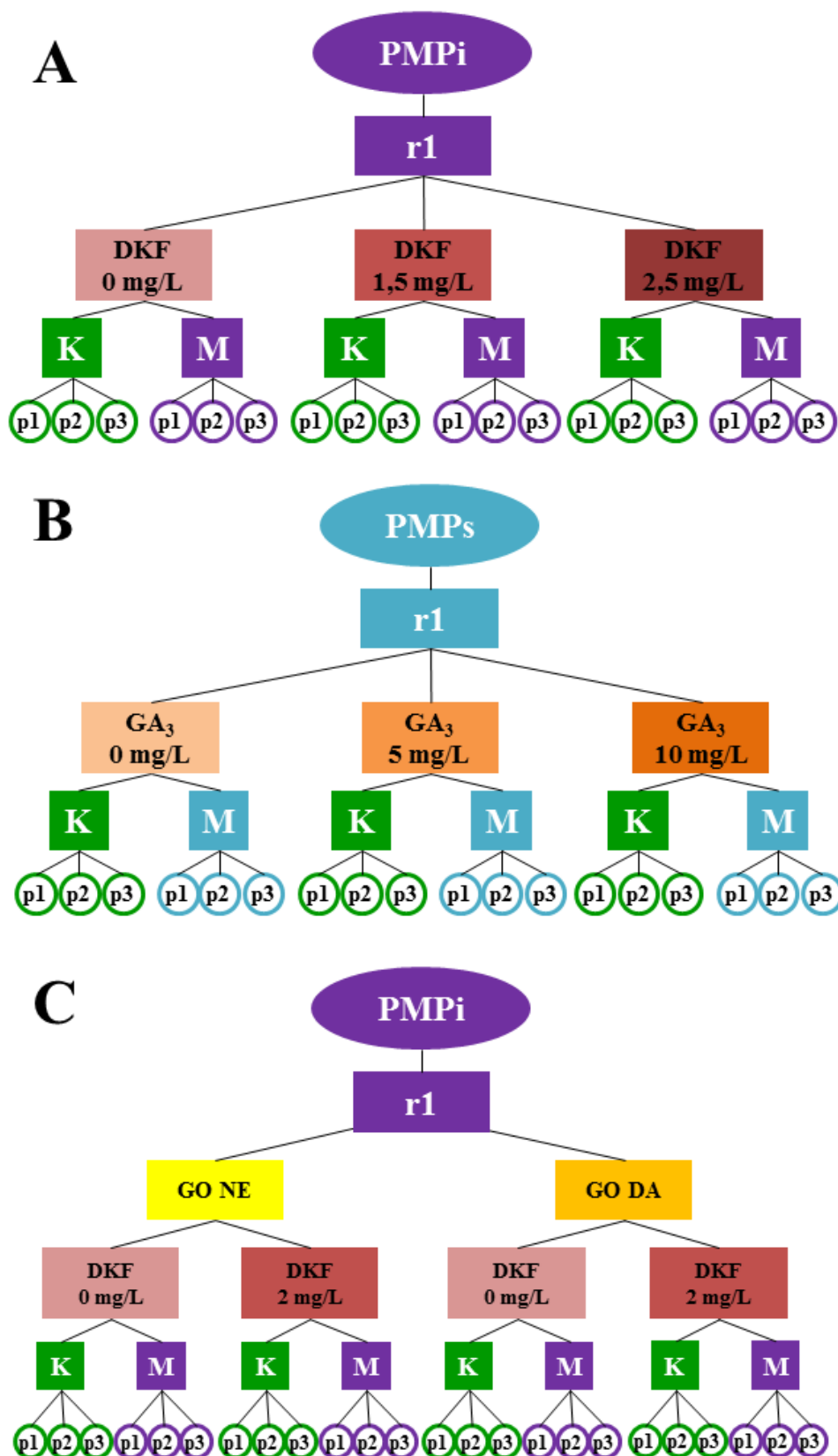
Podobne poskuse smo med seboj primerjali ali z uporabo normiranih povprečnih vrednosti (Slika 29), kot je to v primeru poskusov v zmanjšanem ali povečanem geomagnetnem polju, kjer se je število poskusnih enot znotraj posameznega poskusa razlikovalo, v kolikor pa je šlo za enake poskusne zasnove, pa smo obravnavanje modelirali kot dodatni fiksni dejavnik v modelu (Slika 29 B).



**Slika 27: Osnovne zasnove poskusov glede na statistično analizo.** Posamezna izvedba poskusa je bila modelirana kot blok (r – naključni dejavnik), obravnavanje kot fiksni dejavnik v modelu, poskusna enota (kristalizirka) pa je bila obravnavana kot ponovitev. A) Popolni slučajni bloki (RCBD) za poskuse v zmanjšanem geomagnetnem polju (vsak blok ima 1 ponovitev vsakega obravnavanja); B) Posplošeni slučajni bloki (GRBD) za poskuse v povečanem geomagnetnem polju (vsak blok ima 4 ponovitve vsakega obravnavanja); C) GRBD za poskuse v močnem statičnem magnetnem polju (vsak blok ima 3 ponovitve vsakega obravnavanja); D) GRBD za poskuse v nihajočem magnetnem polju (vsak blok ima 3 ponovitve vsakega obravnavanja). Nihajoče MP je imelo drugačno frekvenčno sestavo v poskusih št. 4 in št. 5. VGP – povečano geomagnetno polje; MGP – zmanjšano geomagnetno polje; SMP – močno statično magnetno polje; PMP – nihajoče magnetno polje; K – kontrola; M – obravnavanje z magnetnim poljem; Mi – obravnavanje z nihajočim magnetnim poljem z naborom frekvenc »i«; Ms – obravnavanje z nihajočim magnetnim poljem z naborom frekvenc »s«; r 1, 2, 3, 4, 5 – blok oz ponovitev poskusa; p 1, 2, 3, 4 – poskusna enota oz. ponovitev znotraj istega obravnavanja.

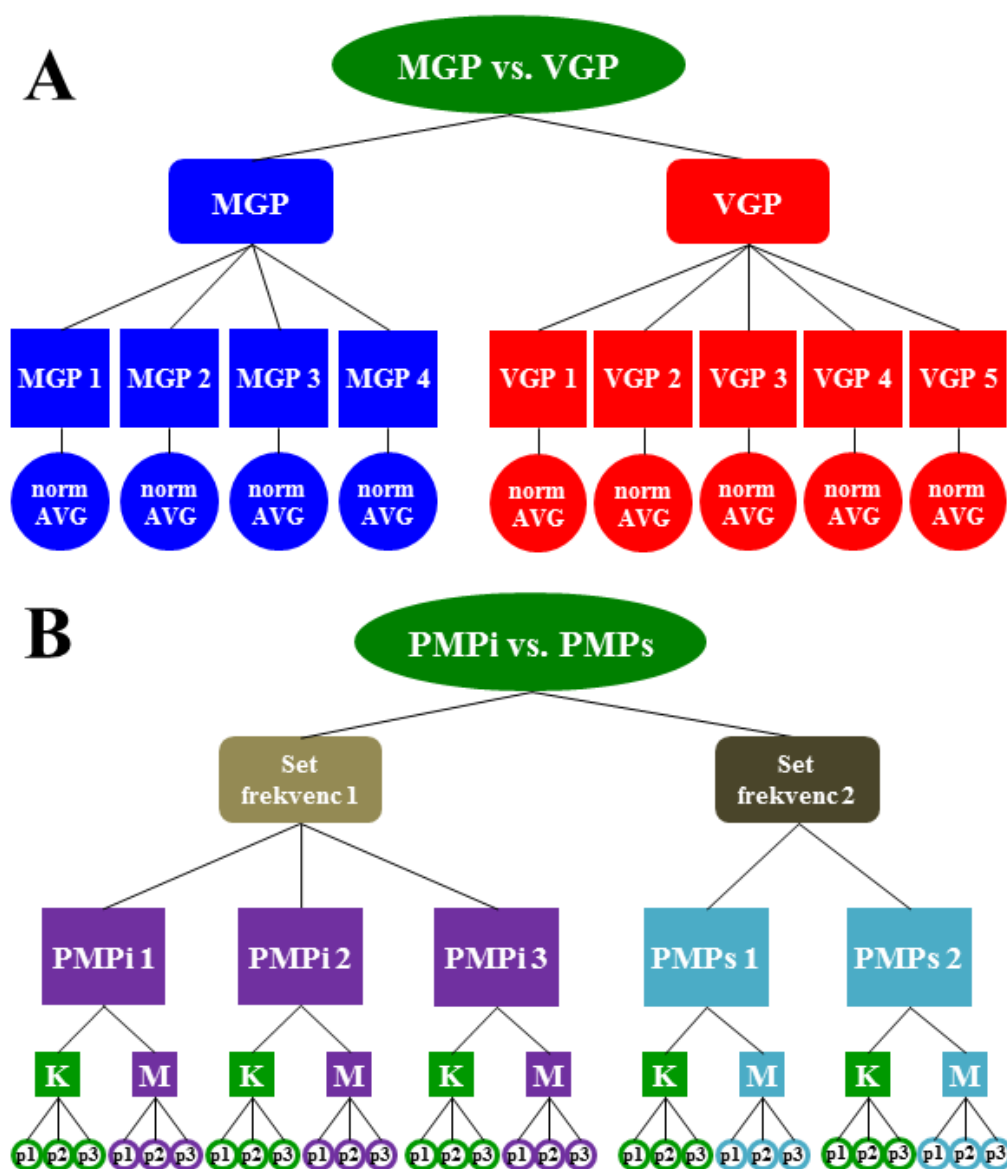
**Figure 27: Basic experimental designs and statistical analysis.** A) Randomized complete block design (RCBD) for the experiment in the reduced geomagnetic field (each block has only 1 repetition of each treatment); B) Generalized randomized block design (GRBD) for the experiments in the enhanced geomagnetic field (each block has 4 repetitions of each treatment); C) GRBD for the experiments in the strong static magnetic field (each block has 3 repetitions of each treatment); D) GRBD for the experiments in changing magnetic field (each block has 3 repetitions in each treatment). VGP – enhanced geomagnetic field; MGP – reduced geomagnetic field; SMP – strong static magnetic field; K – control; M – magnetic field treatment; Mi – changing magnetic field treatment with “i” frequency set; Ms – changing magnetic field with “s” frequency set; r 1, 2, 3, 4, 5 – block/ duplication of the experiment; p 1, 2, 3, 4 – repetition within the same treatment.





**Slika 28: Večfaktorske zasnove poskusov.** Prikazai so trije ločeni poskusi v nihajočem magnetnem polju, kjer smo uporabili dva ali tri fiksne dejavnike. A) Dvofaktorski poskus v nihajočem magnetnem polju z domnevno zaviralnimi frekvencami in 3 različnimi koncentracijami 3,5-diklorofenola. B) Dvofaktorski poskus v nihajočem magnetnem polju z domnevno spodbujevalnimi frekvencami in 3 različnimi koncentracijami giberelinske kisline. C) Trofaktorski poskus v nihajočem magnetnem polju z domnevno zaviralnimi frekvencami, 2 različnima koncentracijama 3,5-diklorofenola in predizpostavitvijo gojišča nihajočemu magnetnemu polju. PMPi – nihajoče magnetno polje z naborom frekvenc »i«; PMPs – nihajoče magnetno polje z naborom frekvenc »s«; K – kontrola; M – obravnavanje z magnetnim poljem; r1 – blok oz ponovitev poskusa; p 1, 2, 3 – poskusna enota oz. ponovitev znotraj istega obravnavanja; DKF – 3,5-diklorofenol; GA<sub>3</sub> – giberelinska kislina; GO NE – gojišče ni predizpostavljeno; GO DA – predizpostavljeno gojišče.

**Figure 28: Multifactorial experimental designs.** Separate experiments in changing magnetic field with two or three fixed factors are shown. A) Two factorial experiment in changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies and 3 different concentrations of 3,5-dichlorophenol. B) Two factorial experiment in changing magnetic field with supposedly stimulator frequencies and 3 different concentrations of gibberellic acid. C) Three factorial experiment in changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies, 2 different concentrations of 3,5-dichlorophenol and with or without pre-exposure of growth medium to changing magnetic field. PMPi – changing magnetic field treatment with “i” frequency set; PMPs – changing magnetic field with “s” frequency set; K – control; M – magnetic field treatment; r1 – block/ duplication of the experiment; p 1, 2, 3 – repetition within the same treatment; DKF – 3,5-dichlorophenol; GA<sub>3</sub> – gibberellic acid; GO NE – growth medium without pre-exposure; GO DA – growth medium that was pre-exposed to changing magnetic field.



**Slika 29: Primerjava podobnih poskusov.** A) Primerjava povprečnih normiranih vrednosti sicer ločenih poskusov v zmanjšanem in povečanem geomagnetnem polju. B) Primerjava izmerjenih vrednosti sicer ločenih poskusov PMPi in PMPs. VGP – povečano geomagnetno polje; MGP – zmanjšano geomagnetno polje; norm AVG – povprečne normirane vrednosti znotraj posameznega poskusa, PMPi – nihajoče magnetno polje z naborom frekvenc »i«; PMPs – nihajoče magnetno polje z naborom frekvenc »s«; K – kontrola; M – obravnavanje z magnetnim poljem; p 1, 2, 3 – poskusna enota oz. ponovitev znotraj istega obravnavanja.

**Figure 29: Comparison of similar experiments.** Two comparisons of similar experiments are shown, first used normalised average values and the other used measured data. A) Comparison of average normalized values of separate experiments in reduced or enhanced geomagnetic field. B) Comparison of measured values of separate experiments PMPi and PMPs. VGP – enhanced geomagnetic field; MGP – reduced geomagnetic field; norm AVG – average normalized values of separate experiments; PMPi – changing magnetic field treatment with “i” frequency set; PMPs – changing magnetic field with “s” frequency set; K – control; M – magnetic field treatment; p 1, 2, 3 – repetition within the same treatment.

### 3.2.3 Poskusna enota

V vseh primerih je bila poskusna enota kristalizirka z dodanimi rastlinami in gojiščem. Uporabili smo sterilne 300 mL kristalizirke ( $d = 95$  mm), v katere smo dodali bodisi 150 mL (poskusi v geomagnetnem polju in nihajočem magnetnem polju ter pri preverjanju vpliva okoljskih dejavnikov) bodisi 75 mL gojišča (poskusi v močnem statičnem magnetnem polju) ter v vsako kristalizirko prenesli zdrave rastline v eksponentni fazi rasti z 2 do 4 stebelnimi členki. Skupno smo v vsako kristalizirko dodali 3 do 4 rastline z 10 do 12 stebelnimi členki (slika 30 A), pri čemer je bilo število rastlin in stebelnih členkov znotraj enega poskusa enako za vse poskusne enote. Kristalizirke smo pokrili s sterilnimi pokrovi petrijevok ( $d = 100$  mm) in jih naključno dodelili v obravnavanja, bodisi kontrolne bodisi izpostavljene preučevanemu magnetnemu polju oz. drugemu dejavniku ter jih inkubirali v ločenih rastnih komorah. Pri prvem poskusu v seriji smo obravnavanje naključno dodelili eni rastni komori, nato pa smo pri ponovljenih poskusih alternirali med obema komorama. Število poskusnih enot smo prilagajali tipu poskusa tako, da smo lahko znotraj posameznega poskusa zagotovili homogene svetlobne in temperaturne razmere ter enakomerno magnetno polje. Število poskusnih enot in veljavnih ponovitev poskusov prikazuje preglednica 6.

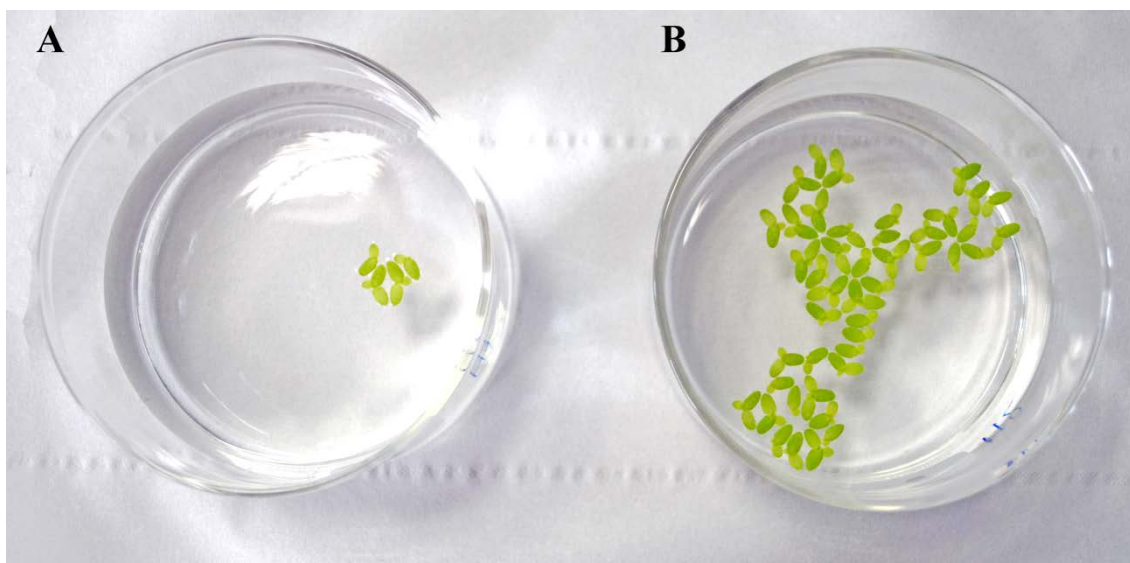
**Preglednica 6: Različne vrste izvedenih poskusov.** Prikazana je vrsta poskusa, vir magnetnega polja (MP), gostota magnetnega pretoka, število obravnavanj, poskusnih enot in ponovitev poskusov ter poskusna zasnova.

**Table 6: Types of experiments run.** Type of experiment, source of the magnetic field (MP), magnetic flux density, number of treatments, experimental units and experiment replications, experimental design are shown.

Vrsta poskusa	Vir MP	Gostota mag. pretoka		Dodatna obravnavanja	Št. poskusnih enot na obrav.	Ponovit. poskusov
		Kontrola	MP			
<b>MGP</b>	3D sistem tuljav	30 $\mu$ T	4 $\mu$ T		1	4 <sup>a</sup>
<b>VGP</b>	3D sistem tuljav	30 $\mu$ T	100 $\mu$ T		4	5
<b>SMP</b>	N50 magnet	30 $\mu$ T	150 mT		3	3
<b>PMPi</b>	Selenoidna tul.	30 $\mu$ T	80 $\mu$ T		3	3
<b>PMPs</b>	Selenoidna tul.	30 $\mu$ T	95 $\mu$ T		3	2
<b>PMPi +DKF</b>	Selenoidna tul.	30 $\mu$ T	80 $\mu$ T	3 koncentracije DKF	3	1
<b>PMPi +DKF_okr<sup>b</sup></b>	Selenoidna tul.	30 $\mu$ T	80 $\mu$ T	3 koncentracije DKF	3	1
<b>PMPi +DKF +GO</b>	Selenoidna tul.	30 $\mu$ T	80 $\mu$ T	3 koncentracije DKF gojišče predizpostavljeno MP	3	1
<b>PMPs +GA<sub>3</sub></b>	Selenoidna tul.	30 $\mu$ T	95 $\mu$ T	2 koncentraciji GA <sub>3</sub>	3	1
<b>PMPs +GA<sub>3</sub>_pod<sup>c</sup></b>	Selenoidna tul.	30 $\mu$ T	95 $\mu$ T	3 koncentracije GA <sub>3</sub>	3	1

<sup>a</sup> meritve hitre kinetike so bile izvedene le v 3 poskusih; <sup>b</sup> vpliv na fazo okrevanja; <sup>c</sup> podaljšana faza izpostavitve.

Za vsako kristalizirko smo izdelali senčnike iz črnega kartona, ki so preprečevali vstop svetlobe od spodaj in od strani do višine gojišča. Tako smo zagotovili, da so rastline prejemale svetlobo le od zgoraj.



**Slika 30: Poskusna enota na začetku (A) in zaključku (B) poskusa.** Levo (A) vidimo 4 rastline s skupno 10 stebelnih členki, desno pa je rezultat eksponentne rasti rastlin po sedmih dneh inkubacije, ko smo našeli 131 stebelnih členkov.

**Figure 30: Experimental unit at the beginning (A) and end (B) of the experiment.** On the left side (A) we can see 4 plant colonies with 10 fronds altogether. On the right we see the end result of a seven day incubation. We counted 131 fronds.

### 3.3 GOJIŠČE

Trajno kulturo in poskusne rastline smo gojili v modificiranem Steinbergovem gojišču (ISO 20097; 2005), njegovo sestavo prikazuje preglednica 7. Gojišče smo pripravljali ob gorilniku iz sterilnih založnih raztopin (preglednica 8). Za 1 L gojišča smo v 925 mL sterilne destilirane vode dodali 20 mL založne raztopine 1, 2 in 3 ter 1 mL založne raztopine 4, 5, 6, 7 in 8. Nato smo z dodajanjem NaOH ali HCl uravnali pH na 5,5 (pH meter Voltcraft PH-100ATC, Conrad Electronic SE, Hirschau, Nemčija) ter dopolnili s sterilno destilirano vodo do 1000 mL.

Pri poskusih v geomagnetnem polju smo uporabili statični rastni režim, medtem ko smo pri poskusih v močnem statičnem in nihajočem polju uporabili semistatičen rastni režim – gojišče smo zamenjali po petih dneh inkubacije v podaljšanih poskusih pa tudi po sedmih, desetih in dvanajstih dneh inkubacije.

**Preglednica 7: Sestava modificiranega Steinbergovega gojišča (ISO 20097; 2005).**

**Table 7: Modified Steinberg medium (ISO 20097; 2005).**

<b>MAKROELEMENTI</b>	<b>Molska masa</b> [g/mol]	<b>Koncentracija</b> [mg/L]	<b>Molarnost</b> [mM]	<b>Proizvajalec</b>
KNO <sub>3</sub>	101,12	350,00	3,46	Kemika
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	236,15	295,00	1,25	Kemika
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	136,09	90,00	0,66	Fluka
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	174,18	12,60	0,072	Riedel-de Haën
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	246,37	100,00	0,41	Sigma-Aldrich
<b>MIKROELEMENTI</b>	<b>Molska masa</b> [g/mol]	<b>Koncentracija</b> [µg/L]	<b>Molarnost</b> [µM]	<b>Proizvajalec</b>
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	61,83	120,00	1,94	Kemika
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	287,43	180,00	0,63	Kemika
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	241,92	44,00	0,18	Kemika
MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	197,84	180,00	0,91	Kemika
FeCl <sub>3</sub> (bv)	162,20	456,21	2,81	Riedel-de Haën
EDTA	372,24	1 500,00	4,03	Riedel-de Haën

**Preglednica 8: Založne raztopine za pripravo mod. Stainbergovega gojišča (ISO 20097; 2005).**

Table 8: Stock solutions for the modified Stainberg medium (ISO 20097; 2005).

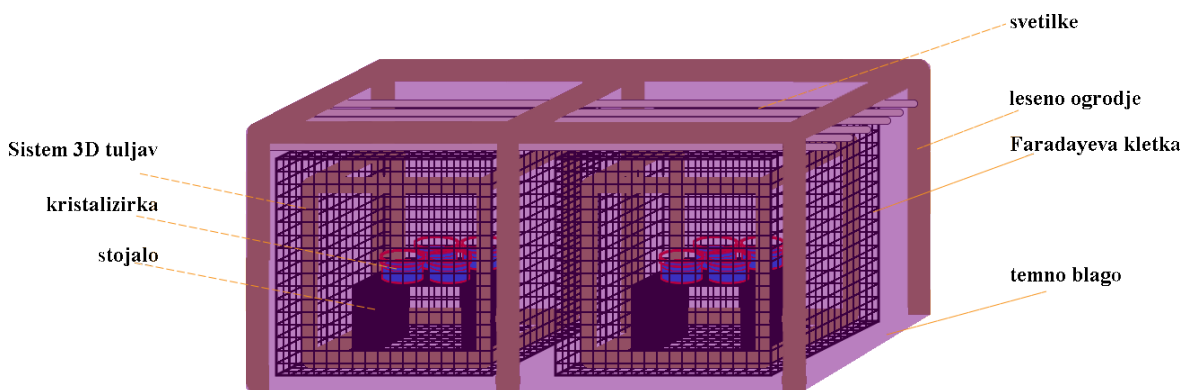
<b>MAKROELEMENTI</b> (50× konc.)	<b>Raztopina</b>	<b>Koncentracija</b> [g/L]	<b>Sterilizacija</b>
KNO <sub>3</sub>	1	17,50	Avk. (121 °C, 20 min)
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>		4,50	
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>		0,63	
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	2	14,57	Avk. (121 °C, 20 min)
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	3	5,00	Avk. (121 °C, 20 min)
<b>MIKROELEMENTI</b> (1000× konc.)	<b>Raztopina</b>	<b>Koncentracija</b> [mg/L]	<b>Sterilizacija</b>
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	4	120,00	Avk. (121 °C, 20 min)
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	5	180,00	Avk. (121 °C, 20 min)
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	6	44,00	Avk. (121 °C, 20 min)
MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	7	180,00	Avk. (121 °C, 20 min)
FeCl <sub>3</sub> (bv)	8	456,21	Filtracija (0,2 µm)
EDTA		1 500,00	

### 3.4 RASTNE KOMORE IN RASTNE RAZMERE

Za poskuse smo uporabili 2 tipa rastnih komor, odvisno od dimenzij sistema za generiranje magnetnega polja.

#### 3.4.1 Rastna komora za poskuse v spremenjenem geomagnetnem polju

Za poskuse v geomagnetnem polju smo na inštitutu Bion izdelali posebno rastno komoro, v katero smo vstavili 2 ločeni ozemljeni Faradayevi kletki (slika 31). V eno Faradayevo kletko smo vstavili kockasto ogrodje s 3D sistemom tuljav za generiranje statičnega magnetnega polja, v drugo kletko pa kopijo kockastega ogrodja brez tuljav. V sredino posameznega ogrodja smo namestili črno (nereflektno) stojalo za kristalizirke z gojiščem. Višina stojala je bila izbrana tako, da se je gladina gojišča v kristalizirkah in s tem večji del rastlin nahajala v središču sistema tuljav. Faradayeve kletke so znižale morebitni vpliv zunanjih elektromagnetnih valovanj (priloga C).



**Slika 31: Rastna komora za poskuse v geomagnetnem polju.** Na leseno ogrodje so bile nameščene svetilke, preko njega pa je bilo napeljano temno blago. Sistem 3D tuljav smo med različnimi poskusi postavili na levo oz. desno stran komore, Faradayeva kletka brez tuljav pa je vsebovala enak kockast okvir kot kletka s tuljavami. V sredini kletke je bilo nameščeno črno stojalo, na katerega smo položili poskusne enote (kristalizirke, pokrite s pokrovom petrijevke). Shema prikazuje postavitev kristalizirk pri poskusih v povečanem geomagnetnem polju, pri poskusih v zmanjšanem geomagnetnem polju je bila v vsaki Faradayevi kletki po ena kristalizirka.

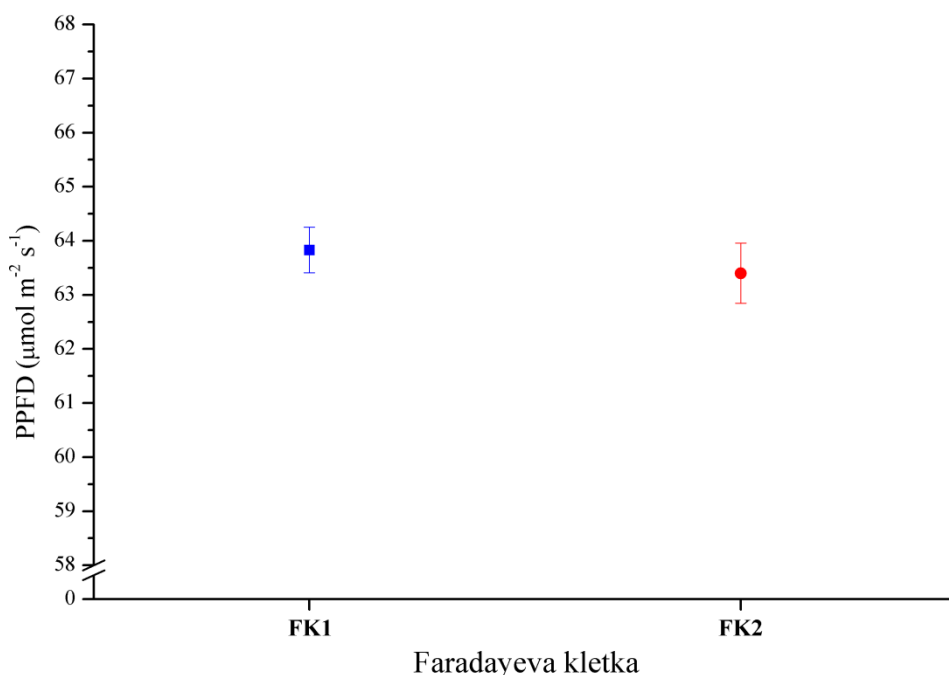
**Figure 31: Growth chamber for the geomagnetic field experiments.** Lights were placed on the wooden frame and covered by dark fabric. System of 3D coils on a cubic wooden frame was placed inside a Faraday cage and placed on the left or on the right side of the chamber. Similar frame without the coils was built for the sham exposure and put into separate Faraday cage. In the middle of each cube there was a black holding plate for placement of experimental units (crystallizing dishes covered by Petri dishes). Figure shows experimental unit placement in the enhanced geomagnetic field experiments. In the reduced geomagnetic field experiments we used only one crystallizing dish per cage.

Za osvetlitev smo uporabili 6 fluorescentnih sijalk Philips (F36T8, 36W) s hladno belo svetlobo, ki so na višini rastlin generirale PPFd ( $63 \pm 1$ )  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Enakomernost



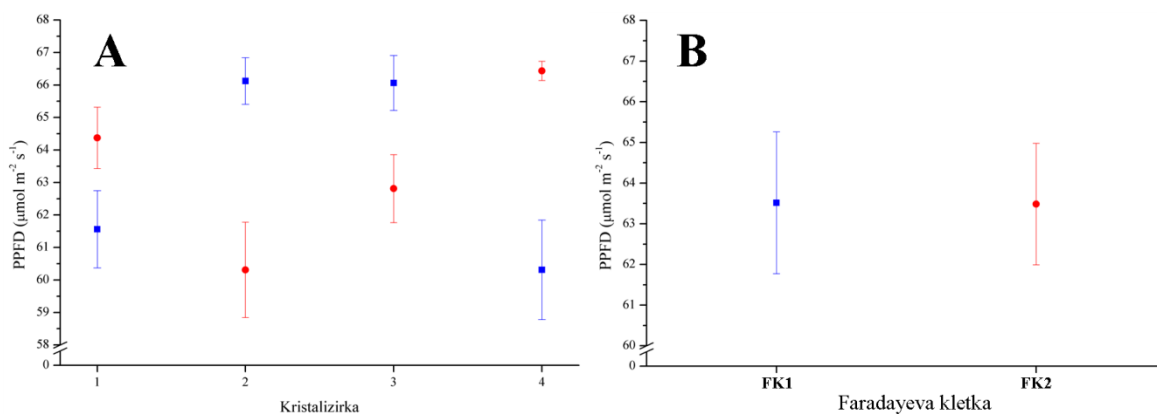
svetlobnih razmer smo redno preverjali z Li-1000 data logger (LI-COR Biosciences, Lincoln, NE, ZDA). Pri poskusih v zmanjšanem geomagnetnem polju smo dosegli skoraj identično osvetlitev poskusnih enot (slika 32), medtem ko so bile pri poskusih v povečanem geomagnetnem polju razlike v osvetlitvi na ravni posameznih kristalizirk nekoliko višje (slika 33 A), vendar razlike v osvetlitvi niso presegle 10 %. V povprečju so bile razlike med obravnavanji zanemarljive (slika 33 B).

V prostoru smo vzdrževali konstantno temperaturo ki je bila  $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$  brez razlik med obema Faradayevima kletkama.



**Slika 32: Svetlobne razmere v rastni komori med poskusi v zmanjšanem geomagnetnem polju (MGP).** Prikazana je povprečna količina izmerjene PAR svetlobe in pripadajoče standardne napake v Faradayevih kletkah FK1 in FK2. Ordinata vsebuje prelom.

**Figure 32: Light conditions in the growth chamber for the reduced geomagnetic field (MGP) experiments.** Average measured PAR intensity with standard error for each Faraday cage is shown. There is a break in the ordinate.



**Slika 33: Svetlobne razmere v rastni komori med poskusi v povečanem geomagnetnem polju (VGP).** A) Prikazana je povprečna količina izmerjene PAR svetlobe in pripadajoče standardne napake za posamezno kristalizirko, B) Prikazana je povprečna količina izmerjene PAR svetlobe in pripadajoče standardne napake. FK1 (■), FK2 (●). Ordinata vsebuje prelom.

**Figure 33: Light conditions in the growth chamber for the enhanced geomagnetic field (VGP) experiments.** A) Average measured PAR intensity with standard error for each crystallizing dish is shown. B) Average measured PAR intensities with standard errors are shown. FK1 (■), FK2 (●). There is a break in the ordinate.

### 3.4.2 Rastni komori za poskuse v močnem statičnem in nihajočem magnetnem polju

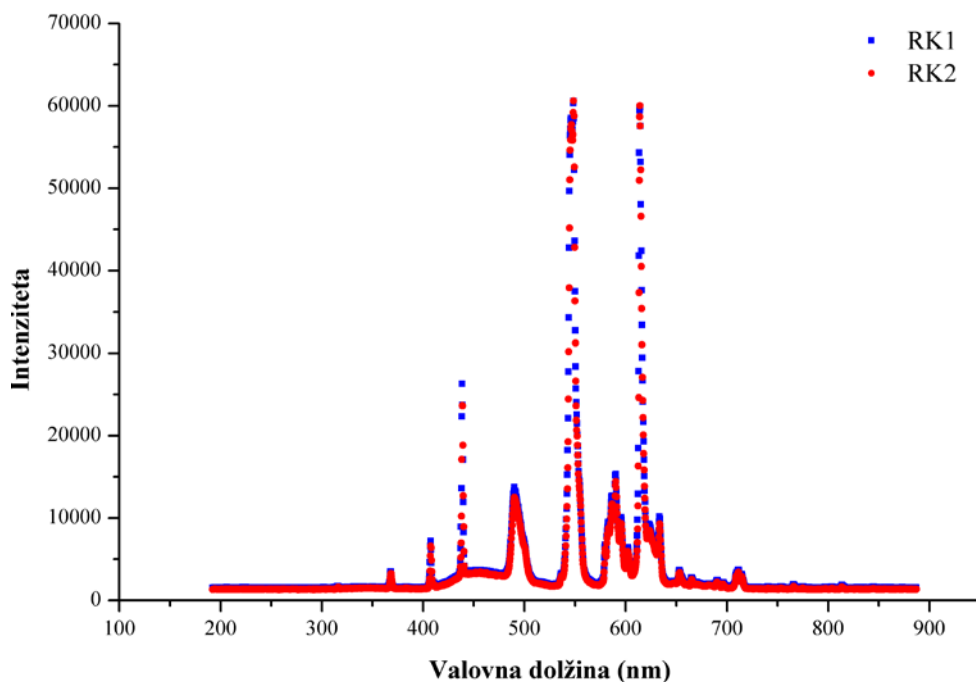


**Slika 34: Enaki termostatski komori s fotoperiodnim sistemom ST3+/FOT6 (Pol Eko Aparatura, Wodzislaw Ślaski, Poljska) RK1 in RK2.** Komori smo uporabili za poskuse v močnem statičnem magnetnem polju in nihajočem magnetnem polju.

**Figure 34: Identical thermostatic chambers with photoperiodic system ST3+/FOT6 (Pol Eko Aparatura, Wodzislaw Ślaski, Poland) RK1 and RK2.** The chambers were used for experiments in the strong static magnetic field (SMP) and changing magnetic field (PMP).

Za poskuse v statičnem magnetnem polju in nihajočem magnetnem polju smo uporabili 2 enaki termostatski komori s fotoperiodnim sistemom ST3+/FOT6 (Pol Eko Aparatura, Wodzislaw Ślaski, Poljska; slika 34). Pred pričetkom poskusov smo preverili enakost rastnih

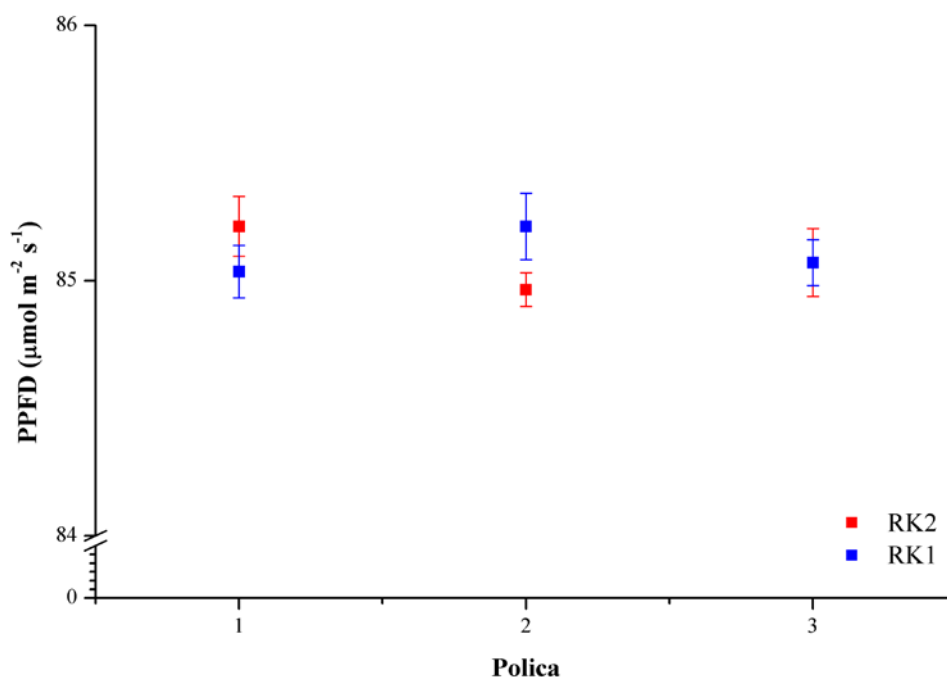
razmer v obeh komorah. Spektralno sestavo smo določili z JAZ-EL200 spektrometrom (Ocean optics, Dunedin, FL, ZDA) v območju 200 nm do 850 nm. V obeh komorah smo izmerili enak svetlobni spekter glede na valovno dolžino in intenziteto (slika 35). Za oba tipa poskusov smo uporabili 16/8h cikel svetloba/tema, inkubacija pa je potekala pri  $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$ .



**Slika 35: Spektralna sestava svetlobe v rastnih komorah (RK1, RK2) uporabljenih v poskusih SMP in PMP.** Ni večjih razlik med spektroma obeh komor.

**Figure 35: Light spectrum in the growth chambers (RK1, RK2) that were used in the SMP and PMP experiments.** There are no major differences in the light spectra between both chambers.

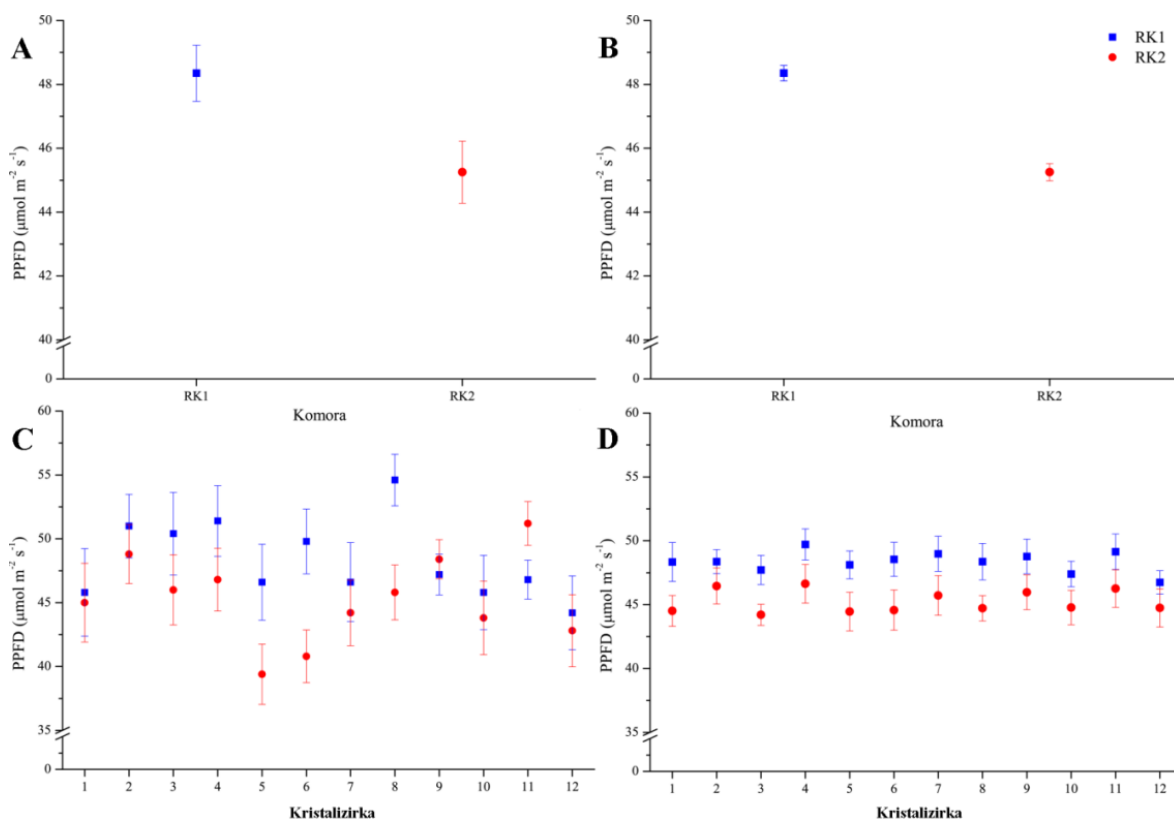
Povprečna PFFD za poskuse v močnem statičnem magnetnem polju se med komorama ni razlikovala in je znašala  $(85 \pm 1) \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PFFD brez večjih razlik med posameznimi kristalizirkami (slika 36). Položaje kristalizirk smo 3 in 5 dan inkubacije zamenjali in tako dodatno poenotili rastne razmere.



**Slika 36: Svetlobne razmere v rastnih komorah med poskusi SMP.** Prikazana je povprečna količina PAR svetlobe v komorah RK1 in RK2 za posamezno kristalizirko. Ordinata vsebuje prelom.

**Figure 36: Light conditions in the growth chamber for the strong static magnetic field (SMP) experiments.** Average measured PAR intensity with standard error for each crystallizing dish in RK1 or RK2 chamber is shown. There is a break in the ordinate.

Pri poskusih v nihajočem magnetnem polju smo lahko uporabili do 12 položajev znotraj komore, ki pa so imeli nekoliko večje razlike v sevalnih razmerah (priloga A). Zato smo dnevno prerazporejali kristalizirke po v naprej določenem semi-randomiziranem zaporedju, s katerim smo dosegli precejšnje zmanjšanje razlik v sevalnih razmerah med kristalizirkami (slika 37) s povprečno razliko med komorama  $3,1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPFD.



**Slika 37: Količina PAR svetlobe v komorah RK1 in RK2 med poskusi PMP.** Prikazane so povprečne vrednosti in standardne napake, ordinata vsebuje prelom: A) povprečna vrednost PAR na kristalizirko ob fiksnem položaju, B) povprečna vrednost PAR na kristalizirko ob dnevnem prerazporejanju kristalizirk, C) povprečna prejeta PAR za posamezno kristalizirko ob fiksnem položaju, D) povprečna prejeta PAR za posamezno kristalizirko ob dnevnem prerazporejanju kristalizirk.

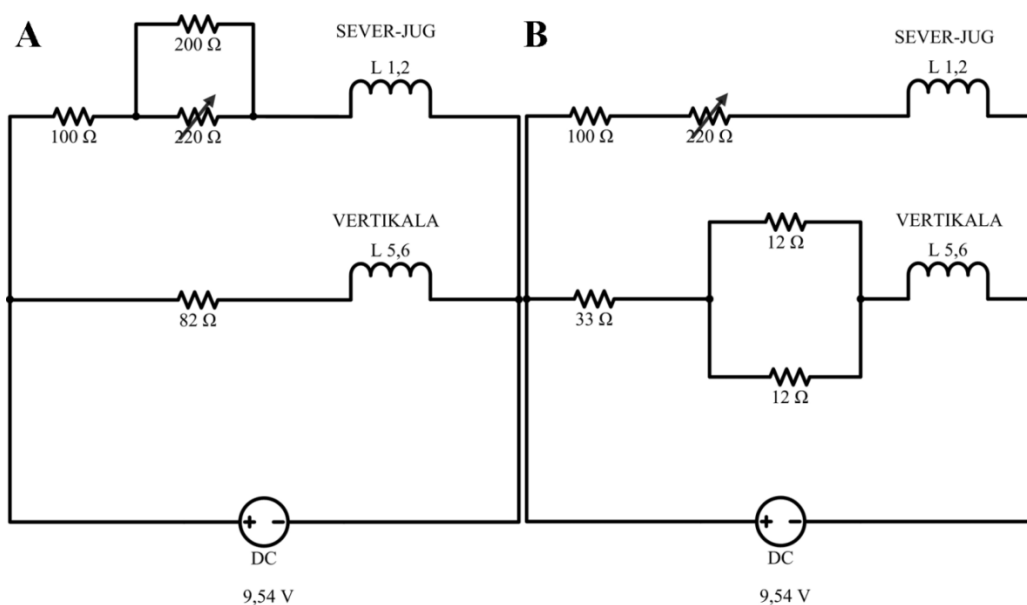
**Figure 37: Light conditions in the growth chambers RK1 and RK2 for the changing magnetic field (PMP) experiments.** Average measured PAR intensities with standard errors are shown. There is a break in the ordinate: A) Average PAR intensity per crystallizing dish in the fixed position. B) Average measured PAR intensity per crystallizing dish when daily reordering was used. C) Average PAR intensity for each crystallizing dish in the fixed position. D) Average PAR intensity for each crystallizing dish when daily reordering was used.

### 3.5 GENERIRANJE MAGNETNEGA POLJA

#### 3.5.1 Povečano ali zmanjšano geomagnetno polje

Vektor geomagnetnega polja Zemlje ( $F$ ) smo na območju poskusov določili z enosnim magnetometrom Mag-01H Single Axis Fluxgate Magnetometer, opremljenim z Mag probe B sondo (Bartington® instruments, Witney, Velika Britanija) z meritvami v  $x$ ,  $y$  in  $z$  smeri (slika 12). Gostota magnetnega pretoka je za kontrolne rastline znašala  $(31 \pm 3) \mu\text{T}$  ( $H = 23 \mu\text{T}$  in  $Z = 21 \mu\text{T}$ ).

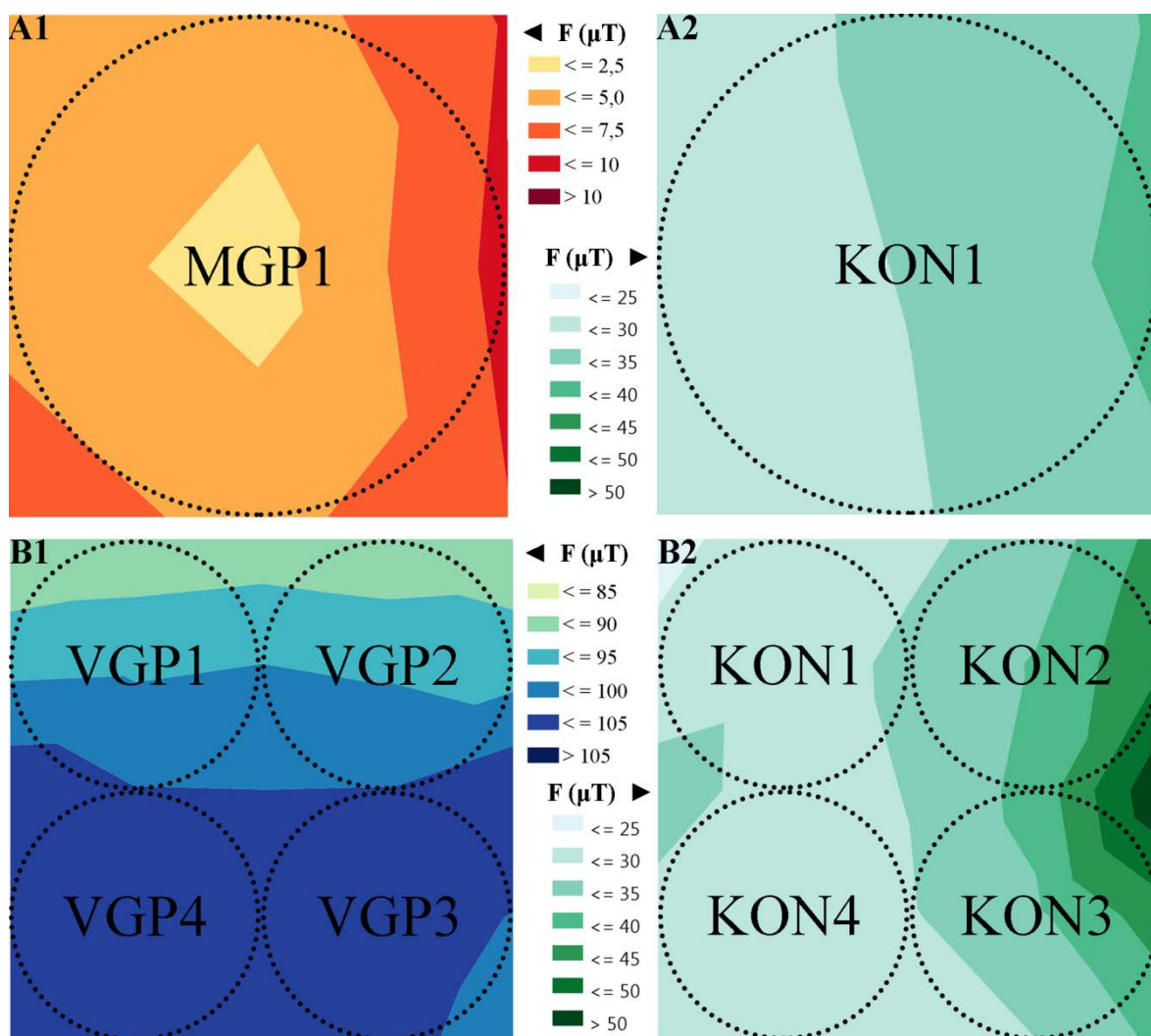
Za poskuse v spremenjenem geomagnetnem polju smo uporabili sistem 3D tuljav za generiranje šibkega statičnega magnetnega polja, ki so ga izdelali na Fakulteti za elektrotehniko Univerze v Ljubljani. Sestavljen je iz 3 parov tuljav ( $R = 6,4 \Omega$ ,  $k = 3,7 \text{ mA}/\mu\text{T}$ ), tuljavi znotraj istega para sta nameščeni vzporedno, medtem ko so pari s pomočjo lesene konstrukcije dimenzij  $52 \times 52 \times 54 \text{ cm}$  med seboj orientirani pravokotno drug na drugega. En par tuljav (L 1 in 2) smo orientirali vzdolž  $H$  osi (magnetni sever – jug), in drugega (L 5 in 6) vzdolž  $z$  osjo naravnega geomagnetnega polja. Tretjega para tuljav nismo uporabili v poskusih. Na sistem tuljav smo priključili vir enosmerne napetosti ( $9,54 \text{ V}$ ) in uravnali tok skozi obe tuljavi, da smo dosegli zmanjšano ( $F = (4 \pm 2) \mu\text{T}$ ) oz. povečano geomagnetno polje ( $F = (98 \pm 6) \mu\text{T}$ ) v središču sistema tuljav, pri čemer smo skušali maksimizirati navpično komponento končnega magnetnega polja. Električno vezje prikazuje slika 38.



**Slika 38:** Shema vezja sistema tuljav za generiranje zmanjšanega (A) in povečanega (B) geomagnetnega polja. L1,2 je par tuljav v  $H$  osi, L 5,6 je par tuljav v  $z$  osi geomagnetnega polja.

**Figure 38:** Schematic representation of the 3D coil system circuit for generating reduced (A) and enhanced (B) geomagnetic field. L1,2 pair of coils in the  $H$  axis, L 5,6 pair of coils in the  $z$  axis.

Pri poskusih v zmanjšanem geomagnetnem polju (MGP) smo le v strogem centru sistema dosegli bolj ali manj uniformno magnetno polje ( $d \approx 10$  cm;  $F = 1 \mu\text{T}$  do  $8 \mu\text{T}$ ; homogenost polja = 75 % za MP in  $F = 28 \mu\text{T}$  do  $37 \mu\text{T}$ ; homogenost polja = 71 % za kontrolo), zato smo uporabili le 1 poskusno enoto naenkrat. Pri poskusih v povečanem geomagnetnem polju (VGP) smo uniformno magnetno polje dosegli na območju s premerom 20 cm ( $F = 86 \mu\text{T}$  do  $105 \mu\text{T}$ ; homogenost polja = 81 % za MP in  $F = 26 \mu\text{T}$  do  $45 \mu\text{T}$ ; homogenost polja = 39 % za kontrolo), zato smo v teh poskusih uporabili 4 poskusne enote naenkrat (slika 39).



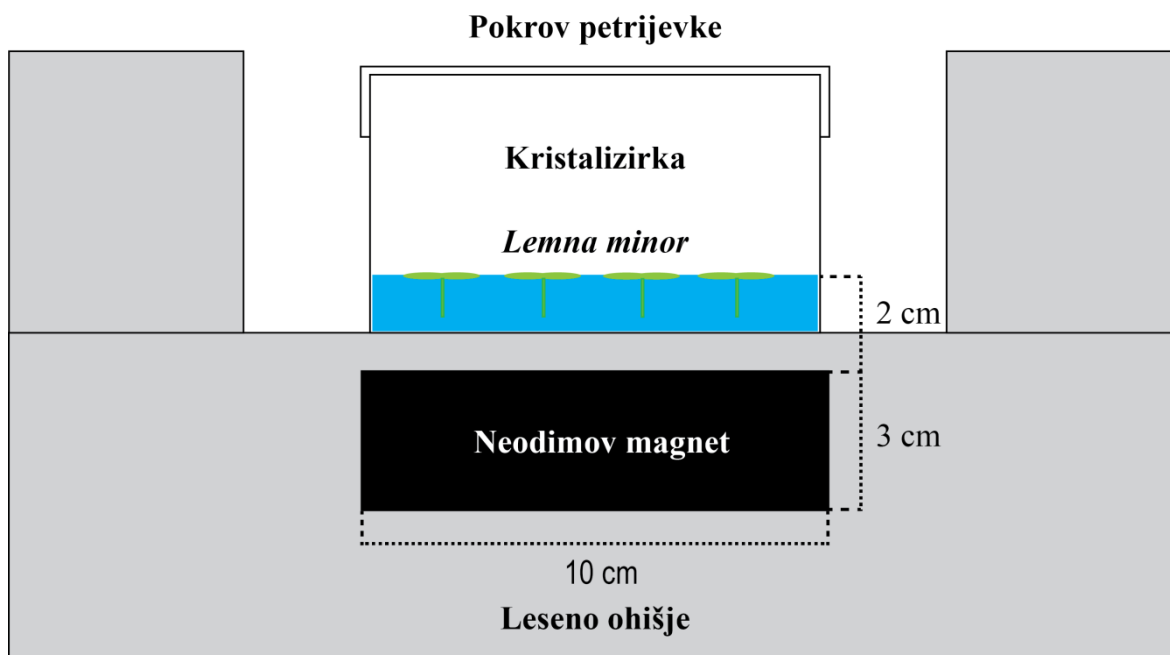
**Slika 39: Vrednosti zmanjšanega (MGP) in povečanega (VGP) geomagnetnega polja ( $F$ ).** Poskusne enote so 300 mL kristalizirke, vsaka s 150 mL gojišča n 4 rastlinami *Lemna minor* (12 stebelnih členkov) na začetku poskusov. Za MGP poskuse smo uporabili le 1 kristalizirko in dosegli homogenost polja 75 %, za VGP poskuse smo uporabili 4 kristalizirke in dosegli 81 % homogenost generiranega polja.

**Figure 39: The magnetic field environments in experiments with reduced geomagnetic field (MGP) and enhanced geomagnetic field (VGP).** Experimental units for magnetic field treatment and control plants are 300 mL crystallizing dishes each with growth medium containing 4 *Lemna minor* plants (12 fronds) at the start of the experiments. We used only 1 unit per treatment in the MGP experiments; the homogeneity of the

generated field was 75 %. We used 4 units per treatment in the VGP experiments; the homogeneity of the generated field was 81 %.

### 3.5.2 Močno statično magnetno polje (SMP)

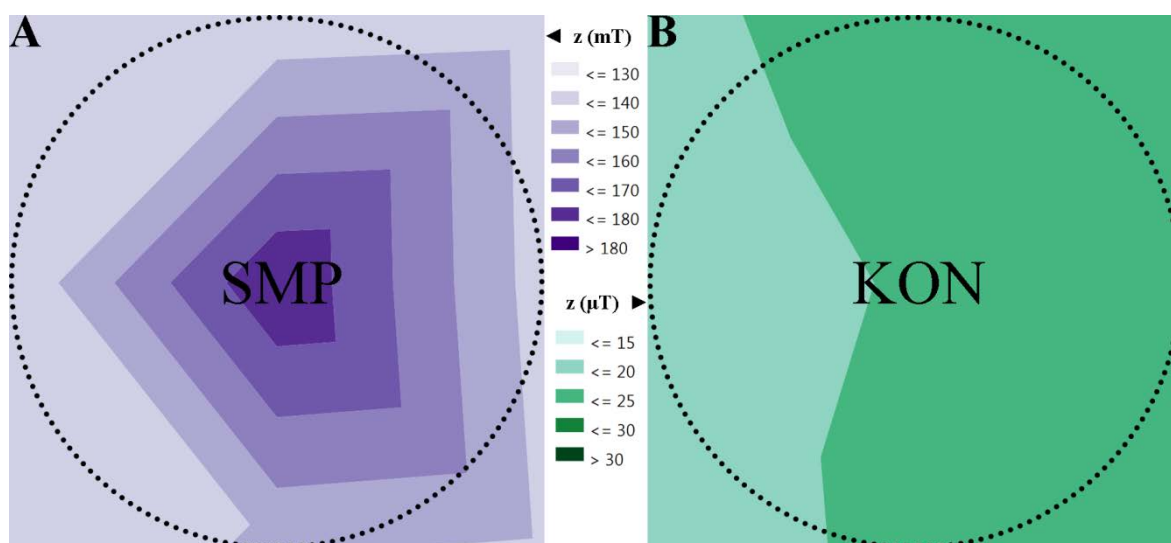
Za generiranje močnega statičnega magnetnega polja (SMP) smo uporabili tri enoosno namagnetene N50 ponikljane neodimove magnetne diske v obliki diskov ( $d = 100 \text{ cm}$ ,  $h = 3 \text{ cm}$ ). Posamezen magnet smo vgradili v leseno ohišje, kjer je 8 mm debela vezana plošča ločevala magnet in kristalizirko. Za kontrolo smo uporabili lesena ohišja brez magnetov. V kristalizirke smo dodali 75 mL gojišča, tako da so bili stebelni členki izpostavljenih rastlin oddaljeni 2 cm od magneta (slika 40). Meritve močnega statičnega magnetnega polja smo opravili v vertikalni smeri s FW Bell 5180 Gauss / Teslametrom z enoosno sondo (Pacific Scientific-OECO, Milwaukie, OR, ZDA). Na oddaljenosti 2 cm je magnet v povprečju ustvaril gostoto magnetnega pretoka ( $151 \pm 18$ ) mT in razponom od 131 mT na robu kristalizirke do 181 mT v središču kristalizirke. Rastline kontrole so bile izpostavljene povprečni gostoti magnetnega pretoka ( $21 \pm 1$ )  $\mu\text{T}$  z razponom od 18  $\mu\text{T}$  do 24  $\mu\text{T}$ . Homogenost magnetnega polja obeh obravnavanj je bila 71 % (slika 41).



**Slika 40: Shema izpostavitve rastlin močnemu magnetnemu polju.** Rastline male vodne leče so bile 2 cm oddaljene od neodim magneta, ki smo ga uporabili za generiranje močnega statičnega magnetnega polja (SMP). Shema prikazuje neodim magnet, vgrajen v leseno ohišje, vanj pa je vstavljena kristalizirka s 75 mL gojišča in poskusnimi rastlinami.

**Figure 40: Strong static magnetic field setup.** The *Lemna minor* plants were 2 cm from the surface of a neodymium magnet that was used to generate the strong static magnetic field (SMP). Figure shows magnet disk build into the wooden frame that hold a crystalizing dish with 75 mL of growth medium and the *Lemna minor* plants.





**Slika 41:** Magnetno polje v področju poskusne enote za močno statično magnetno polje (SMP) in rastline kontrole (KON). Polje je bilo izmerjeno v vertikalni smeri ( $z$ ) in je podano v mT za SMP (A) in  $\mu\text{T}$  za KON (B).

**Figure 41:** The magnetic field environment in experiments with static magnetic field (SMP). Magnetic field was measured in the vertical direction ( $z$ ) and is given in mT for SMP (A) and in  $\mu\text{T}$  for control (KON) (B).

### 3.5.3 Nihajoče magnetno polje (PMPi, PMPs)

Za generiranje nihajočega magnetnega polja smo uporabili 63,3 cm visoko selenoidno tuljavo ABSNEI15 premera 12 cm (800 ovojev bakrene žice z 0,7 mm premera,  $R = 14,4 \Omega$  pri 50 Hz), ki jo je za potrebe raziskave izdelal doktorand Niko Gorjup. Meritve tuljave smo opravili na Fakulteti za Elektrotehniko Univerze v Ljubljani pod vodstvom Drago Tacarja in določil konstanto tuljave  $k = 1,58 \text{ mT/A}$  (priloga B). Tuljavo smo preko transformatorja in ojačevalca (OSVET) priključili na 220 V omrežne napetosti. Maksimalna moč sistema je bila 150 W, uporabljena napetost je bila od 0 do 50 V, tok skozi tuljavo pa 0 do 3 A. Naprava je lahko generirala homogeno magnetno polje v središču tuljave do 3,5 mT in s frekvencami od 0,1 Hz do 10 kHz z različnimi oblikami pulzov (sinusni, pravokotni, trikotni) (neobjavljeni podatki Gorjup, 2014).

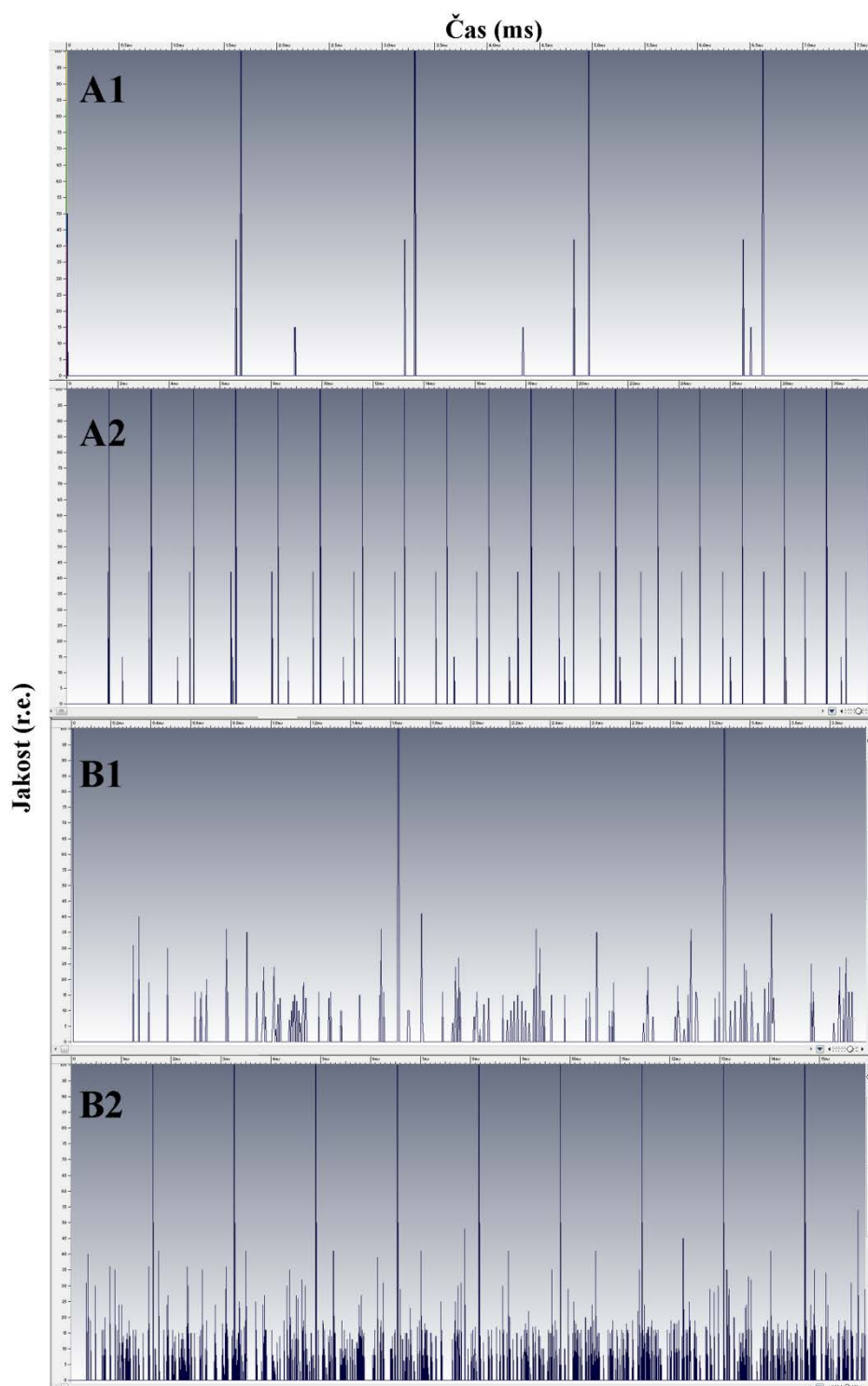
Za namen poskusov smo sestavili dva nabora frekvenc, prvega z domnevno zaviralnim učinkom (PMPi) in drugega z domnevno spodbujevalnim učinkom (PMPs) (Verginadis, 2012). Preglednica 9 prikazuje izbrane frekvence in njihove relativne amplitude. S pomočjo programske opreme WaveLab 6.0 (Steinberg, Hamburg, Nemčija) smo generirali 2 minuti signala s tvorjenjem pozitivnih pravokotnih pulzov (slika 42), ki smo ga v času izpostavitve predvajali kot visoko kvalitetno wav datoteko (384 kHz vzorčevanje, 64 bit). Signal smo iz računalnika vodili do zvočne kartice AudioBox USB (PreSonus Audio Electronics Inc.,

Baton Rouge, LA, ZDA), nato pa preko transformatorja in ojačevalnika (OSVET) na tuljavo (ABSNEI15) kot prikazuje slika 43.

**Preglednica 9: Frekvence nihajočega magnetnega polja.** V različnih poskusih smo uporabili 2 različna nabora frekvenc in intenzitet – PMPi so 3 domnevno zaviralne frekvence in PMPs je zbirka 35 domnevno spodbujevalnih frekvenc z različnimi intenzitetami.

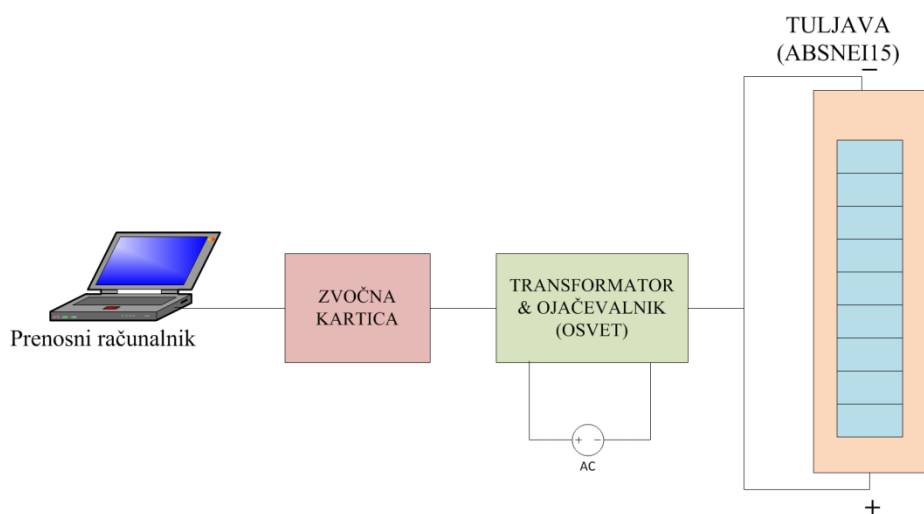
**Table 9: Changing magnetic field frequencies.** We have used two different sets of frequencies in the PMP experiments. PMPi are a group of 4 presumable inhibitory frequencies and PMPs are a group of 35 presumably stimulatory frequencies with different intensities.

POSKUS	Št.	Frekvenca (Hz)	Intenziteta puza (%)
PMPi	1	622	42
	2	604	100
	3	461	15
	<hr/>		
PMPs	1	3239	15
	2	3229	16
	3	2969	10
	4	2965	10
	5	2959	10
	6	2956	10
	7	2578	19
	8	2510	16
	9	2082	15
	10	2079	15
	11	1552	14
	12	1541	16
	13	1290	17
	14	1279	16
	15	1141	35
	16	1048	6
	17	1040	9
	18	1031	8
	19	992	8
	20	989	8
	21	986	6
	22	978	4
	23	969	12
	24	958	14
	25	917	7
	26	910	10
	27	904	13
	28	896	15
	29	888	13
	30	880	10
	31	873	6
	32	864	17
	33	854	14
	34	612	100
	35	571	6



**Slika 42: Signal za generiranje nihajočega magnetnega polja.** A1,2) signal na podlagi 3 domnevno zaviralnih frekvenc na dveh različnih časovnih skalah za poskuse PMPi; B1,2) signal na podlagi 35 domnevno spodbujevalnih frekvenc na dveh različnih časovnih skalah za poskuse PMPs.

**Figure 42: Signal for generating changing magnetic field.** A1,2) signal based on three presumably inhibitory frequencies displayed on two different time scales (PMPi); B1,2) signal based on 35 presumably stimulatory frequencies displayed on two different time scales (PMPs).



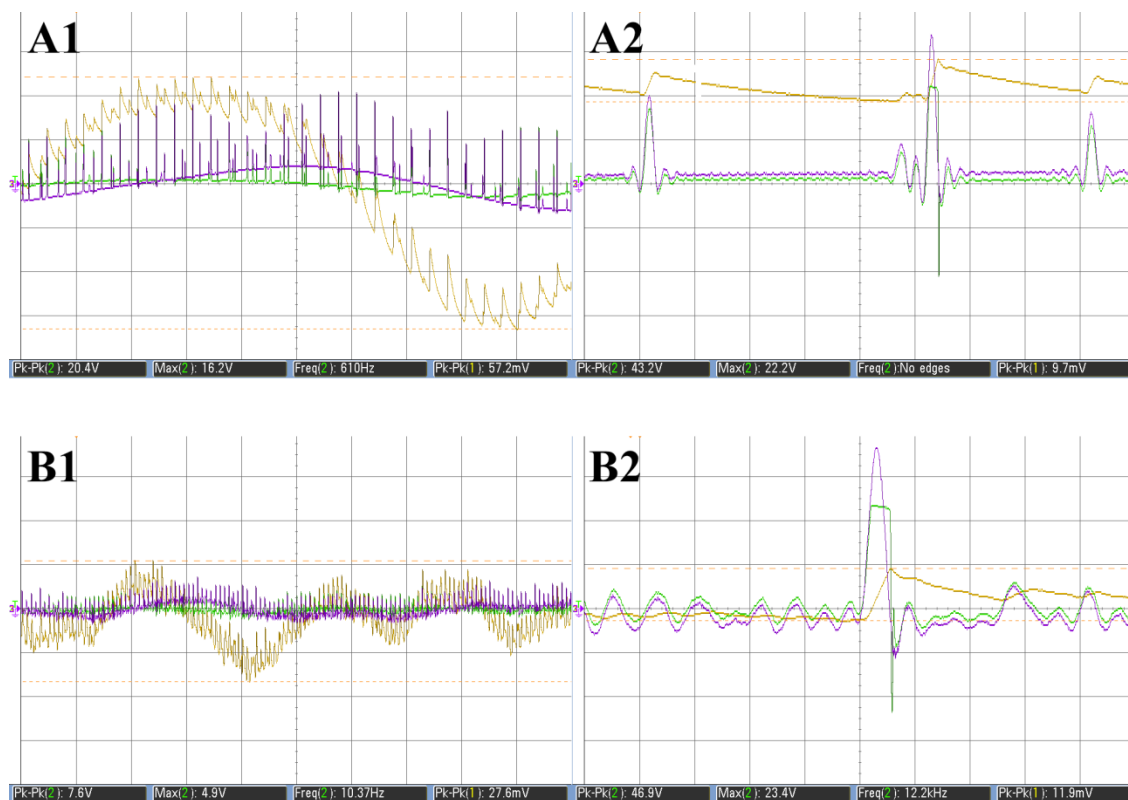
**Slika 43: Shema generiranja nihajočega magnetnega polja.** Signal smo iz računalnika peljali po zaščitenem kablu na eksterno zvočno kartico, od tu s koaksialnim kablom do ojačevalnika in nato na selenoidno tuljavo, v katero smo namestili kristalizirke s poskusnimi rastlinami.

**Figure 43: Generation of changing magnetic field.** The signal was led from the computer to the external sound card through a shielded cable. From the sound card the signal passed through a coaxial cable to the amplifier and then on a solenoid coil. Experimental units were placed in the middle of the coil.

Pri prehajanju med elementi je prišlo do popačenja signala, dejansko napetost in tok v tuljavi prikazuje slika 44. Magnetno polje v tuljavi smo izračunali po enačbi 17, kjer je  $B$  gostota magnetnega pretoka,  $I$  tok skozi tuljavo in  $k$  konstanta tuljave. Maksimalni magnetni impulzi so pri PMPs dosegli  $80 \mu\text{T}$ , pri PMPi pa  $95 \mu\text{T}$ .

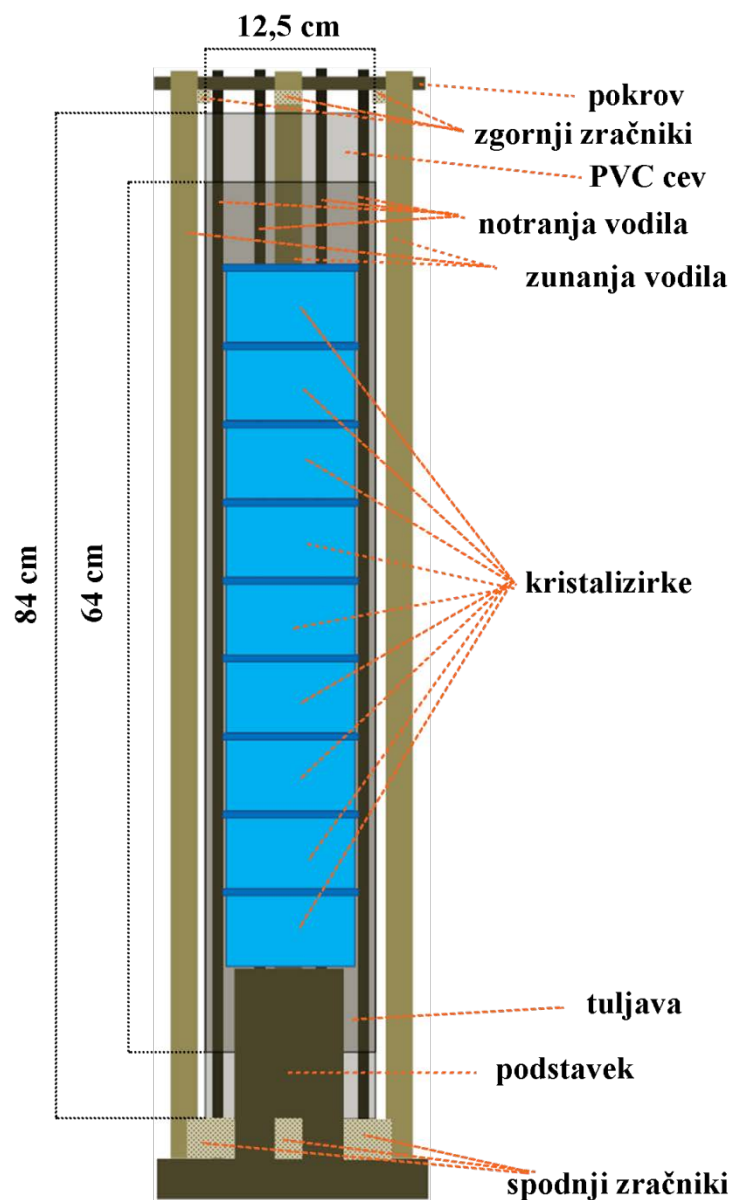
$$B = I \times k \quad \dots (17)$$

Rastline smo med temotnim delom cikla inkubacije za 5h/dan izpostavili izbranemu nihajočem magnetnemu polju. Kristalizirke smo zložili na posebno leseno stojalo v rastni komori in preko njih poveznili selenoidno tuljavo tako, da so bile kristalizirke v središču tuljave (slika 45). Temperatura se v notranjosti tuljave med 5h delovanjem ni spremenila. Položaj posamezne kristalizirke znotraj tuljave je bil določen z mestom inkubacije v rastni komori in se je dnevno spreminjal (glej poglavje 3.4.2.).



**Slika 44:** Izmerjena napetost na izhodu iz zunanje zvočne kartice (—) in na vhodu v tuljavo (—) ter tok skozi tuljavo (—). A1,2) signal na podlagi 3 domnevno zaviralnih frekvenc na različni časovni skali za poskuse PMPi; B1,2) signal na podlagi 35 domnevno spodbujevalnih frekvenc na različni časovni skali za poskuse PMPs. Sliki A2 in B2 prikazujeta prečiščen signal (odstranjen 50 Hz sinus) na manjši časovni skali v primerjavi s slikama A1 in B1.

**Figure 44:** Measured voltage on the sound card output (—), the solenoid input (—) and current through the coil (—). A1, 2) Signal based on 3 presumably inhibitory frequencies for the PMPi experiments on different time scales; B1, 2) Signal based on 35 presumably stimulatory frequencies for the PMPs experiments on different time scales. Figures A2 and B2 show filtered signal (removal of 50 Hz sine wave noise) on a smaller scale compared to A1 and B1.



**Slika 45: Shema stojala za izpostavitve rastlin nihajočemu magnetnemu polju.** Kristalizirke z rastlinami smo v času izpostavitve postavili v stojalo in preko njih položili tuljavo. Spodnji in zgornji zračniki ter notranja vodila so zagotavljali prost pretok zraka in enakomerno oddaljenost sten kristalizirk od navitja tuljave.

**Figure 45: Schematic drawing of the experimental units holder for the experiment in the changing magnetic field.** Crystalizing dishes were transferred in the holder and solenoid was placed over them. Upper and lower vents in addition to inner guides enabled free movement of air and equal distance of the crystalizing dishes from the coil.

### 3.6 SEDEM DNEVNI TEST INHIBICIJE RASTI

Kot osnovno metodo za preučevanje vpliva različnih magnetnih polj na rast rastlin smo uporabili sedem dnevni test inhibicije rasti za preverjanje različnih dejavnikov na rast vodnih makrofitov iz rodu *Lemna*, kot ga predlagata Organizacija za gospodarsko sodelovanje in razvoj OECD in Mednarodna organizacija za standardizacijo ISO (OECD, 2006; ISO 20079, 2005).

Osnovni opis:

- Pri delu smo uporabljali aseptične tehnike in visoko kontrolirane rastne razmere.
- Rastline *Lemna minor* smo v eksponentni fazi rasti prenesli v gojišče in jih pustili rasti 7 ali 14 dni.
- Kadar je bilo mogoče, smo vsako obravnavanje ponovili v najmanj treh ponovitvah, kar naj bi omogočalo zaznavo razlik, večjih od 4 % do 7 % v spremembi stopnje rasti in 10 % do 15 % v spremembi prirasta. Število ponovitev smo povečali s ponovitvami celotnih poskusov in uporabo bločne analize, kjer smo posamezen poskus definirali kot naključni dejavnik.
- Cilj testa je bil ugotoviti vplive različnih obravnavanj na rast. Merili smo vegetativno rast rastlin, za kar smo za osnovni parameter vzeli število stebelnih členkov, poleg tega pa smo merili še najmanj en sekundarni parameter (skupna površina stebelnih členkov, skupna suha teža).

#### 3.6.1 Potrditev enakosti poskusnih razmer za vse poskusne enote

Za preverjanje rastnih razmer v komorah RK1 in RK2 in potrditev protokola smo izvedli kontrolni poskus s sedem dnevno inkubacijo rastlin pri enakih rastnih razmerah v odsotnosti drugih dejavnikov. Za vsako komoro smo uporabili 4 ponovitve obravnavanja (poskusne enote).

Posamezen poskus smo šteli za veljavnega, v kolikor smo zadostili spodnjim pogojem (OECD, 2006):

- Dan 0 ni bilo statistično značilnih razlik ( $p < 0,05$ ) med obravnavanji znotraj iste komore in med obravnavanji v različnih komorah.
- pH gojišča se med testom ni smel spremeniti za več kot 1,5, maksimalna razlika med poskusnimi enotami pa ni presegla  $\pm 0,2$ .
- Rastline so rasle v homogenih svetlobnih razmerah, maksimalna dovoljena razlika v gostoti toka fotonov fotosintezno aktivnega spektra sevanja je  $\pm 15$  %.
- Rastline so rasle pri konstantni temperaturi. Maksimalna dovoljeno nihanje je  $\pm 2$  °C.

- Rastline so dosegle eksponentno rast – ob 24h osvetlitvi je bila stopnja rasti večja od 0,275 oz. podvojitveni čas krajši od 60 ur.
- Skupna površina stebelnih členkov rastlin ob zaključku poskusa v nobeni kristalizirki ni presegala 2/3 površine kristalizirke ( $\approx 4240 \text{ mm}^2$ ).
- Koeficient variabilnost kontrole za število stebelnih členkov in skupno površino stebelnih členkov mora biti  $< 20 \%$ .
- Ob zaključku poskusa ni vidnih okužb gojišča ali rastlin.

V kolikor poskus tem pogojem ni zadostil, smo ga izločili iz končne analize. Izjema so bile nekoliko nižje stopnje rasti v nekaterih poskusih v nihajočem magnetnem polju, kjer pa smo uporabili 16h/8h cikel svetloba/tema in je bila zato logična nekoliko nižja stopnja rasti.

### 3.6.2 Rastni parametri

#### 3.6.2.1 Število stebelnih členkov ( $N$ )

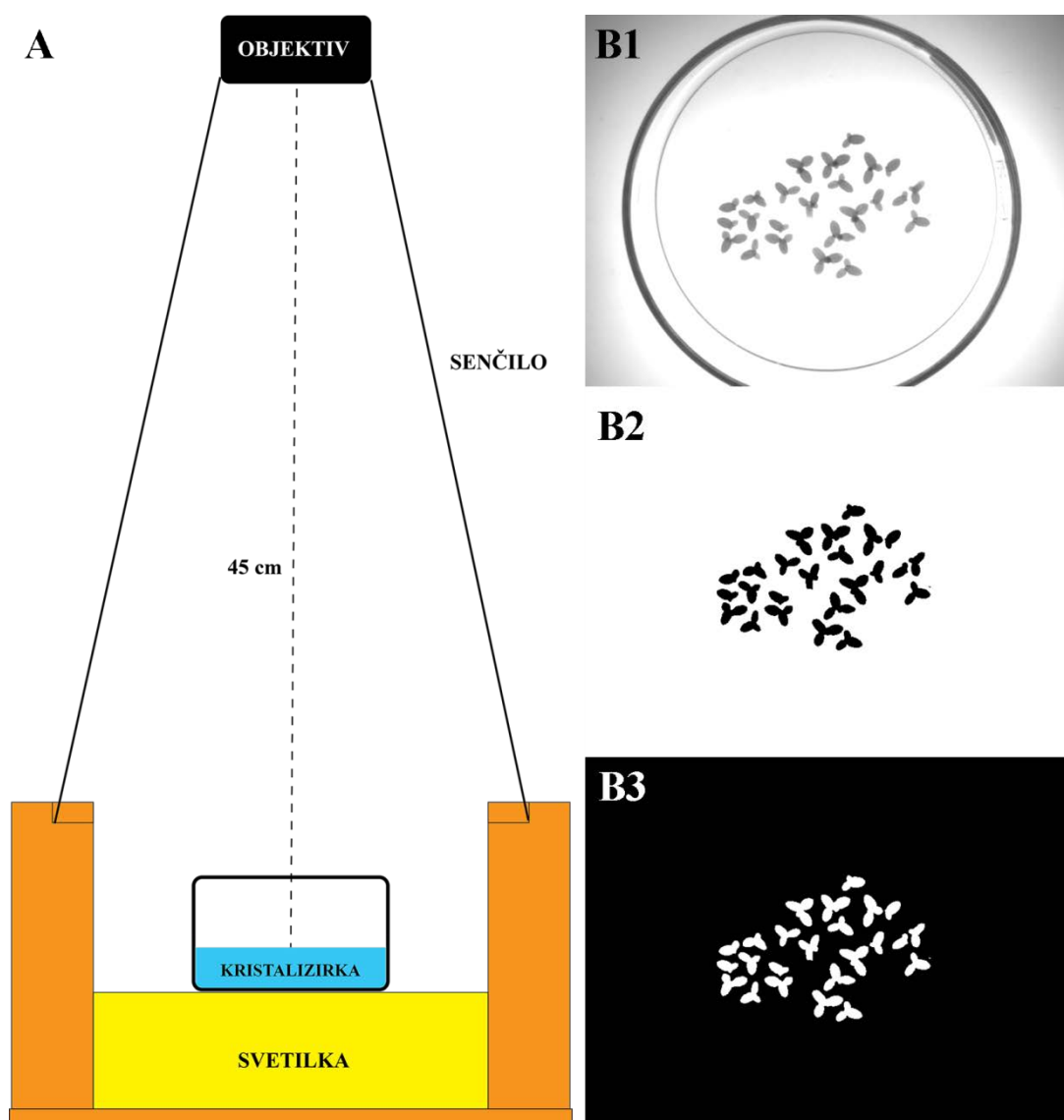
Število stebelnih členkov smo določali na začetku in koncu poskusa ter še na najmanj eni vmesni točki. Pri štetju smo si pomagali z namizno lupo (Zrak Sarajevo). Vsako kristalizirko smo šteli dvakrat, v primeru neujemanja števila stebelnih členkov pa smo postopek ponovili.

#### 3.6.2.2 Skupna površina stebelnih členkov ( $A$ )

Pred štetjem stebelnih členkov smo določili še skupno površino stebelnih členkov. Kristalizirke smo postavili na svetilko in jih fotografirali z UVI SAVE Hood camera (Uvitec, Cambridge, Velika Britanija) kot kaže slika 46 A. Fotografije smo uvozili v Photoshop CS5 (Adobe systems, San Jose, CA, ZDA), kjer smo odstranili vse artefakte ter fotografijo pretvorili v črnobelo (threshold = 225). Tako obdelane fotografije (slika 46 B2) smo analizirali s CellProfiler™ 2.0 programom (Broad Institute, Cambridge, MA, ZDA; Lamprecht in sod., 2007) in določili skupno površino stebelnih členkov na osnovi števila pikslov (slika 46 B3). S pomočjo standarda znane površine smo naredili umeritveno krivuljo in število pikslov pretvorili v  $\text{mm}^2$  (slika 47 A).

Natančnost metode smo preverili s serijo pilotskih poskusov. V prvem smo postopoma povečevali število diskastih ploščic enake površine ob nespremenjeni prostornini gojišča. Povprečna površina ene ploščice v pikslih se stabilizira pri  $N \geq 3$  ploščic (slika 47 B), kar je bistveno nižja površina od običajne skupne površine stebelnih členkov ob zaključku



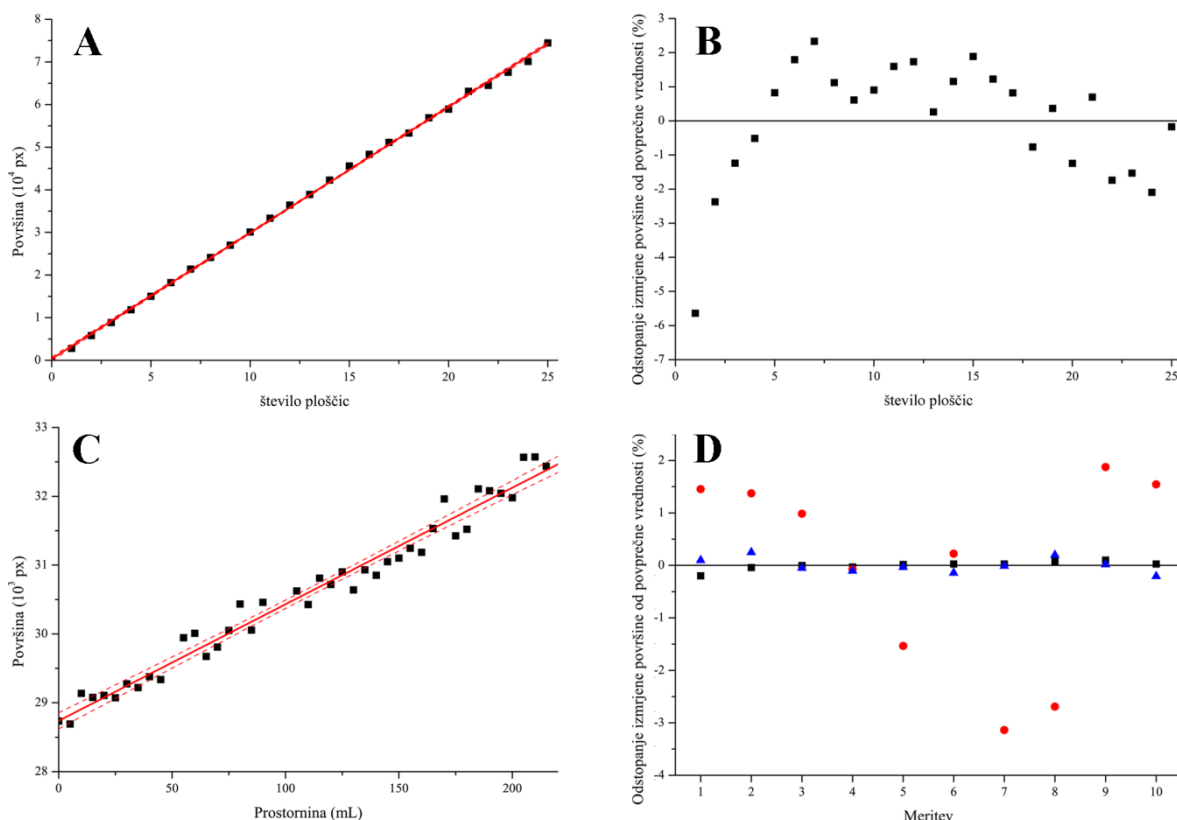


**Slika 46: Fotografiranje kristalizirk za določanje skupne površine stebelnih členkov.** A) Shema sistema za zajem slike. Posamezno kristalizirko smo položili na svetilko in pokrili s senčilom, ki je imelo na vrhu nameščen objektiv fotoaparata. B1) Zajeta slika kristalizirke, B2) Ista slika po obdelavi v programu PhotoShop, B3) Ista slika po obdelavi v programu CellProfiler® za določanje števila svetlih točk (px).

**Figure 46: Photographing the crystallizing dishes in order to determine the total frond area.** A) System for taking the photographs. Each crystallizing dish was placed on a lamp, covered and photographed. B1) Original picture from the camera, B2) Same picture after being processed in PhotoShop, B3) Same picture after being processed in CellProfiler® in order to determine the number of white pixels.

poskusa. Nadalje smo preverjali vpliv različne prostornine gojišča v kristalizirkah na dobljeno površino ob fotografiranju istega standarda z znano površino. Izkaže se, da je metoda relativno neobčutljiva tudi na napake  $\pm 10$  mL (slika 47 C), kar je bistveno več od pričakovanih napak zaradi morebitnega napačnega odmerjanja gojišča v kristalizirke ( $\pm 2$  mL). Nadalje smo preverili tudi vpliv premikanja kristalizirke izven središča objektiv in premikanje standardnih ploščic znotraj kristalizirke brez spreminjanja lege. V kolikor smo

kristalizirko premikali v ekstremne položaje glede na lego objektiva, je bila maksimalna napaka meritve  $\pm 3\%$ , v kolikor pa smo kristalizirko pustili popolnoma pri miru in zgolj posneli, obdelali in analizirali zaporedne fotografije, pa je ta napaka znašala manj kot  $\pm 0,25\%$  (slika 47 D). Analiza dejanskega protokola meritve (majhen premik kristalizirke med zaporednimi fotografijami in velik premik ploščic standardne velikosti) je pokazala visoko ponovljivost meritve z maksimalnim odstopanjem od povprečja  $\pm 0,4\%$ .



**Slika 47: Natančnost meritve določanja skupne površine stebelnih členkov z metodo fotografiranja kristalizirk.** A) Umeritvena krivulja (regresijska premica s 95 % intervalom zaupanja) in B) ocena natančnosti meritve ob povečevanju števila ploščic standardne velikosti pri 150 mL gojišča v kristalizirki. C) Vpliv prostornine gojišča na meritev površine iste ploščice z regresijsko premico in 95 % intervalom zaupanja. D) Ocena ponovljivosti fotografije ob konstantni površini in prostornini s spreminjanjem položaja kristalizirke in položaja ploščice v kristalizirki – fiksni položaj ploščice in kristalizirke (■), ekstremno premikanje položaja kristalizirke in ploščice (●), fiksni položaj kristalizirke, premikanje ploščice (▲).

**Figure 47: Validation of the photographic method for determination of the total frond area.** A) Standard curve (regression line with 95 % confidence interval) and B) accuracy of the total frond area measurement at 150 mL growth medium in the crystalizing dish when increasing the number of standard area disks. C) Effect of growth medium volume on the total area measurement with the regression line and 95 % confidence interval. D) Estimation of reproducibility due to changing the position of the crystalizing dish or location of the standard area discs when the number of the discs and the volume of the growth medium are constant – fixed position of the standard area disc and fixed position of the crystalizing dish (■), extreme movement of the crystalizing dish and the standard area discs (●), fixed crystalizing dish and normal standard area disc movement (▲).

### 3.6.2.3 Suha masa (*SM*)

Po fotografiranju in štetju stebelnih členkov smo rastline osušili na papirnati brisači in jih dali v sušilnik za 24h na 105 °C oz. do konstantne mase. Suho maso smo določili z analitsko tehtnico (Mettler AE 100, Greifensee, Švica) na 1 mg natančno. Omenjeni parameter je zaradi majhnih suhih mas ob zaključku poskusov in omejitev tehtnice manj natančen od ostalih meritev.

### 3.6.2.4 Specifične stopnje rasti (*SR<sub>N</sub>*, *SR<sub>A</sub>* in *SR<sub>SM</sub>*)

Za število stebelnih členkov, skupno površino stebelnih členkov in suho maso smo izračunali tudi specifično stopnjo rasti po enačbi 18 (OECD, 2006):

$$SR_{X_{i-j}} = \frac{\ln X_j - \ln X_i}{t_j - t_i} \quad \dots (18)$$

Kjer je  $X = N$  ali  $A$  ali  $SM$ ,  $X_j$  vrednost parametra v času  $t_j$  in  $X_i$  vrednost parametra v času  $t_i$  ( $i < j$ ). Na osnovi stopnje rasti smo izračunali tudi podvojitveni čas ( $T_d$ ) (Enačba 19; OECD, 2006)

$$T_d = \ln 2 / SR_X \quad \dots (19)$$

### 3.6.2.5 Stopnja inhibicije rasti

Odstotek stopnje inhibicije rasti ( $I_r$ ) ob določeni koncentraciji snovi ali prisotnosti magnetnega polja smo izračunali po enačbi 20 (OECD, 2006):

$$\% I_r = \frac{SR_{X_{obr}} - SR_{X_k}}{SR_{X_k}} \times 100 \quad \dots (20)$$

Kjer je  $SR_{X_k}$  povprečna specifična stopnja rasti kontrole in  $X_{obr}$  povprečna specifična stopnja rasti obravnavanja. Običajno smo na slike nanašali nasprotno vrednost ( $-I_r$ ), ali pa kot odstotek kontrole po enačbi 21:

$$\% K = \frac{SR_{X_{obr}}}{SR_{X_k}} \times 100 \quad \dots (21)$$

### 3.6.3 Fluorescenca klorofila *a* FSII

Standardni sedem dnevni test smo nadgradili z meritvami fluorescence klorofila *a* FSII. Opravili smo dva tipa meritev – merjenje počasne kinetike za določanje fotokemične učinkovitosti FSII temotno in svetlobno adaptiranih vzorcev in merjenje hitre kinetike temotno adaptiranih vzorcev za izračun parametrov JIP testa.

Vse meritve smo opravili z modulacijskim fluorimetrom PAM 2500 (Heinz Walz GmbH, Eichenring, Nemčija) Katedre za ekologijo rastlin na Oddelku za biologijo Biotehniške fakultete v Ljubljani. Za izvedbo meritev fluorescence klorofila *a* FSII smo rastline prenesli v petrijevko na sterilni filter papir omočen s steriliziranim gojiščem. Rastline smo razporedili v eno plast tako, da so pokrile krog s približno površino 15 mm<sup>2</sup> in da med njimi ni bilo praznih prostorov. Nato smo preko njih položili distančno sponko z merilno sondo, sponko smo pred tem razkužili v 70 % etanolu in sprali v sterilni destilirani vodi. Z distančno sponko smo zagotovili enako oddaljenost merilne sonde pod kotom 60°. Za posamezen tip meritve smo iz vsake poskusne enote vzeli tri vzorce.

Pri poskusih v močnem statičnem magnetnem polju smo meritve fluorescence klorofila *a* FSII izvajali med izpostavitvijo magnetnemu polju (150 mT), medtem ko so bile vse meritve pri poskusih v spremenjenem geomagnetnem in nihajočem magnetnem polju opravljene v odsotnosti dodatnih magnetnih polj in so bile tako rastline obravnavanja kot tudi rastline kontrole med meritvami izpostavljene enakim, v okolju prisotnim magnetnim poljem.

#### 3.6.3.1 Potencialna fotokemična učinkovitost FSII ( $F_V/F_M$ )

Potencialno fotokemično učinkovitost FSII smo določali na temotno adaptiranih vzorcih (45 minut inkubacije v temi) pri sobni temperaturi in PPF 0,1  $\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ . S fluorimetrom smo najprej s šibko modulacijsko svetlobo izmerili minimalno fluorescenco ( $F_0$ ), nato pa sprožili saturacijski impulz bele svetlobe (0,5 s; PPF  $\approx 8000 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ ) ter tako določili maksimalno fluorescenco temotno adaptiranega vzorca ( $F_M$ ) (Brestic and Zivcak, 2013). Razlika med njima da variabilno fluorescenco ( $F_V$ ) potencialna fotokemična učinkovitost FSII pa predstavlja količnik med variabilno in maksimalno fluorescenco klorofila *a* FSII temotno adaptiranega vzorca (Enačba 22; (Brestic and Zivcak, 2013)).

$$\frac{F_V}{F_M} = \frac{F_M - F_0}{F_M} \quad \dots (22)$$

### 3.6.3.2 Dejanska fotokemična učinkovitost FSII ( $Y(II)$ )

Dejansko fotokemično učinkovitost FSII smo določali na najmanj 120 min svetlobno adaptiranih vzorcih (Brestic and Zivcak, 2013). Meritve so potekale pri sobni temperaturi in PPFD  $40 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ . S pomočjo fluorimetra smo izmerili minimalno fluorescenco osvetljenega vzorca ( $F_s'$ ), sledil je saturacijski impulz bele svetlobe (0,5 s; PPFD  $\approx 8000 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ ) in meritev maksimalne fluorescenc osvetljenega vzorca ( $F_m'$ ). Dejansko fotokemično učinkovitost FSII smo izračunali po enačbi 23 (Brestic and Zivcak, 2013)

$$Y(II) = \frac{F_m' - F_s'}{F_m'} \quad \dots (23)$$

### 3.6.3.3 Hitra kinetika in JIP test

Meritve hitre kinetike fluorescence klorofila *a* FSII smo izvedli na 45 min temotno adaptiranih vzorcih pri sobni temperaturi in PPFD  $0,1 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ . Osvetlitvi vzorcev s saturacijskim impulzom je sledila emisija fluorescence klorofila *a*, ki da značilno indukcijsko krivuljo. Osredotočili smo se na prvih 300 ms inducirane fluorescence in s tem na njene O-J-I-P točke. Fluorescenco smo merili v visoki časovni ločljivosti vsakih  $10 \mu\text{s}$  v času od 10 ms pred do 310 ms po nastopu saturacijskega impulza bele svetlobe (0,5 s; PPFD  $\approx 8000 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ ). V analizo smo vključili vrednosti od 0,05 ms do 300 ms (Strasser in Strasser, 1995).

Poleg izmerjene fluorescence ( $F(t)$ ) smo izračunali tudi relativno variabilno fluorescenco ( $V(t)$ ) (enačba 24; Stirbet in Govindjee, 2011):

$$V(t) = \frac{F(t) - F_0}{F_M - F_0} \quad \dots (24)$$

Pri analizi inducirane fluorescence smo uporabili JIP test (Strasser in Strasser, 1995; Stirbet in Govindjee, 2011). Na podlagi izmerjene fluorescence ob določenem času smo izračunali vrsto različnih JIP parametrov, kar nam je omogočilo natančno analizo preučevanih dejavnikov na fluorescenco klorofila *a* v FSII. Posamezni parametri, njihov izračuni in opisi so zbrani v preglednici 1.

### 3.6.4 Določanje vsebnosti fotosinteznih barvil

Za določanje vsebnosti klorofila *a*, *b* in karotenoidov (ksantofilov in karotenov) smo prilagodili metodo Lichtenthaler in Buschmann, (2001a), saj smo ravnali z bistveno manjšimi vzorci rastlinskega materiala, kot navajata avtorja:

- Pred in po odvzemu vzorcev za ekstrakcijo barvil smo kristalizirke fotografirali in kasneje določili razliko v skupni površini stebelnih členkov ter tako dobili površino stebelnih členkov ( $A_v$ ) v posameznem vzorcu za določanje vsebnosti fotosinteznih barvil.
- Iz posamezne kristalizirke smo vzeli 1 do 2 vzorca (odvisno od količine rastlin).
- Vsak vzorec je vseboval najmanj pet rastlin, ki smo jih osušili na papirnati brisači in natehtali  $\approx 15$  mg sveže mase rastlin na posamezen vzorec. Višek rastlin smo vrnili v kristalizirko.
- Posamezni vzorec smo 30 sekund trli v terilnici ob dodatku 30 mg MgO in 1 mL 100 % acetona.
- Posamezne vzorce smo prenesli v 1,5 mL mikrocentrifugirko (Eppendorf). Terilnico smo 2 $\times$  sprali s 0,5 mL 100 % acetona, sprani ekstrakt dodali v mikrocentrifugirko in dopolnili s čistim acetonom do oznake 1,5 mL. Mikrocentrifugirke smo pred nadaljevanjem 30 sekund stresali na vibracijskem mešalu (Vibromix 10, Tehnica, Železniki, Slovenija).
- Mikrocentrifugirke smo prenesli v centrifugo (univerzalna centrifuga Centric 150, Tehnica, Železniki, Slovenija) in centrifugirali 5 min pri 2200 obratih na minuto.
- 100  $\mu$ L supernatanta smo prenesli v 70  $\mu$ L kvarčno kiveto (Hellma, Müllheim, Nemčija) in z Lambda Bio spektrofotometrom (Perkin Elmer, Waltham, MA, ZDA) pomerili absorpcijo pri 750 nm, 662 nm, 645 nm, 520 nm in 470 nm. Za standard smo uporabili 100 % aceton. Za vsak vzorec smo postopek meritev absorpcije 2 $\times$  ponovili.

Na osnovi meritev smo izračunali vsebnost barvil v vzorcih po enačbah Lichtenthaler in Buschmann (enačba 25, 26, 27; 2001b), in tako dobili koncentracijo klorofila *a* ( $C_a$ ), klorofila *b* ( $C_b$ ) ter karotenoidov ( $C_{(x+c)}$ ) v mililitru ekstrakta ( $\mu$ g ml<sup>-1</sup>):

$$C_a [\mu\text{g ml}^{-1}] = 11,24 \times A_{662} - 2,04 \times A_{645} \quad \dots (25)$$

$$C_b [\mu\text{g ml}^{-1}] = 20,13 \times A_{645} - 4,19 \times A_{662} \quad \dots (26)$$

$$C_{(x+c)} [\mu\text{g ml}^{-1}] = (1000 \times A_{470} - 1,90 \times C_a - 63,14 \times C_b) / 214 \quad \dots (27)$$

Končno koncentracijo barvil v vzorcu smo preračunali na površino stebelnih členkov vzorca (enačba 28, 29, 30), saj je ta meritev v našem primeru bolj zanesljiva od suhe mase:

$$Kl_a [\mu\text{g cm}^{-2}] = \frac{C_a [\mu\text{g ml}^{-1}] \times 1,5 [\text{mL}]}{A_v [\text{cm}^2]} \quad \dots (28)$$

$$Kl_b [\mu g \text{ cm}^{-2}] = \frac{c_b [\mu g \text{ ml}^{-1}] \times 1,5 [\text{mL}]}{A_v [\text{cm}^2]} \quad \dots (29)$$

$$Kar [\mu g \text{ cm}^{-2}] = \frac{c_{(x+c)} [\mu g \text{ ml}^{-1}] \times 1,5 [\text{mL}]}{A_v [\text{cm}^2]} \quad \dots (30)$$

Kjer je  $A_v$  skupna površina stebelnih členkov vzetega vzorca za ekstrakcijo, 1,5 mL pa prostornina ekstrakta.

### 3.7 POSEBNE IZVEDBE SEDEM DNEVNEGA TESTA

#### 3.7.1 Vpliv temperature, svetlobe in toksina

Za oceno velikosti morebitnih vplivov različnih magnetnih polj na stopnjo rasti in fotokemične parametre male vodne leče smo izvedli primerjalne poskuse, kjer smo preverjali vpliv znižane temperature in svetlobe kot dveh ključnih dejavnikov v okolju ter vpliv različnih koncentracij referenčnega toksina – 3,5-diklorofenola (DKF) (rezultati teh poskusov so podani v prilogi D).

Pri preverjanju vpliva temperature smo rastline gojili sedem dni pri suboptimalni temperaturi ( $20 \pm 1$ ) °C oz. rastline kontrole pri ( $25 \pm 1$ ) °C v enakih svetlobnih razmerah. V vsakem obravnavanju smo uporabili 4 ponovitve.

Pri preverjanju vpliva količine svetlobe na rast male vodne leče, smo rastline gojili sedem dni v ločenih komorah pri temperaturi ( $25 \pm 1$ ) °C in dveh različnih količinah gostote toka fotonov fotosintezno aktivnega spektra. Rastline kontrole smo izpostavili  $100 \mu\text{mol s}^{-1} \text{ m}^{-2}$ , PPF, rastline obravnavanja pa  $60 \mu\text{mol s}^{-1} \text{ m}^{-2}$  PPF. V obeh obravnavanjih smo imeli 4 ponovitve.

3,5-diklorofenol (D70600-10G, SigmaAldrich) je referenčni toksin, ki se pogosto uporablja za oceno strupenosti drugega dejavnika. V veljavnih poskusnih razmerah je njegova 50 % efektivna koncentracija ( $EC_{50}$  – koncentracija, ki za 50 % zniža merjeni parameter) med 1,8 mg/L in 3,6 mg/L (ISO, 2005). V kontrolnem poskusu smo preverili 4 koncentracije: 0 mg/L, 1,5 mg/L, 2,5 mg/L in 5 mg/L, vsako s 6 ponovitvami.

#### 3.7.2 Podaljšana izpostavitve rastlin magnetnemu polju

Večino poskusov smo zaključili po sedem dnevni izpostavitvi preučevanemu magnetnemu polju ali drugem dejavniku, v nekaterih poskusih pa smo inkubacijo podaljšali za dodatnih sedem dni in tako preverili morebitni vpliv podaljšane izpostavitve magnetnemu polju.

### 3.7.3 Povzročitev stresa v rastlinah z dodatkom toksina DKF in faza okrevanja

V posebej zasnovanem poskusu z nihajočim magnetnim poljem smo kot drugi preučevani dejavnik vključili tudi koncentracijo DKF (0 mg/L, 1,5 mg/L, 2,5 mg/L) in tako rastline izpostavili stresnim razmeram. Preverjali smo, ali se odziv rastlin, izpostavljenih magnetnemu polju v takih razmerah razlikuje, in preučevali morebitno interakcijo med obema dejavnika.

Po sedmih dneh inkubacije smo 3 rastline (9 stebelnih členkov) iz vsake ponovitve prenesli v sveže gojišče brez dodanega DKF in preverili hitrost okrevanja rastlin v prisotnosti ali odsotnosti nihajočega magnetnega polja. Fazo okrevanja smo zaključili po sedmih dneh rasti v svežem gojišču.

### 3.7.4 Stimulacija rastlin z dodatkom GA<sub>3</sub>

V posebej zasnovanih poskusih v nihajočem magnetnem polju smo v gojišče dodali giberelinsko kislino GA<sub>3</sub> (G7645-500MG, SigmaAldrich). Najprej smo pripravili založno raztopino GA<sub>3</sub> 1 g/L in sicer smo 25 mg GA<sub>3</sub> najprej raztopili v 0,5 mL EtOH (96 %) in prenesli v 24,5 mL sterilne destilirane vode. Pripravili smo tudi kontrolno raztopino, v katero smo dodali le 0,5 mL EtOH (96 %) in 24,5 mL sterilne destilirane vode. Obe raztopini smo ob gorilniku prefiltrirali preko sterilnega filtra (0,2 µm) in shranili na 4 °C. V kristalizirke smo dodali skupno 700 µL tako pripravljenih raztopin v medsebojnem razmerju za ustrezne končne koncentracije GA<sub>3</sub> v gojišču: v enem poskusu smo uporabili 2 končni koncentraciji (0 mg/L in 5 mg/L) v drugem pa 3 končne koncentracije GA<sub>3</sub> (0 mg/L, 5 mg/L in 10 mg/L).

### 3.7.5 Predizpostavitev gojišča nihajočemu magnetnemu polju

Preverili smo tudi vpliv predizpostavitve gojišča nihajočemu magnetnemu polju v kombinaciji še z 2 dejavnikoma v popolnem trifaktorskem poskusu:

- Gojišče, predizpostavljeno nihajočemu magnetnemu polju (NE, DA)
- nihajoče magnetno polje (K, PMPi),
- prisotnost DKF v gojišču (0 mg/L, 2 mg/L)

V ta namen smo pripravili 4 L modificiranega Steinbergovega gojišča in od tega 2 L gojišča izpostavili nihajočemu magnetnemu polju v 4 zaporednih intervalih po 15 minut (signali z belim šumom), vsakič z drugo frekvenco: 7,83 Hz; 14,3 Hz; 20,8 Hz; 33,8 Hz. 2 L gojišča brez predizpostavitve je služilo za kontrolo.



### 3.8 STATISTIČNA ANALIZA

Statistično analizo smo opravili s programsko opremo JMP 11 (Statistical Analysis System (SAS) Institute, Cary, NC, ZDA), del analize pa tudi s SPSS Statistics 21 (IBM, Armonk, NY, ZDA) in R statističnim programskim jezikom (R Foundation for Statistical Computing, Dunaj, Avstrija), kjer smo uporabili »nlme« paket za analizo mešanih modelov in paket »mutoss« za izračun mnogoterih primerjav (glej prilogo O za ukazno sintakso). Slike smo izdelali z MS Excelom 2010 (Microsoft, Redmond, WA, ZDA), JMP 11 ali OriginPro 8 (OriginLab corporation, Northampton, MA, ZDA) programsko opremo.

#### 3.8.1 Mešani model ANOVA

Pri ponovljenih poskusih smo za analizo uporabili mešan model ANOVA, ki združuje fiksne in slučajne dejavnike. V našem primeru smo v večini primerov imeli 1 fiksni in 1 slučajni dejavnik (poskusi MGP, VGP, SMP, osnovni PMP):

- poskus (oz. njegove ponovitve) smo obravnavali kot slučajni dejavnik zaradi potencialno različnega fiziološkega stanja rastlin ob začetku poskusa, morebitnih razlik v sestavi gojišča, variacij rastnih razmer in drugih potencialnih slučajnih vplivov, ki bi se lahko spreminjali v času med poskusi.
- Generirano magnetno polje (izpostavljene rastline – M) oz. njegovo odsotnost (rastline kontrole – K) smo obravnavali kot fiksni dejavnik v modelu.
- V nekaterih posebnih izvedbah PMP poskusov smo v model vključili tudi drugi fiksni dejavnik, npr. koncentracija 3,5-diklorofenola, koncentracija GA<sub>3</sub> in nabor frekvenc nihajočega magnetnega polja, v tem primeru smo uporabili polni dvo ali trofaktorski model ANOVA.

V mešanih modelih ANOVA smo za vsoto kvadriranih odklonov (VKO) fiksnega dejavnika uporabili izračun tipa III, in REML (restricted maximum likelihood) metodo za oceno komponent variance, ki so tako neodvisne od fiksnega dejavnika (Montgomery, 2000; str 547). Generaliziran model lahko opišemo z enačbo 31 (Gates, 1995):

$$Y_{ijkm} = \mu + \tau_i + \beta_{j(R)} + (\tau\beta)_{ij(R)} + \eta_{ijk} + \epsilon_{ijkm} \quad \dots (31)$$

Kjer je:

- $Y_{ijk}$  – odvisna spremenljivka za vzorec  $m$ ,  $k$  ponovitve,  $j$  bloka,  $i$  obravnavanja. (npr. dejanska fotokemična učinkovitost FSII vzorca 3, kristalizirke 1 izpostavljene magnetnemu polju 2, v poskusu št. 4 (blok).
- $\mu$  – povprečna vrednost odvisne spremenljivke
- $\tau_i$  – dejavnik s fiksnim vplivom
- $\beta_j$  – dejavnik s slučajnim vplivom (blok), naključnost je označena z (R)

- $(\tau\beta)_{ij}$  – interakcija  $i$  fiksnega dejavnika in  $j$  bloka (se obravnava kot naključna) (Montgomery, 2000: str. 523).
- $\eta_{ijk}$  – variabilnost ponovitev znotraj istega bloka in fiksnega dejavnika
- $\epsilon_{ijk}$  – ostanek (variabilnost vzorcev znotraj poskusnih enot)
- $i = 1, 2, \dots, t$  – indeks označuje obravnavanje glede na dejavnik s fiksnim vplivom ( $t$  različnih obravnavanj)
- $j = 1, 2, \dots, r$  – indeks označuje ponovitve poskusov ( $r$  blokov)
- $k = 1, 2, \dots, p$  – indeks označuje posamezno poskusno enoto ( $p$  ponovitev)
- $m = 1, 2, \dots, s$  – indeks označuje posamezen vzorec iz poskusne enote ( $s$  vzorcev)

Predpostavke ANOVA modela (Field, 2005: 389 – 411):

- 1) odvisna spremenljivka je ali razmična (intervalna) ali razmernostna,
- 2) vsak preučevani dejavnik (neodvisna spremenljivka) ima vsaj 2 kategorični neodvisni skupini,
- 3) obravnavanja so dodeljena poskusnim enotam po principu slučajnosti (obravnavanja so medsebojno neodvisna),
- 4) podatki ne vsebujejo statistično značilnih osamelcev (ang. outliers),
- 5) odvisna spremenljivka ima normalno razporeditev za vsako kombinacijo dejavnikov (preverjali s Shapiro-Wilk testom),
- 6) variance so homogene za vsako kombinacijo skupin dejavnikov (preverjali z Levenovim testom homogenosti varianc).

V kolikor podatki niso izpolnjevali predpostavk, smo uporabili neparametrični bločni Wilcoxonov test vsote rangov, kjer so izmerjene vrednosti najprej prilagojene s povprečji posameznega poskusa (bloka) in razvrščene, da dobimo Wilcoxonovo  $Z$  statistiko (SAS Institute, 2013).

Za primerjavo MGP in VGP (slika 29 A) smo izračunali normalizirane povprečne vrednosti na osnovi posameznega poskusa in jih primerjali z Welch t-testom ali Wilcoxonovim testom vsote rangov. Za primerjavo PMPi in PMPs (slika 29 B) smo uporabili dvofaktorni mešani model, kjer sta bila frekvenca in magnetno polje fiksna dejavnika, poskus pa naključni dejavnik. Ker v obeh primerih ne gre za sočasne poskuse, je potrebno biti pri interpretaciji previden.

Slika 28 B, C in D prikazuje posebne zasnove in analize poskusov s polnim dvofaktorskim modelom, kjer smo poleg nihajočega magnetnega polja kot fiksni dejavnik vključili tudi 3 koncentracije 3,5-diklorofenola (0 mg/L; 1,5 mg/L; 2,5 mg/L) ali pa 3 koncentracije gibberelinske kisline (0 mg/L; 5 mg/L; 10 mg/L).

V preglednicah podajamo povprečne vrednosti s pripadajočimi intervali zaupanja (*IZ*) ali standardnimi napakami (*SE*), ter prilagojena povprečja na osnovi predstavljenih modelov.

### 3.8.2 Velikost učinka

Za oceno velikosti učinka smo izračunali parcialno eta ( $\eta_P$ ) ali pa biserialni koeficient korelacije ( $r$ ) (Fritz in sod., 2012). Parcialna eta opisuje delež variabilnosti, ki ga lahko pripišemo učinku obravnavanja, ko vse ostale pojasnjene učinke odstranimo iz modela (enačba 32):

$$\eta_P = \sqrt{\frac{VKO_{obr}}{VKO_{obr} + VKO_{ost}}} \quad \dots (32)$$

Kjer je  $VKO_{obr}$  vsota kvadriranih odklonov za preučevano obravnavanje,  $VKO_{ost}$  pa vsota kvadriranih odklonov ostanka. Biserialni koeficient korelacije smo izračunali po enačbi 33 ali 34 (odvisno od uporabljene statistične analize):

$$r = \sqrt{\frac{t^2}{t^2 + SP}} = \sqrt{\frac{VKO_{obr}}{VKO_{sk}}} \quad \dots (33)$$

kjer sta  $SP$  in  $t$  stopinje prostosti in  $t$  statistika pri Welch-t testu,  $VKO_{sk}$  pa skupna vsota kvadriranih odklonov.

$$r = \frac{z}{\sqrt{N}} \quad \dots (34)$$

Kjer je  $N$  velikost vzorca,  $Z$  pa  $z$  statistika pri Wilcoxonovem testu vsote rangov. V primeru, da imamo v modelu samo 1 dejavnik, sta biserialni koeficient in parcialna eta enaka. Vrednosti biserialnega koeficienta 0,5; 0,3 in 0,1 smo interpretirali kot velik; srednji in majhen učinek (Fritz in sod., 2012).

### 3.8.3 Kontrola napake za mnogotere primerjave

Zaradi več parametrov, ki smo jih hkrati spremljali na istih poskusnih enotah in zanje nato izvedli ločene analize (za vsak parameter svojo), smo povečali možnosti za napako tipa-I, t.j. zavrnitev resnične ničelne hipoteze v korist napačne alternativne hipoteze oz. tako imenovana napačna odkritja. Zato smo za končno analizo skrčili število parametrov in zanje izračunali prilagojene  $p$ -vrednosti.

Vse merjene in izračunane parametre smo ločili v dve družini parametrov: rastni parametri in parametri, povezani s fluorescenco klorofila *a* FSII. Za vsako družino parametrov smo uporabili ločeno (in neodvisno) korekcijo *p*-vrednosti.

### 3.8.3.1 Družina 1 – rastni parametri

V družino ravnih parametrov smo uvrstili vse parametre, ki niso bili neposredno povezani s fluorescenco klorofila *a*. Da bi obdržali statistično moč, smo pred analizo izločili manj informativne parametre in parametre, ki so podvajali informacije. Tako smo izločili koncentracijo barvil, ki je v pilotskih poskusih pokazala precejšnjo variabilnost in slabšo možnost zaznavanja morebitnega vpliva dodanega toksina v primerjavi z drugimi parametri. OECD (2006) za sedem dnevni test predvideva uporabo dveh stopenj rasti, pridobljenih iz različnih merjenih parametrov, od tega kot obvezno predpisuje uporabo stopnje rasti za število stebelnih členkov (*SR\_N*), glede stopnje rasti za skupno površino stebelnih členkov in suho maso pa ne postavi preferenc. Po naših izkušnjah je bila meritev suhe mase manj natančna v primerjavi z meritvijo površine, naredili pa smo tudi korelacijsko analizo med stopnjami rasti, ki je potrdila predvidevanja o njihovi visoki koreliranosti (najnižja Pearsonova korelacija med katerim koli parom stopenj rasti znotraj istega seta poskusov je bila 0,78). Zato smo v končno analizo za rastne parametre vzeli le stopnjo rasti za število stebelnih členkov (*SR\_N*) in stopnjo rasti za skupno površino stebelnih členkov (*SR\_A*).

Najenostavnejši postopek za kontrolo stopnje napake na ravni družine (FWER – ang. familywise error rate) je Bonferronijev popravek (enačba 35), kjer kritično *p*-vrednost ( $P_K$ ) določimo tako, da izbrano stopnjo značilnosti ( $\alpha$ ) delimo s številom testiranih hipotez ( $m$ ):

$$P_{K_{Bonf}} = \frac{\alpha}{m} \quad \dots (35)$$

V našem primeru imamo 2 rastna parametra, Bonferronijev popravek pa tako izbrano kritično vrednost  $P_K = 0,05$  zniža na  $P_{K_{Bonf}} = 0,025$ . Tako zavrnemo vse hipoteze, ki imajo *p*-vrednost manjšo ali enako  $P_{K_{Bonf}}$ . S tem, kljub dvema testoma, obdržimo stopnjo tveganja za eno napačno zavrnjeno hipotezo na ravni družine pri 5 %.

Vendar pa Bonferronijev popravek bistveno zniža moč statističnih testov. Zato smo uporabili Holmov postopek, ki kritično *p*-vrednost prilagaja po korakih, vseeno pa ohrani izbrano stopnjo tveganja na ravni celotne družine (Holm, 1979). V Holmovem postopku je potrebno dobljene *p*-vrednosti (brez popravkov) urediti v ranžirno vrsto od najmanjše do največje in jim tako dodeliti indeks  $i$ :  $P_1, P_2, \dots, P_m$ . S tem dodelimo enak indeks tudi pripadajočim ničelnim hipotezam:  $H_1, H_2, \dots, H_m$ . Nato po korakih od najmanjše do največje primerjamo posamezno *p*-vrednost  $P_i$  s kritično vrednostjo  $P_{Ki}$ , ki jo dobimo z enačbo 36:

$$P_{Ki} = \frac{\alpha}{m+1-i} \quad \dots (36)$$

Poiščemo najmanjši  $j$ , za katerega velja  $P_{Kj} \geq P_j$  in zavrnilo vse predhodne hipoteze  $H_1, \dots, H_{j-1}$  (Holm, 1979; Goeman in Solari, 2014). Tudi Holmov postopek uvrščamo v FWER in je močnejši od Bonferronijevga. Tako v našem primeru dveh hipotez namesto enotne kritične vrednosti 0,025 za obe, nižjo  $p$ -vrednost primerja z isto kot Bonferronijev postopek (0,025), višjo pa z 0,05.

### 3.8.3.2 Družina 2 – parametri povezani s fluorescenco klorofila $a$ FSII

Ta družina združuje skupno 37 parametrov:  $F_v/F_m$ ,  $Y(II)$  in 35 JIP parametrov. Večina parametrov je med seboj povezanih, vendar pa pred testom nismo mogli izločiti posameznih parametrov kot bolj ali manj občutljivih na morebiten vpliv obravnavanja. Zato smo v končno analizo vzeli vse parametre, vendar pa bi enostavna Bonferronijeva korekcija kritičnih  $p$ -vrednosti preveč zmanjšala moč testa ( $P_{K\_Bonf} = 0,05 / 37 = 0,00135$ ). Tudi Holmov postopek v tem primeru ostaja prestrog in smo ga uporabili zgolj kot informativnega. FWER postopki ohranjajo nizko tveganje za napako tipa-I, a močno povečajo tveganje za napako tipa-II, t.j. napačna sprejeta ničelna hipoteza v škodo alternativne hipoteze (Goeman in Solari, 2014).

Zato smo za dejansko prilagoditev uporabili drugačen pristop kontroliranja napake – t.j. kontroliranje stopnje napačnih odkritij (ang. false discovery rate – FDR), ki sta ga utemeljila Benjamini in Hochberg (1995) in danes vključuje vrsto različno močnih postopkov z različnimi predpostavkami o neodvisnosti hipotez (Goeman in Solari, 2014). FDR postopki se uporabljajo predvsem v znanstvenih disciplinah, kjer imamo veliko merjenih ali izračunanih parametrov kot npr. genetiki, medicini, psihologiji in socioloških znanostih, v zadnjem času pa tudi na področju vedenja, ekologije in evolucije (Shaffer, 1995; Pike, 2011; Goeman in Solari, 2014).

FDR postopki kontrolirajo delež napačno zavrnenih hipotez izmed vseh zavrnenih ( $q$ ) in ne zgolj verjetnost, da napačno zavrnilo 1 od testiranih hipotez ( $\alpha$ ).

$$q = \frac{\text{napačno zavrnjene ničelne hipoteze}}{\text{zavrnjene ničelne hipoteze}} \quad \dots (37)$$

Sprejemljivost tega postopka naraste, kadar število zavrnenih hipotez naraste. Predpostavimo, da  $q = 0,05$  in zavrnilo 100 ničelnih hipotez. Pet izmed njih bo napačno zavrnenih. Če bi zavrnilo 1000 hipotez, bi bilo ob istem  $q$  50 napačno zavrnenih, vendar bi tudi 50 napak v celotnem kontekstu ostalo sprejemljivo, še posebej, ker zaradi večje moči

identificiramo večje število potencialno statistično značilno napačnih ničelnih hipotez (Benjamini in Hochberg, 1995; Pike, 2011).

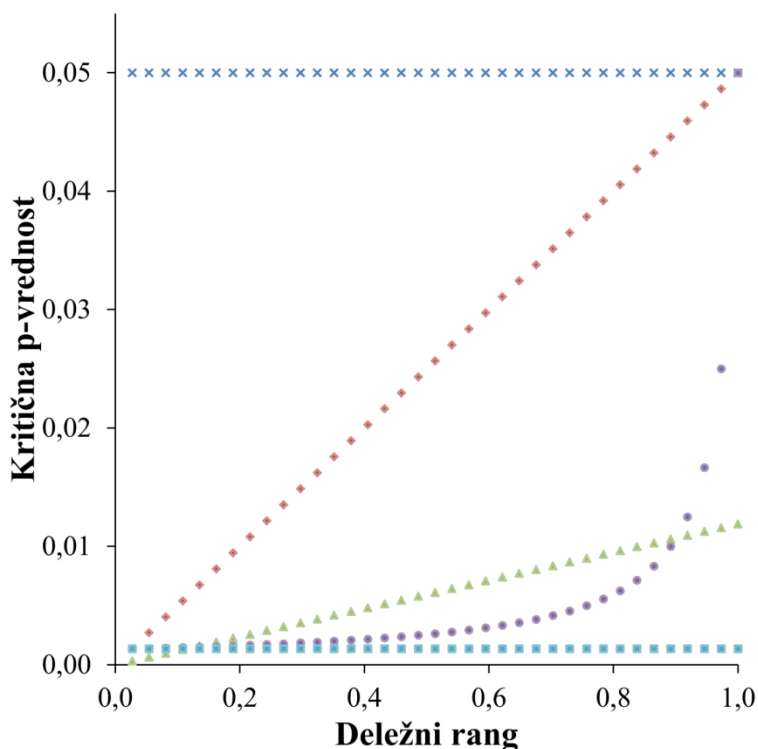
Osnovni FDR postopek, ki sta ga predstavila Benjamini in Hochberg (1995) velja za neodvisne ali pozitivno odvisne hipoteze. Podobno kot pri FWER postopkih, dobljene  $p$ -vrednosti najprej razvrstimo in nato poiščemo največji  $j$ , za katerega velja  $P_{Kj} \geq P_j$  in zavrneemo vse hipoteze  $H_1, \dots, H_j$ . Postopek ustavimo pri prvem  $j$ , ki ne zadosti temu pogoju in obdržimo vse nadaljnje ničelne hipoteze (Benjamini in Hochberg, 1995):

$$P_{Ki} = \frac{q \times i}{m} \quad \dots (38)$$

Kasneje sta Benjamini in Yuketeli (2001) razvila FDR postopek za odvisne ničelne hipoteze in tako bistveno povečala možnost uporabe FDR postopka v realnih bioloških situacijah. Razvrščene  $p$ -vrednosti primerjamo s  $P_K$ , ki jih izračunamo z enačbo 39 (Benjamini in Yuketeli, 2001):

$$P_{Ki} = \frac{q \times i}{m \times \sum_{j=i}^m 1/j} \quad \dots (39)$$

Enako kot v primeru izračuna FDR po Benjamini in Hochberg (1995), tudi tukaj poiščemo največji  $j$ , za katerega velja  $P_{Kj} \geq P_j$  in zavrneemo vse hipoteze  $H_1, \dots, H_j$ . Postopek ustavimo pri prvem  $j$ , ki ne zadosti temu pogoju in obdržimo vse nadaljnje ničelne hipoteze (Benjamini in Yuketeli, 2001). Razliko v kritičnih vrednostih za 37 parametrov prikazuje slika 48, dejanske vrednosti pa podajamo v prilogi E.



**Slika 48: Kritične  $p$ -vrednosti za 37 razvrščene  $p$ -vrednosti glede na različne postopke za kontrolo napake tipa-I.**  $\times$  – brez popravka,  $\blacksquare$  – Bonferronijev popravek (FWER),  $\bullet$  – Holmov popravek (FWER),  $\blacklozenge$  – Benjamini in Hochbergov popravek (odvisni FDR),  $\blacktriangle$  – Benjamini in Yuketeljev popravek (neodvisni FDR).

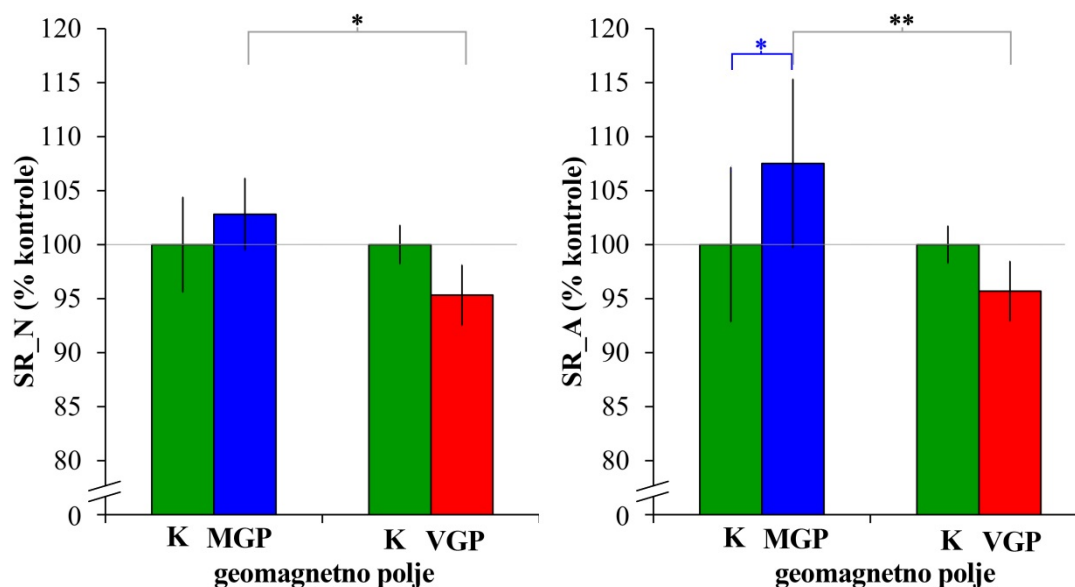
**Figure 48: Critical  $p$ -values for different type-I error control procedures based on the 37 ranked  $p$ -values.**  $\times$  – no adjustment,  $\blacksquare$  – Bonferroni adjustment (FWER),  $\bullet$  – Holm adjustment (FWER),  $\blacklozenge$  – Benjamini and Hochberg adjustment (dependent FDR),  $\blacktriangle$  – Benjamini and Yuketeli adjustment (independent FDR).

## 4 REZULTATI

### 4.1 SPREMENJENO GEOMAGNETNO POLJE

#### 4.1.1 Rastni parametri in fotokemična učinkovitost FSII

Rezultati poskusov v spremenjenem geomagnetnem polju so zbrani na sliki 49, kjer so predstavljeni ločeno za poskuse v zmanjšanjem geomagnetnem polju (MGP) in povečanem geomagnetnem polju (VGP) in prikazani kot odstotek povprečja kontrole. Priloga G podaja izmerjene vrednosti in statistično analizo stopenj rasti in parametrov fotokemične učinkovitosti FSII.



**Slika 49:** Povprečne vrednosti in standardne napake za stopnje rasti 4 poskusov v zmanjšanjem (MGP,  $n = 4$ ) in 5 poskusov v povečanem (VGP,  $n = 19$ ) geomagnetnem polju po sedmih dneh inkubacije. Vrednosti so normirane na vrednosti rastlin kontrole. K – kontrola (■), MGP (■), VGP (■); \* označuje statistično značilno razliko (\* za pril.  $p < 0,05$  in \*\* za pril.  $p < 0,01$ ). Ordinata vsebuje prelom. Prikazane so relativne standardne napake.

**Figure 49:** Average values and standard errors for growth rates in 4 experiments in reduced (MGP,  $n = 4$ ) and 5 experiments in enhanced (VGP,  $n = 19$ ) geomagnetic field after seven day incubation. Values are expressed as percentage to control. K – control (■), MGP (■), VGP (■); \* indicates statistically significant difference (\* for adjusted  $p < 0,05$  and \*\* for adjusted  $p < 0,01$ ). There is a break in the ordinate. Relative standard error is shown.

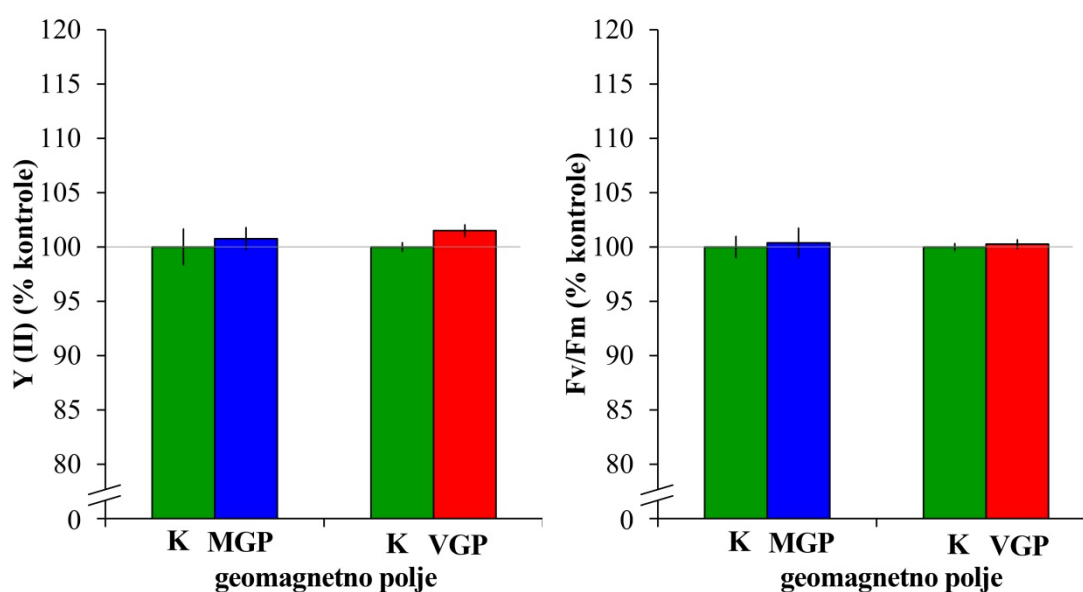
Spremenjeno geomagnetno polje je le v enem primeru statistično značilno različno vplivalo na rast rastlin male vodne leče in sicer so imele rastline v zmanjšanjem geomagnetnem polju v povprečju za 8 % višjo stopnjo rasti za skupno površino stebelnih členkov v primerjavi z rastlinami, ki so rasle v nespremenjenem geomagnetnem polju ( $n = 4$ , pril.  $p = 0,02$ ,  $r = 0,96$ ). Kar 92 % variabilnosti parametra je bilo pojasnjena z magnetnim poljem.



Tudi stopnja rasti za število členkov je bila višja pri rastlinah v zmanjšanem geomagnetnem polju (MGP), vendar razlika ni bila statistično značilno različna. Obratno težnjo smo opazili pri rastlinah, ki so rasle v povečanem geomagnetnem polju (VGP). Stopnje rasti v VGP poskusih so bile pri izpostavljenih rastlinah nižje od stopenj rasti neizpostavljenih rastlin vendar razlike niso bile statistično značilno različne.

Primerjava normiranih vrednosti za stopnje rasti v zmanjšanem ( $n = 4$ ) in povečanem geomagnetnem polju ( $n = 5$ ) je pokazala visoko značilne razlike (pril.  $p = 0,01$ ;  $r = 0,83$  in  $0,88$ ) s katerimi smo lahko pojasnili 69 % variabilnosti  $SR_N$  in 78 % variabilnost  $SR_A$  (slika 49).

Fotokemična učinkovitost FSII temotno ( $F_v/F_m$ ) in svetlobno ( $Y(II)$ ) prilagojenih rastlin se med obravnavanji v različnih geomagnetnih poljih ni statistično značilno razlikovala (slika 50, priloga G).



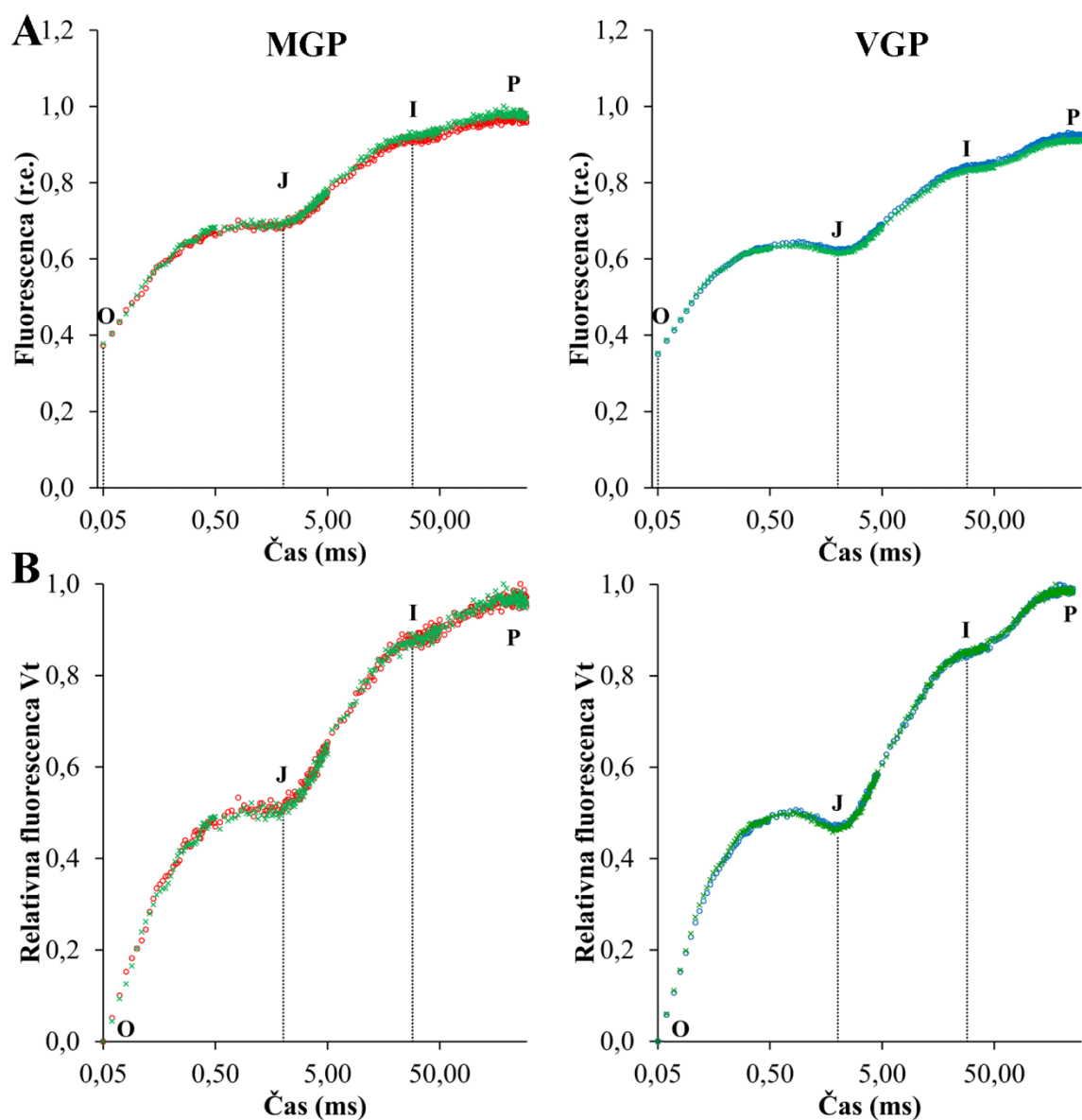
**Slika 50:** Povprečne vrednosti in standardne napake za dejansko fotokemično učinkovitost FSII ( $Y(II)$ ) in potencialno fotokemično učinkovitost FSII ( $F_v/F_m$ ) 4 poskusov v zmanjšanem (MGP,  $n = 4$ ) in 5 poskusov v povečanem (VGP,  $n = 19$ ) magnetnem polju po sedmih dneh inkubacije. Vrednosti so normirane na vrednosti rastlin kontrole. K – kontrola (■), MGP (■), VGP (■). Ni statistično značilnih razlik. Ordinata vsebuje prelom. Prikazane so relativne standardne napake.

**Figure 50:** Average values and standard errors for actual ( $Y(II)$ ) and potential ( $F_v/F_m$ ) photochemical efficiency of PSII in 4 experiments in reduced (MGP,  $n = 4$ ) and 5 experiments in enhanced (VGP,  $n = 19$ ) geomagnetic field after seven day incubation. Values are expressed as percentage to control. K – control (■), MGP (■), VGP (■). There are no statistically significant differences. There is a break in the ordinate. Relative standard error is shown.

#### 4.1.2 Hitra kinetika in JIP test

Inducirane O-J-I-P fluorescence klorofila *a* (slika 51) in 35 izpeljanih JIP parametrov nam lahko nudi dodatne informacije o fotokemičnih procesih izpostavljenih in neizpostavljenih rastlin. Poli-fazna fluorescenca se med obravnavanji ni razlikovala, O-J-I-P krivulje se skoraj v popolnosti prekrivajo.

Prav tako nismo zaznali statističnih razlik v izmerjenih in izračunanih JIP parametrih. V obeh serijah poskusov (MGP n VGP) smo opazili 10 % nižjo vrednost kazalcev delovanja (*PI*) v primerjavi z rastlinami kontrole vendar razlika ni bila statistično značilna (Priloga I). Primerjava normiranih vrednosti MGP in VGP ni pokazala statistično značilnih razlik v tehničnih parametrih, kvantnih izkoristkih in učinkovitostih ter specifičnih in fenomenoloških energijskih tokovih, ki smo jih določili s pomočjo JIP testa (Priloga I).



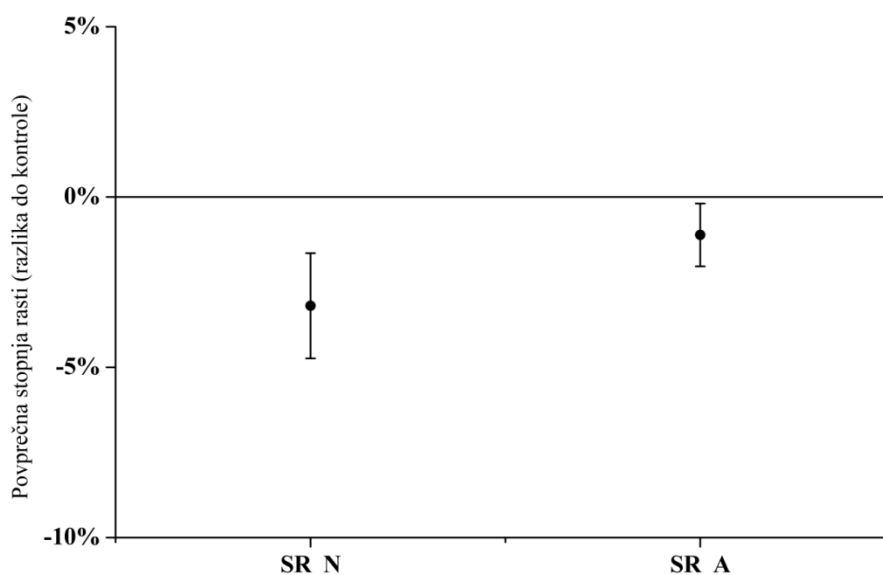
**Slika 51: Povprečna poli-fazna fluorescenca klorofila *a* FSII po sedmih dneh inkubacije v zmanjšanem (MGP) ali povečanem (VGP) geomagnetnem polju.** Povprečna izmerjena fluorescenca (A) in povprečna relativna fluorescenca (B) Kla FSII, prikazana na logaritemski skali. Kontrola (—),  $n = 3$  oz. 19; MGP (—),  $n = 3$ ; VGP (—),  $n = 19$ .

**Figure 51: PSII chlorophyll *a* fluorescence transient for *Lemna minor* plants after seven day incubation.** Mean fluorescence (A) and mean relative fluorescence (B) plotted against time on a logarithmic scale. Control (—),  $n = 3$  or 19; MGP (—),  $n = 3$ ; VGP (—),  $n = 19$ .

## 4.2 MOČNO STATIČNO MAGNETNO POLJE

### 4.2.1 Rastni parametri in fotokemična učinkovitost FSII

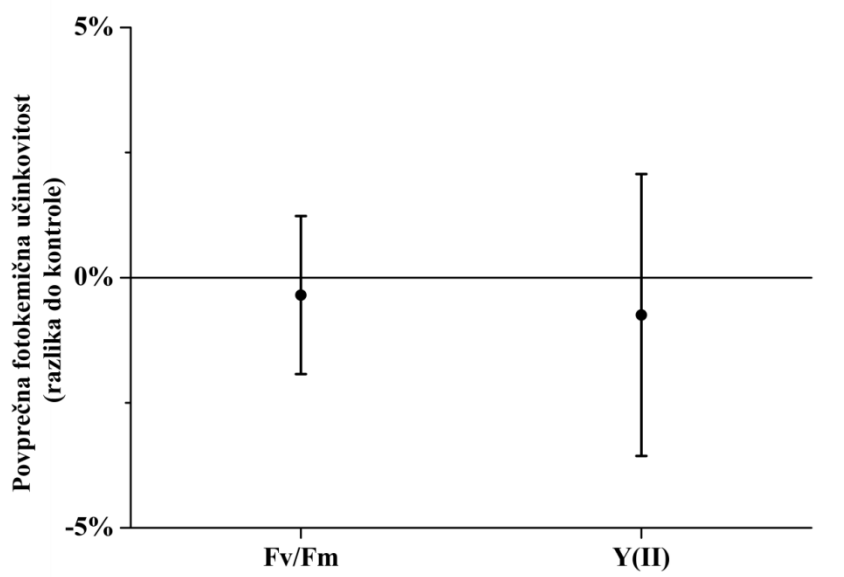
Izpostavitve rastlin močnemu statičnemu magnetnemu polju (SMP) ni bistveno vplivala na rast rastlin (slika 52). Število stebelnih členkov izpostavljenih rastlin je bilo po sedmih dneh inkubacije 6 % nižje (103;  $n = 9$ ,  $SE = 9$ ) od rastlin kontrole (110;  $n = 9$ ,  $SE = 9$ ).  $SR_N$  je bila pri rastlinah, izpostavljenih SMP 3,2 % manjša (0,310;  $n = 9$ ,  $SE = 0,014$ ) v primerjavi z rastlinami kontrole (0,320;  $n = 9$ ,  $SE = 0,012$ ), razlika pa ni bila statistično značilna (pril.  $p = 0,246$ ) (slika 52). Prav tako močno statično magnetno polje ni imelo učinka na stopnjo rasti za skupno površino stebelnih členkov.



**Slika 52: Povprečna stopnja rasti v 3 poskusih rastlin, izpostavljenih močnemu statičnemu magnetnemu polju (SMP) po sedmih dneh inkubacije v primerjavi z rastlinami kontrole.** Vrednost 0 % predstavlja vrednosti kontrole, ostale vrednosti so preračunane na odstotek kontrole (povprečna vrednost in relativna standardna napaka),  $n = 9$ .  $SR_N$  – stopnja rasti glede na število stebelnih členkov,  $SR_A$  – stopnja rasti glede na skupno površino stebelnih členkov. Ni statistično značilnih razlik.

**Figure 52: Average growth rate of *Lemna minor* plants in 3 experiments after seven day exposure to strong static magnetic field (SMP) compared to the control.** Value 0 % represents values for control, the rest of the values are expressed as a percentage to control (average values and relative standard error are shown),  $n = 9$ .  $SR_N$  – growth rate for frond number,  $SR_A$  – growth rate for total frond area. There are no statistically significant differences.

Močno statično magnetno polje ni imelo učinka na potencialno ( $F_V/F_M$ ) in dejansko ( $Y(II)$ ) fotokemično učinkovitost FSII. Med obravnavanji ni bilo statistično značilnih razlik (slika 53).



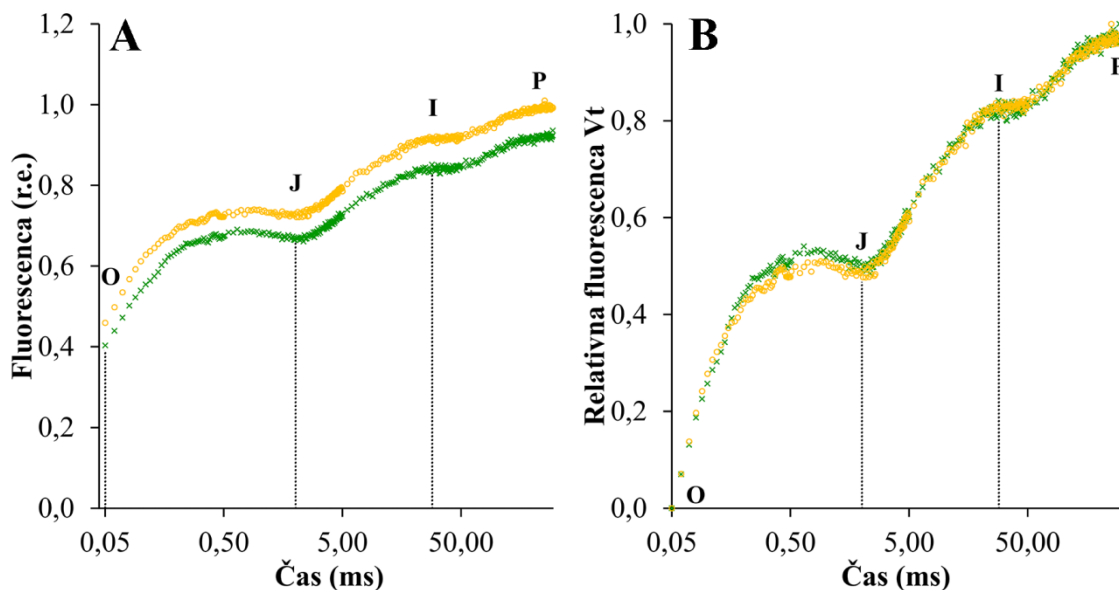
**Slika 53: Povprečna fotokemična učinkovitost FSII v 3 poskusih rastlin, izpostavljenih močnemu statičnemu magnetnem polju (SMP) po sedmih dneh inkubacije v primerjavi z rastlinami kontrole.** Vrednost 0 % predstavlja vrednosti kontrole, ostale vrednosti so preračunane na odstotek kontrole (povprečna vrednost in relativna standardna napaka),  $n = 9$ .  $F_v/F_M$  – potencialna fotokemična učinkovitost FSII,  $Y(II)$  – dejanska fotokemična učinkovitost FSII. Ni statistično značilnih razlik.

**Figure 53: Average photochemical efficiency of PSII of *Lemna minor* plants in 3 experiments after seven day exposure to strong static magnetic field (SMP) compared to the control.** Value 0 % represents values for control, the rest of the values are expressed as a percentage to control (average values and relative standard error are shown),  $n = 9$ .  $F_v/F_M$  – potential photochemical efficiency of PSII,  $Y(II)$  – actual photochemical efficiency of PSII. There are no statistically significant differences.

#### 4.2.2 Hitra kinetika in JIP test

Meritve hitre kinetike fluorescence klorofila *a* so pokazale nekoliko višjo izmerjeno fluorescenco izpostavljenih rastlin (slika 54 A). Primerjava relativne variabilne fluorescence (slika 54 B) izpostavljenih rastlin in rastlin kontrole je dala manjšo razliko v O-J delu krivulje, sicer pa sta krivulji podobni.

Kljub temu pa se izpostavljene rastline in rastline kontrole statistično značilno razlikujejo le v nekaj JIP parametrih, statistično značilne razlike pa ob popravku  $p$ -vrednosti izginejo (preglednica 10). Najvidnejša razlika je 14 % višja začetna fluorescenca ( $F_0$ ) izpostavljenih rastlin (SMP v povprečju 0,46; kontrola v povprečju 0,40), kjer smo z obravnavanjem pojasnili 92 % opažene variabilnosti parametra. Začetni naklon krivulje relativne variabilne fluorescence ( $M_0$ ) je bil pri izpostavljenih rastlinah 7 % nižji. Kvantni izkoristek sipanja energije ( $\phi_{D0}$ ) je bil 5 % višji v izpostavljenih rastlinah. Vsi fenomenološki energijski tokovi so bili višji pri izpostavljenih rastlinah, izstopa sipanje energije na



**Slika 54:** Povprečna poli-fazna fluorescenca klorofila *a* FSII za 3 poskuse v močnem statičnem magnetnem polju (SMP) po sedmih dneh inkubacije. Povprečna izmerjena fluorescenca (A) in povprečna relativna fluorescenca (B) Kla FSII, prikazana na logaritemski skali. Kontrola (●), SMP (■),  $n = 9$ .

**Figure 54:** Average PSII chlorophyll *a* fluorescence transient for *Lemna minor* plants in 3 experiments after seven day incubation in strong static magnetic field. Mean fluorescence (A) and mean relative fluorescence (B) plotted against time on a logarithmic scale. Control (●), SMP (■),  $n = 9$ .

vzbujeno površino ( $J_0^{DI}/CS$ ), ki je bila 14 % višja pri izpostavljenih rastlinah. Višje je bilo tudi povprečne število aktivnih FSII RC na vzbujeno površino ( $RC/CS$ ), v povprečju 11 %, z obravnavanjem pa smo pojasnili 52 % opažene variabilnosti. Med kazalci delovanja in gonilnimi silami ni bilo statistično značilnih razlik, čeprav so bili vsi kazalci izpostavljenih rastlin višji, med njimi najbolj izstopa  $PI_{ABS}$ , ki je bil 6 % višji (priloga I).

**Preglednica 10:** Statistična analiza za izbrane JIP parametre rastlin *Lemna minor* po sedmih dneh izpostavitve močnemu statičnemu magnetnemu polju (SMP). Za vsak parameter so podane povprečne vrednosti in SE za vsako obravnavanje posebej ( $n = 9$ ), relativna razlika med obravnavanjema, test za statistično primerjavo (glede na veljavnost predpostavk) in dobljene ter prilagojene  $p$ -vrednosti parametri za oceno velikosti učinka. Predstavljene so tudi običajne težnje JIP parametrov drugih rastlin, ki so rasle v različnih stresnih razmerah, objavljene v znanstvenih člankih.

**Table 10:** Statistical analysis for selected JIP parameters for *Lemna minor* plants after seven day exposure to strong static magnetic field (SMP). Average values and standard errors for each parameter for each treatment are given ( $n = 9$ ). Relative differences between treatments, selected statistical analysis,  $p$ -values and adjusted  $p$ -values are shown. Usual trends in JIP parameters for different plants under stress condition found in other references are shown.

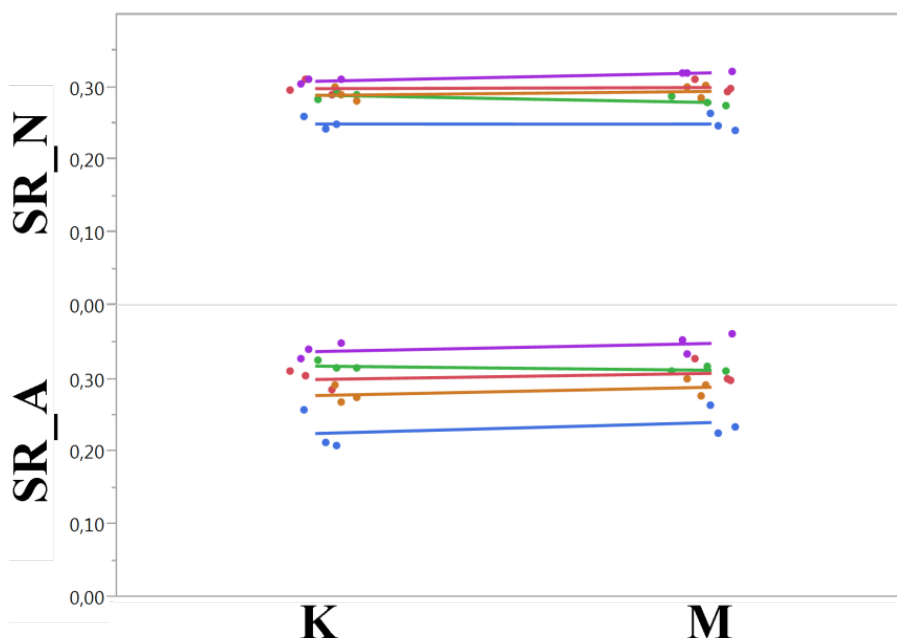
JIP parameter	Obr.	Povp.	SE	Povp. raz. (%)	test	p-vrednost	pril. p-vrednost	$\eta_p$ ali $r$	$\eta_p^2$ ali $r^2$	ST	Viri
$F_0$ (50 $\mu$ s)	Kontr.	0,40	0,02							↑	b, g, h, i
	SMP	0,46	0,02	14,3	ANOVA	0,043*	1,000	0,96	0,92	↓	b, e
$F_{100}$ (100 $\mu$ s)	Kontr.	0,54	0,02							↓	a, e, f, i, j
	SMP	0,61	0,03	13,5	bl.WRS	0,052	0,347	0,46	0,21	↓	a, e, f, i, j
$F_J$ (2ms)	Kontr.	0,67	0,02							↓	a, e, f, h, i, j
	SMP	0,73	0,03	9,7	ANOVA	0,132	1,000	0,87	0,75	↓	a, e, f, h, i, j
$F_I$ (30ms)	Kontr.	0,85	0,04							↓	a, e, f, h, i, j
	SMP	0,91	0,03	7,8	ANOVA	0,190	1,000	0,81	0,66	↓	a, e, f, h, i, j
$F_M$	Kontr.	0,99	0,05							↓	a, c, e, f, h, i, j
	SMP	1,06	0,04	7,5	ANOVA	0,320	1,000	0,68	0,46	↑	G
$M_0$	Kontr.	1,79	0,03							↑	H
	SMP	1,66	0,04	-7,3	bl.WRS	0,004*	0,347	-0,69	0,47	↑	H
$\phi_{P0}$	Kontr.	0,59	0,02							↓	a, b, d, e, f, g, h, i
	SMP	0,57	0,02	-3,6	bl.WRS	0,042*	0,598	-0,48	0,23	=	c, d, k
$\phi_{D0}$	Kontr.	0,41	0,02							↑	b, g, h
	SMP	0,43	0,02	5,1	bl.WRS	0,042*	0,598	0,48	0,23	↑	b, g, h
$\phi_{E120}$	Kontr.	0,32	0,02							↓	b, d, f, h, i
	SMP	0,31	0,01	-3,4	ANOVA	0,540	1,000	0,46	0,21	↓	b, d, f, h, i
$J^{ABS}/RC$	Kontr.	6,77	0,18							↑	a, c, d, f, g, i
	SMP	6,54	0,22	-3,2	ANOVA	0,539	1,000	0,46	0,21	↑	a, c, d, f, g, i
$J_0^{TR}/RC$	Kontr.	3,95	0,08							↑	c, d, g
	SMP	3,68	0,08	-6,8	ANOVA	0,107	1,000	0,89	0,80	=	f, i
$J_0^{E2}/RC$	Kontr.	2,16	0,09							↓	d, f, g, h
	SMP	2,03	0,08	-6,3	bl.WRS	0,216	1,000	-0,29	0,08	↑	C
$J_0^{D1}/RC$	Kontr.	2,81	0,21							↑	c, d, f, g, h, i
	SMP	2,86	0,17	1,8	bl.WRS	0,860	1,000	0,04	0,00	↑	c, d, f, g, h, i
$J^{ABS}/CS_M$	Kontr.	0,99	0,05							↓	b, c
	SMP	1,06	0,04	7,5	ANOVA	0,320	1,000	0,68	0,46	↓	b, c
$J_0^{TR}/CS$	Kontr.	0,58	0,04							↓	b, c, h
	SMP	0,60	0,03	2,8	ANOVA	0,753	1,000	0,25	0,06	↓	b, c, h
$J_0^{E2}/CS$	Kontr.	0,32	0,03							↓	b, c, h
	SMP	0,33	0,02	2,8	ANOVA	0,804	1,000	0,20	0,04	↓	b, c, h
$J_0^{D1}/CS$	Kontr.	0,40	0,02							↑	g, h
	SMP	0,46	0,02	14,3	ANOVA	0,043*	1,000	0,96	0,92	=	b, c
$RC/CS$	Kontr.	0,15	0,01							↓	b, c, h
	SMP	0,16	0,01	11,3	ANOVA	0,280	1,000	0,72	0,52	↓	b, c, h
$PI_{ABS}$	Kontr.	0,28	0,04							↓	a, b, c, d, f, h, i, j, k
	SMP	0,26	0,03	-5,8	ANOVA	0,650	1,000	0,35	0,12	↓	a, b, c, d, f, h, i, j, k
$PI_{ABS\ total}$	Kontr.	0,23	0,04							↓	g, h
	SMP	0,22	0,03	-5,7	bl.WRS	0,791	1,000	-0,06	0,00	↓	g, h

Opombe: a – Barhoumi in Dewez, 2013; b – Brestic in Zivcak, 2013; c – Comino in sod., 2004; d – Darwish in sod., 2013; e – Debabrata in Kumar, 2011; f – Eullaffroy in sod., 2009; g – Jiang in sod., 2009; h – Lin in sod., 2009; i – Pan in sod., 2011; j – Shao in sod., 2010; k – Strauss in sod., 2006. ST – označuje običajno opaženo težnjo JIP parametra za rastline v različnih stresnih razmerah ter vir navedbe (rastlinam v stresu vrednost ↑ naraste, ↓ pade, = enaka). Podane so p-vrednosti in prilagojene p-vrednosti za Benjamini Yuketelijevo FDR proceduro, \* označuje statistično značilno razliko (prilagojena  $p < 0,05$ ). Parcialna eta ( $\eta_p$ ) ali biserialni koeficient korelacije ( $r$ ) za oceno velikosti učinka in  $\eta_p^2$  or  $r^2$  za odstotek pojasnjene variabilnosti. Glej preglednico 1 za opis posameznih JIP parametrov.

#### 4.3 NIHAJOČE MAGNETNO POLJE

##### 4.3.1 Osnovni vpliv nihajočega magnetnega polja na rast in fotokemično učinkovitost FSII

Slika 55 prikazuje rezultate posameznih poskusov v nihajočem magnetnem polju. Prikazane so izmerjene vrednosti za stopnje rasti rastlin kontrole in rastlin, izpostavljenih nihajočemu magnetnemu polju (ne glede na nabor frekvenc in brez dodatkov DKF ali  $GA_3$ ) po sedmih dneh inkubacije. Razlike v stopnjah rasti med obravnavanji znotraj istega poskusa so bile minimalne, večje razlike so se pokazale znotraj istega obravnavanja med različnimi ponovitvami poskusa.



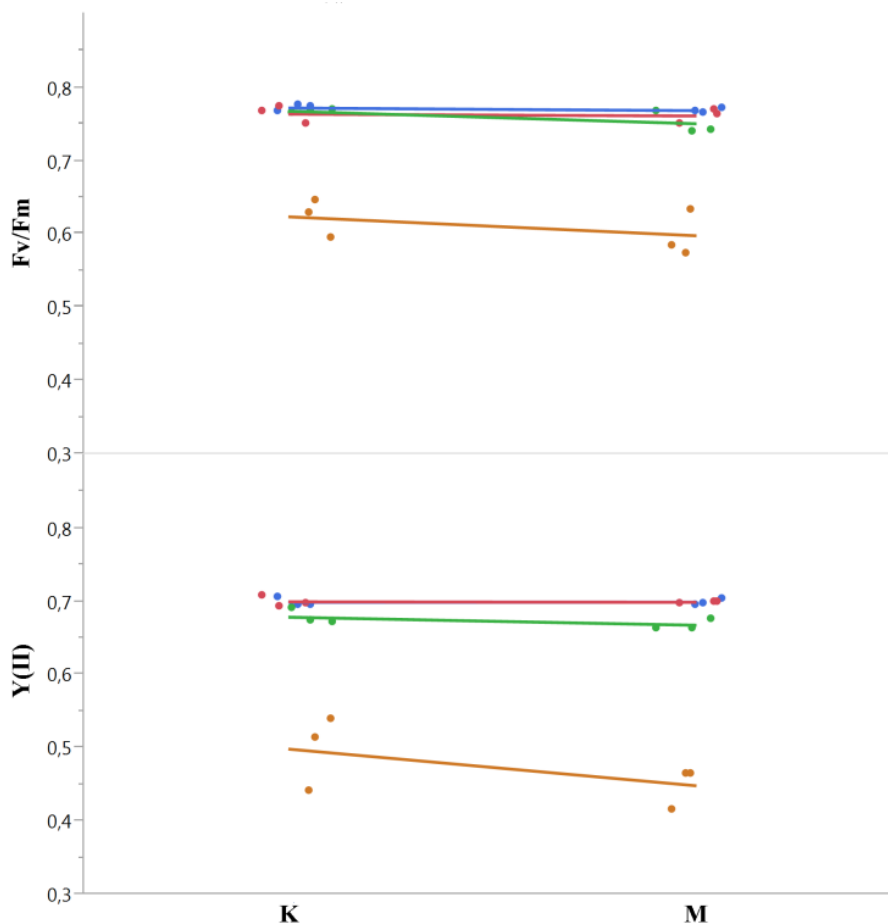
**Slika 55:** Povprečne in izmerjene vrednosti stopenj rasti v posameznem poskusu, kjer smo rastline izpostavili nihajočemu magnetnemu polju – primerjava kontrole (K) in izpostavljenih rastlin (M) po sedmih dneh inkubacije ( $n = 3$ ). Vsak izmed petih poskusov je prikazan v svoji barvi, točke prikazujejo izmerjene vrednosti, daljice pa povezujejo povprečne vrednosti obravnavanj.  $SR_N$  – stopnja rasti glede na število stebelnih členkov,  $SR_A$  – stopnja rasti glede na skupno površino stebelnih členkov.

**Figure 55:** Average and measured values for growth rates in individual experiment where plants were exposed to changing magnetic field – comparison of control (K) and treatment (M) plants after seven days ( $n = 3$ ). Each of the five experiments is shown in different color, points show measured values, segments connect average values for each treatment.  $SR_N$  – growth rate for frond number,  $SR_A$  – growth rate for total frond area.

Podobne rezultate smo dobili tudi pri primerjavi fotokemične učinkovitosti FSII (slika 56). Največjo razliko med kontrolo in rastlinami izpostavljenimi PMP smo opazili v poskusu,



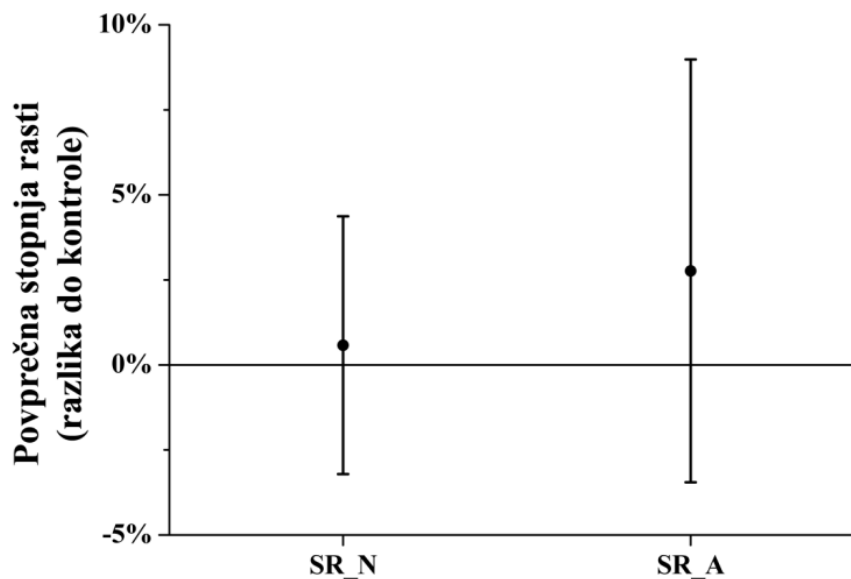
kjer je bila izmerjena vrednost fotokemične učinkovitosti FSII najnižja (slika 56), vendar razlika ni bila statistično značilna.



**Slika 56:** Povprečne in izmerjene vrednosti potencialne ( $F_v/F_m$ ) in dejanske ( $Y(II)$ ) fotokemične učinkovitosti FSII v posameznem poskusu, kjer smo rastline izpostavili nihajočemu magnetnemu polju – primerjava kontrole (K) in izpostavljenih rastlin (M) po sedmih dneh inkubacije ( $n = 3$ ). Vsak izmed štirih poskusov je prikazan v svoji barvi, točke prikazujejo izmerjene vrednosti, daljice pa povezujejo povprečne vrednosti obravnavanj.  $F_v/F_m$  – potencialna fotokemična učinkovitost FSII,  $Y(II)$  – dejanska fotokemična učinkovitost FSII. Ordinata vsebuje prelom.

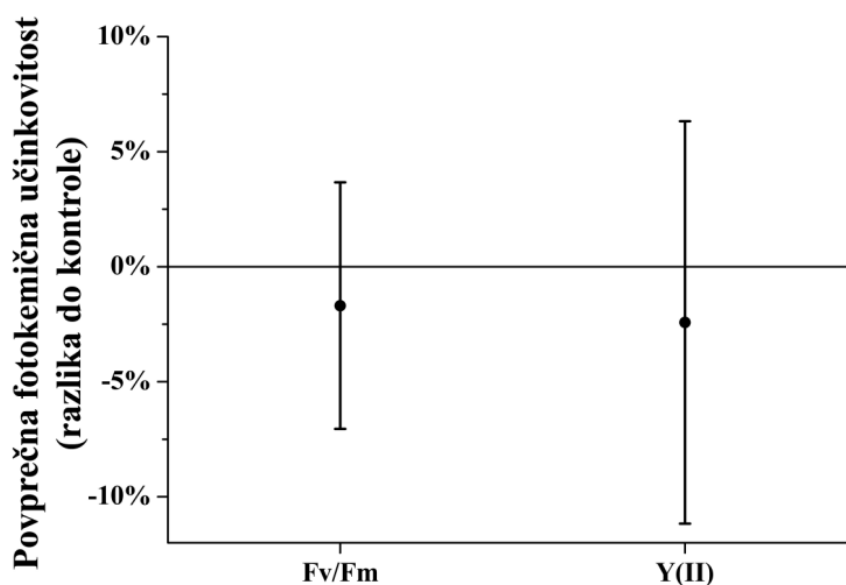
**Figure 56:** Average and measured values for the photochemical efficiency of PSII in individual experiments where plants were exposed to changing magnetic field (PMP) – comparison of control (K) and treatment (M) plants after seven days ( $n = 3$ ). Each of the 4 experiments is shown in different color. Points show measured values, segments connect average values for each treatment.  $F_v/F_m$  – potential photochemical efficiency of PSII,  $Y(II)$  – actual photochemical efficiency of PSII. There is a break in the ordinate.

V združeni analizi petih poskusov v PMP nismo zaznali statistično značilnih razlik med obravnavanjema, povprečna razlika med rastlinami kontrole in rastlinami izpostavljenimi nihajočemu magnetnemu polju za stopnje rasti ni presegla 5 % (slika 57), za fotokemično učinkovitost FSII rastlin pa je bila manjša od 2 % (slika 58).



**Slika 57:** Povprečna stopnja rasti v 5 poskusih rastlin, izpostavljenih nihajočemu magnetnemu polju (PMP) po sedmih dneh inkubacije v primerjavi z rastlinami kontrole (DKF = 0 mg/L, GA = 0 mg/L). Vrednost 0 % predstavlja vrednosti kontrole, ostale vrednosti so preračunane na odstotek kontrole (povprečna vrednost in relativna standardna napaka),  $n = 15$ . *SR\_N* – stopnja rasti glede na število stebelnih členkov, *SR\_A* – stopnja rasti glede na skupno površino stebelnih členkov. Ni statistično značilnih razlik.

**Figure 57:** Average growth rate of *Lemna minor* plants in 5 experiments after seven day exposure to changing magnetic field (PMP) compared to the control (DKF = 0 mg/L, GA = 0 mg/L). Value 0 % represents values for control, the rest of the values are expressed as a percentage to control (average values and relative standard error are shown),  $n = 15$ . *SR\_N* – growth rate for frond number, *SR\_A* – growth rate for total frond area. There are no statistically significant differences.

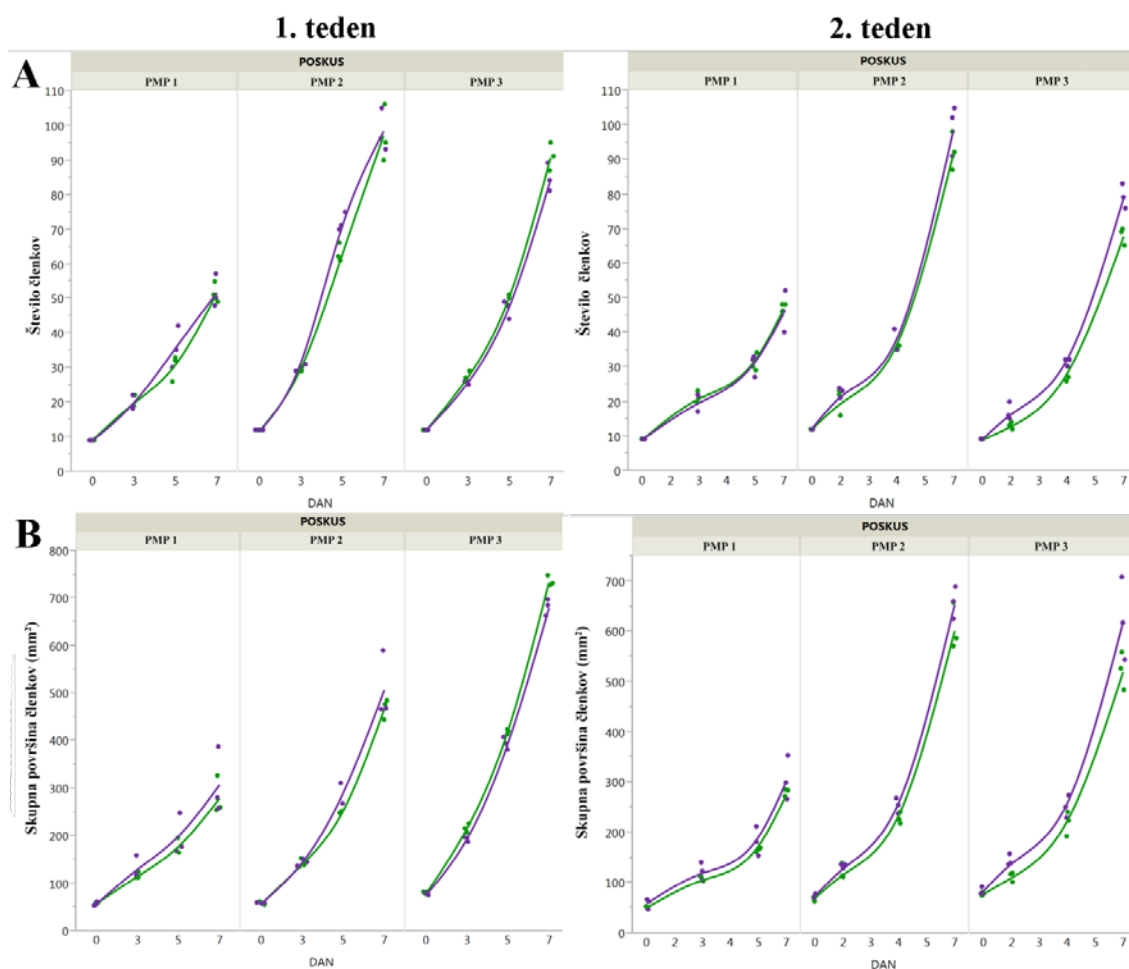


**Slika 58:** Prilagojene povprečne razlike med izmerjenimi vrednostmi fotokemične učinkovitosti FSII rastlin, izpostavljenih nihajočemu magnetnem polju (PMP) po sedmih dneh izpostavitve (DKF = 0 mg/L, GA = 0 mg/L) – povprečna razlika 4 poskusov (2 različna nabora frekvenc). Ni statistično značilnih razlik (pril.  $p < 0,05$ ). Vrednost 0 % predstavlja vrednosti kontrole, ostale vrednosti so preračunane na odstotek kontrole (povprečna vrednost in relativna standardna napaka),  $n = 12$ .  $F_v/F_M$  – potencialna fotokemična učinkovitost FSII,  $Y(II)$  – dejanska fotokemična učinkovitost FSII.

**Figure 58:** Adjusted mean differences for the photochemical efficiency of PSII of plants exposed to changing magnetic field (PMP) for seven days (DKF = 0 mg/L, GA = 0 mg/L). Value 0 % represents values for control, the rest of the values are expressed as a percentage to control (average values and relative standard error are shown),  $n = 12$ .  $F_v/F_M$  – potential photochemical efficiency of PSII,  $Y(II)$  – actual photochemical efficiency of PSII. There are no statistically significant differences (adjusted  $p < 0,05$ ).

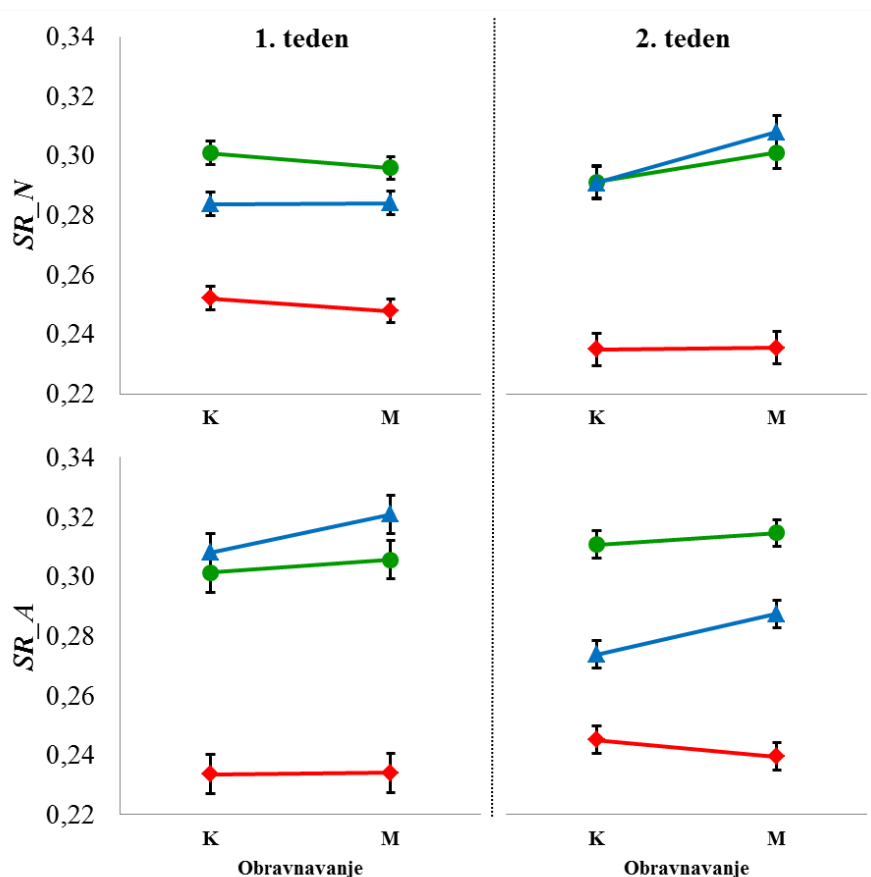
#### 4.3.2 Domnevno zaviralne frekvence nihajočega magnetnega polja (PMPi)

EkspONENTNO rast rastlin v nihajočem magnetnem polju z domnevno zaviralnimi frekvencami prikazujeta slika 59 (izmerjene vrednosti rastnih parametrov v posameznem poskusu) in slika 60 (povprečne vrednosti izračunanih stopenj rasti). V treh ponovitvah poskusa so rastline dosegle različno stopnjo rasti, v vseh primerih pa ni bilo opaznih razlik med obravnavanjema v številu stebelnih členkov in skupni površini stebelnih členkov ter izračunanima stopnjama rasti po prvem ali drugem tednu inkubacije. Razlike v stopnjah rasti med ponovitvami poskusov so višje v primerjavi z razlikami med obravnavanji znotraj istega poskusa (Slika 60).



**Slika 59:** Eksponentna rast števila stebelnih členkov (A) in skupne površine stebelnih členkov (B) male vodne leče v prvem in drugem tednu inkubacije, za posamezen poskus v nihajočem magnetnem polju z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi). Prikazane so izmerjene vrednosti (točke) in zglajena krivulja ( $n = 3$ ) za posamezno ponovitev poskusa (PMP 1, PMP 2, PMP 3). Dva zaporedna tedna rasti, po prvem tednu smo prenesli le 3 naključno izbrane rastline v sveže gojišče. Kontrola (—), PMPi (—).

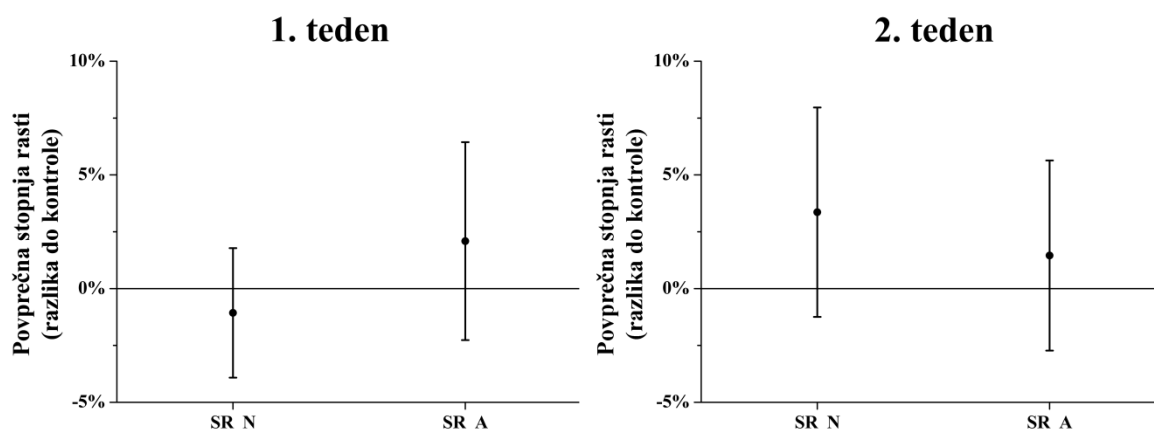
**Figure 59:** Exponential growth of the *Lemna minor* frond number (A) and the total frond area (B) during the first and second week of exposure to changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies (PMPi). Measured values ( $n = 3$ ) and smoothed curve for each experiment duplication (PMP 1, PMP 2, PMP 3) are shown. Two consecutive weeks of growth, after week 1 we have transferred three randomly selected colonies of *Lemna minor* plants to a fresh medium. Control (—), PMP (—).



**Slika 60:** Vpliv nihajočega magnetnega polja z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) na stopnje rasti po prvem in drugem tednu izpostavitve. Prikazana so prilagojena povprečja in standardne napake za posamezen poskus ( $n = 3$ ). K – kontrola, M – PMPi; PMP 1 (—), PMP 2 (—), PMP 3 (—),  $SR_N$  – stopnja rasti glede na število stebelnih členkov,  $SR_A$  – stopnja rasti glede na skupno površino stebelnih členkov. Ordinata vsebuje prelom.

**Figure 60:** Effect of changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies (PMPi) on the growth rates of *Lemna minor* plants in the first and second week of exposure. Adjusted means and standard errors for each experiment are shown ( $n = 3$ ). K – control, M – PMPi; PMP 1 (—), PMP 2 (—), PMP 3 (—),  $SR_N$  – growth rate for frond number,  $SR_A$  – growth rate for total frond area. There is a break in the ordinate.

V skupni analizi vseh treh poskusov se povprečne vrednosti stopenj rasti izpostavljenih in neizpostavljenih rastlin po prvem tednu inkubacije niso razlikovale (slika 61). Izpostavljene rastline so imele po drugem tednu inkubacije nekoliko višjo rast v primerjavi z rastlinami kontrole (8 % za  $N$  in 13 % za  $A$ ), vendar pa odgovarjajoče stopnje rasti rezultata ne potrjujejo (3 % za  $SR_N$  in 1 % za  $SR_A$ ), razlika ni bila statistično značilna (Slika 61).



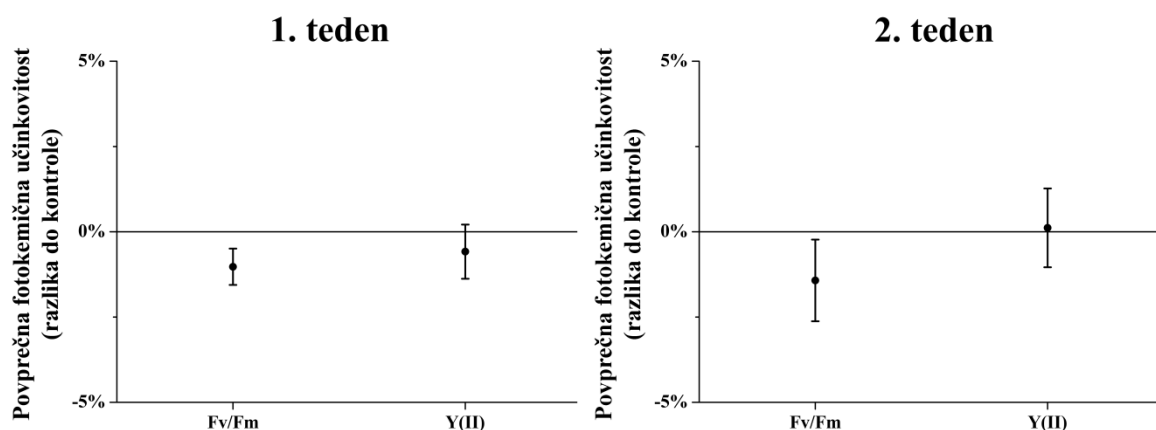
**Slika 61:** Povprečna stopnja rasti rastlin male vodne leče, ki so bile v 3 poskusih izpostavljene nihajočemu magnetnemu polju z domnevno zaviralnimi frekvencami v primerjavi z rastlinami kontrole po prvem (levo) in drugem tednu inkubacije (desno). Vrednost 0 % predstavlja vrednosti kontrole, ostale vrednosti so preračunane na odstotek kontrole (povprečna vrednost in relativna standardna napaka).  $n = 9$ ,  $SR_N$  – stopnja rasti glede na število stebelnih členkov,  $SR_A$  – stopnja rasti glede na skupno površino stebelnih členkov. Ni statistično značilnih razlik.

**Figure 61:** Average growth rate of *Lemna minor* plants in 3 experiments where plants were exposed to changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies (PMPi) compared to control after first (left) and second week (right) of exposure. Value 0 % represents values for control, the rest of the values are expressed as a percentage to control (average values and relative standard error are shown).  $n = 9$ ,  $SR_N$  – growth rate for frond number,  $SR_A$  – growth rate for total frond area. There are no statistically significant differences.

Dejanska fotokemična učinkovitost FSII se med posameznimi poskusi ni bistveno razlikovala in je bila po sedmih dneh inkubacije v povprečju 0,692 ( $SE = 0,009$ ) za rastline kontrole in 0,688 ( $SE = 0,009$ ) za izpostavljene rastline. Tudi po nadaljnjih sedmih dneh inkubacije je ostala na enaki ravni in je bila za rastline kontrole v povprečju 0,688 ( $SE = 0,013$ ) in 0,690 ( $SE = 0,013$ ) za izpostavljene rastline.

Podoben rezultat smo opazili pri meritvah potencialne fotokemične učinkovitosti FSII, ki je bila po sedmih dneh inkubacije v povprečju 0,768 ( $SE = 0,004$ ) za rastline kontrole in 0,760 ( $SE = 0,004$ ) za izpostavljene rastline, po nadaljnjih sedmih dneh inkubacije pa 0,764 ( $SE = 0,011$ ) za rastline kontrole in 0,758 ( $SE = 0,011$ ) za izpostavljene rastline.

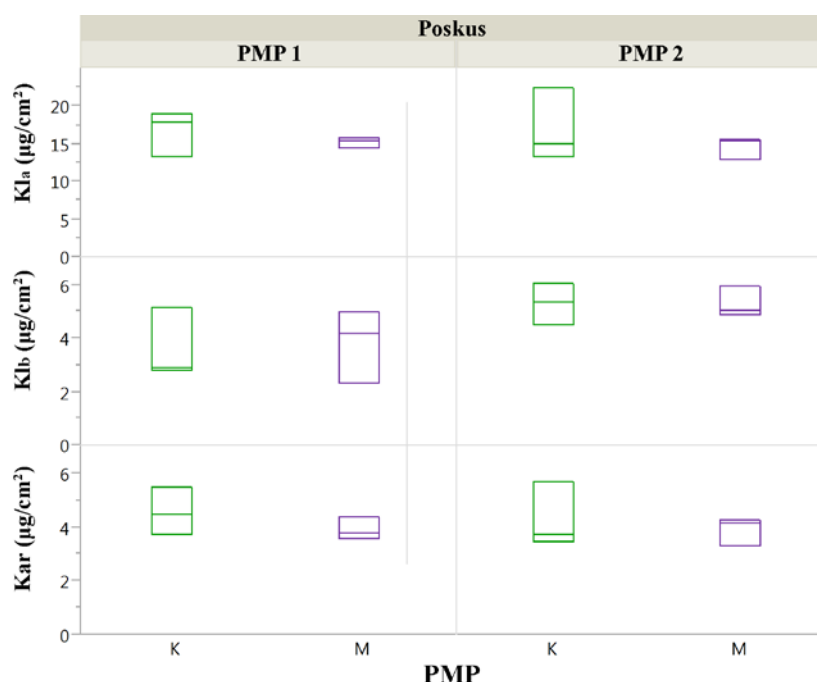
Izračunane povprečne relativne razlike za fotokemično učinkovitost FSII rastlin, izpostavljenih PMPi, v primerjavi z rastlinami kontrole so po prvem in drugem tednu inkubacije nizke (slika 62), nobena razlika ni bila statistično značilno različna.



**Slika 62:** Povprečna fotokemična učinkovitost FSII rastlin male vodne leče, ki so bile v 3 poskusih izpostavljene nihajočemu magnetnemu polju z domnevno zaviralnimi frekvencami v primerjavi z rastlinami kontrole po prvem (levo) in drugem tednu inkubacije (desno). Vrednost 0 % predstavlja vrednosti kontrole, ostale vrednosti so preračunane na odstotek kontrole (povprečna vrednost in relativna standardna napaka).  $n = 9$ ,  $F_v/F_M$  – potencialna fotokemična učinkovitost FSII,  $Y(II)$  – dejanska fotokemična učinkovitost FSII. Ni statistično značilnih razlik.

**Figure 62:** Average photochemical efficiency of PSII of *Lemna minor* plants in 3 experiments where plants were exposed to changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies (PMPi) compared to control after first (left) and second week (right) of exposure. Value 0 % represents values for control, the rest of the values are expressed as a percentage to control (average values and relative standard error are shown).  $n = 9$ ,  $F_v/F_M$  – potential photochemical efficiency of PSII,  $Y(II)$  – actual photochemical efficiency of PSII. There are no statistically significant differences.

Vsebnost klorofila *a*, klorofila *b* in karotenoidov se med rastlinami, izpostavljenimi nihajočemu magnetnemu polju ( $16,7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ;  $4,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ;  $4,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) in kontrolnimi rastlinami ( $14,9 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ;  $4,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ;  $3,9 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) ni statistično značilno razlikovala ( $p = 0,12$ ;  $p = 0,52$ ;  $p = 0,18$ ). Slika 63 prikazuje vsebnosti fotosinteznih barvil v dveh ločenih poskusih.

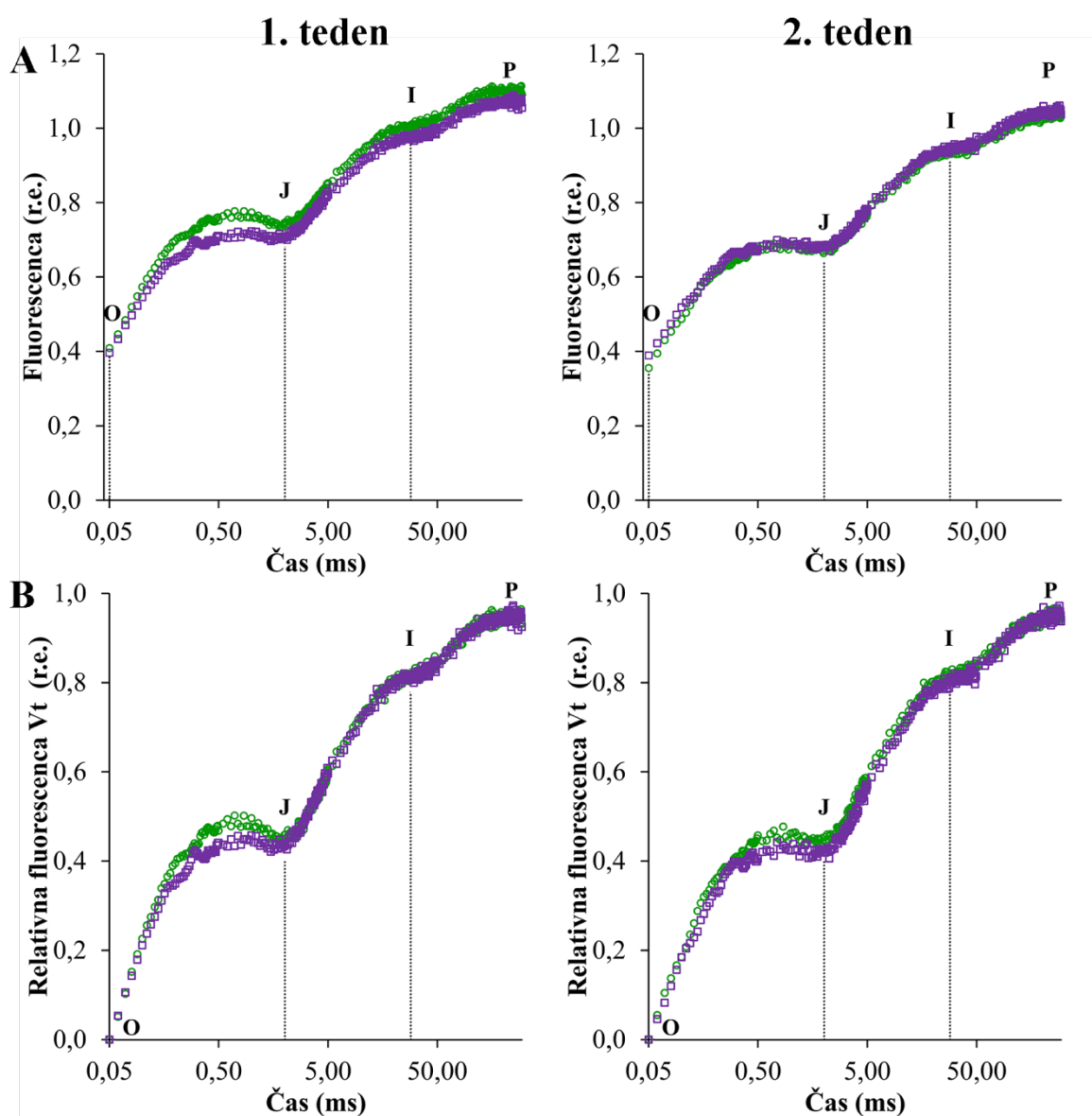


**Slika 63:** Vsebnost fotosinteznih barvil v stebelnih členkih male vodne leče po sedmih dneh izpostavitve (prvi teden) nihajočem magnetnem polju z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) v dveh ločenih poskusih (PMP 1, PMP 2). Kontrola (—), PMPi (—). Prikazani so okvirji z ročaji za posamezen poskus,  $n = 3$ . Kla – klorofil *a*, Klb – klorofil *b*, Kar – karotenoidi.

**Figure 69:** Effect of the changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies (PMPi) on the photosynthetic pigment content in *Lemna minor* plants in the first week of exposure in two different experiments (PMP 1, PMP 2). Boxplots for each experiment are shown,  $n = 3$ . Concentration is given as a ratio of mass per frond area. Control (—), PMPi (—). Kla – chlorophyll *a*, Klb – chlorophyll *b*, Kar – carotenoids.

Povprečna OJIP krivulja inducirane fluorescence klorofila *a* je prikazana na sliki 64. Izpostavljene rastline so imele v povprečju nekoliko nižjo fluorescenco po prvem tednu rasti, vendar te težnje nismo opazili v vseh poskusih (priloga H). V drugem tednu ni bilo razlik med opaženo inducirano fluorescenco izpostavljenih rastlin in rastlin kontrole. Povprečna relativna fluorescenca v obeh tednih nakazuje višjo J fazo za rastline kontrole.





Slika 64: Povprečna poli-fazna izmerjena (A) in relativna (B) fluorescenca klorofila *a* FSII na logaritemski časovni skali za 3 poskuse v nihajočem magnetnem polju z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) po 7 in 14 dneh inkubacije.  $n = 9$ , kontrola (●), PMPi (■).

Figure 64: Average PSII chlorophyll *a* fluorescence transient for *Lemna minor* plants after 7 and 14 day exposure to changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies (PMPi). Mean fluorescence (A) and mean relative fluorescence (B) plotted against time on a logarithmic scale.  $n = 9$ , control (●), PMPi (■).

Primerjava 35 JIP parametrov obravnavanj v povprečju ni dala statistično značilnih razlik (pril.  $p > 0,05$ ), najbolj pa je izstopal čas, potreben za doseg maksimalne fluorescenca, ki je bil v drugem tednu pri izpostavljenih rastlinah kar 16 % krajši (224 ms; SE = 8 ms) v primerjavi z rastlinami kontrole (267 ms; SE = 8 ms) (priloga J). Na ravni posameznih poskusov je analiza izpostavila nekaj zanimivih parametrov, predvsem med tehničnimi

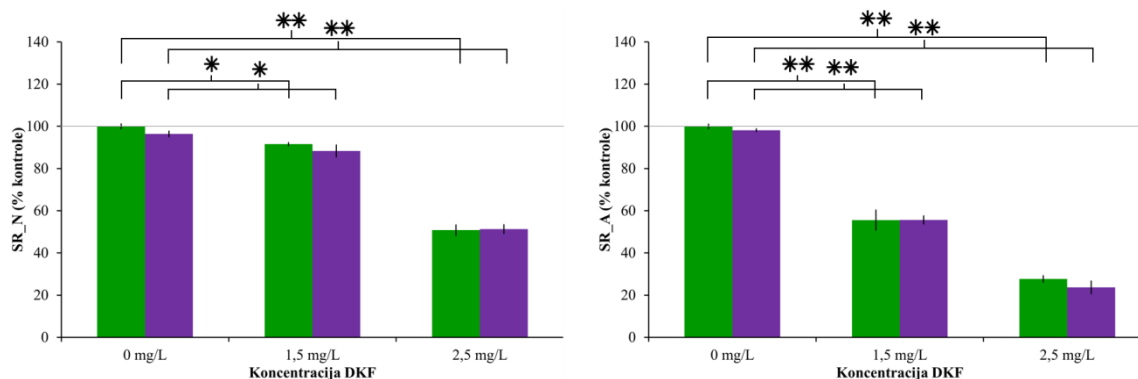
parametri in kvantnimi izkoristki:  $V_L$ ,  $\phi REI_0$ ,  $\psi REI_0$  in  $\delta REI_0$ , vendar pa se težnja ni ponovila v vseh poskusih (priloga J).

#### 4.3.2.1 Nihajoče magnetno polje v kombinaciji z DKF

V nadaljevanju so predstavljeni rezultati posebne izvedbe poskusa v nihajočem magnetnem polju z domnevno zaviralnimi frekvencami, kjer smo v gojišče dodali tudi različne koncentracije strupa 3,5-diklorofenola (DKF), 7 dnevni izpostavitvi pa je sledila tudi 7 dnevna faza okrevanja, v kateri smo rastline prenesli v sveže gojišče brez dodanega DKF.

Slika 65 prikazuje stopnjo rasti v odvisnosti od PMPi in treh koncentracij DKF v gojišču. Izpostavitve rastlin domnevno zaviralnimi frekvencami nihajočega magnetnega polja je v večini primerov znižala rast po sedmih dneh inkubacije, vendar pa vpliv ni bil statistično značilno različen.

Dodatek 1,5 mg/L in 2,5 mg/L DKF gojišču je povzročil 15 % in 61 % zmanjšanje števila stebelnih členkov ter 60 % in 80 % zmanjšanje skupne površine stebelnih členkov. Tudi stopnje rasti so bile statistično značilno nižje pri rastlinah, izpostavljenih DKF in sicer 8 % in 48 % za  $SR_N$ , 44 % in 74 % za  $SR_A$ .

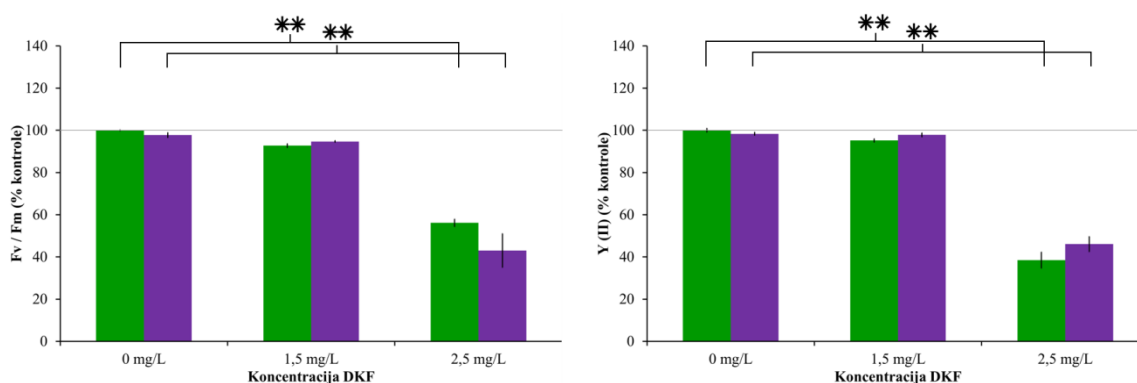


**Slika 65: Vpliv 3,5-diklorofenola (DKF) in nihajočega magnetnega polja z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) na stopnjo rasti rastlin po sedmih dneh izpostavitve.** Prikazane so povprečne vrednosti, ki so normirane na povprečne vrednosti rastlin kontrole in relativne standardne napake obravnavanja.  $n = 3$ , vrednost 100% predstavlja povprečno vrednost rastlin kontrole z 0 mg/L DKF. Kontrola (■), PMPi (■).  $SR_N$  – stopnja rasti glede na število stebelnih členkov,  $SR_A$  – stopnja rasti glede na skupno površino stebelnih členkov. \* označuje statistično značilno razliko (\* za pril.  $p < 0,05$  in \*\* za pril.  $p < 0,01$ ).

**Figure 71: Effect of 3,5-dichlorophenol (DKF) and changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies (PMPi) on the *Lemna minor* growth rate after seven day exposure.** Average values expressed as percentage to control and relative standard errors are shown.  $n = 3$ , value 100% represents average growth rate for control plants with 0 mg/L DKF. Control (■), PMPi (■).  $SR_N$  – growth rate for frond number,  $SR_A$  – growth rate for total frond area. \* indicates statistically significant difference (\* for adjusted  $p < 0,05$  and \*\* for adjusted  $p < 0,01$ ).

Vpliv nihajočega magnetnega polja na potencialno fotokemično učinkovitost FSII in dejansko fotokemično učinkovitost FSII se je nekoliko razlikoval glede na uporabljeno koncentracijo DKF, vendar z upoštevanjem Holmove korekcije  $p$ -vrednosti vpliv magnetnega polja ni bil statistično značilno različen, prav tako pa ni bilo statistično značilno različne interakcije med poljem in toksinom. Kljub vsemu pa smo opazili največjo razliko med povprečno dejansko in potencialno fotokemično učinkovitostjo med rastlinami izpostavljenimi nihajočemu magnetnemu polju in rastlinami kontrole pri najvišji koncentraciji DKF (slika 66).

Najvišja koncentracija DKF (2,5 mg/L) je tudi edina statistično značilno zmanjšala fotokemično učinkovitost FSII rastlin. Izpostavljene rastline so imele 50 % nižjo potencialno fotokemično učinkovitost in 57 % nižjo dejansko fotokemično učinkovitost FSII v primerjavi z 0 mg/L DKF (slika 66).



**Slika 66: Vpliv 3,5-diklorofenola (DKF) in nihajočega magnetnega polja z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) na fotokemično učinkovitost FSII rastlin po sedmih dneh izpostavitve.** Prikazane so povprečne vrednosti, ki so normirane na povprečne vrednosti rastlin kontrole in relativne standardne napake obravnavanja.  $n = 3$ , vrednost 100% predstavlja povprečno vrednost rastlin kontrole z 0 mg/L DKF. Kontrola (■), PMPi (■).  $F_v/F_M$  – potencialna fotokemična učinkovitost FSII,  $Y(II)$  – dejanska fotokemična učinkovitost FSII. \* označuje statistično značilno razliko (\* za pril.  $p < 0,05$  in \*\* za pril.  $p < 0,01$ ).

**Figure 72: Effect of 3,5-dichlorophenol (DKF) and changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies (PMPi) on *Lemna minor* photochemical efficiency of PSII after seven day exposure.** Average values expressed as percentage to control and relative standard errors are shown.  $n = 3$ , value 100% represents average growth rate for control plants with 0 mg/L DKF. Control (■), PMPi (■).  $F_v/F_M$  – potential photochemical efficiency of PSII,  $Y(II)$  – actual photochemical efficiency of PSII. \* indicates statistically significant difference (\* for adjusted  $p < 0,05$  and \*\* for adjusted  $p < 0,01$ ).

PMPi kot fiksni dejavnik na ravni celotnega modela ni statistično značilno različno vplival na nobeno od stopenj rasti ali fotokemično učinkovitost FSII, medtem ko je koncentracija DKF za obe stopnji rasti in fotokemični učinkovitosti FSII statistično značilen fiksni dejavnik v modelu (preglednica 11).

**Preglednica 11: Vpliv nihajočega magnetnega polja z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) in 3,5-diklorofenola (DKF) na stopnji rasti in fotokemično učinkovitost FSII rastlin *Lemna minor* v popolnem dvofaktorskem modelu ANOVA.** Za vsak parameter so podani: število poskusnih enot ( $N$ ), stopinje prostosti za fiksni dejavnik ( $SP$ ),  $F$  statistika,  $p$ -vrednost in prilagojena  $p$ -vrednost (dvostranska  $p$ -vrednost s Holmovim popravkom za dejavnik v modelu kjer \* oz. \*\* označuje statistično značilno različen vpliv dejavnika za  $p < 0,05$  oz.  $p < 0,01$ ) glede na dejavnik v modelu ANOVA. Faza izpostavitve (7 dni z dodanim DKF v gojišče) in faza okrevanja (nadaljnjih 7 dni brez DKF v gojišču) sta prikazani ločeno.  $SR_N$  – stopnja rasti glede na število stebelnih členkov,  $SR_A$  – stopnja rasti glede na skupno površino stebelnih členkov,  $F_V/F_M$  – potencialna fotokemična učinkovitost FSII,  $Y(II)$  – dejanska fotokemična učinkovitost FSII.

**Table 11: Effect of the changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies (PMPi) and 3,5-dichlorophenol (DKF) on the growth rates and photochemical efficiency of PSII of *Lemna minor* plants in the full two-factorial ANOVA model.** For each parameter and factor in the ANOVA model, the number of experimental units ( $N$ ), degrees of freedom for the fixed factor ( $SP$ ),  $F$  statistics and two-sided Holm adjusted  $p$ -values (Pril.  $p$ -vrednost; \* and \*\* mark significant differences for  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$  respectively) are given. Exposure (7 day exposure to PMPi and DKF) and recovery phase (following 7 day exposure to only PMPi) are shown separately.  $SR_N$  – growth rate for frond number,  $SR_A$  – growth rate for total frond area.,  $F_V/F_M$  – potential photochemical efficiency of PSII,  $Y(II)$  – actual photochemical efficiency of PSII.

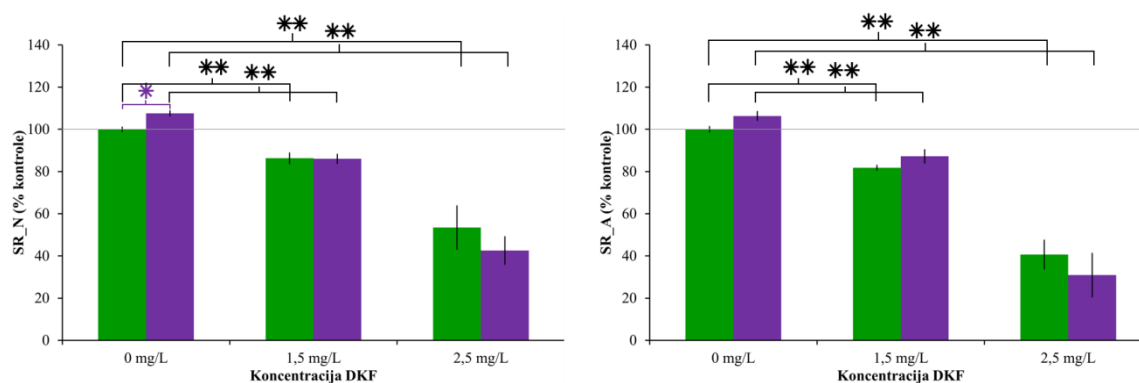
Parameter	Dejavnik	Faza izpostavitve DKF					Faza okrevanja				
		$N$	$SP$	$F$	$p$ -vrednost	Pril. $p$ -vrednost	$N$	$SP$	$F$	$p$ -vrednost	Pril. $p$ -vrednost
$SR_N$	PMPi	18	1	1,67	0,22	0,44	18	1	0,08	0,79	1,00
	DKF	18	2	319,18	<,0001**	<,0002**	18	2	58,92	<,0001**	<,0002**
	PMPi*DKF	18	2	0,65	0,54	1,00	18	2	1,56	0,25	0,50
$SR_A$	PMPi	18	1	0,81	0,39	0,37	18	1	0,02	0,88	1,00
	DKF	18	2	393,51	<,0001**	<,0001**	18	2	83,80	<,0001**	<,0001**
	PMPi*DKF	18	2	0,30	0,74	0,74	18	2	1,41	0,28	0,28
$F_V/F_M$	PMPi	18	1	2,60	0,13	1,00	15	1	6,16	0,03*	1,00
	DKF	18	2	127,30	<,0001**	<,004**	15	2	7,21	0,01*	0,35
	PMPi*DKF	18	2	2,62	0,11	1,00	15	2	3,60	0,07	1,00
$Y(II)$	PMPi	18	1	2,45	0,14	1,00	17	1	0,04	0,84	1,00
	DKF	18	2	410,82	<,0001**	<,004**	17	2	2,96	0,09	1,00
	PMPi*DKF	18	2	2,13	0,16	1,00	17	2	0,39	0,69	1,00

Zanimiva je primerjava stopenj rasti in fotokemične učinkovitosti FSII rastlin po tednu okrevanja. V tej fazi smo rastline prenesli v sveže gojišče brez dodanega DKF, medtem ko smo PMPi kot fiksni dejavnik ohranili.

Vpliv PMPi na rast je bil med fazo okrevanja odvisen od fiziološkega stanja rastlin, ki je bilo odvisno od predhodne izpostavitve različnim koncentracijam DKF. V večini primerov okrevanja rastlin, ki niso bile izpostavljene referenčnemu toksinu (0 mg/L) in okrevanju rastlin z nizko koncentracijo DKF (1,5 mg/L) je PMPi deloval spodbujevalno, medtem ko je pri visoki koncentraciji DKF (2,5 mg/L) v fazi okrevanja deloval zaviralno. Število stebelnih členkov je bilo 17 % višje (0 mg/L DKF) in 22 % nižje (2,5 mg/L DKF) pri rastlinah, izpostavljenih PMPi, skupna površina stebelnih členkov je bila 19 % višja (0 mg/L DKF) in 23 % nižja (2,5 mg/L DKF) v primerjavi s kontrolo ob isti koncentraciji DKF v predhodni izpostavitvi. Primerjava stopenj rasti za število členkov ( $SR_N$ ) rastlin s predhodno

izpostavitvijo 0 mg/L DKF je pokazala statistično značilno razliko tudi po Holmovi korekciji  $p$ -vrednosti (slika 67).

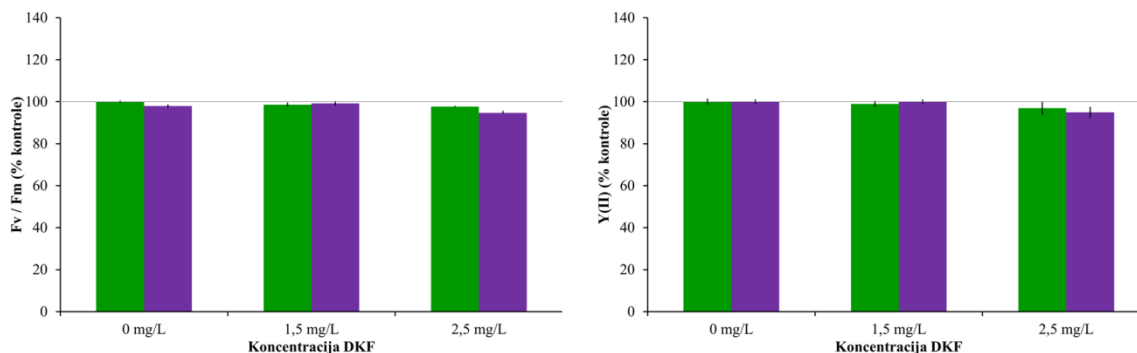
Opazili smo, da je bilo v povprečju okrevanje rastlin, ki so bile predhodno izpostavljene višjim koncentracijam DKF, bistveno počasnejše. Stopnje rasti so bile tako 17 % in 54 % nižje ( $SR_N$ ) ter 18 % in 65 % nižje ( $SR_A$ ) za rastline, izpostavljene 1,5 mg/L in 2,5 mg/L DKF, vpliv pa je bil statistično značilno različen (slika 67).



**Slika 67: Vpliv 3,5-diklorofenola (DKF) in nihajočega magnetnega polja z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) na stopnjo rasti rastlin po sedmih dneh okrevanja.** Prikazane so povprečne vrednosti, ki so normirane na povprečne vrednosti rastlin kontrole in relativne standardne napake obravnavanja.  $n = 3$ , vrednost 100% predstavlja povprečno vrednost rastlin kontrole z 0 mg/L DKF. Kontrola (█), PMPi (█).  $SR_N$  – stopnja rasti glede na število stebelnih členkov,  $SR_A$  – stopnja rasti glede na skupno površino stebelnih členkov. \* označuje statistično značilno razliko (\* za pril.  $p < 0,05$  in \*\* za pril.  $p < 0,01$ ).

**Figure 67: Effect of 3,5-dichlorophenol (DKF) and changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies (PMPi) on the *Lemna minor* growth rate after seven days of recovery.** Average values expressed as percentage to control and relative standard errors are shown.  $n = 3$ , value 100% represents average growth rate for control plants with 0 mg/L DKF. Control (█), PMPi (█).  $SR_N$  – growth rate for frond number,  $SR_A$  – growth rate for total frond area. \* indicates statistically significant difference (\* for adjusted  $p < 0,05$  and \*\* for adjusted  $p < 0,01$ ).

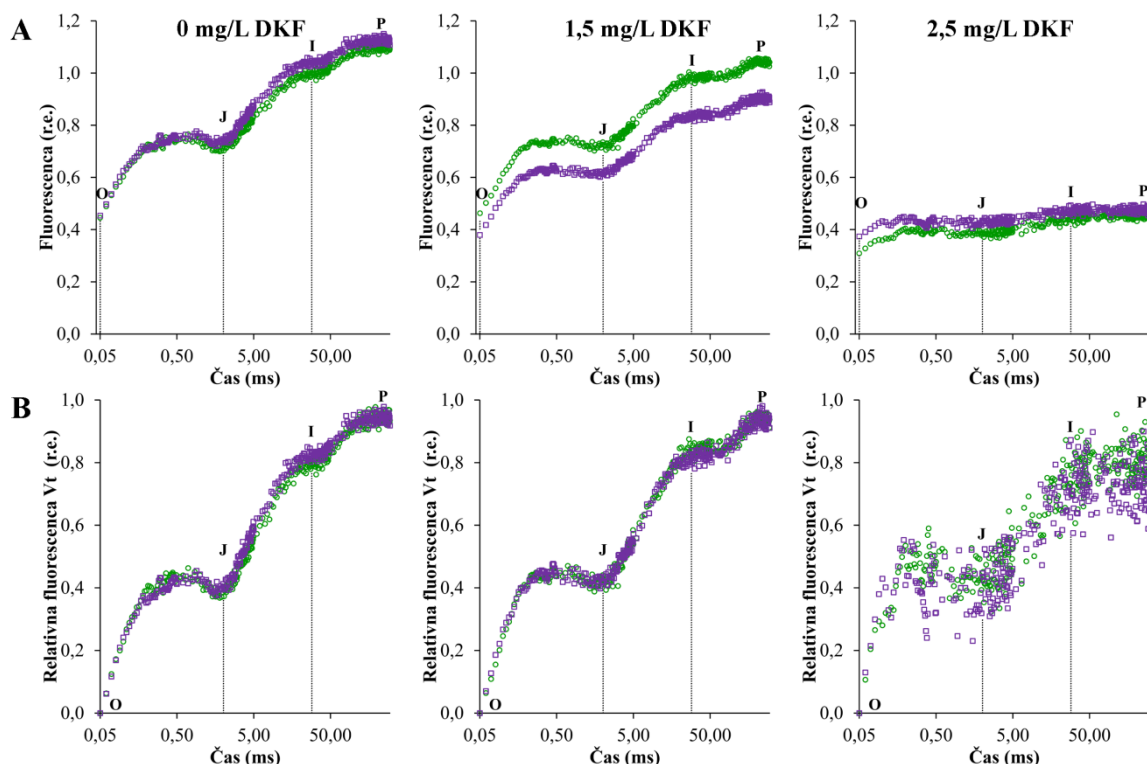
Po sedmih dneh okrevanja je izginil vpliv obeh dejavnikov (PMPi ali DKF) na fotokemično učinkovitost FSII rastlin, ki so skoraj v celoti obnovile stopnjo fotokemične učinkovitosti FSII (slika 68).



**Slika 68: Vpliv 3,5-diklorofenola (DKF) in nihajočega magnetnega polja z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) na fotokemično učinkovitost FSII rastlin po sedmih dneh okrevanja** Prikazane so povprečne vrednosti, ki so normirane na povprečne vrednosti rastlin kontrole in relativne standardne napake obravnavanja.  $n = 3$ , vrednost 100% predstavlja povprečno vrednost rastlin kontrole z 0 mg/L DKF. Kontrola (■), PMPi (■).  $F_v/F_M$  – potencialna fotokemična učinkovitost FSII,  $Y(II)$  – dejanska fotokemična učinkovitost FSII. Ni statistično značilnih razlik.

**Figure 68: Effect of 3,5-dichlorophenol (DKF) and changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies (PMPi) on *Lemna minor* photochemical efficiency of PSII after seven days of recovery.** Average values expressed as percentage to control and relative standard errors are shown.  $n = 3$ , value 100% represents average growth rate for control plants with 0 mg/L DKF. Control (■), PMPi (■).  $F_v/F_M$  – potential photochemical efficiency of PSII,  $Y(II)$  – actual photochemical efficiency of PSII. There are none statistically significant differences.

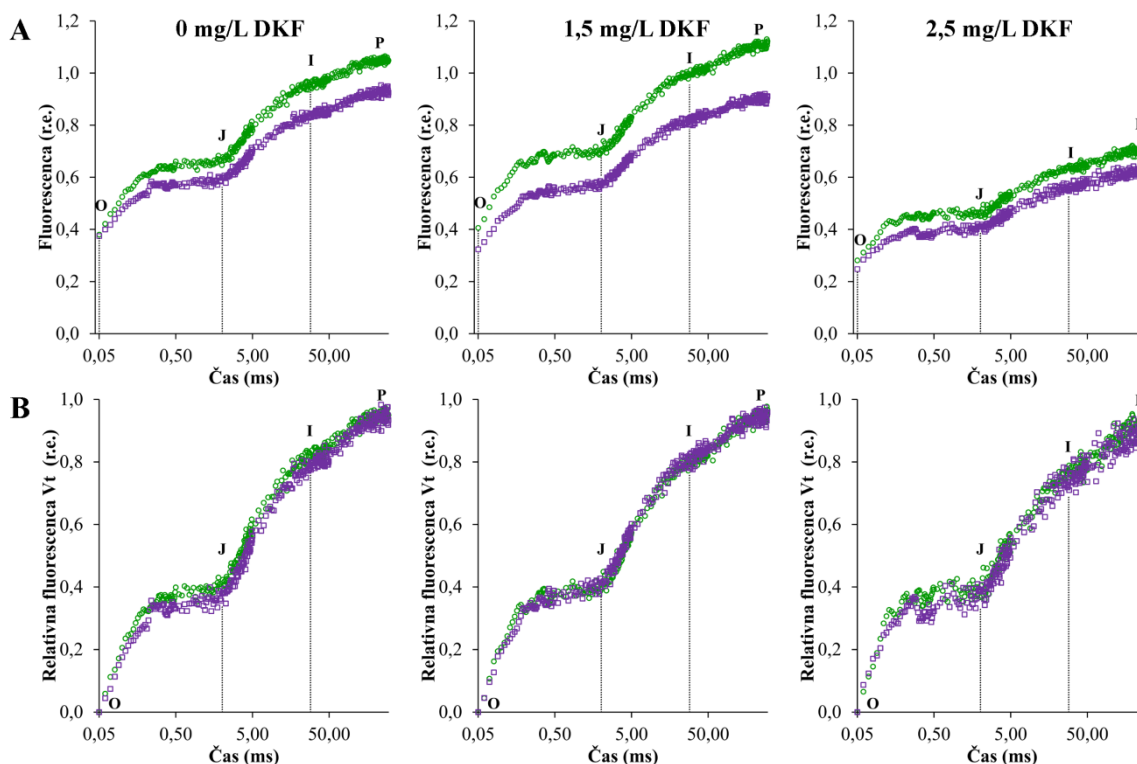
Prisotnost DKF v gojišču je bistveno spremenila OJIP krivuljo inducirane fluorescence klorofila *a* (slika 69). Ob koncentraciji 1,5 mg/L je krivulja po sedmih dneh inkubacije položnejša, pri 2,5 mg/L pa popolnoma izgubi prepoznavno obliko. Izpostavitve rastlin PMPi je v prvem tednu pokazala največjo spremembo v OJIP krivulji ob dodatku 1,5 mg/L DKF, kjer smo opazili nižjo povprečno fluorescenco klorofila *a* rastlin izpostavljenih PMPi. Pri 0 mg/L in 2,5 mg/L DKF pa je bila povprečna fluorescenca klorofila *a* rastlin, ki so bile izpostavljene tudi PMPi, nekoliko višja v primerjavi z rastlinami kontrole.



**Slika 69:** Povprečna poli-fazna fluorescena klorofila *a* FSII za 3 različne koncentracije DKF v gojišču (0 mg/L, 1,5 mg/L, 2,5 mg/L) in z ali brez izpostavitve rastlin nihajočemu magnetnemu polju z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) po sedmih dneh inkubacije. Povprečna izmerjena fluorescenca (A) in povprečna relativna fluorescenca (B) KLa FSII, prikazana na logaritemski skali. Kontrola (●), PMPi (■),  $n = 3$ .

**Figure 69:** Average PSII chlorophyll *a* fluorescence transient for *Lemna minor* plants at 3 different DKF concentrations after seven day incubation in changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies (PMPi). Mean fluorescence (A) and mean relative fluorescence (B) plotted against time on a logarithmic scale. Control (●), PMPi (■),  $n = 3$ .

Po fazi okrevanja (slika 70) so rastline, predhodno izpostavljene 1,5 mg/L, pokazale popolno okrevanje z vidika OJIP krivulje, medtem, ko so rastline, predhodno izpostavljene 2,5 mg/L, kazale sicer izboljšano, a še vedno položnejšo krivuljo (nižjo izmerjeno fluorescenco), česar s klasičnimi meritvami fotokemične učinkovitosti FSII nismo zaznali. V vseh 3 obravnavanjih DKF je imela dodatna izpostavitvev PMPi enak učinek – nižjo fluorescenco izpostavljenih rastlin, kar se je odrazilo v položnejši OJIP krivulji, učinek pa je tudi v tem primeru najbolj izrazit pri 1,5 mg/L.



**Slika 70:** Povprečna poli-fazna fluorescenca klorofila *a* FSII za 3 različne koncentracije DKF v gojišču (0 mg/L, 1,5 mg/L, 2,5 mg/L) in z ali brez izpostavitve rastlin nihajočemu magnetnemu polju z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) po sedmih dneh okrevanja. Povprečna izmerjena fluorescenca (A) in povprečna relativna fluorescenca (B) Kla FSII, prikazana na logaritemski skali. Kontrola (●), PMPi (■),  $n = 3$ .

**Figure 70:** Average PSII chlorophyll *a* fluorescence transient for *Lemna minor* plants at 3 different DKF concentrations after seven day recovery in changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies (PMPi). Mean fluorescence (A) and mean relative fluorescence (B) plotted against time on a logarithmic scale. Control (●), PMPi (■),  $n = 3$ .

Analiza 35 JIP parametrov v popolnem dvofaktorskem modelu ANOVA je za izbrane parametre povzeta v preglednici 12. Na ravni celotnega modela v fazi izpostavitve za noben JIP parameter nismo našli statistično značilno različnega vpliva PMPi, medtem, ko je koncentracija DKF imela statistično značilno različen vpliv na večino parametrov. Je pa prišlo do interakcije DKF×PMPi v treh kvantnih izkoristkih ( $p < 0,05$  za  $\phi P_0$  in  $\phi D_0$ ;  $p < 0,10$  za  $\phi Et_2_0$ ), kjer so imele rastline, izpostavljene PMPi, statistično značilno nižja  $\phi P_0$  in  $\phi Et_2_0$  (22 % in 26 %) ter 14 % višji  $\phi D_0$ . Zanimiva je razlika v kazalcih delovanja v fazi izpostavitve pri 0 mg/L DKF, ki so pri rastlinah, izpostavljenih PMPi, nižji v primerjavi z rastlinami kontrole in sicer 8 %, 22 % in 21 % za  $PI_{ABS}$ ,  $PI_{ABS\ total}$  in  $PI_{CS0\ total}$ , vendar razlike niso statistično značilne.

V fazi okrevanja je bilo več JIP parametrov izpostavljenih rastlin statistično značilno različnih od rastlin kontrole:  $F_{300}$ ;  $F_V$ ,  $J_0TR/RC$ ,  $J_0TR/CS$ ,  $J_0ET2/CS$  ( $p < 0,05$ ) in  $J_0RE1/CS$ ,  $F_I$  ( $p < 0,1$ ), vendar pa so razlike ob upoštevanju Holmovega popravka izgubile.



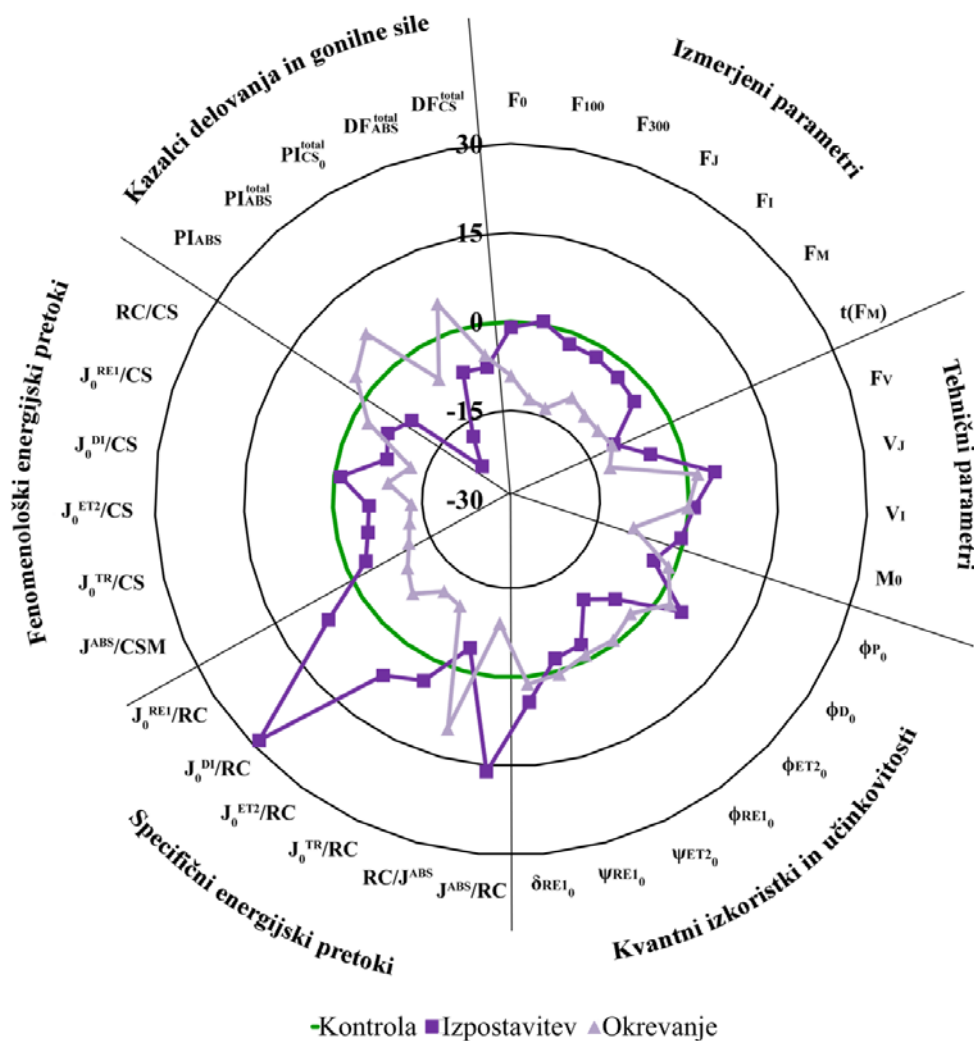
**Preglednica 12: Vpliv nihajočega magnetnega polja z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) in 3,5-diklorofenola (DKF) na izbrane JIP parametre rastlin *Lemna minor* v mešanem modelu ANOVA.** Za vsak parameter so podani: število poskusnih enot (*N*), stopinje prostosti za fiksni dejavnik (*SP*), *F* statistika, *p*-vrednost in prilagojena *p*-vrednost (dvostranska *p*-vrednost s Holmovim popravkom za dejavnik v modelu kjer \* oz. \*\* označuje statistično značilno različen vpliv dejavnika za  $p < 0,05$  oz.  $p < 0,01$ ) glede na dejavnik v modelu ANOVA. Faza izpostavitve (7 dni z dodanim DKF v gojišče) in faza okrevanja (nadaljnjih 7 dni brez DKF v gojišču) sta prikazani ločeno. Glej preglednico 1 za razlago JIP parametrov.

**Table 12: Effect of the changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies (PMPi) and 3,5-dichlorophenol (DKF) on the selected JIP parameters of *Lemna minor* plants in a mixed model ANOVA.**

For each parameter and factor in the ANOVA model, the number of experimental units (*N*), degrees of freedom for the fixed factor (*SP*), *F* statistics and two-sided Holm adjusted *p*-values (Pril. *p*-vrednost; \* and \*\* mark significant differences for  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$  respectively) are given. Exposure (7 day exposure to PMPi and DKF) and recovery phase (following 7 day exposure to only PMPi) are shown separately. See Table 1 for explanation of JIP parameters.

Parameter	Dejavnik	Faza izpostavitve DKF					Faza okrevanja				
		<i>N</i>	<i>SP</i>	<i>F</i>	<i>p</i> -vrednost	Pril. <i>p</i> -vrednost	<i>N</i>	<i>SP</i>	<i>F</i>	<i>p</i> -vrednost	Pril. <i>p</i> -vrednost
$F_0$	PMPi	18	1	0,02	0,89	1,00	17	1	2,46	0,15	1,00
	DKF	18	2	4,71	0,03*	0,40	17	2	7,00	0,01*	0,31
	PMPi×DKF	18	2	2,09	0,17	1,00	17	2	0,79	0,48	1,00
$F_{300}$	PMPi	18	1	0,09	0,77	1,00	17	1	5,00	0,05*	1,00
	DKF	18	2	24,87	<,0001**	<,004**	17	2	7,92	0,01*	0,23
	PMPi×DKF	18	2	0,93	0,42	1,000	17	2	0,39	0,69	1,00
$F_J$	PMPi	18	1	0,11	0,75	1,000	17	1	2,66	0,13	1,00
	DKF	18	2	28,12	<,0001**	<,004**	17	2	7,80	0,01*	0,23
	PMPi×DKF	18	2	2,17	0,16	1,000	17	2	0,46	0,64	1,00
$F_I$	PMPi	18	1	0,22	0,65	1,000	17	1	3,97	0,07	1,00
	DKF	18	2	56,10	<,0001**	<,004**	17	2	11,15	0,002*	0,08
	PMPi×DKF	18	2	1,60	0,24	1,000	17	2	0,19	0,83	1,00
$F_M$	PMPi	18	1	0,46	0,51	1,000	17	1	4,51	0,06	1,00
	DKF	18	2	72,05	<,0001**	<,004**	17	2	10,64	0,003*	0,09
	PMPi×DKF	18	2	1,32	0,30	1,000	17	2	0,30	0,75	1,00
$t(F_M)$	PMPi	18	1	0,47	0,51	1,000	17	1	2,09	0,18	1,00
	DKF	18	2	3,09	0,08	0,743	17	2	0,24	0,79	1,00
	PMPi×DKF	18	2	0,16	0,85	1,000	17	2	0,64	0,55	1,00
$F_V$	PMPi	18	1	1,95	0,19	1,000	17	1	5,37	0,04*	1,00
	DKF	18	2	281,22	<,0001**	<,004**	17	2	11,88	0,002*	0,07
	PMPi×DKF	18	2	1,02	0,39	1,000	17	2	0,25	0,78	1,00
$\phi P_0$	PMPi	18	1	2,35	0,15	1,000	17	1	0,47	0,51	1,00
	DKF	18	2	164,63	<,0001**	<,004**	17	2	1,79	0,21	1,00
	PMPi×DKF	18	2	5,84	0,02*	0,629	17	2	2,02	0,18	1,00
$\phi D_0$	PMPi	18	1	2,35	0,15	1,000	17	1	0,47	0,51	1,00
	DKF	18	2	164,63	<,0001**	<,004**	17	2	1,79	0,21	1,00
	PMPi×DKF	18	2	5,84	0,02*	0,629	17	2	2,02	0,18	1,00
$\phi Et_{20}$	PMPi	18	1	1,35	0,27	1,000	17	1	1,05	0,33	1,00
	DKF	18	2	36,29	<,0001**	<,004**	17	2	0,00	1,00	1,00
	PMPi×DKF	18	2	2,78	0,10	1,000	17	2	1,34	0,30	1,00
$J_0TR/RC$	PMPi	18	1	0,05	0,82	1,000	17	1	5,96	0,03*	1,00
	DKF	18	2	0,15	0,86	1,000	17	2	0,53	0,60	1,00
	PMPi×DKF	18	2	0,11	0,90	1,000	17	2	0,77	0,49	1,00
$J_0TR/CS$	PMPi	18	1	1,95	0,19	1,000	17	1	5,37	0,04*	1,00
	DKF	18	2	281,22	<,0001**	<,004**	17	2	11,88	0,002*	0,07
	PMPi×DKF	18	2	1,02	0,39	1,000	17	2	0,25	0,78	1,00
$J_0ET2/CS$	PMPi	18	1	1,45	0,25	1,000	17	1	9,31	0,01*	0,41
	DKF	18	2	155,26	<,0001**	0,004	17	2	16,67	0,001*	0,02*
	PMPi×DKF	18	2	0,03	0,97	1,000	17	2	0,12	0,89	1,00
$J_0RE1/CS$	PMPi	18	1	0,99	0,34	1,000	17	1	3,85	0,08	1,00
	DKF	18	2	27,26	<,0001**	<,004**	17	2	2,83	0,10	1,00
	PMPi×DKF	18	2	0,26	0,77	1,000	17	2	2,01	0,18	1,00
$PI_{ABS}$	PMPi	18	1	0,80	0,39	1,000	17	1	0,24	0,63	1,00
	DKF	18	2	42,31	<,0001**	<,004**	17	2	0,83	0,46	1,00
	PMPi×DKF	18	2	1,18	0,34	1,000	17	2	2,00	0,18	1,00
$PI_{ABS\ total}$	PMPi	18	1	1,16	0,30	1,000	17	1	0,64	0,44	1,00
	DKF	18	2	0,49	0,63	1,000	17	2	3,72	0,06	1,00
	PMPi×DKF	18	2	0,49	0,63	1,000	17	2	0,38	0,69	1,00
$PI_{CS0\ total}$	PMPi	18	1	1,35	0,27	1,000	17	1	0,37	0,56	1,00
	DKF	18	2	11,31	0,002**	0,029*	17	2	1,64	0,24	1,00
	PMPi×DKF	18	2	0,31	0,74	1,000	17	2	0,89	0,44	1,00
$DF_{CS\ total}$	PMPi	18	1	0,48	0,50	1,000	17	1	0,32	0,58	1,00
	DKF	18	2	11,52	0,002**	0,029*	17	2	1,38	0,29	1,00
	PMPi×DKF	18	2	0,30	0,74	1,000	17	2	0,88	0,44	1,00

Prilagojene povprečne razlike med rastlinami, izpostavljenimi PMPi in rastlinami kontrole v parametrih JIP testa prikazuje slika 71. Učinek PMPi na JIP parametre je večji v fazi izpostavitve rastlin DKF, vendar ni statistično značilno različen. Primerjava za posamezno koncentracijo DKF pa je predstavljena v prilogi K, kjer vpliv DKF prevladuje nad vplivom PMPi. DKF je povzročil zmanjšanje kazalcev delovanja in povečanje gonilnih sil, povečala pa se je tudi sipanje energije ( $\phi D_0$ ,  $J_0 DI/RC$ ), vplivi pa ostanejo tudi po upoštevanju prilagojenih  $p$ -vrednosti.



**Slika 71:** Prilagojene povprečne razlike parametrov JIP testa rastlin *Lemna minor*, izpostavljenih nihajočemu magnetnemu polju z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi), v primerjavi z rastlinami kontrole. Prikazane so prilagojene povprečne razlike, normirane na vrednosti kontrole, ki smo jih določili po sedmih dneh izpostavitve (PMPi in DKF) ali po sedmih dneh okrevanja (samo PMPi). Vrednosti združujejo tri različne koncentracije DKF ( $n = 9$ ). Vrednost 0% odgovarja prilagojenim povprečnim vrednostim rastlin kontrole. Kontrola (—), izpostavitev (■), okrevanje (▲). Glej preglednico 1 za razlago JIP parametrov. Ni statistično značilnih razlik.

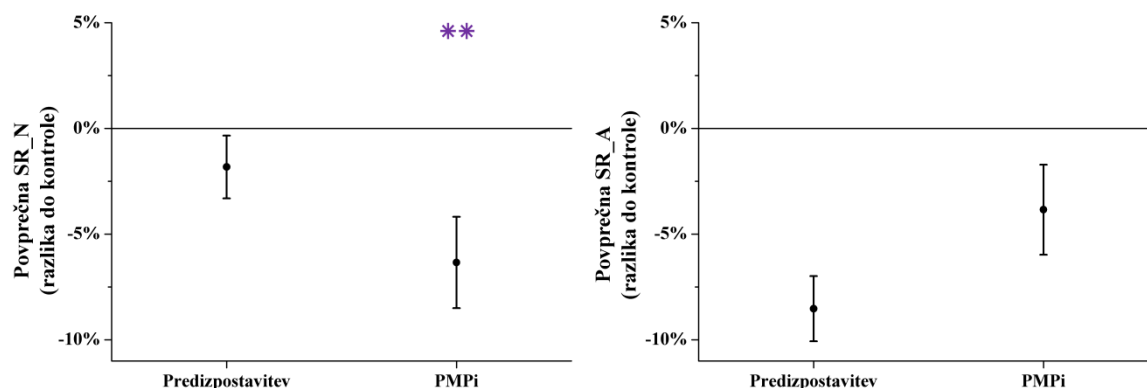
**Figure 71: Adjusted average differences in the JIP parameters of *Lemna minor* plants in changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies (PMPi) compared to the control.** The adjusted values combine 3 different DKF concentrations and are expressed as percentage difference to control separately for exposure (PMPi and DKF) and recovery (only PMPi) phase. Value 0% represents adjusted average value of the JIP parameter for the control plants. Control (—), exposure (■), recovery (▲). See Table 1 for explanation of the JIP parameters. There are no statistically significant differences.

#### 4.3.2.2 Predizpostavitev gojišča nihajočemu magnetnemu polju

Vpliv predizpostavitve gojišča nihajočemu magnetnemu polju smo preverjali v kombinaciji še z dvema fiksnima dejavnikoma: dodatku 2 mg/L DKF in sedem dnevni izpostavitvi nihajočemu magnetnemu polju z domnevno zaviralnimi frekvencami PMPi.

5 urna dnevna izpostavitve rastlin PMPi je imela majhen zaviralni učinek na rastne parametre in fotokemično učinkovitost FSII rastlin, ki pa je bila statistično značilno različna le v primeru števila stebelnih členkov in pripadajoče stopnje rasti (slika 72). Učinek je bil statistično značilno različen le, če je bilo v gojišče dodan tudi 2 mg/L DKF. Tako so imele rastline, ki niso bile izpostavljene PMPi, v povprečju 55 stebelnih členkov ( $SE = 2$ ), izpostavljene rastline pa 41 stebelnih členkov ( $SE = 2$ ). Povprečna  $SR_N$  je bila 0,257 ( $SE = 0,006$ ) in 0,216 ( $SE = 0,004$ ) za neizpostavljene in izpostavljene rastline.

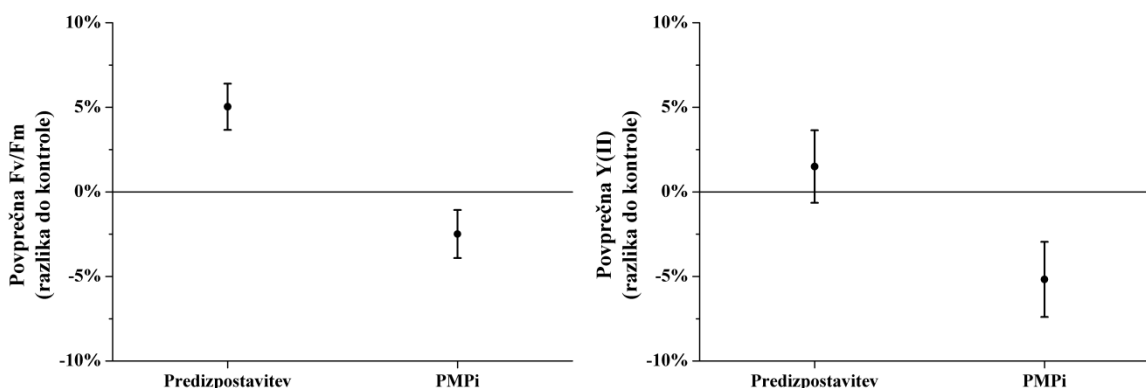
Predizpostavitev gojišča nihajočemu magnetnemu polju (GO) je imela majhen zaviralni učinek na rastne parametre (slika 72), ki je bil šibko statistično značilno različen le v primeru stopnje rasti za skupno površino stebelnih členkov (pril.  $p = 0,083$ ). Za  $SR_A$  je bil učinek statistično značilno različen le pri koncentraciji DKF 0 mg/L, post hoc testi pa so pokazali razlike med rastlinami, ki so rasle v predizpostavljenem gojišču v primerjavi z rastlinami, ki so rasle v gojišču, ki ni bil predizpostavljen nihajočemu magnetnemu polju le v primeru, da smo rastline hkrati tudi izpostavili PMPi. Predizpostavitev gojišča je delovala zaviralno, tako je bila povprečna  $SR_A$  za rastline PMPi 0 v nepredizpostavljenem gojišču 0,350 ( $SE = 0,003$ ), za rastline v predizpostavljenem gojišču pa 0,322 ( $SE = 0,008$ ).



**Slika 72: Vpliv predizpostavitve gojišča (GO) in nihajočega magnetnega polja z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) na stopnjo rasti rastlin *Lemna minor* po sedem dnevni inkubaciji.** Vrednost 0 % predstavlja povprečno vrednosti kontrole, ostale vrednosti so preračunane na odstotek kontrole (povprečna razlika glede na prilagojena povprečja modela in relativna standardna napaka),  $n = 6$  (prilagojena povprečja, ne glede na koncentracijo DKF).  $SR_N$  – stopnja rasti za število stebelnih členkov,  $SR_A$  – stopnja rasti za skupno površino stebelnih členkov.

**Figure 72: Effect of pre-exposure of the growth medium (GO) and exposure of *Lemna minor* plants to changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies (PMPi) on growth rate compared to the control after seven days.** Value 0 % represents values for control, the rest of the values are expressed as a percentage to control (average difference between adjusted means and relative standard error are shown),  $n = 6$  (adjusted means regardless of DKF concentration).  $SR_N$  – growth rate for frond number,  $SR_A$  – growth rate for total frond area.

Predizpostavitev gojišča (GO) je vplivala tudi na potencialno fotokemično učinkovitost FSII ( $p = 0,02$ ), ki je bila v povprečju 0,673 pri rastlinah kontrole in 0,641 pri rastlinah v izpostavljenem gojišču ( $SE = 0,009$ ). Učinek je bil največji, če so bile kontrolne rastline in rastline v predizpostavljenem gojišču hkrati izpostavljene tudi PMPi in 2 mg/L DKF, tako je bil  $F_V/F_M$  18 % višji,  $Y(II)$  pa 11 %. Ob strogih popravkih  $p$ -vrednosti razlike niso bile statistično značilne. 5 urna dnevna izpostavitve rastlin PMPi je imela majhen zaviralni učinek na fotokemično učinkovitost FSII rastlin, ki pa ni bil statistično značilno različen (slika 73).



**Slika 73: Vpliv predizpostavitve gojišča (GO) in nihajočega magnetnega polja z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) na fotokemično učinkovitost FSII rastlin *Lemna minor* po sedem dnevni inkubaciji.** Vrednost 0 % predstavlja povprečno vrednosti kontrole, ostale vrednosti so preračunane na odstotek kontrole (povprečna razlika glede na prilagojena povprečja modela in relativna standardna napaka),  $n = 6$  (prilagojena povprečja, ne glede na koncentracijo DKF).  $F_v/F_m$  – potencialna fotokemična učinkovitost FSII,  $Y(II)$  – dejanska fotokemična učinkovitost FSII.

**Figure 73: Effect of pre-exposure of the growth medium (GO) and exposure of *Lemna minor* plants to changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies (PMPi) on the photochemical efficiency of PSII compared to the control after seven days.** Value 0 % represents values for control, the rest of the values are expressed as a percentage to control (average difference between adjusted means and relative standard error are shown),  $n = 6$  (adjusted means regardless of DKF concentration).  $F_v/F_m$  – potential photochemical efficiency of PSII,  $Y(II)$  – actual photochemical efficiency of PSII.

Dodatek 2 mg/L DKF je imel statistično značilno različen vpliv na vse rastne parametre (prilag.  $p < 0,004$ ) in sicer: 38 % nižje število stebelnih členkov in 82 % manjša skupna površina stebelnih členkov ter 23 %, 75 % manjše pripadajoče stopnje rasti ( $SR_N$ ,  $SR_A$ ). Potencialna in dejanska fotokemična učinkovitost FSII sta bili dobrih 20 % nižji pri izpostavljenih rastlinah.

Statistično analizo dejavnikov v trifaktorskem modelu ANOVA, kjer smo kot fiksni dejavnik modelirali predizpostavitev gojišča (GO), izpostavitve rastlin nihajočemu magnetnemu polju (PMPi) in dodatek 2 mg/L DKF v gojišče prikazuje preglednica 13. Magnetno polje je statistično značilno različno vplivalo na stopnjo rasti za število členkov ( $SR_N$ ), pri čemer je bila razlika statistično značilna le, če je bil v gojišče dodan tudi DKF.

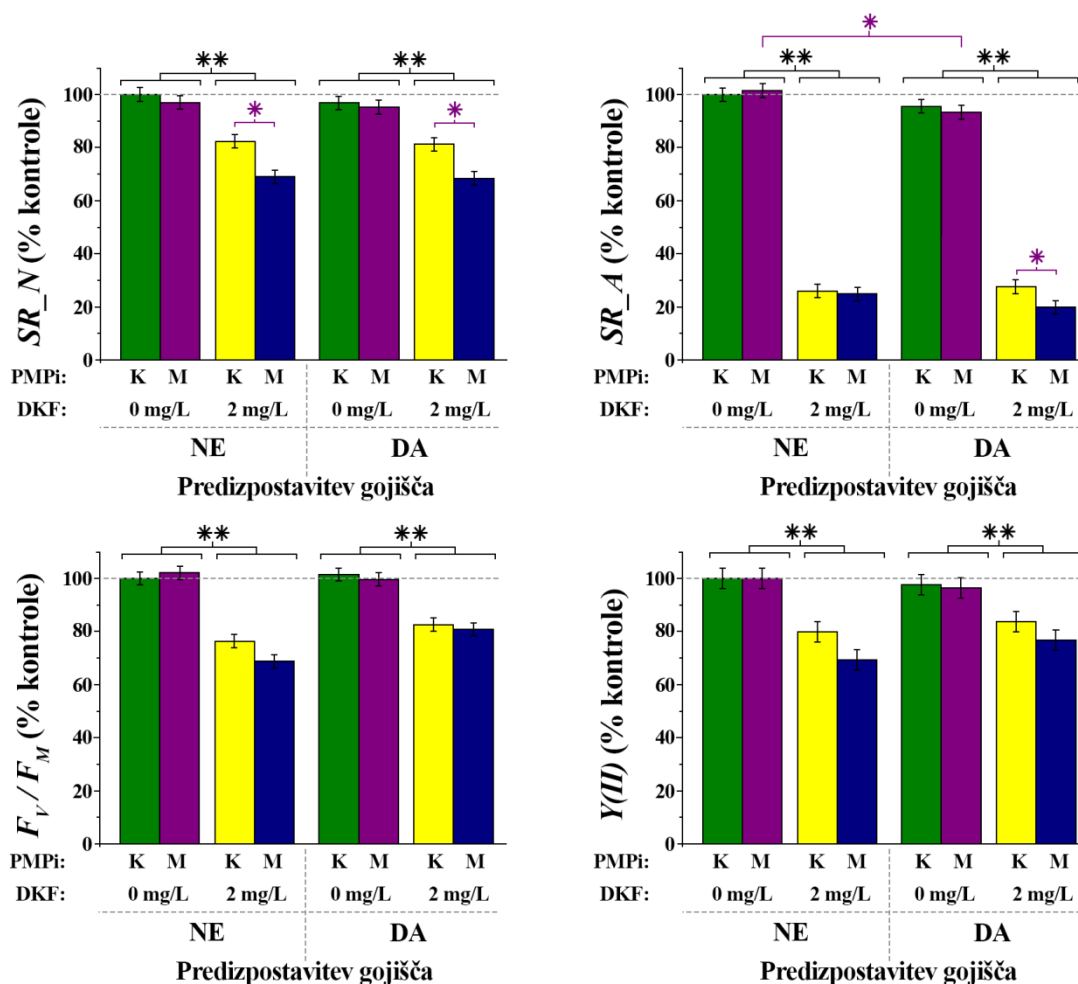
**Preglednica 13: Vpliv predizpostavitve gojišča (GO), izpostavitve rastlin *Lemna minor* nihajočemu magnetnemu polju z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) in dodatku 2 mg/L DKF v gojišče na stopnji rasti in fotokemično učinkovitost FSII rastlin *Lemna minor* v popolnem trifaktorskem modelu ANOVA.** Za vsak parameter so podani: število poskusnih enot (*N*), stopinje prostosti za fiksni dejavnik (*SP*), *F* statistika, *p*-vrednost in prilagojena *p*-vrednost (dvostranska *p*-vrednost s Holmovim popravkom za dejavnik v modelu kjer \* oz. \*\* označuje statistično značilno različen vpliv dejavnika za  $p < 0,05$  oz.  $p < 0,01$ ) glede na dejavnik v modelu ANOVA. Post Hoc sig. navaja obravnavanja oz. njihovo kombinacijo, ki so se statistično značilno razlikovala glede na post hoc teste ( $p < 0,05$ ). *SR<sub>N</sub>* – stopnja rasti glede na število stebelnih členkov, *SR<sub>A</sub>* – stopnja rasti glede na skupno površino stebelnih členkov, *F<sub>V</sub>/F<sub>M</sub>* – potencialna fotokemična učinkovitost FSII, *Y(II)* – dejanska fotokemična učinkovitost FSII.

**Table 13: Effect of pre-exposure of the growth medium and exposure of *Lemna minor* plants to the changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies (PMPi) and addition of 2 mg/L DKF to growth medium on growth rate and photochemical efficiency of PSII compared to the control plants in the full three-factorial ANOVA model.** For each parameter and factor in the ANOVA model, the number of experimental units (*N*), degrees of freedom for the fixed factor (*SP*), *F* statistics and two-sided Holm adjusted *p*-values (Pril. *p*-vrednost; \* and \*\* mark significant differences for  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$  respectively) are given. Post Hoc sig. lists treatments that were statistically different in the post hoc analysis ( $p < 0.05$ ). *SR<sub>N</sub>* – growth rate for frond number, *SR<sub>A</sub>* – growth rate for total frond area., *F<sub>V</sub>/F<sub>M</sub>* – potential photochemical efficiency of PSII, *Y(II)* – actual photochemical efficiency of PSII.

Parameter	Dejavnik	<i>N</i>	<i>SP</i>	<i>F</i>	<i>p</i> -vrednost	Pril. <i>p</i> -vrednost	Post Hoc sig. ( $p < 0,05$ )
<b><i>SR<sub>N</sub></i></b>	GO	3	1	0,8	0,39		
	PMPi	3	1	18,3	0,00**	0,00**	K vs PMPi
	DKF	3	1	150,3	0,00**	0,00**	0 mg/L vs 2 mg/L
	PMPi×DKF	3	1	8,9	0,01**	0,02*	K 2 mg/L vs PMPi 2 mg/L
	PMPi×GO	3	1	0,1	0,77		
	DKF×GO	3	1	0,2	0,66		
	PMPi×DKF×GO	3	1	0,0	0,91		
<b><i>SR<sub>A</sub></i></b>	GO	3	1	4,9	0,04*		ne vs da
	PMPi	3	1	1,8	0,20		
	DKF	3	1	1636,0	0,00**	0,00**	0 mg/L vs 2 mg/L
	PMPi×DKF	3	1	1,3	0,28		
	PMPi×GO	3	1	2,1	0,17		PMPi ne vs PMPi da
	DKF×GO	3	1	1,7	0,21		0 mg/L ne vs 0 mg/L da
	PMPi×DKF×GO	3	1	0,2	0,70		1,00 K 2 mg/L da vs PMPi 2 mg/L da; PMPi 0 mg/L ne vs PMPi 0 mg/L da
<b><i>F<sub>V</sub>/F<sub>M</sub></i></b>	GO	3	1	6,2	0,02*		ne vs da
	PMPi	3	1	1,6	0,22		
	DKF	3	1	180,6	0,00**	0,00**	0 mg/L vs 2 mg/L
	PMPi×DKF	3	1	1,9	0,19		1,00
	PMPi×GO	3	1	0,1	0,80		1,00
	DKF×GO	3	1	7,6	0,01*		2 mg/L ne vs 2 mg/L da
	PMPi×DKF×GO	3	1	1,9	0,19		1,00 PMPi 2 mg/L ne vs PMPi 2 mg/L da
<b><i>Y(II)</i></b>	GO	3	1	0,2	0,63		1,00
	PMPi	3	1	3,0	0,10		1,00
	DKF	3	1	61,5	0,00**	0,00**	0 mg/L vs 2 mg/L
	PMPi×DKF	3	1	2,3	0,15		1,00 K 2 mg/L vs PMPi 2 mg/L
	PMPi×GO	3	1	0,0	0,84		1,00
	DKF×GO	3	1	2,5	0,13		1,00
	PMPi×DKF×GO	3	1	0,2	0,67		1,00

GO – predizpostavitev gojišča, PMPi – nihajoče magnetno polje z domnevno zaviralnimi frekvencami, DKF – 3,5-diklorofenol, NE – ni predizpostavitev gojišča, DA – gojišče je bilo predizpostavljeno, K – rastline kontrole brez izpostavitve PMPi, PMPi – rastline, izpostavljene nihajočemu magnetnemu polju, 0 mg/L – v gojišču ni dodanega DKF, 2 mg/L – v gojišče je dodano 2 mg/L DKF.

Povprečne vrednosti stopenj rasti in fotokemične učinkovitosti FSII za posamezne kombinacije dejavnikov (PMPi, GO in DKF) so predstavljene na sliki 74. Magnetno polje je v 3 primerih statistično značilno vplivalo na stopnje rasti, predizpostavitve gojišča pa v enem. PMPi in GO nista povzročila statistično značilnih razlik v fotokemični učinkovitosti FSII rastlin.



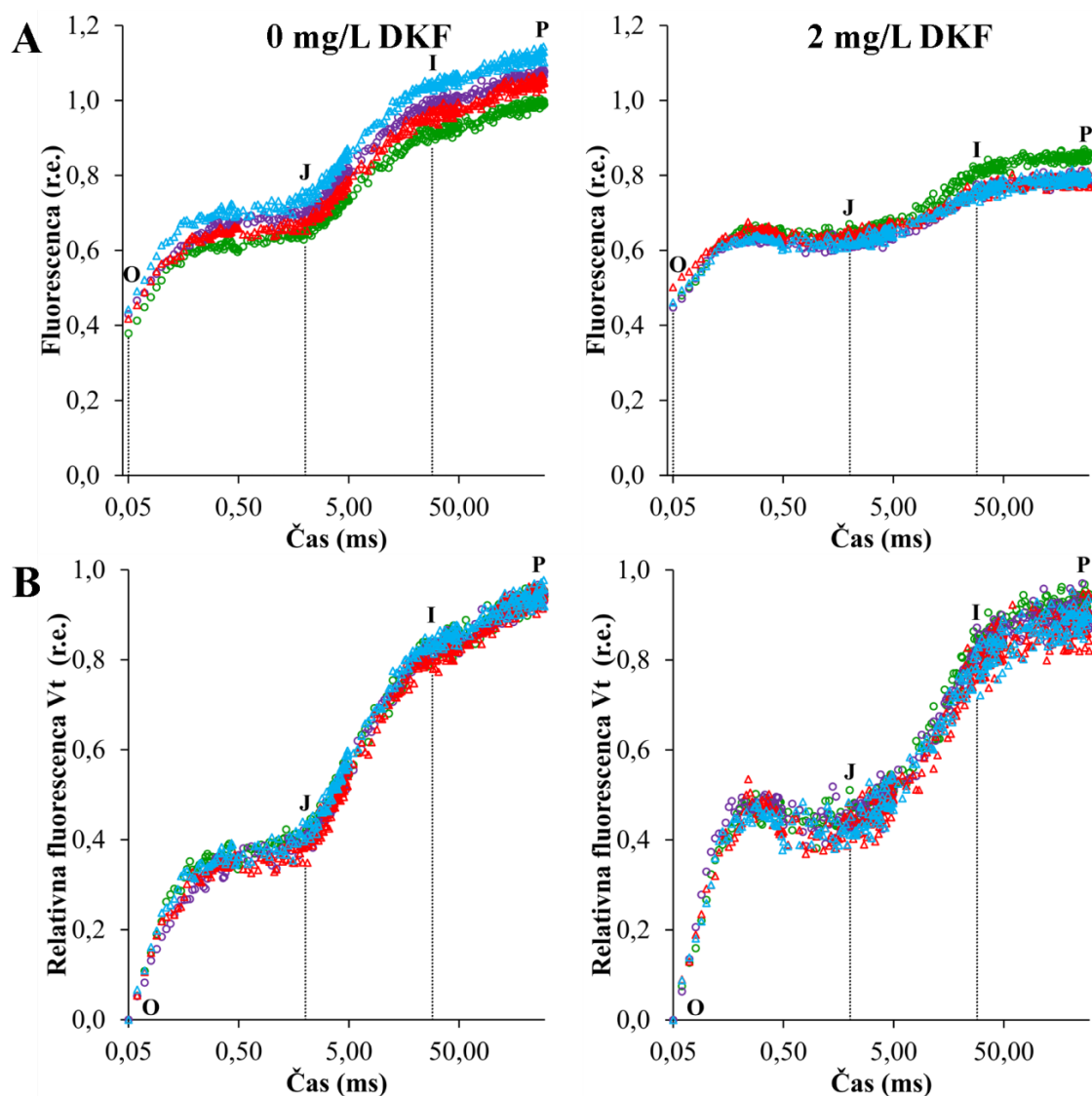
Slika 74: Vpliv predizpostavitve gojišča (GO), izpostavitve rastlin *Lemna minor* nihajočemu magnetnemu polju z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) in dodatku 2 mg/L DKF v gojišče na stopnji rasti in fotokemično učinkovitost FSII rastlin po sedmih dneh inkubacije. Prikazane so povprečne vrednosti, ki so normirane na povprečne vrednosti rastlin kontrole in relativne standardne napake obravnavanja.  $n = 3$ , vrednost 100% predstavlja povprečno vrednost rastlin kontrole z 0 mg/L DKF, brez izpostavitve gojišča in brez izpostavitve rastlin PMPi. 0 mg/L DKF & brez PMPi (■), 0 mg/L DKF & PMPi (■), 2 mg/L DKF & brez PMPi (■), 2 mg/L DKF & PMPi \* označuje statistično značilno razliko (\* za pril.  $p < 0,05$  in \*\* za pril.  $p < 0,01$ ). PMPi – nihajoče magnetno polje z domnevno zaviralnimi frekvencami, DKF – 3,5-diklorofenol, NE – ni predizpostavitve gojišča, DA – gojišče je bilo predizpostavljeno, K – rastline kontrole brez izpostavitve PMPi, M – rastline, izpostavljene nihajočemu magnetnemu polju, 0 mg/L – v gojišču ni dodanega DKF, 2 mg/L – v gojišče je dodano 2

mg/L DKF.  $SR_A$  – stopnja rasti za skupno površino stebelnih členkov,  $F_V/F_M$  – potencialna fotokemična učinkovitost FSII,  $Y(II)$  – dejanska fotokemična učinkovitost FSII.

**Figure 74: Effect of pre-exposure of the growth medium and exposure of *Lemna minor* plants to the changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies (PMPi) and addition of 2 mg/L DKF to growth medium on growth rate and photochemical efficiency of PSII compared to the control plants after seven days of incubation.** Average values after 7 day incubation, expressed as percentage to control and relative standard errors are shown.  $n = 3$ , value 100% represents average value of the parameter for control plants with 0 mg/L DKF in growth medium, without exposure of plants to PMPi and without pre-exposure of growth medium. 0 mg/L DKF & no PMPi (■), 0 mg/L DKF & PMPi (■), 2 mg/L DKF & no PMPi (■), 2 mg/L DKF & PMPi. \* indicates statistically significant difference (\* for adjusted  $p < 0,05$  and \*\* for adjusted  $p < 0,01$ ). PMPi – changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies, DKF – 3,5-dichlorophenol, NE – no pre-exposure of growth medium, DA – pre-exposure of growth medium, K – control plants (no PMPi exposure), M – plants exposed to PMPi,  $SR_N$  – growth rate for frond number,  $SR_A$  – growth rate for total frond area,  $F_V/F_M$  – potential photochemical efficiency of PSII,  $Y(II)$  – actual photochemical efficiency of PSII.

OJIP krivuljo za vseh 8 obravnavanj prikazuje slika 75. Krivulje so pri koncentraciji DKF 2 mg/L precej položnejše, razlike med njimi pa so manjše v primerjavi z razlikami v povprečni inducirani fluorescenci klorofila *a* pri rastlinah brez dodanega DKF, kjer so imele rastline izpostavljene PMPi v povprečju višjo fluorescenco, prav tako pa je bila v povprečju fluorescenca višja pri rastlinah, ki so rastle v predizpostavljenem gojišču. So pa v obeh primerih razlike relativno majhne.



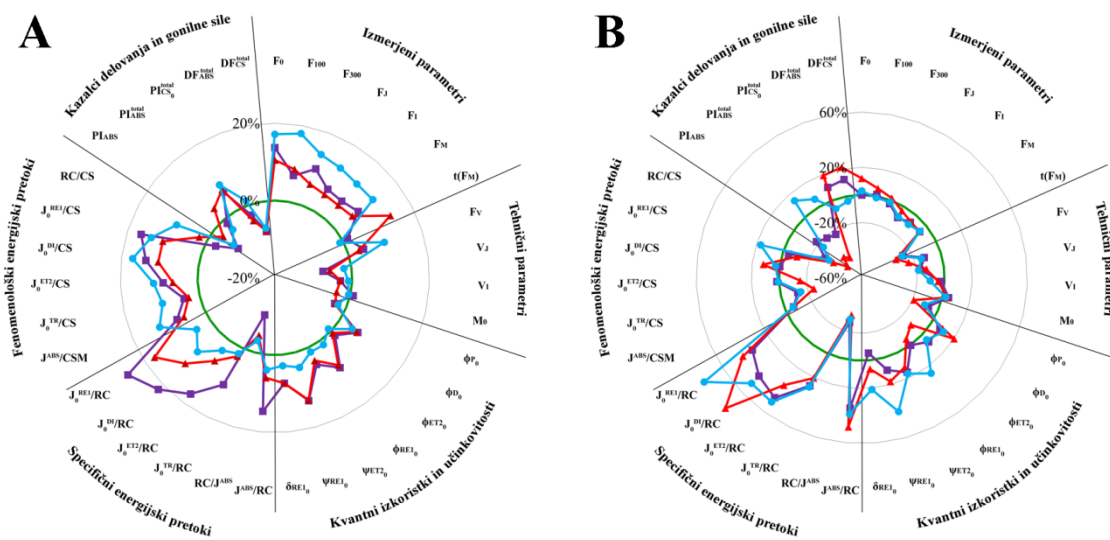


**Slika 75: Vpliv predizpostavitve gojišča nihajočemu magnetnemu polju, izpostavitve rastlin *Lemna minor* nihajočemu magnetnemu polju in 2 mg/L DKF na poli-fazno fluorescenco klorofila *a* po sedmih dneh inkubacije.** Povprečna izmerjena fluorescenca (A) in povprečna relativna fluorescenca (B) Kla FSII, prikazana na logaritemski skali. Vrednost 0 % predstavlja povprečno vrednosti kontrole, ostale vrednosti so preračunane na odstotek kontrole (povprečna razlika glede na prilagojena povprečja modela);  $n = 3$ . brez PMPi & brez predizpostavitve (●), brez PMPi & predizpostavitve (○), PMPi & brez predizpostavitve (△), PMPi & predizpostavitve (▲).

**Figure 75: Average PSII chlorophyll *a* fluorescence transient for *Lemna minor* plants after 7 exposure to changing magnetic field (PMPi), 2 mg/L DKF and pre-exposure of growth medium to the changing magnetic field.** Mean fluorescence (A) and mean relative fluorescence (B) plotted against time on a logarithmic scale. Value 0 % represents values for control, the rest of the values are expressed as a percentage to control (average difference between adjusted means are shown);  $n = 3$ . no PMPi & no pre-exposure (●), no PMPi & pre-exposure (○), PMPi & no pre-exposure (△), PMPi & pre-exposure (▲).

Primerjava izpeljanih JIP parametrov je predstavljena na sliki 76. Kar 22 od 35 JIP parametrov se statistično značilno razlikuje (pril.  $p$  Holm  $< 0,05$ ) med rastlinami z 0 mg/L in z 2 mg/L DKF v gojišču, od tega vsi kazalci delovanja in gonilne sile.

Primerjava neizpostavljenih rastlin in rastlin, izpostavljenih PMPi, je nakazala nekaj pogojno statistično značilnih razlik ( $p < 0,1$ ) na ravni celotnega modela, ki so bile *s post hoc* preskusi zaznane izključno pri rastlinah z dodanim 2 mg/L v nepredizpostavljenem gojišču ( $p < 0,05$ ), in sicer za parametre:  $\phi_{P0}$  (19 % nižji),  $\phi_{D0}$  (20 % višji),  $\phi_{Et20}$  (11 % nižji),  $J^{ABS}/RC$  (48 % višji),  $RC/J^{ABS}$  (32 % nižji),  $J_0^{DI}/RC$  (77 % višji). Vpliva predizpostavitve gojišča nihajočemu magnetnemu polju na izračunane JIP parametre na ravni celotnega modela nismo potrdili.



**Slika 76:** Prilagojene povprečne razlike parametrov JIP testa v primerjavi s kontrolo po sedmih dneh izpostavitve rastlin nihajočemu magnetnemu polju (PMPi) in predizpostavitvi gojišča za 2 koncentraciji DKF. A) 0 mg/L DKF, B) 2 mg/L DKF;  $n = 3$ , kontrola brez PMPi in brez predizpostavitve (—); brez PMPi & predizpostavitve (●); PMPi & brez predizpostavitve (▲); PMPi & predizpostavitve (▲). Glej preglednico 1 za razlago JIP parametrov.

**Figure 76:** Adjusted average differences in the JIP parameters of *Lemna minor* plants in changing magnetic field (PMPi) and pre-exposed growth medium compared to the control for 2 concentrations of DKF. A) 0 mg/L DKF, B) 2 mg/L DKF;  $n = 3$ , control (no PMPi & no pre-exposure) (—); PMPi & no pre-exposure (●); PMPi & no pre-exposure (▲); PMPi & pre-exposure (▲). See Table 1 for explanation of the JIP parameters.

#### 4.3.3 Domnevno spodbujevalne frekvence nihajočega magnetnega polja (PMPs)

Vpliv nihajočega magnetnega polja z drugačnim naborom frekvenc – domnevno spodbujevalnih (PMPs) – smo preverjali hkrati z različno koncentracijo dodane giberelinske kisline ( $GA_3$ ), preverili pa smo tudi vpliv podaljšane inkubacije oz. izpostavitve rastlin.

Analiza mešanega modela ANOVA je zbrana v preglednici 14 (2 poskusa s PMPs, 0 mg/L in 5 mg/L GA<sub>3</sub>). Statistično značilno različnega vpliva PMPs nismo zaznali, podobno tudi dodatek 5 mg/L GA<sub>3</sub> ni statistično značilno različno vplival na število stebelnih členkov ali skupno površino stebelnih členkov.

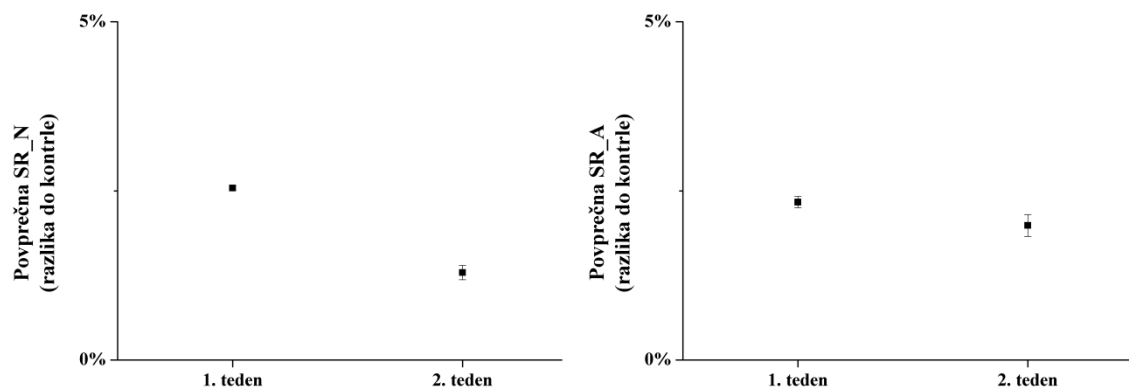
GA<sub>3</sub> in PMPs po 14 dneh inkubacije nista imela vpliva na dejansko in potencialno fotokemično učinkovitost FSII (preglednica 14).

**Preglednica 14: Vpliv nihajočega magnetnega polja z domnevno spodbujevalnimi frekvencami (PMPs) in dodatkom giberelinske kisline (GA<sub>3</sub>) na stopnji rasti in fotokemično učinkovitost FSII v mešanem modelu ANOVA z dvema fiksnima dejavnikoma.** Običajna (sedem dni) in podaljšana (14 dni) inkubacija sta prikazani ločeno. Za vsak parameter so podani: število poskusnih enot (*N*), stopinje prostosti za fiksni dejavnik (*SP*), *F* statistika, *p*-vrednost in prilagojena *p*-vrednost (dvostranska *p*-vrednost s Holmovim popravkom za dejavnik v modelu kjer \* oz. \*\* označuje statistično značilno različen vpliv dejavnika za *p* < 0,05 oz. *p* < 0,01) glede na dejavnik v modelu ANOVA. *SR<sub>N</sub>* – stopnja rasti glede na število stebelnih členkov, *SR<sub>A</sub>* – stopnja rasti glede na skupno površino stebelnih členkov, *F<sub>V/F<sub>M</sub></sub>* – potencialna fotokemična učinkovitost FSII, *Y(II)* – dejanska fotokemična učinkovitost FSII, PMPs – nihajoče magnetno polje z domnevno spodbujevalnimi frekvencami, GA<sub>3</sub> – giberelinska kislina. Ni statistično značilnih razlik.

**Table 14: Effect of the changing magnetic field with supposedly stimulatory frequencies (PMPs) and 2 concentrations of gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) on the growth parameters and photochemical efficiency of PSII in the ANOVA mixed model with two fixed factors.** Standard (seven days) and prolonged (14 days) exposure is shown. For each parameter and factor in the ANOVA model, the number of experimental units (*N*), degrees of freedom for the fixed factor (*SP*), *F* statistics and two-sided Holm adjusted *p*-values (Pril. *p*-vrednost; \* and \*\* mark significant differences for *p* < 0.05 and *p* < 0.01 respectively) are given. *SR<sub>N</sub>* – growth rate for frond number, *SR<sub>A</sub>* – growth rate for total frond area., *F<sub>V/F<sub>M</sub></sub>* – potential photochemical efficiency of PSII, *Y(II)* – actual photochemical efficiency of PSII, PMPs – changing magnetic field with supposedly stimulatory frequencies, GA<sub>3</sub> – gibberellic acid. There are no statistically significant differences.

Parameter	Dejavnik	sedem dni inkubacije					14 dni inkubacije				
		<i>N</i>	<i>SP</i>	<i>F</i>	<i>p</i> -vrednost	Pril. <i>p</i> -vrednost	<i>N</i>	<i>SP</i>	<i>F</i>	<i>p</i> -vrednost	Pril. <i>p</i> -vrednost
<i>SR<sub>N</sub></i>	PMPs	24	1	3,18	0,33	0,33	24	1	5,17	0,26	0,53
	GA <sub>3</sub>	24	1	1,10	0,49	0,97	24	1	1,29	0,46	0,92
	PMPs×GA <sub>3</sub>	24	1	0,60	0,58	0,58	24	1	2,20	0,38	0,76
<i>SR<sub>A</sub></i>	PMPs	24	1	9,10	0,20	0,41	24	1	1,39	0,48	0,48
	GA <sub>3</sub>	24	1	0,20	0,74	0,74	24	1	0,51	0,61	0,61
	PMPs×GA <sub>3</sub>	24	1	2,56	0,34	0,71	24	1	0,28	0,82	0,82
<i>F<sub>V/F<sub>M</sub></sub></i>	PMPs	0					12	1	0,15	0,71	1,00
	GA <sub>3</sub>	0					12	1	1,91	0,20	0,41
	PMPs×GA <sub>3</sub>	0					12	1	1,27	0,29	0,58
<i>Y(II)</i>	PMPs	0					24	1	0,15	0,77	0,77
	GA <sub>3</sub>	0					24	1	0,17	0,75	0,75
	PMPs×GA <sub>3</sub>	0					24	1	0,92	0,51	0,51

Smo pa opazili težnjo pozitivne stimulacije rasti PMPs, ki je bila najizrazitejša pri skupni površini stebelnih členkov. Ta je bila po sedmih dneh 10 %, po 14 dneh pa 9 % višja pri izpostavljenih rastlinah v primerjavi z rastlinami kontrole (prilagojena povprečja za obe koncentraciji GA<sub>3</sub>), nekoliko manj za stopnji rasti (slika 77), v nobenem primeru pa razlika ni bila statistično značilna.



**Slika 77: Prilagojene povprečne razlike med izmerjenimi vrednostmi stopnje rasti rastlin, izpostavljenih nihajočemu magnetnem polju z domnevno spodbujevalnimi frekvenca (PMPs) in dvema različnima koncentracijama GA<sub>3</sub> po 1. in 2. tednu inkubacije v primerjavi z rastlinami kontrole.** Vrednost 0 % predstavlja vrednosti kontrole (prilagojena povprečja za obe vrednosti GA<sub>3</sub>),  $n = 6$  (prilagojena povprečja, ne glede na koncentracijo GA<sub>3</sub>). *SR\_N* – stopnja rasti glede na število stebelnih členkov, *SR\_A* – stopnja rasti glede na skupno površino stebelnih členkov. Ni statistično značilnih razlik.

**Figure 77: Adjusted mean differences for the growth rates of plants exposed to changing magnetic field with supposedly stimulatory frequencies (PMPs) and 2 concentrations of GA<sub>3</sub> for seven days and 14 days compared to control (no PMPs and GA = 0 mg/L).** Value 0 % represents values for control, the rest of the values are expressed as a percentage to control (average difference between adjusted means and relative standard errors are shown),  $n = 6$  (adjusted means regardless of GA<sub>3</sub> concentration). *SR\_N* – growth rate for frond number, *SR\_A* – growth rate for total frond area. There are no statistically significant differences.

#### 4.3.3.1 Poskus v spreminjajočem magnetnem polju PMPs in tremi koncentracijami GA<sub>3</sub>

V drugem poskusu smo uporabili 3 koncentracije GA<sub>3</sub>: 0 mg/L, 5 mg/L in 10 mg/L. Po sedmih dneh smo ob dodatku 5 oz 10 mg/L GA<sub>3</sub> v primerjavi z 0 mg/L opazili 6 % in 11 % povečanje števila stebelnih členkov, 0 % in 4 % povečanje skupne površine stebelnih členkov, 3 % in 5 % povečanje *SR\_N* ter 4 % in 5 % povečanje *SR\_A* (preglednica 15). Razlika je bila po sedmih dneh statistično značilna le za število stebelnih členkov in pripadajočo stopnjo rasti ob dodatku 10 mg/L GA<sub>3</sub> (pril.  $p < 0,05$ ). V podaljšani inkubaciji (14 dni) je vpliv dodane GA<sub>3</sub> v gojišče še izrazitejši, izstopa pa boljše rast rastlin z dodano GA<sub>3</sub> v koncentraciji 5 mg/L. Rastline so imele v povprečju 15 % večje število stebelnih členkov, 4 % večjo *SR\_N*, 13 % večjo skupno površino stebelnih členkov in 7 % večjo *SR\_A*

v primerjavi z rastlinami kontrole (0 mg/L GA<sub>3</sub>), medtem, ko so imele rastline z 10 mg/L GA<sub>3</sub> zelo podobno, a nekoliko manjšo rast, ki pa je presegala rast rastlin kontrole (preglednica 15). Omenjena učinka obeh koncentracij GA<sub>3</sub> ne stopnje rasti (*SR\_N* in *SR\_A*) sta bila po 14 dneh statistično značilno različna od rastlin kontrole (pril.  $p < 0,05$ ).

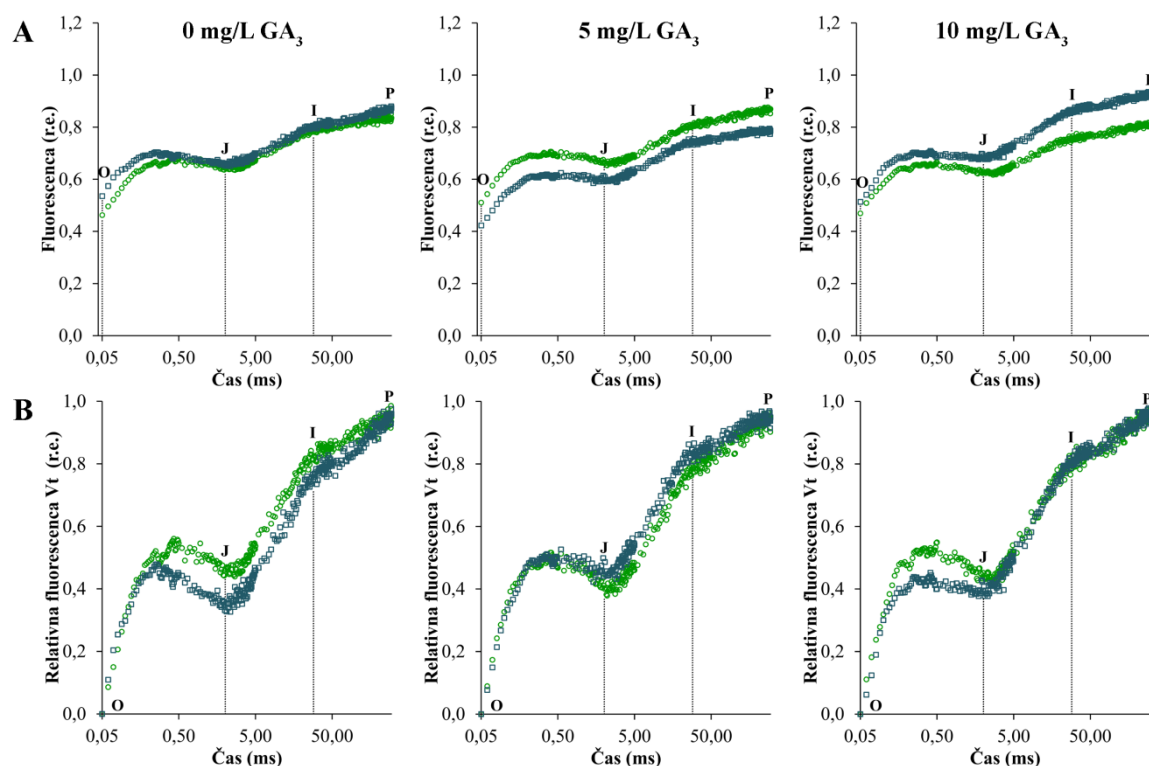
Izpostavitev PMPs je povzročila majhne razlike v spremljanih rastnih parametrih, vpliv pa je bil odvisen od prisotnosti GA<sub>3</sub> v gojišču. Pri koncentraciji 0 mg/L smo s PMPs stimulirali rast, medtem ko je bila ob prisotnosti GA<sub>3</sub> in PMPs rast rastlin enaka ali pa je zaostajala za rastlinami kontrole ob isti koncentraciji GA<sub>3</sub> (preglednica 15). PMPi v nobenem primeru ni bil dejavnik, ki bi statistično značilno vplival na stopnjo rasti rastlin. Za stopnjo rasti za število stebelnih členkov je bila po 14 dneh inkubacije statistično značilno različna interakcija GA<sub>3</sub>×PMPs (pril.  $p < 0,02$ ), ki je pokazala na razliko predvsem med rastlinami kontrole in rastlinami izpostavljenimi PMPs pri koncentraciji GA<sub>3</sub> 0 mg/L.

**Preglednica 15: Rastni parametri in fotokemična učinkovitost FSII rastlin *Lemna minor*, izpostavljenih nihajočemu magnetnemu polju z domnevno spodbujevalnimi frekvencami (PMPs) pri treh različnih koncentracijah GA<sub>3</sub>.** Podane so povprečne vrednosti in standardne napake ( $n = 3$ ), ločeno glede na dolžino inkubacije. OBR. – obravnavanje, GA<sub>3</sub> – giberelinska kislina, K – rastline kontrole (brez PMPs), PMPs – rastline izpostavljene nihajočemu magnetnemu polju,  $N$  – število stebelnih členkov,  $A$  – skupna površina stebelnih členkov,  $SR_N$  – stopnja rasti glede na število stebelnih členkov,  $SR_A$  – stopnja rasti glede na skupno površino stebelnih členkov,  $F_V/F_M$  – potencialna fotokemična učinkovitost FSII,  $Y(II)$  – dejanska fotokemična učinkovitost FSII.

**Table 15: Growth parameters and photochemical efficiency of PSII for *Lemna minor* plants exposed to changing magnetic field with supposedly stimulatory frequencies (PMPs) at 3 different concentrations of GA<sub>3</sub>.** Average values and standard errors ( $n = 3$ ) are given separately for 7 and 14 day incubation. OBR. – treatment, GA<sub>3</sub> – gibberellic acid, K – control plants (without PMPs), PMPs – plants exposed to changing magnetic field with supposedly stimulatory frequencies.  $N$  – frond number,  $A$  – total frond area,  $SR_N$  – growth rate for frond number,  $SR_A$  – growth rate for total frond area.,  $F_V/F_M$  – potential photochemical efficiency of PSII,  $Y(II)$  – actual photochemical efficiency of PSII.

		0 mg/L GA <sub>3</sub>		5 mg/L GA <sub>3</sub>		10 mg/L GA <sub>3</sub>		
	OBR.	Povprečje	SE	Povprečje	SE	Povprečje	SE	
7 dni	$N$	K	76	3	81	2	84	1
		PMPs	79	3	82	2	88	2
	$A$ (mm <sup>2</sup> )	K	369	11	389	9	396	5
		PMPs	405	21	385	13	406	19
	$SR_N$	K	0,289	0,005	0,299	0,003	0,304	0,002
		PMPs	0,294	0,005	0,300	0,004	0,311	0,004
	$SR_A$	K	0,277	0,007	0,294	0,006	0,301	0,011
		PMPs	0,289	0,007	0,292	0,004	0,294	0,008
14 dni	$N$	K	265	4	329	6	329	5
		PMPs	293	5	315	1	298	16
	$A$ (mm <sup>2</sup> )	K	1247	52	1446	15	1468	41
		PMPs	1306	10	1429	15	1340	137
	$SR_N$	K	0,234	0,001	0,249	0,001	0,250	0,001
		PMPs	0,241	0,001	0,246	0,000	0,242	0,004
	$SR_A$	K	0,211	0,007	0,229	0,002	0,229	0,007
		PMPs	0,213	0,001	0,225	0,001	0,217	0,006
	$F_V/F_M$	K	0,623	0,015	0,581	0,016	0,625	0,017
		PMPs	0,597	0,019	0,593	0,018	0,587	0,018
	$Y(II)$	K	0,498	0,029	0,459	0,028	0,447	0,021
		PMPs	0,448	0,016	0,477	0,016	0,470	0,021

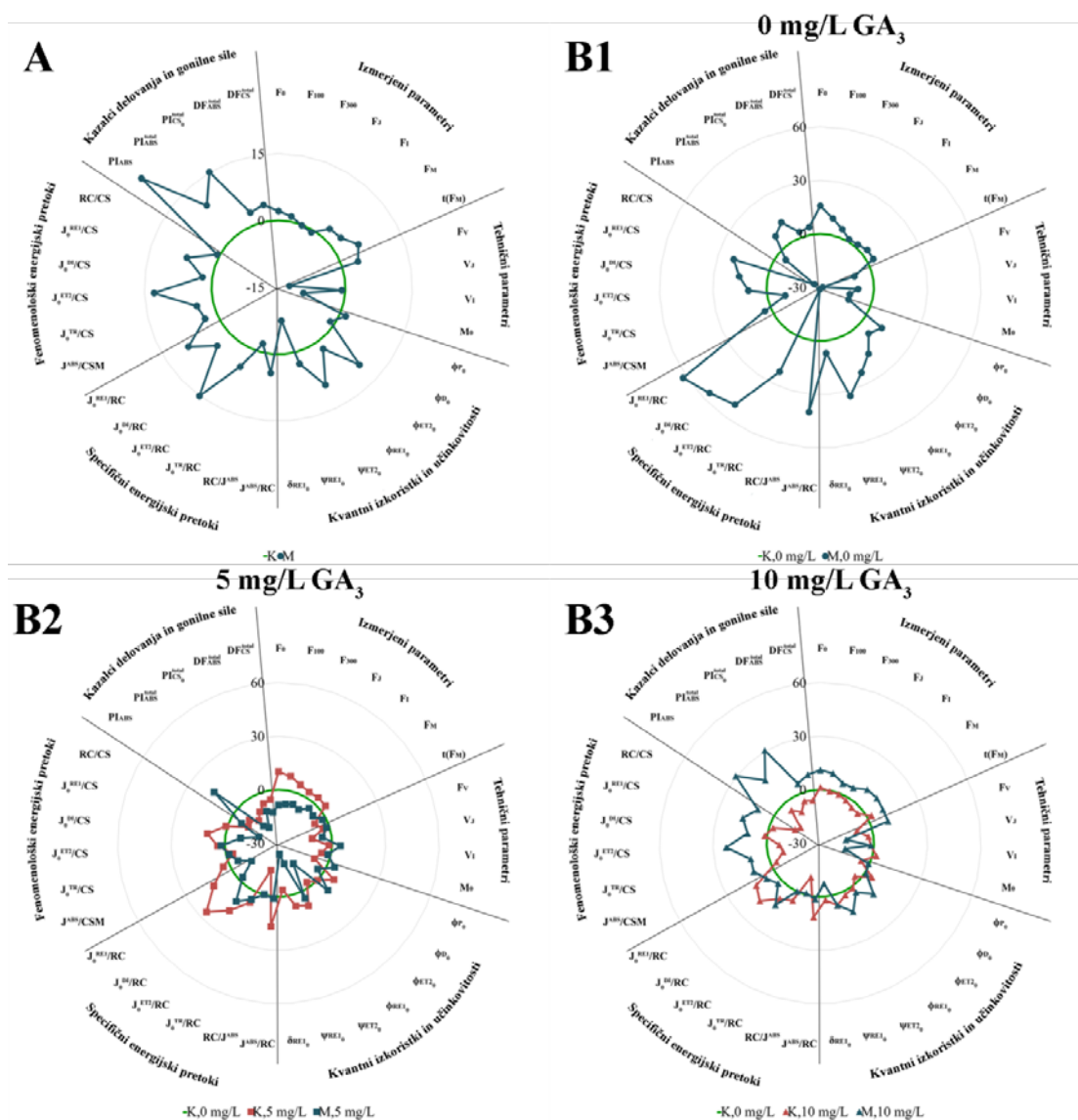
Podaljšana izpostavitvev PMPs in GA<sub>3</sub> ni statistično značilno različno vplivala na fotokemično učinkovitost FSII rastlin (preglednica 15), čeprav sta bili  $F_V/F_M$  in  $Y(II)$  v večini primerov nekoliko nižji v primerjavi z rastlinami kontrole. Več razlik smo zaznali pri analizi poli-fazne fluorescence klorofila  $a$  po 14 dnevni izpostavitvi PMPs in GA<sub>3</sub> (slika 78). Ob večji koncentraciji GA<sub>3</sub> je bila izmerjena fluorescenca  $Kla$  nekoliko nižja v primerjavi z 0 mg/L, vpliv PMPs pa je tudi v tem primeru odvisen od koncentracije GA<sub>3</sub>.



**Slika 78:** Povprečna poli-fazna fluorescenca klorofila *a* FSII za 3 različne koncentracije giberelinske kisline (0 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L) in z ali brez izpostavitve rastlin nihajočemu magnetnemu polju z domnevno spodbujevalnimi frekvencami (PMPs) po štirinajstih dneh inkubacije. Povprečna izmerjena fluorescenca (A) in povprečna relativna fluorescenca (B) Kla FSII, prikazana na logaritemski skali,  $n = 3$ . Kontrola (●), PMPs (■).

**Figure 78:** Average PSII chlorophyll *a* fluorescence transient for *Lemna minor* plants after fourteen days exposure to changing magnetic field with supposedly stimulatory frequencies (PMPs) at 3 different concentrations of GA<sub>3</sub> (0 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L). Mean fluorescence (A) and mean relative fluorescence (B) plotted against time on a logarithmic scale,  $n = 3$  Control (●), PMPs (■).

Največji vpliv PMPs smo zaznali ob odsotnosti GA<sub>3</sub> (slika 78 B 0 mg/L in slika 79 B1), predvsem na kvantne izkoristke in specifične energijske pretoke (neprilagojena  $p < 0,05$ ). Precej manj razlik med izpostavljenimi rastlinami in rastlinami kontrole smo zaznali, v kolikor smo v gojišče dodali GA<sub>3</sub> (slika 79 B2, B3). Zanimiv je kazalec delovanja  $PI_{ABS}$ , ki je imel 55 % višjo vrednost pri rastlinah, izpostavljenih PMPs, višja pa sta bila tudi  $PI_{ABS\ total}$  (24 %) in  $PI_{CS0}$  (44 %), vendar razlika ni bila statistično značilna. V celotnem dvofaktornem modelu ANOVA smo sprva našli 4 statistično značilno različne vplive PMPs ter 11 statistično značilno različnih interakcij (priloga L), ki običajno kažejo statistično značilno različen vpliv PMPs na JIP parametre pri koncentraciji GA<sub>3</sub> 0 mg/L, vendar pa so po prilagoditvi  $p$ -vrednosti (Holmov popravek) ostale statistično značilno različne zgolj interakcije.



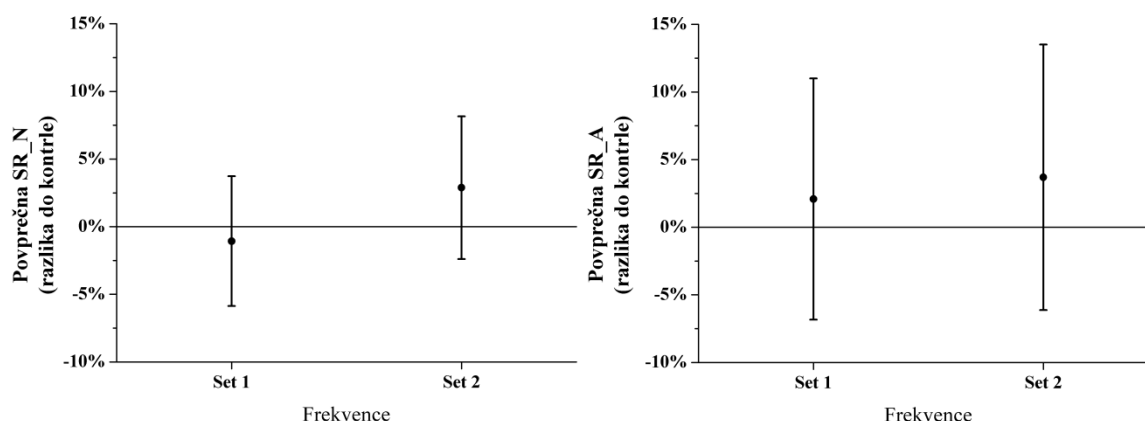
**Slika 79: Prilagojene povprečne razlike parametrov JIP testa v primerjavi s kontrolo po štirinajstih dneh izpostavitve nihajočemu magnetnemu polju z domnevno spodbujevalnimi frekvencami (PMPs) ob različni koncentraciji giberelinske kisline (GA<sub>3</sub>).** A prilagojena povprečja za celotni model, B prilagojena povprečja za posamezno koncentracijo giberelinske kisline: 0 mg/L (B1), 5 mg/L (B2) 10 mg/L (B3).  $n = 3$ , kontrola 0 mg/L (—), kontrola 5 ali 10 mg/L (■ ali ▲), nihajoče magnetno polje z 0 mg/L (●), 5 mg/L (■) in 10 mg/L (▲). \* označuje statistično značilno razliko ( $p < 0.05$ ) med kontrolo in PMP pri enaki koncentraciji GA. Glej preglednico 1 za razlago JIP parametrov. Izseka A in B sta prikazana na različnih skalah.

**Figure 79: Adjusted average differences in the JIP parameters of *Lemna minor* plants in changing magnetic field with supposedly stimulatory frequencies (PMPs) compared to the control for 3 different gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) concentrations after fourteen days of incubation.** A) Adjusted means for the whole model; B) adjusted means for the separate concentration of GA<sub>3</sub>: 0 mg/L (B1), 5 mg/L (B2) 10 mg/L (B3).  $n = 3$ , control & 0 mg/L (—), Control & 5 or 10 mg/L (■ or ▲), PMPs & 0 mg/L (●), PMPs & 5 mg/L (■) in PMPs & 10 mg/L (▲). \* marks statistically significant difference ( $p < 0.05$ ) between control and PMP at the same GA<sub>3</sub> concentration. See Table 1 for JIP parameters explanation. A and B sections are shown on different scale.



#### 4.3.4 Primerjava vpliva PMPi in PMPs frekvenc nihajočega magnetnega polja

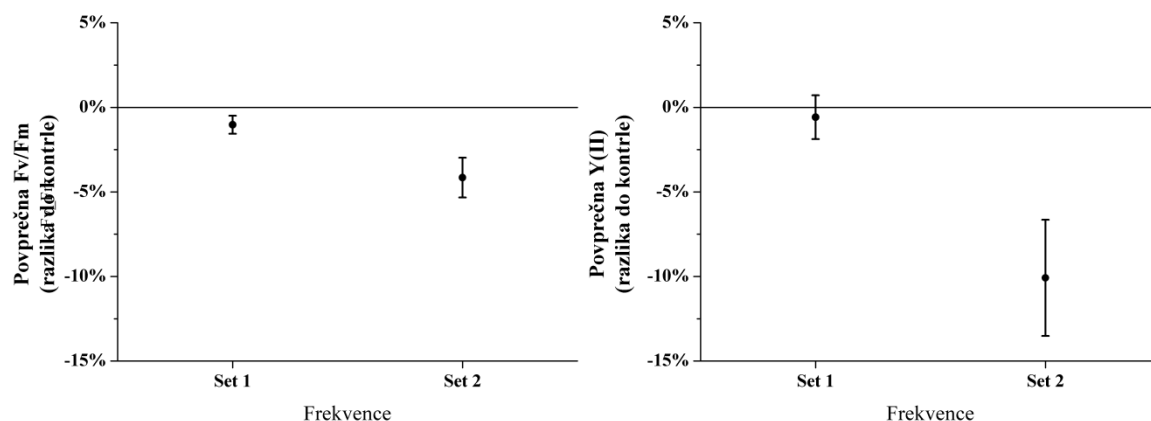
Primerjali smo tudi dva nabora frekvenc nihajočega magnetnega polja brez dodanega DKF ali GA<sub>3</sub> v gojišče (vrednosti parametrov podaja priloga M). Po sedmih dneh izpostavljenosti domnevno zaviralnim frekvencam so imele v povprečju vse rastne parametre nižje v primerjavi z rastlinami, izpostavljenimi domnevno spodbujevalnim frekvencam, vendar pa je razlika majhna in ni statistično značilna (slika 80).



**Slika 80: Vpliv 2 različnih setov frekvenc nihajočega magnetnega polja (set 1 = PMPi in set 2 = PMPs) na stopnje rasti rastlin po sedmih dneh izpostavitve.** Vrednost 0 % predstavlja vrednosti kontrole, ostale vrednosti so preračunane na odstotek kontrole (povprečna vrednost in relativna standardna napaka),  $n = 9$  za PMPi in  $n = 6$  za PMPs.  $SR_N$  – stopnja rasti glede na število stebelnih členkov,  $SR_A$  – stopnja rasti glede na skupno površino stebelnih členkov. Ni statistično značilnih razlik.

**Figure 80: Effect of two different sets of frequencies of changing magnetic field (set 1 = PMPi, set 2 = PMPs) on growth rates of *Lemna minor* plants after seven days exposure.** Value 0 % represents values for control, the rest of the values are expressed as a percentage to control (average values and relative standard error are shown),  $n = 9$  for PMPi and  $n = 6$  for PMPs.  $SR_N$  – growth rate for frond number,  $SR_A$  – growth rate for total frond area. There are no statistically significant differences.

Fotokemična učinkovitost FSII rastlin, izpostavljenih PMPi in PMPs, je bila v povprečju nižja od fotokemične učinkovitosti FSII rastlin kontrole (slika 81). Rastline, izpostavljene PMPs, so imele nekoliko nižji  $F_V/F_M$  in  $Y(II)$ , v primerjavi z rastlinami PMPi, vendar razlika ni bila statistično značilna (priloga M).



**Slika 81: Vpliv 2 različnih setov frekvenc nihajočega magnetnega polja (set 1 = PMPi in set 2 = PMPs) na fotokemično učinkovitost FSII rastlin *Lemna minor* po sedmih dneh izpostavitve.** Vrednost 0 % predstavlja vrednosti kontrole, ostale vrednosti so preračunane na odstotek kontrole (povprečna vrednost in relativna standardna napaka),  $n = 9$  za PMPi in  $n = 6$  za PMPs.  $F_v/F_m$  – potencialna fotokemična učinkovitost FSII,  $Y(II)$  – dejanska fotokemična učinkovitost FSII. Ni statistično značilnih razlik.

**Figure 81: Effect of two different sets of frequencies of changing magnetic field (set 1 = PMPi, set 2 = PMPs) on photochemical efficiency of PSII of *Lemna minor* plants after seven days exposure.** Value 0 % represents values for control, the rest of the values are expressed as a percentage to control (average values and relative standard error are shown),  $n = 9$  for PMPi and  $n = 6$  for PMPs.  $F_v/F_m$  – potential photochemical efficiency of PSII,  $Y(II)$  – actual photochemical efficiency of PSII. There are no statistically significant differences.

## 5 RAZPRAVA IN SKLEPI

### 5.1 RAZPRAVA

Namen naših raziskav je bil preveriti, ali bodo razlike v geomagnetnem polju ter izpostavitve močnemu statičnemu magnetnemu polju oz. nihajočemu magnetnemu polju vplivale na rast ter fotokemično učinkovitost FSII rastlin *Lemna minor* v strogo nadzorovanih rastnih razmerah. Pričakovani vplivi so bili utemeljeni z mnogimi objavami, ki potrjujejo take učinke. Po našem vedenju so predstavljene raziskave prvi primer, kjer so se preverila tako raznolika magnetna okolja, na enakem poskusnem sistemu, v ozkem časovnem okviru.

Učinki različnih magnetnih polj na rast in fotokemično učinkovitost FSII pri vrsti *Lemna minor* so bili manjši od pričakovanih (Preglednica 16), vseeno pa smo prišli do nekaj zanimivih ugotovitev. Absolutne vrednosti stopnje rasti so imele visoko variabilnost med ponovljenimi poskusi, medtem ko se je težnja vpliva določenega magnetnega polja na stopnjo rasti v primerjavi z rastlinami kontrole v večini primerov ohranila.

**Preglednica 16:** Pregled statistično značilnih razlik med rastlinami kontrole in rastlinami izpostavljenimi magnetnemu polju v enofaktorskih poskusih za različne rastne parametre in parametre fluorescence klorofila *a*. MP – magnetno polje, MGP – zmanjšano geomagnetno polje, VGP – povečano geomagnetno polje, SMP – močno statično magnetno polje, PMP – nihajoče magnetno polje,  $SR_N$  – stopnja rasti za število stebelnih členkov,  $SR_A$  – stopnja rasti za skupno površino stebelnih členkov,  $F_v/F_M$  – potencialna fotokemična učinkovitost,  $Y(II)$  – dejanska fotokemična učinkovitost.

**Table 16:** Statistically significant differences in different growth parameters and chlorophyll *a* fluorescence parameters between control plants and plants exposed to magnetic field in one factorial experimental design. MP – magnetic field, MGP – reduced geomagnetic field, VGP – enhanced geomagnetic field, SMP – strong static magnetic field, PMP – changing magnetic field,  $SR_N$  – growth rate for frond number,  $SR_A$  – growth rate for total frond area,  $F_v/F_M$  – potential photochemical efficiency,  $Y(II)$  – actual photochemical efficiency.

MP	Št. Poskusov	$SR_N$	$SR_A$	$F_v/F_M$	$Y(II)$	OJIP krivulja	JIP test
MGP	4	/	DA	/	/	/	/
VGP	5	<sup>a</sup>	/	/	<sup>a</sup>	/	/
SMP	3	/	/	/	/	DA <sup>b</sup>	<sup>a</sup>
PMP	5	/	/	/	/	NP	NP

<sup>a</sup> brez popravka *p*-vrednosti bi imeli statistično značilno razliko; <sup>b</sup> razlika je zgolj grafična in ni statistično ovrednotena, NP – ni podatka.

Tudi posebne izvedbe poskusov v nihajočem magnetnem polju so dale malo statistično značilnih rezultatov (preglednica 17). Zanimivi so rezultati v nekaterih posameznih poskusih, kjer so se učinki magnetnega polja na stopnji rasti pokazali v kombinaciji z drugimi dejavniki, predvsem v kombinaciji z visoko koncentracijo 3,5-diklorofenola v gojišču in med fazo okrevanja.

**Preglednica 17: Pregled statistično značilnih razlik med rastlinami kontrole in rastlinami izpostavljenimi nihajočemu magnetnemu polju za različne rastne parametre in parametre fluorescence klorofila *a* v posebnih izvedbah poskusov.** PMPi – nihajoče magnetno polje z domnevno zaviralnimi frekvencami, PMPs – nihajoče magnetno polje z domnevno spodbujevalnimi frekvencami, DKF – 3,5-diklorofenol, okr – faza okrevanja, pod – podaljšana inkubacija (14 dni), GO – predizpostavitve gojišča nihajočemu magnetnemu polju, GA<sub>3</sub> – giberelinska kislina, SR<sub>N</sub> – stopnja rasti za število stebelnih členkov, SR<sub>A</sub> – stopnja rasti za skupno površino stebelnih členkov, F<sub>V</sub>/F<sub>M</sub> – potencialna fotokemična učinkovitost, Y(II) – dejanska fotokemična učinkovitost, c – koncentracija snovi.

**Table 17: Statistically significant differences in different growth parameters and chlorophyll *a* fluorescence parameters between control plants and plants exposed to changing magnetic in special experimental designs.** PMPi – changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies, PMPs – changing magnetic field with supposedly stimulatory frequencies, DKF – 3,5-dichlorophenol, okr – recovery phase, pod – extended incubation (14 days), GO – pre-exposure of growth medium to changing magnetic field, GA<sub>3</sub> – gibberellic acid, SR<sub>N</sub> – growth rate for frond number, SR<sub>A</sub> – growth rate for total frond area, F<sub>V</sub>/F<sub>M</sub> – potential photochemical efficiency, Y(II) – actual photochemical efficiency, c – concentration.

Oznaka poskusa	1. faktor	2. faktor	3. faktor	št. posk.	SR <sub>N</sub>	SR <sub>A</sub>	F <sub>V</sub> /F <sub>M</sub>	Y (II)	OJIP kriv.	JIP test
PMPi 1.teden	PMPi	/	/	3	/	/	/	/	DA <sup>b</sup>	/
PMPi 2.teden	PMPi	/	/	3	/	/	/	/	/	/
PMPi +DKF	PMPi	DKF	/	1	/	/	/	/	DA <sup>b</sup>	/
PMPi +DKF + okr	PMPi	DKF	/	1	DA <sup>c</sup>	/	/ <sup>a</sup>	/	DA <sup>b</sup>	/ <sup>a</sup>
PMPi +DKF +GO	PMPi	DKF	GO	1	DA <sup>c</sup>	/ <sup>a</sup>	/ <sup>a</sup>	/	DA <sup>b</sup>	DA <sup>c</sup>
PMPs +GA <sub>3</sub>	PMPs	2 c GA <sub>3</sub>	/	2	/	/	NP	NP	NP	NP
PMPs +GA <sub>3</sub> _pod	PMPs	2 c GA <sub>3</sub>	/	1	/	/	/	/	/	/
PMPs +GA <sub>3</sub>	PMPs	3 c GA <sub>3</sub>	/	1	DA <sup>c</sup>	/	/	/	DA <sup>b</sup>	/ <sup>a</sup>
PMPs +GA <sub>3</sub> _pod	PMPs	3 c. GA <sub>3</sub>	/	1	DA <sup>c</sup>	/	/	/	DA <sup>b</sup>	DA <sup>c</sup>
PMPi vs PMPs	Frekv.	/	/	3vs2	/	/	/	/	NP	NP

<sup>a</sup> brez popravka *p*-vrednosti bi imeli statistično značilno razliko; <sup>b</sup> razlika je zgolj grafična in ni statistično ovrednotena, <sup>c</sup> nekaj primerjav je statistično značilno različnih, NP – ni podatka.

### 5.1.1 Rast rastlin v različnih magnetnih okoljih

Rezultati kažejo, da razlike v šibkem statičnem magnetnem polju, ki posnema ekstremne vrednosti geomagnetnega polja v okolju (4 μT, 30 μT, 100 μT) lahko povzročijo majhne spremembe v stopnji rasti rastlin (slika 49). Tako je bila v zmanjšanem geomagnetnem polju stopnja rasti večja, v povečanem geomagnetnem polju pa je bila stopnja rasti manjša v primerjavi z rastlinami kontrole. Čeprav smo po prilagoditvi *p*-vrednosti statistično značilno razliko zaznali le pri rastlinah v zmanjšanem geomagnetnem polju, ki so imele 8 % višjo

stopnjo rasti za skupno površino stebelnih členkov (*SR\_A*) v primerjavi z rastlinami kontrole, pa sta bili omenjeni težnji opazni tudi pri drugih merjenih rastnih parametrih.

Tudi drugi raziskovalci navajajo povečano stopnjo rasti v zmanjšanem geomagnetnem polju pri različnih rastlinskih vrstah (Kato in sod., 1989; Celestino in sod., 1998; Negishi in sod., 1999), nekateri celo ugotavljajo vrstno in varietetno specifične odzive, ki lahko pri eni vrsti vodijo v 50 % večjo stopnjo rasti, pri drugi pa le 25 % večjo ali pa zmanjšano geomagnetno polje celo ne vpliva na stopnjo rasti (Kato in sod., 1989; Rakosy-Tican in sod., 2005). Naše raziskave niso pokazale tako visokega povišanja stopnje rasti, vendar se je potrebno zavedati, da se zaradi eksponente rasti rastlin *Lemna minor* lahko že majhne spremembe v stopnji rasti, ki smo jih opazili po sedmih dneh inkubacije, privedejo do velikih sprememb dejanskega števila in površine stebelnih členkov rastlin v daljših časovnih obdobjih, v kolikor se eksponentna rast rastlin ohrani na enaki ravni.

Možno je, da je vpliv zmanjšane geomagnetnega polja odvisen tudi od faze rasti rastlin. Tako pri kalečih semenih pogosto naletimo na zaviralne učinke zmanjšane geomagnetnega polja (Belyavskaya, 2001; Zhadin, 2001; Belyavskaya, 2004). Opisali pa so tudi spodbujevalne učinke zmanjšane geomagnetnega polja na kaleče rastline (Mo in sod., 2011). Pri rastlinah v vegetativni fazi rasti tovrstnih učinkov pogosto ne opazimo. Tako so Xu in sod. (2013) ugotovili zmanjšano prirast biomase pri navadnem repnjakovcu (*Arabidopsis thaliana*) zgolj na prehodu iz vegetativne v reprodukcijsko rast.

Na drugi strani nismo zaznali nikakršnih vplivov na stopnjo rasti (slika 52), če smo rastline izpostavili zelo močnemu statičnemu magnetnemu polju, ki je imelo 1000× večjo gostoto magnetnega pretoka, kot jo ima Zemljino magnetno polje (150 mT). Rezultat nas je nekoliko presenetil, saj večina raziskovalcev navaja vplive statičnih magnetnih polj na rastline ravno v območju 10 mT do 500 mT (Pitman, 1977; Hirota in sod., 1999; Reina in sod., 2001; Martinez in sod. 2002; Florez in sod., 2007; Cakmak in sod., 2010; Small in sod., 2011; Shine in sod., 2011; Shine in sod., 2012; Payez in sod. 2013). Razlika med večino omenjenih raziskav in našimi raziskavami je morda tudi v tem, da so drugi avtorji večinoma za kratko obdobje (do 24 ur) izpostavili semena ali mlade kalice močnemu statičnemu magnetnemu polju, medtem ko smo v naših raziskavah izpostavili mlade rastline v času hitre vegetativne rasti, rastline pa so bile statičnemu magnetnemu polju izpostavljene daljše obdobje (sedem dni). Nekatere novejšje raziskave kažejo statistično značilne zaviralne vplive močnih statičnih polj (Peñuelas in sod., 2004; Ahmad in sod., 2007; Van in sod., 2011).

Iz naših rezultatov in raziskav drugih avtorjev lahko sklepamo o treh morebitnih dejavnikih, ki vplivajo na delovanje statičnega magnetnega polja na organizme:

- 1) Rastlinska vrsta – različne odzive različnih vrst rastlin na enako izpostavitve magnetnemu polju je ugotovil že Pittman (1977), podobno pa so ugotovili tudi drugi avtorji (npr. Rakosy-Tican in sod., 2005). Morda je eden od pomembnih vidikov delovanja magnetnih polj organiziranost rastlinskega tkiva, ki vodi v različna inducirana električna in magnetna polja v rastlini, ki se vzpostavijo kot posledica delovanja zunanjega magnetnega polja.
- 2) Razvojna faza rastline – znano je, da pride med različnimi razvojnimi fazami rastlin do velikih sprememb v transkripciji genov in posledično proteoma in metaboloma v rastlinah (Wolters and Jürgens, 2009; Huijser and Schmid, 2011). Različne biomolekule in metabolne poti so lahko različno občutljive na statična magnetna polja glede na njihov naboj, polarizacijo in vezavo ionov (pogosti kofaktorji).
- 3) Rezultati nakazujejo tudi na možen obstoj amplitudnih oken. O amplitudnih oknih je veliko pisal že Markov (2005), še bolj znana pa so frekvenčna okna, ki jih je opisal Adey (1993). Vendar pa Markov navaja ozka amplitudna okna pri bistveno močnejšem statičnem in pulznem magnetnem polju. Ugotovil je, da gostota magnetnega pretoka 15 mT povzroči povečanje fosforilacije miozina, kot posledica povečane aktivnosti encima kinaze lahkih verig miozina (MLCK; myosin light chain kinase). Z večanjem in manjšanjem intenzitete magnetnega polja pa je povečanje aktivnosti encima bistveno manjše (Markov, 2005). V našem primeru bolj verjetno govorimo o neki prazni vrednosti statičnega magnetnega polja, preko katere se rast rastlin *Lemna minor* nekoliko upočasni in najverjetneje leži med gostoto magnetnega pretoka od 30  $\mu$ T do 100  $\mu$ T. Tudi kanadska raziskovalca Li in Heroux (2014) poročata o praznem učinku magnetnega polja. Pokazala sta, da je v rakavih celičnih linijah, ki sta jih izpostavila šibkemu magnetnemu polju, prišlo do zmanjšanja števila kromosomov. Učinek pa je nad prazno amplitudo magnetnega polja ostal enak. Tako je lahko geomagnetno polje majhen, a pomemben dejavnik, ki lahko doprinese k razliki v stopnji rasti kozmopolitskih vrst na različnih zemljepisnih širinah, predvsem v okoljih z nizko intenziteto geomagnetnega polja. Morebitne spremembe in obrat Zemljinega magnetnega polja bi lahko vplivale na hitrost rasti rastlin in prirast v ekosistemu, pa tudi na pridelek v kmetijstvu, kjer je vpliv šibkega statičnega polja na pogoste agrarne sorte slabo poznan.

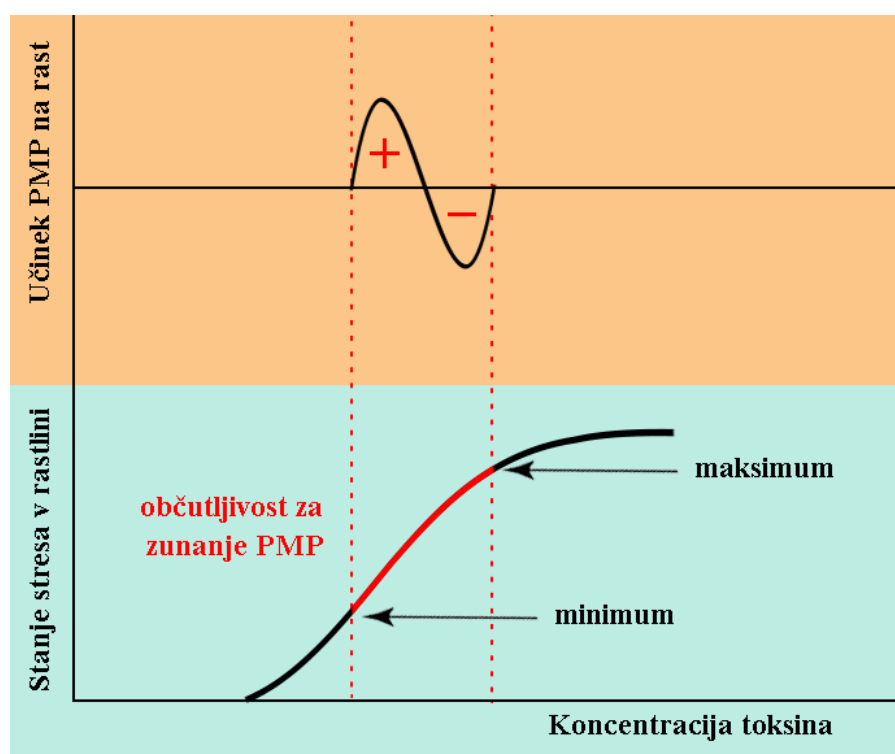
Nihajoče magnetno polje z izbranimi frekvencami v naših poskusih ni povzročilo sprememb v stopnji rasti male vodne leče po sedmih dneh izpostavitve magnetnemu polju (slika 57). Rezultati nasprotujejo številnim raziskavam (glej poglavje 2.8.3), ki so pokazale stimulacijo rasti z nihajočimi magnetnimi polji, vendar v našem primeru ni šlo za neposredne ponovitve predhodnih raziskav, ampak smo (za področje bioelektromagnetike) na redko uporabljeni rastlinski vrsti preskusili svojevrsten nabor frekvenc po zgledu grške skupine (Karkabounas in sod., 2006; Avdikos in sod. 2007; Evangelou in sod., 2011; Verginadis in sod., 2011;

Verginadis in sod., 2012). Vpliva na rast nismo zaznali, ne glede na izbor frekvenc (domnevno zaviralne frekvence PMPi oz. domnevno spodbujevalne frekvence PMPs), razen na nivoju nekaterih posameznih poskusov. PMPs je delovalo nekoliko spodbujevalno predvsem na število stebelnih členkov, čeprav stimulacija ni bila statistično značilno različna (slika 77).

Prav tako nihajoče magnetno polje z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) ni vplivalo na rast rastlin, ki so bile hkrati izpostavljene različnim koncentracijam toksina 3,5-diklorofenola, s katerim smo rastline izpostavili stresnim razmeram in vplivali na njihovo fiziološko stanje (slika 65). Zanimivo težnjo pa smo opazili, če smo rastline, izpostavljene toksinu, prenesli v sveže gojišče, izpostavitve PMPi pa smo obdržali ter spremljali okrevanje rastlin (slika 67). Rastline, ki v prvem tednu niso bile izpostavljene DKF, so imele v drugem tednu nekoliko višjo stopnjo rasti v primerjavi z rastlinami kontrole, ki niso bile izpostavljene PMPi. Rezultat je bil ravno obraten pri najbolj zastrupljenih rastlinah izpostavljenih najvišjim koncentracijam toksina (2,5 mg/L). Te rastline so imele še nižjo stopnjo rasti, če so bile v fazi okrevanja izpostavljene PMPi polju. Večina razlik sicer ni bila statistično značilnih vendar pa so opažene težnje skladne z izsledki, da je učinek nihajočega magnetna polja lahko odvisen od fiziološkega stanja rastlin (Blank in sod., 1995; Ružič in sod., 1998; Blank in Soo, 2001). Učinek se tako največkrat pokaže v suboptimalnih razmerah, ki pa še ne povzročijo premočnega stresa v rastlinah. Take rastline imajo povečano stopnjo metabolizma in lahko rastejo nekoliko hitreje, ko se vzpostavi stanje aklimacije, kar so rastline verjetno dosegle po prvem tednu inkubacije. Govorimo lahko o hormeziji, t.j. o pojavu, kjer imajo nizke doze (npr. nizke koncentracije, šibko polje ipd.) nasproten učinek na organizem, kot pa visoke doze neke snovi (npr. visoke koncentracije) (Calabrese, 2004). Za hormezijo je značilen tudi nujen časovni zamik, ki ga pojasnjujejo s prekomernim odgovorom organizma na šibke stresne razmere, kar vodi v neto spodbujevalen učinek, ki pa pri določeni koncentraciji postane zaviralen (Davis in Svendsgaard, 1990; Calabrese in Baldwin, 2001). Vpliv daljše izpostavitve rastlin nihajočemu magnetnemu polju smo opazili tudi pri drugačnem naborom frekvenc (PMPs, 14 dni; priloga L). Rastline, izpostavljene PMPs, so imele po 14 dneh nekoliko višjo stopnjo rasti za število stebelnih členkov. Tako je nihajoče magnetno polje ne glede na frekvence ob daljši izpostavitvi imelo majhen spodbujevalen učinek na rast rastlin, verjetno kot posledica šibkih stresnih razmer, na katere je rastlina razvila toleranco po enem tednu izpostavitve. Pri rastlinah, ki so bile izpostavljene toksinu, pa lahko nihajoče magnetno polje povzroči dodaten stres, rastlina pa ni sposobna vzdrževati homeostaze in zato PMP negativno vpliva na rast rastlin (Monselise in sod., 2003; Tkalec in sod., 2007). Hormezijski učinek magnetnega polja je tako odvisen od fiziološkega stanja rastline (Calabrese in Baldwin, 2001) (slika 82).

Do zanimivega rezultata smo prišli tudi v sicer večfaktorskem poskusu, kjer smo poleg koncentracije DKF preverjali tudi vpliv predizpostavitve gojišča nihajočemu magnetnemu polju. Razlika je bila le, da smo uporabili drugačno koncentracijo DKF – 2 mg/L, ki je med obema predhodno uporabljenima koncentracijama. Rastline, ki so bile hkrati izpostavljene DKF in PMPi, so imele približno 10 % nižjo in statistično značilno različno stopnjo rasti v primerjavi z rastlinami, ki so bile izpostavljene zgolj DKF (slika 74), torej celo bolj izrazit dodatni zaviralni učinek v prvem tednu izpostavitve. Predizpostavitev gojišča po prilagoditvi *p*-vrednosti ni statistično značilno različno vplivala na rast rastlin. Ena od možnih razlag opaženih vplivov je potencialno ozko občutljivo fiziološko stanje rastline, kjer izpostavitve magnetnemu polju povzroči dodatne zaviralne učinke (slika 82), sicer pa rastlina tolerira zunanje magnetno polje brez dodatnih vplivov na stopnjo rasti oz. jo celo nekoliko stimulira zaradi pretiranega odgovora rastline. Vpliv nihajočega magnetnega polja bi bil v takem primeru možen zgolj v ozkem območju uporabljenega toksina, nad minimalno koncentracijo, ki povzroči merljiv odgovor rastlin (pražno vrednostjo) in maksimalno koncentracijo, nad katero ostaja odgovor rastlin bolj ali manj enak. Interpretacijo rezultatov dodatno zapleta dejstvo, da v ponovitvah poskusov rastline v domnevno enakih pogojih niso dosegle enakih absolutnih stopenj rasti, kar bi verjetno pomenilo, da sta se tudi pražna koncentracija in koncentracija platoja spreminjali v odvisnosti od stohastičnih vplivov in fizioloških sprememb v trajni kulturi rastlin. Na splošno smo največji zaviralni učinek PMPi zaznali v poskusih, kjer je bila absolutna stopnja rasti najnižja, torej, ko so bile rastline najmanj sposobne hitre eksponentne rasti (slika 55).





**Slika 82: Predpostavljen učinek magnetnega polja glede na stanje stresa v rastlini (odgovor rastline) in koncentracijo toksina.** V kolikor so rastline v rdečem območju izpostavljene ustreznemu zunanjemu magnetnemu polju, se lahko pojavi dodatna stimulacija ali inhibicija rasti, odvisno od stopnje stresa v rastlini.  
**Figure 82: Proposed effect of magnetic field depended on the plant stress and toxin concentration.** If plants are in the appropriate physiological state (the red area) exposed to appropriate magnetic field, growth stimulation or inhibition can occur, dependent on the level of stress in the plant.

Predizpostavitev gojišča nihajočemu polju je imela majhen zaviralni učinek na stopnjo rasti za skupno površino stebelnih členkov (slika 72). Običajno raziskovalci navajajo spodbujevalne učinke predizpostavljenih gojišč na rast rastlin (glej poglavje 2.9), česar v naših raziskavah nismo potrdili. Eden od razlogov za to je morda dejstvo, da smo uporabili 1000 krat šibkejša magnetna polja in da so v prej omenjenih raziskavah preverjali vpliv statičnega magnetnega polja. Kljub vsemu pa v znanstveni literaturi lahko najdemo objave, kjer lahko tudi šibko nihajoče magnetno polje vpliva na fizikalne in kemijske lastnosti vode. Tako so že konec osemdesetih let prejšnjega stoletja pokazali, da nihajoča polja z gostoto magnetnega pretoka med 25 nT in 879  $\mu$ T lahko spremenijo urejenost vodnih molekul in tako vplivajo na električno prevodnost, hitrost potovanja zvoka, toplotno prevodnost, površinsko napetost, absorpcijo in druge fizikalne in kemijske lastnosti raztopine. Do največjega učinka je prišlo znotraj ozkih frekvenčnih oken, učinek pa je bil poleg frekvence in amplitude magnetnega polja odvisen tudi od trajanja izpostavitve, temperature in čistosti raztopine. Največji učinek so dosegli pri nihajočem polju s frekvenco 156,2 Hz in gostoto magnetnega pretoka 15,45  $\mu$ T pri temperaturi 7° in čisti vodi. Po 5 urni izpostavitvi magnetnemu polju je bil učinek v vodi opazen še 2 uri. (Semikhina in Kiselev, 1988;

Semikhina in sod., 1988). V naši raziskavi smo uporabili druge frekvence, prav tako pa je bila temperatura okolja višja, kar morda lahko pojasni odsotnost učinkov. Možno pa je tudi, da je do nekaterih učinkov prišlo, a ti niso vplivali na stopnjo rasti rastlin. Tako sta De Ninno in Castellano (2011) pokazala, da lahko s šibkim EM valovanjem (45  $\mu$ T, 4,7 Hz, 9,4 Hz, 50 Hz) vplivata na protonacijo v raztopini glutaminske kisline, v kasnejših raziskavah pa sta ugotovila učinke šibkega EM valovanja na strukturo L-glutamina in L-fenilalanina (De Ninno in Castellano, 2014). Učinke razlagata z spremembo hidratacijskega ovoja, medtem ko Li in Heroux (2013) zagovarjata, da se zaradi spremembe v strukturi vode zmanjša pretok protonov skozi ATP črpalke, kar bi se nedvomno odrazilo na metabolizmu rastline. Kemijskih analiz vzorcev nismo opravili, tako da ne moremo trditi, ali je do tovrstnih sprememb v gojišču prišlo, vsekakor pa te niso vplivale na rast rastlin.

Ob dodani GA<sub>3</sub> v gojišče so rastline rasle hitreje, skupna površina stebelnih členkov je bila večja v primerjavi z rastlinami kontrole. Vseeno pa gre za majhno stimulacijo, saj so bile rastline v eksponentni fazi rasti in je zato potencialna stimulacija omejena. Podobno so opazili že Inada in sod. (2000), ki so učinke eksogenih giberelinov na povečano rast korenine pri vrsti *Lemna minor* opazili šele, če so v gojišče dodali inhibitor biosinteze giberelinov unikanozol P. Podoben učinek magnetnega polja opisujejo tudi Bilalis in sod. (2012), ki tudi ugotavljajo stimulacijo nihajočega magnetnega polja in inhibicijo ob hkratni uporabi magnetnega polja in dodatku hormonskega pripravka. Tako je bil verjetno tudi potencialni spodbujevalen vpliv PMPs manjši in se je še zmanjšal ob hkratni izpostavitvi PMPs in GA<sub>3</sub>. Kljub vsemu smo pri podaljšani (14 dnevni) izpostavitvi magnetnemu polju brez dodanih giberelinov v gojišče opazili spodbujevalen učinek PMPs na število stebelnih členkov male vodne leče, medtem, ko na skupno površino stebelnih členkov PMPs ni imel učinka oz. je bil ta deloma zaviralen. To nakazuje na povsem drugačen mehanizem delovanja magnetnega polja v primerjavi z mehanizmom delovanja giberelinov, ki so imeli večji vpliv na skupno površino stebelnih členkov. Za trdnejše zaključke bi bilo potrebno poskus večkrat ponoviti in preveriti vpliv še drugih potencialno spodbujevalnih frekvenc. Mnogi stimulacijo rasti rastlin z nihajočim magnetnim poljem povezujejo z nekoliko povečano prisotnostjo ROS, kar lahko deluje tudi spodbujevalno (npr. Piacentini in sod., 2001; Monselise in sod., 2003). Hkrati se kaže pomen podaljšane oz. kronične izpostavitve rastlin magnetnemu polju, ki je lahko popolnoma drugačen, kot pa kratka izpostavitve, saj pride do hormonezije (Calabrese, 2004).

V nadaljnjih raziskavah bi bilo dobro preveriti tudi biokemijske kazalce, s katerimi bi lahko ocenili odziv rastlin na potencialne stresne razmere, kot je dodatek različnih lovilcev prostih radikalov (Parola in sod., 2005), preverjanje aktivnosti izbranih encimov (Razinger in sod., 2007; Cakmak in sod., 2012) in vsebnosti ROS (Shine in sod., 2012).

### 5.1.2 Fotokemična učinkovitost FSII in fluorescenca Kla v različnih magnetnih okoljih

Fluorescenca klorofila *a* je še posebej dober pokazatelj stanja stresa rastlin *Lemna* sp. in pogosto kaže večjo občutljivost, kot klasični parametri (število stebelnih členkov, skupna površina stebelnih členkov, suha masa rastlin) (Eullaffroy in sod., 2009). Merili smo tako počasno, kot tudi hitro kinetiko in meritve primerjali na osnovi JIP testa.

Meritve fluorescence Kla so nedvoumno pokazale, da simulirane razlike v geomagnetnem polju ne vplivajo na fluorescenco (slika 50 in slika 51) in tako fotosinteza ni razlog za razliko v opaženih stopnjah rasti. Na drugi strani smo pri rastlinah, ki so rasle v močnem statičnem magnetnem polju z gostoto magnetnega pretoka 150 mT opazili večjo razliko (slika 54), čeprav ta po analizi JIP parametrov ni bila statistično značilna (prilagojene *p*-vrednosti; preglednica 10). Življenjska doba možnega radikalnega para v FSII, ki bi lahko bil občutljiv na zunanje statično magnetno polje (Schweitzer in Schmidt, 2003; Dau in Zaharieva, 2009), je prekratka, da bi nanj lahko vplivali s šibkimi polji, kot je geomagnetno (Pazur in sod., 2007). So pa druge raziskave pokazale spremembo OJIP krivulje pri različnih rastlinskih vrstah, ki so bile izpostavljene magnetnemu polju z gostoto magnetnega pretoka 100 mT, 150 mT ali 200 mT (Shine in sod., 2011; Shine in Guruprasad, 2012) in tudi povečano fotokemično učinkovitost FSII pri 10 mT (Small in sod., 2012). Tako močnih sprememb OJIP krivulji in v JIP parametrih v naših raziskavah pri 150 mT nismo opazili, vpliv pa je morda tudi vrstno specifičen. Kljub vsemu pa je opažena težnja v nekaterih JIP parametrih skladna z rastlinami v šibkih stresnih razmerah: približno 5 % nižji kazalci delovanja (*PI*) pri izpostavljenih rastlinah SMP (glej Strasser in Strasser, 1995; Stirbet in Govindjee, 2011), povečana začetna fluorescenca 50  $\mu$ s po nastopu osvetlitve ( $F_0$ ) (glej Jiang in sod., 2009; Lin in sod., 2009; Pan in sod., 2011; Brestic in Zivcak, 2013), 5 % višji kvantni izkoristek sipanja energije ( $\phi_{D0}$ ) (glej Jiang in sod., 2009; Lin in sod., 2009; Brestic in Zivcak, 2013) in 10 % višje sipanje energije na vzbujeno površino ( $J_0^{D1}/CS$ ) (glej Jiang in sod., 2009; Lin in sod., 2009). Večje sipanje energije nakazuje, da se manjša količina absorbirane energije uspešno ujame kar kaže na manjšo učinkovitost fotosinteznega aparata. Z zmanjšanjem izbora JIP parametrov bi morda odkrili statistično značilno različne vplive, ki so se tokrat zakrili zaradi zelo zmanjšanih prilagojenih kritičnih *p*-vrednosti.

Nihajoče magnetno polje v povprečju ni vplivalo na fotokemično učinkovitost FSII rastlin in OJIP krivuljo po sedmih dneh inkubacije. Zanimivi pa so rezultati za tri poskuse PMPi, kjer smo v gojišče dodali tudi DKF, saj so rastline, izpostavljene PMPi pri 1,5 mg/L DKF, imele precej nižjo fluorescenco (obratno kot rastline izpostavljene SMP). V fazi okrevanja (samo PMPi, brez DKF) se je razlika ohranila, opazimo pa jo tudi pri rastlinah, ki so bile predhodno izpostavljene 0 in 2,5 mg/L DKF. Na nivoju celotnega modela sicer nismo zaznali

statistično značilnih razlik med izpostavljenimi in neizpostavljenim rastlinami, pa vendar nam meritve nakazujejo nekoliko manjše stresne razmere za rastline, izpostavljene šibkemu nihajočemu polju. Podobni rezultati se nakazujejo tudi v poskusu s predizpostavljenim gojiščem in 2 mg/L DKF, kot da bi PMPi predstavljal šibke stresne razmere, ki rastlino po sedmih dneh dodatno stimulirajo v kolikor drugi dejavniki ne povzročijo prevelikega odklona od homeostaze. Tudi drugi raziskovalci so že pokazali vpliv šibkega EM valovanja na rastline predvsem preko treh poti:

- 1) Vzpostavitev stresnih razmer in povišanje ROS (Piacentini in sod., 2001; Monselise in sod., 2003; Tkalec in sod., 2007; Roux in sod., 2008);
- 2) Sprememba delovanja različnih membransko vezanih encimov (Blank in sod., 1995; Blank in Soo, 1998a; Blank in Soo, 1998b; Blank in Soo, 2001; Morelli in sod., 2005);
- 3) Vpliv na koncentracijo in gibanje  $\text{Ca}^{2+}$  ionov (Pazur in Rassadina, 2009).

Nepričakovano je izpostavitev rastlin PMPs povzročila ravno obraten vpliv na fluorescenco. Izpostavljene rastline so imele nekoliko višji *PI* v primerjavi s kontrolo, vendar pa po popravkih za mnogotere hipoteze razlike niso bile več statistično značilne. Zato je na osnovi naših poskusov težko sklepati na mehanizem delovanja nihajočega magnetnega polja, vplivi pa so vsekakor manjši od pričakovanih.

Občutljivost meritev hitre kinetike in JIP testa na spremenjeno stanje rastlin smo uspešno potrdili z meritvami fluorescence *Kla* rastlin, ki smo jih izpostavili različnim koncentracijam DKF. Medtem, ko z meritvami dejanske in potencialne fotokemične učinkovitosti FSII nismo zaznali sprememb (slika 66), pa so očitne razlike v kazalcih učinkovitosti hitre kinetike že pri koncentraciji 1,5 mg/L, kjer so se *PI* zmanjšali za 30 %, pri koncentraciji 2,5 mg/L pa za kar 70 % (priloga K).

V našem primeru predstavlja meritev hitre kinetike edini poskus bolj neposrednega ugotavljanja mehanizma delovanja različnih magnetnih polj na rastline, preko vpliva na radikalni par  $\text{P680}^+\text{Phe}$  saj analiza OJIP krivulje omogoča identifikacijo procesa fotosinteze, ki je bil najbolj prizadet oz. spremenjen. Vpliva v naših raziskavah nismo potrdili, vendar pa zaradi indicev zaviralnih učinkov predvsem pod vplivom močnega statičnega magnetnega polja ne moremo zaključiti, da tovrstni vpliv ne obstaja. Ne nazadnje so na drugih rastlinskih vrstah že pokazali, da lahko močna statična magnetna polja vplivajo na ravnovesje primarnega radikalnega para (Hakala-Yatkin in sod., 2011).

### 5.1.3 Mehanizem delovanja in nadaljnje raziskave

Ravno mehanizem radikalnih parov ostaja vroča tema na področju bioelektromagnetike, kot eden izmed najverjetnejših molekularnih tarč magnetnih polj (Ritz in sod., 2010). Poleg radikalnega para feofitina se pogosto omenja tudi radikalni par kriptokroma, ki je eden od resnejših kandidatov na področju zaznave Zemljinega geomagnetnega polja pri živalih (Ritz et al., 2000; Maeda et al., 2008; Gegeer et al., 2010). Pri rastlinah je malo raziskav o vplivih magnetnega polja na kriptokrom, pa vendar so francoski, ameriški in nemški znanstveniki pokazali inhibicijo rasti hipokotila pri navadnem repnjakovcu, če so ga izpostavili močnemu statičnemu magnetnemu polju in inhibicijo zelo jasno povezali s kriptokromom. Če so postopek ponovili z mutanto *cry1/cry2* niso dobili učinkov niti magnetnega polja niti povečane gostote fotonov modre svetlobe (Ahmad in sod., 2007). Kriptokrom ima pomembno vlogo pri rasti in razvoju rastlin.

Rastline v naših raziskavah so se na povečano geomagnetno polje odzvale podobno, kot če bi jih izpostavili povečani gostoti modre svetlobe (Platten in sod., 2005). Zato je kriptokrom zanimiv kandidat za razlago veliko opaženih učinkov magnetnih polj na rastline, tudi višjo stopnjo rasti pri rastlinah, ki so raste v zmanjšanem geomagnetnem polju. Vendar pa britanski skupini v obširni študiji ni uspelo ponoviti poskusov Ahmadove in sod. (Harris in sod., 2009), zato še ni možno oblikovati zaključkov o občutljivosti kriptokroma na geomagnetno polje in bo potrebno opraviti še veliko nadaljnjih raziskav.

Zaradi velikega potencialnega števila tarč v organizmu in številnih predpostavljanih mehanizmov delovanja je razlaga vplivov magnetnega polja zelo zapletena. V znanstveni literaturi se še vedno odvija razprava o dejanskih procesih in strukturah, ki bi lahko pojasnili široko paleto učinkov, predvsem pa ni pojasnjeno delovanje šibkih statičnih in nihajočih polj, ki ne presegajo termalnega šuma (Ritz in sod., 2010). Literatura navaja različne učinke, ki so si pogosto tudi nasprotni, kar je lahko posledica hkratnega delovanja magnetnega polja na več tarč / procesov v organizmu, ki delujejo antagonistično (Belyavskaya, 2004). Poleg tega frekvenčna in amplitudna okna dodatno otežujejo raziskovanje, kar smo v določeni meri potrdili z obratom v težnji OJIP krivulje za PMPi in PMPs magnetno polje, kjer smo uporabili podobno gostoto magnetnega pretoka in nekoliko različne frekvence magnetnega polja. Ponovljivost poskusov dodatno otežujejo številni parametri, ki jih je potrebno upoštevati pri zasnovi izpostavitve magnetnemu polju in samem opisu metode (Misakian in sod., 1993; Popp, 1994; Postow in Swicord, 1995; Markov, 2011b):

Parametri polja (polje obravnavanja in šum v okolju):

- vrsta polja (električno, magnetno, elektromagnetno),
- območje polja (bližnje ali daljne),

- spreminjanje polja (statično, nihajoče),
- frekvenca (lahko zelo ozko okno, kjer se pojavijo učinki),
- gostota magnetnega pretoka,
- faza in oblika valov (sinusni, kvadratni, trikotni),
- polarizacija (linearna, krožna – leva ali desna),
- modulacija,
- elektromagnetno ozadje (npr.: geomagnetno polje).

Parametri organizma in zasnove poskusa:

- vrsta, včasih tudi sorta, sev,
- orientacija organizma glede na polje,
- čas trajanja izpostavitve,
- frakcionirana izpostavitvev,
- oddaljenost organizma od vira sevanja,
- temperatura, vlaga, svetloba,
- faza rasti,
- stopnja rasti,
- fiziološko stanje organizma,
- čas meritve učinka (med ali po izpostavitvi, lahko časovni zamik),
- kvalitetna pozitivna in negativna kontrola

Druga možna razlaga za različne učinke glede na nekatere objave pa je tudi preslaba poskusna zasnova in neustrezna kontrola poskusnih razmer (Lacy-Hulbert in sod., 1998; Galland in Pazur, 2005; Harris in sod., 2009; Maffei, 2014). Standardizirani postopki in modelni organizmi se zelo redko uporabljajo na področju bioelektromagnetike. To je tudi eden pomembnejših doprinosov naših raziskav – jasen in standardiziran postopek, v katerem smo uporabili modelni organizem, vzpostavili visoko kontrolirane rastne razmere. Poskuse smo večkrat ponovili in uporabili različna visoko nadzorovana magnetna polja na enakem poskusnem sistemu.

Standardni protokol nam tudi omogoča grobo primerjavo učinkov različnih magnetnih polj z učinki zmanjšane gostote fotonov in temperature, ki jasno kaže, da magnetno polje ni glavni dejavnik, ki bi vplival na rast rastlin v naravnem okolju. Precej bolj pomembna sta količina svetlobe in temperatura okolja (pril. D1). Vseeno pa je magnetno polje Zemlje dejavnik rasti, ki je premalo raziskan in običajno prezrt, ter lahko morda delno pojasni različno stopnjo rasti med populacijami kozmopolitskih vrst na različnih geografskih širinah. V okolju običajno vladajo suboptimalni pogoji (Santamaria, 2002), kar bi lahko povečalo občutljivost rastlin na razlike v geomagnetnem polju, to smo tudi sami opazili v poskusih z

dodanim DKF. Poleg tega pa geomagnetno polje narašča z geografsko širino, ob enem pa z geografsko širino pada intenziteta svetlobe in temperatura (Bornette in Puijalon, 2011), kar je dodatni zaviralni vpliv v povezavi z manj ugodnimi okoljskimi dejavniki.

Zagotovo pa bi lahko tudi naše raziskave nadgradili, predvsem na dveh ravneh: povečana zaščita pred zunanjimi magnetnimi in elektromagnetnimi polji na nivoju celotne sobe in razvoj večjega sistema za generiranje magnetnega polja, ki bi nam omogočal vzpostavitev homogenega polja na večjem območju in tako uporabo več poskusnih enot. Kljub vsemu pa smo dosegli oz. presegli OECD zahtevo po 3 ponovitvah (poskusnih enotah) ter hkrati uporabili bistveno strožjo kontrolo rastnih razmer ter dosegli manjšo varianco znotraj istega poskusa, kot pa jo zahteva protokol (OECD, 2006). Izračunali smo, da bi potrebovali 12 ponovitev SMP poskusa, da bi ob enaki variabilnosti dobili statistično značilno razliko v stopnji rasti, ki bi znašala komaj nekaj odstotkov in po našem mnenju tako ne predstavlja okoljsko pomembnega dejavnika, saj imajo drugi dejavniki bistveno večji vpliv na rast male vodne leče. Občutljivost analize smo skušali povečati s postopki FDR za kontrolo napake tipa I na nivoju družine, a se ti žal niso izkazali za najbolj ustrezne v danih primerih in so bili le malo bolj občutljivi, kot pa npr. Holmov popravek. Statistično moč poskusov bi v nadalje lahko povečali z redukcijo merjenih in računanih parametrov predvsem znotraj JIP testa. Na ta način bi žrtvovali potencialno možnost razlage opaženih učinkov, ki pa bi jo morda lahko nadomestili z drugačnimi (biokemijskimi) analizami.

Organizmi v okolju so ves čas izpostavljeni šibkemu magnetnemu polju, ki se konstantno spreminja. Na področju bioelektromagnetike ni več dvoma, da lahko na organizme vplivamo z zunanjimi magnetnimi polji in da ta izvirajo tudi v organizmih samih, vendar ta spoznanja prepogosto ostajajo omejena na ozek krog raziskovalcev. Ključno vprašanje, ki se zastavlja je, v kakšni meri ta polja določajo rast in razvoj organizmov in ali jih ti izkoriščajo za uravnavanje procesov in interakcijo z drugimi organizmi (Cifra in sod., 2011). Obenem ostaja eden ključnih izzivov ravno ponovljivost poskusov in uporaba standardiziranih postopkov ter trenutna neustreznost tehnologije, ki pa bi se z razvojem nanosenzorjev in tehnološkim napredkom lahko hitro spremenila. Vprašanje pa je, ali bomo raziskovalci na področju bioelektromagnetike in elektro-magneto biologije znali združiti nove pristope v molekularni biologiji, genetiki, fiziologiji, mikroskopiji in ekologiji na eni strani in tehnološki napredek na drugi strani ter dvignili raven znanstvenega raziskovanja znotraj področja in tako prišli do bolj jasnih zakonov, ki jih bo lažje preveriti. V kolikor se bodo elektromagnetni signali izkazali za pomemben vir informacij za organizme, bomo s tem odprli nova področja biologije in doprinesli k razumevanju življenja ter omogočili nove pristope na področju agronomije, biologije in medicine.

## 5.2 SKLEPI

### 5.2.1 Variacije v geomagnetnem polju

H1. Predpostavljamo, da so rastline občutljive na majhne variacije v magnetnem polju (v razponu variacij geomagnetnega polja Zemlje), ki bodo povzročile statistično značilne razlike v fotokemični učinkovitosti FSII in stopnji rasti pri vodni rastlini *Lemna minor*.

- Zmanjšano geomagnetno polje (MGP) z gostoto magnetnega pretoka 4  $\mu\text{T}$  je imelo spodbujevalen učinek na stopnjo rasti male vodne leče, predvsem na stopnjo rasti za skupno površino stebelnih členkov.
- Povečano geomagnetno polje (VGP) z gostoto magnetnega pretoka 100  $\mu\text{T}$  ni imelo statistično značilno različnega učinka na rast male vodne leče.
- Medsebojna primerjava MGP in VGP je pokazala obratno težnjo za stopnje rasti male vodne leče glede na to ali je rasla v zmanjšanem ali v povečanem geomagnetnem polju.
- Spremembe v razponu variacij geomagnetnega polja niso vplivale na fluorescenco Kla. Prav tako ni bilo razlik v izmerjenih in izračunanih JIP parametrih.
- Gostota fotonov in temperatura sta pomembnejša abiotska dejavnika v primerjavi z geomagnetnim poljem.

### 5.2.2 Močno statično magnetno polje

H2. Izpostavitve vrste *Lemna minor* močnemu statičnemu magnetnemu polju z gostoto magnetnega pretoka 150 mT bo povzročila statistično značilne razlike v fotokemični učinkovitosti FSII in stopnji rasti izpostavljenih rastlin v primerjavi z neizpostavljenimi.

- Sedem dnevna izpostavitve močnemu statičnemu magnetnemu polju z gostoto magnetnega pretoka 150 mT ni imela opaznega vpliva na rast male vodne leče.
- Sedem dnevna izpostavitve močnemu statičnemu magnetnemu polju z gostoto magnetnega pretoka 150 mT ni imela statistično značilno različnega vpliva na fluorescenco Kla in JIP parametre, se je pa pokazala težnja v OJIP krivulji, ki je nakazovala, da so bile rastline izpostavljene šibkim stresnim razmeram. Le te so se



odrazile tudi v nekaterih JIP parametrih, a razlike po popravku *p*-vrednosti niso bile statistično značilne.

### 5.2.3 Šibko nihajoče magnetno polje

H3. Izpostavitve vrste *Lemna minor* šibkemu magnetnemu valovanju v ELF območju gostote magnetnega pretoka do 1 mT bo povzročila spremembe fotokemične učinkovitosti FSII in stopnje rasti izpostavljenih rastlin v primerjavi z neizpostavljenimi.

- V povprečju sedem dnevna izpostavitve rastlin šibkemu nihajočemu magnetnemu polju za 5 ur / dan ni vplivala na rast ali fotokemično učinkovitost FSII rastlin *Lemna minor*.

H4. Predtretiranje gojišča z nihajočim magnetnim poljem v ELF območju bo povzročilo spremembe fotokemične učinkovitosti FSII in stopnje rasti rastlin *Lemna minor* v primerjavi z rastlinami, zraslimi v netretiranem gojišču.

- Predizpostavitve rastnega gojišča ni imela vpliva na rast in fotokemično učinkovitost FSII rastlin.

H5. Hkratna izpostavitve vrste *Lemna minor* 3,5-diklorofenolu v koncentraciji EC<sub>50</sub> in nihajočemu magnetnemu polju v ELF območju bo povzročila drugačno spremembo fotokemične učinkovitosti FSII in stopnje rasti kot samo izpostavitve 3,5-diklorofenolu v koncentraciji EC<sub>50</sub>.

- Hkratna izpostavitve rastlin DKF in PMPi po sedmih dneh ni imela statistično značilno različnega vpliva na rast in fotokemično učinkovitost FSII rastlin. Je pa nakazala možen vpliv na fluorescenco Kla, saj so imele izpostavljene rastline 1,5 mg/L in PMPi nižjo OJIP krivuljo, rastline izpostavljene 2 mg/L DKF pa tudi nekoliko nižjo stopnjo rasti za število stebelnih členkov. Rezultati nakazujejo, da je vpliv PMPi povezan z fiziološkim stanjem rastlin.
- Rastline so v fazi okrevanja imele nižjo fluorescenco Kla, če so bile predhodno izpostavljene PMPi in DKF, v primerjavi z rastlinami, ki so bile izpostavljene izključno DKF. Rezultati nakazujejo potencialno večji zaviralen učinek nihajočega magnetnega polja, v kolikor so bile rastline daljši čas izpostavljene magnetnemu polju.

H6. Predpostavljamo, da bo sprememba v naboru frekvenc nihajočega magnetnega polja v ELF območju povzročila različne učinke na stopnjo rasti in fotokemično učinkovitost FSII izpostavljenih rastlin *Lemna minor*, odvisno od nabora frekvenc.

- Sprememba v naboru frekvenc ni imela vpliva na rast in fotokemično učinkovitost FSII rastlin.

## 6 POVZETEK

### 6.1 POVZETEK

Zemljino magnetno polje (geomagnetno polje) je prisotno skozi celotno evolucijo življenja na Zemlji, a se večinoma ne obravnava kot dejavnik, ki bi lahko vplival na žive organizme. Najbolj je pomen geomagnetnega polja raziskan pri živalih, predvsem v povezavi z orientacijo, zelo slabo pa je poznan pri rastlinah. Tako so rastline podvržene različnim abiotskim okoljskim dejavnikom, med katere pa se le redko uvršča tudi geomagnetno polje in danes ne vemo, v kakšni meri razlike v geomagnetnem polju vplivajo na rast in razvoj rastlin ter kakšne bi bile posledice spremembe polarnosti geomagnetnega polja za rast in razvoj rastlin.

V znanstveni literaturi je možno zaslediti nekaj zanimivih raziskav vpliva spremenjenega geomagnetnega polja na rast rastlin, še bolj pogoste pa so študije izpostavitve močnim statičnim magnetnim poljem, ki so bile izvedene na številnih rastlinskih vrstah. Avtorji v večini primerov navajajo spodbujevalne učinke: od izboljšane kalitve, hitrejše rasti in višje fotokemične učinkovitosti FSII. Posebno področje raziskovanj predstavlja vpliv nihajočega magnetnega polja antropogenega izvora na žive organizme. Najbolje so raziskana nizko frekvenčna (ELF) in radiofrekvenčna (RF) valovanja, ki se tudi najpogosteje uporabljajo v medicini. Nizke frekvence in amplitude omenjenih valovanj ne povzročajo termičnih učinkov v tkivih (segrevanje), zato je potrebno iskati drugačne razlage delovanja teh magnetnih polj.

Na področju bioelektromagnetike so raziskave na rastlinah precej zapostavljene, v obstoječih raziskavah pa raziskovalci uporabljajo nestandardizirane postopke in različne organizme. Zato smo želeli vpeljati standardiziran in splošno sprejet protokol – sedem dnevni test inhibicije rasti, kot ga predlagata Organizacija za gospodarsko sodelovanje in razvoj OECD in Mednarodna organizacija za standardizacijo ISO, ki pa ga do sedaj v tej disciplini niso pogosto uporabili. Kot poskusni objekt smo izbrali malo vodno lečo (*Lemna minor*), ki je imela v danih razmerah eksponentno vegetativno rast. Po našem vedenju so naše raziskave prvi primer, ko se je preučeval vpliv geomagnetnega, močnega statičnega magnetnega polja ali nizkofrekvenčnega nihajočega magnetnega polja s tem poskusnim sistemom.

Osnovni protokol sedem dnevnega testa smo nadgradili z meritvami fluorescence klorofila *a* FSII in na osnovi OJIP krivulje izračunali JIP parametre. Fotosinteza je ključna faza metabolizma rastlin in je zelo občutljiva na spremembe v okolju ter velja za dober kazalnik fiziološkega stanja rastline. Tako smo predvidevali, da bo fluorescenca boljši pokazatelj morebitnega vpliva različnih magnetnih polj na rastline, ki bi se sicer lahko skrili v

standardni deviaciji rastnih parametrov. V naših raziskavah smo tako želeli preveriti, ali lahko razlike v geomagnetnem polju ali pa izpostavitve močnemu statičnemu magnetnemu polju in nihajočemu magnetnemu polju vplivajo na rast ter fotokemično učinkovitost FSII rastlin po sedmih dneh izpostavitve izbranemu dejavniku. V primeru nihajočega magnetnega polja smo želeli preveriti tudi pomen fiziološkega stanja, zato smo rastline izpostavili stresnim razmeram – različnim koncentracijam referenčnega toksina 3,5-diklorofenola, saj študije kažejo, da so rastline, ki so izpostavljene stresnim razmeram, bolj občutljive na učinke magnetnega valovanja.

Enak poskusni sistem smo uporabili za preverjanje vseh treh različnih magnetnih polj na iste parametre: vpliv zmanjšanega (MGP: 4  $\mu$ T) in povečanega (VGP: 100  $\mu$ T) geomagnetnega polja ter njuna primerjava, vpliv močnega statičnega magnetnega polja (SMP: 150 mT) in vpliv nihajočega magnetnega polja (PMP: 80  $\mu$ T – 95  $\mu$ T), kjer smo uporabili 2 različna nabora frekvenc (PMPs in PMPi).

Za poskuse v spremenjenem geomagnetnem polju smo uporabili sistem 3D tuljav za generiranje šibkega statičnega magnetnega polja, za generiranje SMP smo uporabili tri enoosno namagnetene N50 ponikljane neodimove magnetne v obliki diskov ( $d = 100$  cm,  $h = 3$  cm), za generiranje nihajočega magnetnega polja pa smo uporabili 63,3 cm visoko selenoidno tuljavo premera 12 cm.

Učinki različnih magnetnih polj na rast in fotokemično učinkovitost FSII pri vrsti *Lemna minor* so bili manjši od pričakovanih, vseeno pa smo prišli do nekaj zanimivih ugotovitev. Absolutne vrednosti stopnje rasti so imele visoko variabilnost med ponovljenimi poskusi, medtem ko se je težnja vpliva določenega magnetnega polja na stopnjo rasti v primerjavi z rastlinami kontrole v večini primerov ohranila.

V primerjavi s kontrolo je bilo v poskusih MGP število stebelnih členkov v povprečju 6 % večje, skupna površina stebelnih členkov pa 8 % večja, v poskusih z VGP pa ravno obratno – 12 % manjše število stebelnih členkov in 11 % manjša skupna površina stebelnih členkov. Stopnje rasti so bile v MGP poskusih za izpostavljene rastline 0,310 ( $SR_N$ ), 0,337 ( $SR_A$ ), medtem ko so bile stopnje rasti neizpostavljenih rastlin nekoliko nižje: 0,302 ( $SR_N$ ), 0,313 ( $SR_A$ ). Stopnja rasti za skupno površino stebelnih členkov je bila v povprečju 8 % višja za izpostavljene rastline, geomagnetno polje pa je pojasnilo kar 92 % variabilnosti parametra. Stopnje rasti v VGP poskusih so bile pri izpostavljenih rastlinah nižje od stopenj rasti neizpostavljenih rastlin, v povprečju 5 % za število stebelnih členkov in 4 % za skupno površino stebelnih členkov. Primerjava normiranih vrednosti za stopnje rasti MGP in VGP je pokazala visoko statistično značilne razlike, s katerimi smo lahko pojasnili 69 % variabilnosti  $SR_N$  in 78 % variabilnost  $SR_A$ . Razlike v rasti niso bile posledica razlik v

fotokemični učinkovitosti FSII. Na drugi strani smo v poskusih SMP opazili nekoliko višjo OJIP krivuljo izpostavljenih rastlin, ki pa se ni odrazila v stopnjah rasti, zaradi močne prilagoditve  $p$ -vrednosti pa tudi nismo odkrili statistično značilnih razlik v JIP parametrih.

Nihajoče magnetno polje v sedmih dneh ni vplivalo na rast in fotokemično učinkovitost FSII rastlin, ne glede na izbor frekvenc. V primeru, da smo rastline izpostavili toksinu DKF pa je PMPi predstavljal dodaten stres, ki je rastline spodbudil v nekoliko povečano rast in nižjo fluorescenco klorofila  $a$ , vendar pa učinki po prilagoditvi  $p$ -vrednosti za napako na nivoju družine niso bili več statistično značilno različni. Vpliva PMPi na gojišče nismo pokazali.

Klasični abiotični dejavniki so zasenčili vplive magnetnega polja: 40 % znižanje PPFD (iz  $100 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$  na  $60 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ ) je povzročilo  $\approx 20$  % inhibicijo osnovnih rastnih parametrov in 10 % znižanje stopenj rasti. Vpliva na fotokemično učinkovitost FSII nismo opazili. Če smo temperaturo znižali z  $25^\circ\text{C}$  na  $20^\circ\text{C}$ , smo opazili 50 % inhibicijo glede števila stebelnih členkov in skupne površine stebelnih členkov ter 30 % inhibicijo povezanih stopenj rasti. Nižja temperatura ni zaznavno vplivala na fotokemično učinkovitost FSII rastlin.

Vpliv referenčnega toksina DKF na rastne parametre in fotokemično učinkovitost FSII rastlin po sedmih dneh inkubacije je bil v odsotnosti drugih dejavnikov odvisen od koncentracije in sicer: dodatek  $1,5 \text{ mg/L}$  DKF je povzročil  $\approx 15$  % znižanje osnovnih rastnih parametrov in  $\approx 6$  % znižanje specifičnih stopenj rasti, medtem ko je višja koncentracija ( $2,5 \text{ mg/L}$ ) povzročila  $\approx 2\times$  večjo inhibicijo ter  $\approx 10$  % padeč fotokemične učinkovitosti FSII, JIP parametri pa so se večinoma statistično značilno razlikovali.

Zaradi velikega potencialnega števila tarč v organizmu in številnih predpostavljenih mehanizmov delovanja je razlaga vplivov magnetnega polja zelo zapletena. Ker nismo opravljali biokemijskih in genetskih analiz, ki bi nam dale več informacij o dogajanju v celicah, smo toliko bolj omejeni pri sklepanju. Pa vendar lahko učinke geomagnetnega polja razlagamo s tremi vidiki: v organizmu so se pod vplivom naraščanja geomagnetnega polja pojavile manjše stresne razmere in najverjetneje je prišlo do povečanja koncentracije ROS, spremenjenega delovanja nekaterih encimov in vpliva na koncentracijo prostih  $\text{Ca}^{2+}$  ionov. Zanimiv je tudi potencialen vpliv na kriptokrom, ki ga predpostavljajo drugi avtorji. V kolikor to drži, se je v naših raziskavah kriptokrom odzval nelinearno in pri povečanju polja nad gostoto magnetnega pretoka  $30 \mu\text{T}$  ni bistveno bolj zavrl rasti rastlin v primerjavi z rastlinami kontrole.

Eden pomembnejših doprinosov naših raziskav je jasen in standardiziran postopek, uporaba modelnega organizma in visoko kontrolirane rastne razmere ter večkrat ponovljeni poskusi

na eni strani in različna magnetna polja na istem poskusnem sistemu na drugi strani. Vsekakor pa so učinki magnetnih polj glede na mnoge objave v znanstveni literaturi nižji od pričakovanih.

## 6.2 SUMMARY

Although the geomagnetic field has been present throughout the existence of life on Earth, it has been largely ignored as a factor affecting evolution or even as a minor influential environmental factor. The geomagnetic field is important for Animal orientation, it's effects on plants are largely unstudied and today we don't know how and if at all changes in the geomagnetic field effect plant growth and development and what could be the consequences of a potential geomagnetic reversal.

Some studies have revealed various effects of the geomagnetic field, and even more studies revealed the effects of strong static magnetic fields on different plant species. Different stimulatory effects on germination, growth and photochemical efficiency of PSII have been reported. Additional field of research focuses on effects of changing magnetic field that is of anthropogenic origins, mostly in the extremely low frequency (EMF) and the radiofrequency (RF) range – both are often used in medicine. These low frequencies and low intensities do not cause heating of tissues and thus require different explanations for the mechanism of action.

Plant research is lacking in the field of bioelectromagnetics and existing research is full of unstandardized procedures and wide variety of organisms. Consequently, we applied a standardized experimental design, the seven day growth inhibition test, which is seldom used in the field of bioelectromagnetics but which can be easily implemented and reproduced, with a freshwater plant *Lemna minor* as a test organism as proposed by the Organization for Economic Co-operation and Development [OECD, 2006] and the International Organization for Standardization [ISO 20079, 2005]. To our knowledge, this is the first time that this experimental system has been applied to study the biological effects of geomagnetic, strong static magnetic and changing magnetic fields at the same time.

In addition to the basic seven day protocol parameters we also measured chlorophyll *a* fluorescence of PSII, derived the OJIP transient and calculated different JIP parameters. Photosynthesis, a key process in plant metabolism, is very sensitive to environmental changes and is considered as a good indicator of plant physiological state. That is why we have hypothesized, that fluorescence will be a better tool to study the subtle effects of different magnetic fields on plants. In our research we wanted to see, if the differences in geomagnetic, strong static magnetic and changing magnetic field effect plant growth and

photochemical efficiency of PSII after seven days exposure to the selected treatment. In the case of changing magnetic field we also studied the effects of different physiological state. This is why we exposed plants to different concentration of the reference toxin 3,5-dichlorophenol.

We have used the same experimental system in all treatments: the reduced (MGP: 4 $\mu$ T) and enhanced (VGP: 100  $\mu$ T) geomagnetic field, strong static magnetic field (SMP: 150 mT) and changing magnetic field (PMP: 80 – 95  $\mu$ T), where we used two sets of frequencies (PMPs in PMPi).

For the experiments in modified geomagnetic field we used a 3D coil system to generate the appropriate field, for the strong static magnetic field experiments (SMF) we used strong permanent magnets N50 ( $d = 100$  cm,  $h = 3$  cm) and the changing magnetic field was generated with a 63 cm high solenoid, 12 cm in diameter.

Effects of different magnetic field on growth and photochemical efficiency of plants *Lemna minor* were smaller than expected. None the less we have made some interesting discoveries. Absolute growth rates had a large variability between experiment repetitions but in most cases the trend of specific treatment compared to control was generally preserved.

In the MGP experiments the frond number was 6 % higher and the total frond area 8 % larger for the exposed plants compared to control. In the VGP experiments we found the opposite – the frond number was 12 % lower and total frond area was 11 % smaller. Growth rates in the MGP for the exposed plants were 0,310 ( $SR_N$ ) and 0,337 ( $SR_A$ ), lower for control plants 0,302 ( $SR_N$ ), 0,313 ( $SR_A$ ). Difference in growth rate for total frond area was 8 %, the geomagnetic field factor explained 92 % of the parameter variability. The growth rates in the MGP experiments were lower for the exposed plants, on average 5 % for the  $SR_N$  and 4 % for the  $SR_A$ . The MGP and VGP comparison of normalized values for growth rates gave highly significant differences that could explain 69 % of  $SR_N$  variability and 78 % of  $SR_A$  variability. The differences in growth were not attributed to the differences in photochemical efficiency of PSII. On the other hand we found higher chlorophyll *a* fluorescence of PSII of the exposed plants in the SMP experiments, compared to control but the difference didn't influence the growth rate of the plants. Due to strong *p* value adjustment we were unable to show any statistically significant difference in the derived JIP parameters. Changing magnetic field did not influence growth or photochemical efficiency after seven days of exposure regardless of the frequency set used. In the case of exposing plants to toxin DKF, we found, that PMPi caused additional stress and stimulated the growth of exposed plants and caused a drop in chlorophyll *a* fluorescence of PSII. Unfortunately due to highly adjusted *p* values we were unable to show statistically significant differences. We also didn't

find an effect on growth or chlorophyll *a* fluorescence of PSII on plants grown in growth medium that was pre-exposed to changing magnetic field.

The classical abiotic factors showed larger effects on growth and photochemical efficiency of PSII compared to magnetic field: we found that 40 % lower PPFD than control (from 100  $\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$  to 60  $\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ ) caused  $\approx 20$  % lower basic growth parameters and  $\approx 10$  % lower plant growth rates. Temperature drop from 25 °C to 20 °C caused 50 % inhibition of frond number and total frond area and 30 % inhibition of associated growth rates. Both factors had no influence on the photochemical efficiency of PSII.

The reference toxin DKF also reduced the growth of exposed plants and in addition lowered the photochemical efficiency of PSII. Addition of 1,5 mg/L DKF caused  $\approx 15$  % lower basic growth parameters and  $\approx 6$  % lower growth rates. Addition of 2,5 mg/L caused twice as large inhibition of the growth parameters and about 10 % lower photochemical efficiency of PSII and statistically significant differences in most JIP parameters.

Explanation of the observed effects is complicated due to the large number of potential targets for the magnetic field in the organism. Our interpretation of the results is limited as we didn't perform biochemical or gene expression analysis that could shed some light on the processes in exposed cells. Still we can interpret our results with 3 possible mechanisms: buildup of ROS in the organism due to the mild stress condition caused by the differences in the geomagnetic field, altered performance of some enzymes and effects on the  $\text{Ca}^{2+}$  concentration. In addition other research has pointed to cryptochrome as a potential target of magnetic fields. In this case, the cryptochrome in our experiments didn't show linear response in relationship to the magnetic field intensity but rather showed an early maximum and at magnetic field density higher than 30  $\mu\text{T}$  didn't cause any additional inhibition of growth compared to the control plants.

One of the more important contributions of our research is the use of well-known model organism and standardized protocol with strict control of growth conditions and several experiment repetitions on one hand and the application of 3 different magnetic field environments on the other. Still the observed effects of used magnetic fields were much smaller than expected considering the published results in other scientific publications.



## 7 VIRI

### 7.1 CITIRANI VIRI

- Addelman S. 1969. The generalized randomized block design. *The American Statistician*, 23, 4: 35–36
- Adey W.R. 1993. Biological effects of electromagnetic fields. *Journal of cellular biochemistry*, 51, 4: 410–416
- Adey W.R. 2003. Evidence for nonthermal electromagnetic bioeffects: potential health risks in evolving low- frequency and microwave environments. V: *Electromagnetic environments and safety in buildings*. Clements-Croome D. (ed.). London, Taylor & Francis, Spon Press: 35–51
- Ahmad M., Galland P., Ritz T., Wiltschko R., Wiltschko W. 2007. Magnetic intensity affects cryptochrome-dependent responses in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 225, 3: 615–624
- Alemán, E.I., Moreira R.O., Lima A.A., Silva S.C., González-Olmedo J.L., Chalfun-Junior A., 2014. Effects of 60 Hz sinusoidal magnetic field on *in vitro* establishment, multiplication, and acclimatization phases of *Coffea arabica* seedlings. *Bioelectromagnetics*, 35, 6: 414–425
- Alimi F., Tlili M., Gabrielli C., Georges M., Ben Amor M. 2006. Effect of a magnetic water treatment on homogeneous and heterogeneous precipitation of calcium carbonate. *Water research*, 40, 10: 1941–1950
- Alimi F., Tlili M.M., Amor M. Ben, Maurin G., Gabrielli C. 2009. Effect of magnetic water treatment on calcium carbonate precipitation: Influence of the pipe material. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 48, 8: 1327–1332
- Allakhverdiev S. I. 2011. Recent progress in the studies of structure and function of photosystem II. *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology*, 104: 1–8
- Anrophysics. Topic 6: Fields and Forces. 2007. Bangkok Patana School.  
<https://www.patana.ac.th/secondary/science/anrophysics/ntopic6/commentary.htm>  
(7. avg. 2014)

- Arani R., Bono I., Giudice E. Del, Preparata G., 1995. QED coherence and the thermodynamics of water. *International Journal of of Modern Physics B*, 93, 3: 1–36
- Austin L. 1997. Magnetic and electric field strengths of high voltage power lines and household appliances. *Physics Education*, 32: 108–110
- Avdikos A., Karkabounas S., Metsios A., Kostoula O., Havelas K., Binolis J., Verginadis I., Hatziavazis G., Simos I., Evangelou A. 2007. Anticancer effects on leiomyosarcoma-bearing Wistar rats after electromagnetic radiation of resonant radiofrequencies. *Hellenic journal of nuclear medicine*, 11, 2: 122; author reply 123–124
- Le Bagousse-Pinguet Y., Liancourt P., Gross N., Straile D. 2012. Indirect facilitation promotes macrophyte survival and growth in freshwater ecosystems threatened by eutrophication. *Journal of Ecology*, 100: 530–538
- Baker J., Judd S. 1996. Magnetic amelioration of scale formation. *Water Research*, 30, 2: 247–260
- Bakker E.S., Sarneel J.M., Gulati R.D., Liu, Z., Van Donk E. 2013. Restoring macrophyte diversity in shallow temperate lakes: biotic versus abiotic constraints. *Hydrobiologia*, 710: 23–37
- Barhoumi L., Dewez D., 2013. Toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles on green alga *Chlorella vulgaris*. *BioMed research international*, Article ID 647974: 1–11
- Bilalis D., Katsenios N., 2012. Pulsed electromagnetic fields effect in oregano rooting and vegetative propagation: A potential new organic method. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B – Soil and Plant Science*, 62: 94–99
- Belyavskaya N.A. 2001. Ultrastructure and calcium balance in meristem cells of pea roots exposed to extremely low magnetic fields. *Advances in space research*, 28, 4: 645–650
- Belyavskaya N.A. 2004. Biological effects due to weak magnetic field on plants. *Advances in Space Research*, 34, 7: 1566–1574
- Benjamini Y., Hochberg Y. 1995. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B*, 57, 1: 289–300

- Benjamini Y., Yekutieli D. 2001. The control of the false discovery rate in multiple testing under dependency. *Annals of statistics*, 29, 4: 1165–1188
- Binggeli R., Weinstein R.C. 1986. Membrane potentials and sodium channels: hypotheses for growth regulation and cancer formation based on changes in sodium channels and gap junctions. *Journal of theoretical biology*, 123, 4: 377–401
- Binhi V.N, 1997. Interference of ion quantum states within a protein explains weak magnetic field's effect on biosystems. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 16, 3: 203–214
- Binhi V.N. 2001. Theoretical concepts in magnetobiology. *Electro- and magnetobiology*, 20, 1: 43–58
- Binhi V.N., Alipov Y.D., Belyaev I.Y. 2001. Effect of static magnetic field on *E. coli* cells and individual rotations of ion-protein complexes. *Bioelectromagnetics*, 22, 2: 79–86
- Bischof M. 2003. Introduction to Integrative Biophysics. V: Integrative biophysics. Popp F.A., Belousov L. (eds.). Dordrecht, Kluwer Academic Publishers: 1–115
- Bistolfi F. 1991. Biostructures and radiation order disorder. Torino, Edizioni Minerva Medica: 154–169
- Blakemore R.P. 1982. Magnetotactic bacteria. *Annual review of microbiology*, 36: 217–238
- Blank M., Soo L. 1998a. Enhancement of cytochrome oxidase activity in 60 Hz magnetic fields. *Bioelectrochemistry and bioenergetics*, February: 253–259
- Blank M., Soo L. 1998b. Frequency dependence of cytochrome oxidase activity in magnetic fields. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 46, 1: 139–143
- Blank M., Soo L. 2001. Optimal frequencies for magnetic acceleration of cytochrome oxidase and Na,K-ATPase reactions. *Bioelectrochemistry*, 53, 2: 171–174
- Blank M., Soo L., Papstein V. 1995. Effects of low frequency magnetic fields on Na, K-ATPase activity. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 38: 267–273

- Boisvert S., Joly D., Carpentier R. 2006. Quantitative analysis of the experimental O-J-I-P chlorophyll fluorescence induction kinetics. Apparent activation energy and origin of each kinetic step. *The FEBS journal*, 273, 20: 4770–4777
- Bornette G., Puijalon S. 2009. Macrophytes: ecology of aquatic plants. V: *Encyclopedia of Life Sciences*. Chichester, John Wiley & Sons, Ltd, DOI: 10.1002/9780470015902.a0020475: 1–9
- Bornette G., Puijalon S. 2011. Response of aquatic plants to abiotic factors: A review. *Aquatic Sciences*, 73, 1: 1–14
- Boudsocq M., Sheen J. 2010. Stress Signaling II: Calcium Sensing and Signaling. V: *Abiotic Stress Adaptation in Plants*. Pareek A., Sopory S.K., Bohnert H.J. (eds.). Dordrecht, Springer: 75–90
- Brestic M., Zivcak M. 2013. FSII fluorescence techniques for measurement of drought and high temperature stress signal in crop plants: protocols and applications. V: *Molecular Stress Physiology of Plants*. Rout G.R., Das A.B. (eds.). Bangalore, Springer: 87–131
- Briggs L.J., Campbell A.B., Heald R.H., Flint L.H. 1926. Electroculture. US Department of Agriculture, Bulletin 1379: 1–34
- Brocklehurst B., McLauchlan K. 1996. Free radical mechanism for the effects of environmental electromagnetic fields on biological systems. *International journal of radiation biology*, 69, 1: 3–24
- Brown F.A. 1976. Evidence for external timing of biological clocks. V: *An introduction to biological rhythms*. Palmer J. (ed.). New York, Academic press: 209 – 279
- Cakmak T., Cakmak Z.E., Dumlupinar R., Tekinay T. 2012. Analysis of apoplastic and symplastic antioxidant system in shallot leaves: impacts of weak static electric and magnetic field. *Journal of plant physiology*, 169, 11: 1066–1073
- Cakmak T., Dumlupinar R., Erdal S. 2010. Acceleration of germination and early growth of wheat and bean seedlings grown under various magnetic field and osmotic conditions. *Bioelectromagnetics*, 31, 2: 120–129
- Calabrese E.J. 2004. Hormesis: a revolution in toxicology, risk assessment and medicine. *EMBO reports*, 5: S37–S40

- Calabrese E.J., Baldwin L.A. 2001. U-shaped dose-responses in biology, toxicology, and public health. *Annual review of public health*, 22: 15–33
- Carrubba S., Frilot C., Hart F.X., Chesson A.L., Marino A.A. 2009. The electric field is a sufficient physical determinant of the human magnetic sense. *International journal of radiation biology*, 85, 7: 622–632
- Celestino C., Picazo M. 1998. Influence of 50 Hz electromagnetic fields on recurrent embryogenesis and germination of cork oak somatic embryos. *Plant cell, tissue and organ culture*, 54: 65–69
- Chandler J.W. 2010. The Hormonal Regulation of Flower Development. *Journal of Plant Growth Regulation*, 30, 2: 242–254
- Chang K.T., Weng C.I. 2008. An investigation into the structure of aqueous NaCl electrolyte solutions under magnetic fields. *Computational Materials Science*, 43, 4: 1048–1055
- Chaves I., Pokorny R., Byrdin M., Hoang N., Ritz T., Brettel K., Essen L.O., van der Horst G.T.J., Batschauer A., Ahmad M. 2011. The cryptochromes: Blue light photoreceptors in plants and animals. *Annual review of plant biology*, 62: 335–364
- Ciarmiello L.F., Woodrow P., Fuggi A., Pontecorvo G., Carillo P. 2009. Plant Genes for Abiotic Stress. V: Abiotic Stress in Plants – Mechanisms and Adaptations. Shanker A., Venkateswarlu B. (eds.). InTech: 283–308
- Cifra M., Fields J.Z., Farhadi A. 2011. Electromagnetic cellular interactions. *Progress in biophysics and molecular biology*, 105, 3: 223–246
- Cleland C., Briggs W. 1969. Gibberellin and CCC effects on flowering and growth in the long-day plant *Lemna gibba* G<sub>3</sub>. *Plant physiology*, 44: 503–507
- Conn S., Gilliam M. 2010. Comparative physiology of elemental distributions in plants. *Annals of botany*, 105, 7: 1081–1102
- Cowling R.J., Harberd N.P. 1999. Gibberellins control Arabidopsis hypocotyl growth via regulation of cellular elongation. *Journal of Experimental Botany*, 50, 337: 1351–1357
- Cronk, J.K., Fennessy, M.S. 2001. Wetland plants: biology and ecology. Florida, CRC Press LLC: 463 str.

- Darwish M., Lopez-Lauri F., Sallanon H. 2013. Study of photosynthesis process in the presence of low concentrations of clomazone herbicide in tobacco (*Nicotiana tabacum*). *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 9, 1: 229–245
- Dau H., Zaharieva I. 2009. Principles, efficiency, and blueprint character of solar-energy conversion in photosynthetic water oxidation. *Accounts of chemical research*, 42, 12: 1861–1870
- Daubs E.H. 1965. A monograph on Lemnaceae. *Illinois Biological Monographs* 34. Urbana, The University of Illinois Press: 118 str.
- Davis J.M., Svendsgaard D.J. 1990. U-shaped dose-response curves: their occurrence and implications for risk assessment. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 30: 71–83
- Davies M.S. 1996. Effects of 60 Hz electromagnetic fields on early growth in three plant species and a replication of previous results. *Bioelectromagnetics*, 17, 2: 154–161
- Davila A.F., Fleissner G., Winklhofer M., Petersen N. 2003. A new model for a magnetoreceptor in homing pigeons based on interacting clusters of superparamagnetic magnetite. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*, 28: 647–652
- De Ninno A., Castellano A.C. 2011. Deprotonation of glutamic acid induced by weak magnetic field: An FTIR-ATR study. *Bioelectromagnetics* 32: 218–225
- De Ninno A., Castellano A.C. 2014. Influence of Magnetic Fields on the Hydration Process of Amino Acids: Vibrational Spectroscopy Study of L-Phenylalanine and L-Glutamine. *Bioelectromagnetics* 135: 129–135
- Deng B., Pang X. 2007. Variations of optic properties of water under action of static magnetic field. *Chinese Science Bulletin*, 52, 23: 3179–3182
- Dubois A.E.F., Leite G.O., Rocha J.B.T. 2013. Irrigation of *Solanum lycopersicum* L. with magnetically treated water increases antioxidant properties of its tomato fruits. *Electromagnetic biology and medicine*, 32, 3: 355–362
- Eichwald C., Walleczek J. 1996. Model for magnetic field effects on radical pair recombination in enzyme kinetics. *Biophysical journal*, 71: 623–631

- El-Sayed H. 2014. Impact of magnetic water irrigation for improve the growth, chemical composition and yield production of broad bean (*Vicia faba* L.) plant. American Journal of Experimental Agriculture, 4, 4: 476–496
- Electromagnetic radiation. 2014. Wikipedia (ed. 12. 8. 2014).  
[http://en.wikipedia.org/wiki/Electromagnetic\\_radiation](http://en.wikipedia.org/wiki/Electromagnetic_radiation) (12. 8. 2014)
- Engel G.S., Calhoun T.R., Read E.L., Ahn T.-K., Mancal T., Cheng Y.-C., Blankenship R. E., Fleming G.R. 2007. Evidence for wavelike energy transfer through quantum coherence in photosynthetic systems. Nature, 446, 7137: 782–786
- Es'kov E.K., Rodionov Y.A. 2010. Initial growth processes in seeds in magnetic fields, strengthened or weakened in relation to the geomagnetic field. Biology Bulletin, 37, 1: 49–55
- Eullaffroy P., Frankart C., Aziz A., Couderchet M., Blaise C. 2009. Energy fluxes and driving forces for photosynthesis in *Lemna minor* exposed to herbicides. Aquatic Botany, 90, 2: 172–178
- Evangelou A., Toliopoulos I., Giotis C., Metsios A., Verginadis I., Simos Y., Havelas K., Hadziaivazis G., Karkabounas S. 2011. Functionality of natural killer cells from end-stage cancer patients exposed to coherent electromagnetic fields. Electromagnetic biology and medicine, 30, 1: 46–56
- Evans N.H., McAinsh M.R., Hetherington A.M. 2001. Calcium oscillations in higher plants. Current opinion in plant biology, 4, 5: 415–420
- Field, A. 2005. Discovering statistics using SPSS. 2nd ed. London, Sage: 779 str.
- Finlay C.C., Maus S., Beggan C.D., Bondar T.N., Chambodut A., Chernova T.A., Chulliat A., Golovkov V.P., Hamilton B., Hamoudi M., Holme R., Hulot G., Kuang W., Langlais B., Lesur V., Lowes F.J., Lühr H., Macmillan S., Manda M., McLean S., Manoj C., Menvielle M., Michaelis I., Olsen N., Rauberg J., Rother M., Sabaka T.J., Tangborn A., Tøffner-Clausen L., Thébaud E., Thomson A.W.P., Wardinski I., Wei Z., Zvereva T. I. 2010. International Geomagnetic Reference Field: The eleventh generation. Geophysical Journal International, 183, 3: 1216–1230

- Fischer G., Tausz M., Köck M., Grill D. 2004. Effects of weak 16 3/2 Hz magnetic fields on growth parameters of young sunflower and wheat seedlings. *Bioelectromagnetics*, 25, 8: 638–641
- Fleet C.M., Sun T. 2005. A DELLAcate balance: the role of gibberellin in plant morphogenesis. *Current opinion in plant biology*, 8, 1: 77–85
- Fleisch D. 2008. *A Student's guide to Maxwell's Equations*. New York, Cambridge University Press: 134 str.
- Fleming G.R., Scholes G.D., Cheng Y.C. 2011. Quantum effects in biology. *Procedia Chemistry*, 3, 1: 38–57
- Flores-Tavizón E., Mokgalaka-Matlala N.S., Elizalde Galindo J.T., Castillo-Michelle H., Peralta-Videa J.R., Gardea-Torresdey J.L. 2012. Magnetic field effect on growth, arsenic uptake, and total amylolytic activity on mesquite (*Prosopis juliflora* x *P. velutina*) seeds. *Journal of Applied Physics*, 111, 7: 07B321
- Flórez M., Carbonell M., Martínez E. 2007. Exposure of maize seeds to stationary magnetic fields: Effects on germination and early growth. *Environmental and Experimental Botany*, 59, 1: 68–75
- Fraire-Velázquez S., Rodríguez-Guerra R., Sánchez-Calderón L. 2011. Abiotic and biotic stress response crosstalk in plants. V: *Abiotic Stress Response in Plants - Physiological, Biochemical and Genetic Perspectives*. Shanker A., Venkateswarlu B. (eds.). InTech: 3–29
- Fraser-Smith A. 1978. ULF tree potentials and geomagnetic pulsations. *Nature*, 271: 641–642
- Freeman D., Graham J., Tracy M. 1999. Developmental instability as a means of assessing stress in plants: a case study using electromagnetic fields and soybeans. *International journal of plant sciences*, 160, 6: S157–S166
- Fritz C.O., Morris P.E., Richler J.J. 2012. Effect size estimates: current use, calculations, and interpretation. *Journal of experimental psychology. General*, 141, 1: 2–18
- Fröhlich H. 1968. Long-range coherence and energy storage in biological systems. *International Journal of Quantum Chemistry*, 11: 641–649



- Fröhlich H. 1975. The extraordinary dielectric properties of biological materials and the action of enzymes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 72, 11: 4211–4215
- Frohlich H. 1978. Coherent electric vibrations in biological systems and the cancer problem. *IEEE Transactions on Microwave theory and techniques*, 26, 8: 613–617
- Funk R.H.W., Monsees T.K. 2006. Effects of electromagnetic fields on cells: physiological and therapeutical approaches and molecular mechanisms of interaction. A review. *Cells, tissues, organs*, 182, 2: 59–78
- Funk R.H.W., Monsees T.K., Özkucur N. 2009. Electromagnetic effects—From cell biology to medicine. *Progress in histochemistry and cytochemistry*, 43: 177–264
- Gajšek P., Kos B., Valič B. 2011. Elektromagnetna sevanja. Otroci in magnetna sevanja. Ljubljana, Projekt Forum EMS: 20 str.
- Galland P., Pazur A. 2005. Magnetoreception in plants. *Journal of Plant Research*, 118: 371–389
- Gates C. 1995. What really is experimental error in block designs? *The American Statistician*, 49, 4: 362–363
- Gegear R.J., Foley L.E., Casselman A., Reppert S.M. 2010. Animal cryptochromes mediate magnetoreception by an unconventional photochemical mechanism. *Nature*, 463: 804–807
- Giancoli D.C. 2000. *Physics for scientist & engineers with modern physics*. 3rd ed. Upper Saddle River, Prentice Hall: 1172 str.
- Giudice E. Del, De Ninno A., Fleischmann M., Mengoli G., Milani M., Talpo G., Vitello G. 2005. Coherent quantum electrodynamics in living matter. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 24: 199–210
- Giudice E. Del, Fleischmann M., Preparata G., Talpo G. 2002. On the “unreasonable” effects of ELF magnetic fields upon a system of ions. *Bioelectromagnetics*, 23, 7: 522–530

- Giudice E. Del, Preparata G. 1994. Coherent dynamics in water as a possible explanation of biological membranes formation. *Journal of Biological Physics*, 20: 105–116
- Gajdardziska-Josifovska M., McClean R.G., Schofield M.A., Sommer C.V., Kean W.F. 2001. Discovery of nanocrystalline botanical magnetite. *European Journal of Mineralogy* 13: 863–870
- Gajdardziska-Josifovska M., Schofield M.A., Robertson D., McClean R., Kean W.F., Sommer C. 2002. Botanical iron biominerals: electron diffraction and microscopy identification. *Microscopy and Microanalysis* 8: 752–753
- Germ M., Mazej Z., Gaberščik A., Häder D.P. 2002. The influence of enhanced UV-B radiation on *Batrachium trichophyllum* and *Potamogeton alpinus* – aquatic macrophytes with amphibious character. *Journal of photochemistry and photobiology B, Biology* 66, 1: 3–46
- Gill S.S., Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant and cell physiology*, 48, 12: 909–930
- Glassmeier K.H., Vogt J. 2010. Magnetic Polarity Transitions and Biospheric Effects. *Space Science Reviews*, 155: 387–410
- Glatzmaier G., Roberts P. 1995. A three-dimensional self-consistent computer simulation of a geomagnetic field reversal. *Nature*, 377: 203–209
- Goeman J.J., Solari A. 2014. Multiple hypothesis testing in genomics. *Statistics in medicine*, 33, 11: 1946–1978
- Goldsworthy A. 2006. Effects of electrical and electromagnetic fields on plants and related topics. V: *Plant Electrophysiology. Theory and methods*. Volkov A.G. (ed.). Berlin, Springer: 247–267
- Grewal H.S., Maheshwari B.L. 2011. Magnetic treatment of irrigation water and snow pea and chickpea seeds enhances early growth and nutrient contents of seedlings. *Bioelectromagnetics*, 32, 1: 58–65
- Guyodo Y., Valet J. 1999. Global changes in intensity of the Earth's magnetic field during the past 800 kyr. *Nature*, 399: 249–252

- Hakala-Yatkin M., Sarvikas P., Paturi P., Mäntysaari M., Mattila H., Tyystjärvi T., Nedbal L., Tyystjärvi E. 2011. Magnetic field protects plants against high light by slowing down production of singlet oxygen. *Physiologia plantarum*, 142, 1: 26–34
- Harkins T.T., Grissom C.B. 1994. Magnetic field effects on B12 ethanolamine ammonia lyase: evidence for a radical mechanism. *Science*, 263, 5149: 958–960
- Havelka D., Cifra M., Kučera O., Pokorný J., Vrba J. 2011. High-frequency electric field and radiation characteristics of cellular microtubule network. *Journal of theoretical biology*, 286, 1: 31–40
- Hedden P., Kamiya Y. 1997. Gibberellin biosynthesis: Enzymes, Genes and Their Regulation. *Annual review of plant physiology and plant molecular biology*, 48: 431–460
- Hilt S., Van de Weyer K., Kohler A., Chorus I. 2010. Submerged macrophyte responses to reduced phosphorus concentrations in two peri-urban lakes. *Restoration Ecology*, 18: 452–461
- Hirota N., Nakagawa J., Kitazawa K. 1999. Effects of a magnetic field on the germination of plants. *Journal of Applied Physics*, 85, 8: 5717–5719
- Holysz L., Szczes A., Chibowski E. 2007. Effects of a static magnetic field on water and electrolyte solutions. *Journal of colloid and interface science*, 316, 2: 996–1002
- Hooley R. 1994. Gibberellins: perception, transduction and responses. *Plant molecular biology*, 26, 5: 1529–1555
- Hyland G.J. 1998. Non-thermal bioeffects induced by low-intensity microwave irradiation of living systems. *Engineering science and education journal*, 12: 261–268
- Hyland G.J. 2003a. Bio-Electromagnetism. V: Integrative biophysics: Biophotonics. Popp F.A., Belousov L. (eds.). Dordrecht, Kluwer Academic Publishers: 117–148
- Hyland G.J. 2003b. Herbert Fröhlich, FRS (1905 – 1991) – A physicist ahead of his time. *Electromagnetic biology and medicine*, 24: 161–182
- Hillman S.W. 1961. The Lemnaceae, or Duckweeds: A Review of the Descriptive and Experimental Literature. *Botanical Review*, 27, 2: 221–287

- Holm S. 1979. A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scandinavian Journal of Statistics*, 6: 65–70
- Huang H., Wang S., 2007. The effects of 60 Hz magnetic fields on plant growth. *Nature and Science*, 5, 1: 60–68
- Huijser P., Schmid M. 2011. The control of developmental phase transitions in plants. *Development*, 138, 19: 4117–4129
- Inada S., Tominaga M., Shimmen T. 2000. Regulation of root growth by gibberellin in *Lemna minor*. *Plant and cell physiology*, 41, 6: 657–665
- International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection. 2009. Guidelines on limits of exposure to static magnetic fields. *Health Physics* 96, 4: 504–514  
<http://www.icnirp.de/documents/statgdl.pdf> (25. 5. 2012)
- International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection. 2010. Guidelines for limiting exposure to time-varying electric and magnetic fields (1 Hz – 100 kHz). *Health Physics* 99, 6: 818–836  
<http://www.icnirp.de/documents/LFgdl.pdf> (25. 5. 2012)
- Irfanullah H.M. in Moss B. 2004. Factors influencing the return of submerged plants to a clear-water, shallow temperate lake. *Aquatic Botany*, 80: 177–191
- ISO 20079. 2005. Water quality – Determination of the toxic effect of water constituents and waste water on duckweed (*Lemna minor*) – Duckweed growth inhibition test. International Organization for Standardization, International Standard ISO 20079:1–23
- Jerman I., Štern A. 1996. Empirične in teoretične osnove nove biologije. V: Gen v valovih: porajanje nove biologije. Jerman I., Štern A. (ur.). Ljubljana, Znanstveno in publicistično središče: 177 – 200
- Jerman I., Štern A. 1999. Evolucija s teoretično biologijo. Ljubljana, ŠOU, Študentska založba: 143 str.
- Jiang H.X., Tang N., Zheng J.G., Chen L.S. 2009. Antagonistic actions of boron against inhibitory effects of aluminum toxicity on growth, CO<sub>2</sub> assimilation, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, and photosynthetic electron transport probed by the JIP-test, of *Citrus grandis* seedlings. *BMC plant biology*, 9, 102: 1–16

- Johnsen S., Lohmann K. 2005. The physics and neurobiology of magnetoreception. *Nature Reviews Neuroscience*, 6: 703–712
- Kalmijn A. 1981. Biophysics of geomagnetic field detection. *IEEE Transactions on Magnetism*, 17, 1: 1113–1124
- Karkabounas S., Havelas K., Kostoula O.K., Vezyraki P., Avdikos A., Binolis J., Hatziavazis G., Metsios A., Verginadis I., Evangelou A. 2006. Effects of low intensity static electromagnetic radiofrequency fields on leiomyosarcoma and smooth muscle cell lines. *Hellenic journal of nuclear medicine*, 9, 3: 167–172
- Kato M., Shigemitsu T. 2006. Introduction. *Environmental Electromagnetic Fields and Biosystems. V: Electromagnetics in Biology*. Kato M. (ed.). Tokyo, Springer: 3–30
- Kato R., Kamada H., Asashima M. 1989. Effects of High and Very Low Magnetic Fields on the Growth of Hairy Roots of *Daucus carota* and *Atropa belladonna*. *Plant Cell Physiology*, 30, 4: 605–608
- Kautsky H., Hirsch A., 1931. Neue Versuche zur Kohlensäureassimilation. *Naturwissenschaften*, 48: 964
- Kirschvink J.L. 1989. Magnetite biomineralization and geomagnetic sensitivity in higher animals: an update and recommendations for future study. *Bioelectromagnetics*, 10, 3: 239–259
- Kirschvink J.L., Walker M.M., Diebel C.E. 2001. Magnetite-based magnetoreception. *Current opinion in neurobiology*, 11, 4: 462–467
- Kobayashi A., Kirschvink J., Nesson M. 1995. Ferromagnetism and EMFs. *Nature*, 374: 123
- Kosova K., Vítamvas P., Prašil I., Renaut J. 2011. Plant proteome changes under abiotic stress—contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. *Journal of Proteomics*, 74: 1301–1322
- Korte M., Constable C.G. 2006. Centennial to millennial geomagnetic secular variation. *Geophysical Journal International*, 167, 1: 43–52

- Krauß N. 2003. Mechanisms for photosystems I and II. *Current Opinion in Chemical Biology*, 7, 5: 540–550
- Kumar S.K., Han T. 2011. Toxicity of single and combined herbicides on FSII maximum efficiency of an aquatic higher plant, *Lemna* sp. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 3, 2: 97–105
- Lacoul P., Freedman B. 2006. Environmental influences on aquatic plants in freshwater ecosystems. *Environmental Reviews*, 14: 89–136
- Lacy-Hulbert A., Metcalfe J.C., Hesketh R. 1998. Biological responses to electromagnetic fields. *FASEB Journal*, 12: 395–420
- Lambert N., Chen Y.N., Cheng Y.C., Li C.M., Chen G.Y., Nori F. 2012. Quantum biology. *Nature Physics*, 9, 1: 10–18
- Lamprecht M., Sabatini D., Carpenter A. 2007. CellProfiler: free, versatile software for automated biological image analysis. *Biotechniques*, 42: 71–75.
- Larcher W. 2003. *Physiological Plant Ecology*. 4th ed. Berlin, Springer: 513 str.
- Laramee C.B., Frisch P., McLeod K., Li G.C. 2014. Elevation of heat shock gene expression from static magnetic field exposure in vitro. *Bioelectromagnetics*, 35, 6: 406–413
- Lednev V.V. 1991. Possible mechanism for the influence of weak magnetic fields on biological systems. *Bioelectromagnetics*, 12: 71–75
- Lemström K. 1904. *Electricity in agriculture and horticulture*. London, Electrician Publications: 72 str.
- Les D.H., Crawford D.J., Landolt E., Gabel J.D., Kimball R.T. 2002. Phylogeny and Systematics of Lemnaceae, the Duckweed Family. *Systematic Botany*, 27, 2: 221–240
- Levin M. 2003. Bioelectromagnetics in morphogenesis. *Bioelectromagnetics*, 24: 295–315
- Levin M. 2007. Large-scale biophysics: ion flows and regeneration. *Trends in cell biology*, 17, 6: 261–270

- Li Y., Héroux P. 2014. Extra-low-frequency magnetic fields alter cancer cells through metabolic restriction. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 33, 4: 264–275
- Liboff A.R. 1985. Geomagnetic cyclotron resonance in living cells. *Journal of Biological Physics*, 13, 4: 99–102
- Liboff R.L. 2003. Ion cyclotron resonance in biological systems: experimental evidence. V: *Biological effects of electromagnetic fields: mechanisms, modeling, biological effects, therapeutic effects, international standards, exposure criteria*. Stavroulakis P. (ed.). Berlin, Springer: 76–114
- Liboff A.R. 2010. A role for the geomagnetic field in cell regulation. *Electromagnetic biology and medicine*, 29: 105–112
- Liboff A.R., 2013. Weak-field ELF magnetic interactions: Implications for biological change during paleomagnetic reversals. *Electromagnetic biology and medicine*, 32, 4: 442–447
- Lichtenthaler H., Buschmann C. 2001a. Extraction of Photosynthetic Tissues: Chlorophylls and Carotenoids. *Current protocols in food analytical chemistry*, Supplement 1: 1–6
- Lichtenthaler H., Buschmann C. 2001b. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry*, supplement 1: 1–8
- Lin Z.H., Chen L.S., Chen R.B., Zhang F.Z., Jiang H.X., Tang N. 2009. CO<sub>2</sub> assimilation, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, carbohydrates and photosynthetic electron transport probed by the JIP-test, of tea leaves in response to phosphorus supply. *BMC plant biology*, 9, 43: 1–12
- Maeda K., Henbest K.B., Cintolesi F., Kuprov I., Rodgers C.T., Liddell P.A., Gust D., Timmel C.R., Hore P.J. 2008. Chemical compass model of avian magnetoreception. *Nature*, 453: 387–390
- Maffei M.E. 2014. Magnetic field effects on plant growth, development, and evolution. *Frontiers in plant science* 5, 445: 1–15
- Marcus R.A. 2006. Enzymatic catalysis and transfers in solution. I. Theory and computations, a unified view. *The Journal of chemical physics*, 125, 19: 1–9

- Marcus R.A. 2007. H and other transfers in enzymes and in solution: theory and computations, a unified view. 2. Applications to experiment and computations. The journal of physical chemistry. B, 111, 24: 6643–6654
- Markov M.S. 2007. Magnetic field therapy: a review. Electromagnetic Biology and Medicine, 26: 1–23
- Markov M.S. 2011a. How living systems recognize applied electromagnetic fields. Environmentalist, 31: 89–96
- Markov M.S. 2011b. Nonthermal mechanism of interactions between electromagnetic fields and biological systems: a calmodulin example. Environmentalist, 31: 114–120
- Marino A.A., Carrubba S., Frilot C., Chesson A.L. 2009. Evidence that transduction of electromagnetic field is mediated by a force receptor. Neuroscience letters, 452: 119–123
- Martinčič A., Wraber T., Jogan N., Ravnik V., Podobnik A., Turk B., Vreš B. 1999. Mala flora Slovenije. Ključ za določanje praprotnic in semenk. Tretja dopolnjena in spremenjena izdaja. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 845 str.
- Martinez E., Carbonell M.V., Amaya J.M. 2000. A static magnetic field of 125 mT stimulates the initial growth stages of barley (*Hordeum vulgare* L.). Electro- and magnetobiology, 19, 3: 271–277
- Martinez E., Carbonell M., Florez M., 2002. Magnetic biostimulation of initial growth stages of wheat (*Triticum aestivum* L.). Electromagnetic Biology and Medicine, 21, 1: 43–53
- Maus S., Macmillan S., McLean S., Hamilton B., Thomson A., Nair M., Rollins C. 2010. The US/UK World Magnetic Model for 2010-2015. NOAA Technical Report NESDIS/NGDC.  
<http://www.ngdc.noaa.gov/geomag/WMM/DoDWMM.shtml> (7. avg. 2014)
- McCaig C.D., Rajnicek A.M., Song B., Zhao M. 2005. Controlling Cell Behavior Electrically: Current Views and Future Potential. Physiological Reviews, 85: 943–978



- McClellan R.G., Schofield M.A., Kean W.F., Sommer C.V., Robertson D.P., Toth D., Gajdardziska-Josifovska M. 2001. Botanical iron minerals: correlation between nanocrystal structure and modes of biological self-assembly. *European Journal of Mineralogy*, 13, 6: 1235–1242
- Mei W.P. 1994. On the biological nature of biophotons. V: *Bioelectrodynamics and biocommunication*. Ho M.W., Popp F.A., Wranke U. (eds.). Singapore, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd: 269–291
- Mina M., Goldsworthy A. 1992. Electrical polarization of tobacco cells by Ca<sup>2+</sup> ion channels. *Journal of experimental botany*, 43, 249: 449–454
- Minorsky P.V. 1998. Latitudinal differences in coconut foliar spiral direction: a re-evaluation and hypothesis. *Annals of Botany*, 82: 133–140
- Minorsky P.V. 2007. Do geomagnetic variations affect plant function? *Journal of Atmospheric and Solar-Terrestrial Physics*, 69, 14: 1770–1774
- Minorsky P.V., Bronstein N.B. 2006. Natural experiments indicate that geomagnetic variations cause spatial and temporal variations in coconut palm asymmetry. *Plant physiology*, 142, 1: 40–4
- Misakian M., Sheppard A.R., Krause D., Frazier M.E., Miller D.L. 1993. Biological, physical, and electrical parameters for *in vitro* studies with ELF magnetic and electric fields: a primer. *Bioelectromagnetics*, Suppl 2: 1–73
- Mittler R., Vanderauwera S., Gollery M., Van Breusegem F. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in plant science*, 9, 10: 490–498
- Miyakoshi J. 2005. Effects of static magnetic fields at the cellular level. *Progress in biophysics and molecular biology*, 87: 213–223
- Mo W., Zhang Z., Liu Y., Zhai G., Jiang Y., He R. 2001. Effects of a hypogeomagnetic field on gravitropism and germination in soybean. *Advances in Space Research*, 47, 9: 1616–1621
- Mohassel M.H.R., Aliverdi A., Ghorbani R. 2009. Effects of a magnetic field and adjuvant in the efficacy of cycloxydim and clodinafop-propargyl on the control of wild oat (*Avena fatua*). *Weed Biology and Management*, 9, 4: 300–306

- Monselise B.-I.E., Parola A.H., Kost D. 2003. Low-frequency electromagnetic fields induce stress effect upon higher plants, as evident by the universal stress signal, alanine. *Biochemical and biophysical research communications*, 302: 427–434
- Montgomery D., 2000. *Design and analysis of experiments*. 5th ed. John Wiley & Sons Ltd: 684 str.
- Morelli A., Ravera S., Panfoli I., Pepe I.M., 2005. Effects of extremely low frequency electromagnetic fields on membrane-associated enzymes. *Archives of biochemistry and biophysics*, 441, 2: 191–198
- Muraji M., Asai T., Tatebe W. 1998. Primary root growth rate of *Zea mays* seedlings grown in an alternating magnetic field of different frequencies. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 44, 2: 271–273
- Murr L.E. 1963. Plant Growth Response in a Simulated Electric Field-environment. *Nature* 200: 490–491
- Mwaba M.G., Gu J., Golriz M.R. 2007. Effect of magnetic field on calcium sulfate crystal morphology. *Journal of Crystal Growth*, 303, 2: 381–386
- Nagy A., Prokhorenko V., Miller R.J.D. 2006. Do we live in a quantum world? Advances in multidimensional coherent spectroscopies refine our understanding of quantum coherences and structural dynamics of biological systems. *Current opinion in structural biology*, 16, 5: 654–663
- Nanush'yan E., Murashev V. 2003. Induction of multinuclear cells in the apical meristems of *Allium cepa* by geomagnetic field outrages. *Russian journal of plant physiology*, 50, 4: 522–526
- Negishi Y., Hashimoto A., Tsushima M., Dobrota C., Yamashita M., Nakamura T. 1999. Growth of pea epicotyl in low magnetic field: Implication for space research. *Advances in space research*, 23, 12: 2029–2032
- Novitsky Y., Novitskaya G., Kocheshkova T.K., Nechiporenko G.A., Dobrovol'skii M.V. 2001. Growth of green onions in a weak permanent magnetic field. *Russian journal of plant physiology*, 48, 6: 821–828

- Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). 2006. *Lemna* sp. growth inhibition test. OECD Guideline 221. Paris, France.  
[http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-221-lemna-sp-growth-inhibition-test\\_9789264016194-en](http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-221-lemna-sp-growth-inhibition-test_9789264016194-en) (16. 4. 2014)
- Pan X.L., Zhang D.Y., Li L. 2011. Responses of photosystem II of white elm to UV-B radiation monitored by OJIP fluorescence transients. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58, 5: 864–870
- Pang X.F., Deng B. 2008. The changes of macroscopic features and microscopic structures of water under influence of magnetic field. *Physica B: Condensed Matter*, 403: 3571–3577
- Pang X.F., Deng B. 2009. Investigation of magnetic-field effects on water. *Proceedings of 2009 IEEE International Conference on Applied Superconductivity and Electromagnetic Devices*. Chengdu, China, September 25–27: 278 – 283
- Parola A.H., Kost D., Katsir G., Monselise E.B. 2005. Radical Scavengers Suppress Low Frequency EMF Enhanced Proliferation in Cultured Cells and Stress Effects in Higher Plants. *Environmentalist* 25: 103–111
- Paul A.L., Ferl R.J., Meisel M.W. 2006. High magnetic field induced changes of gene expression in arabidopsis. *Biomagnetic research and technology*, 4, 7: 1–10
- Paulin M. 1995. Electoreception and the compass sense of sharks. *Journal of Theoretical Biology*, 174: 325–339
- Payez A., Ghanati F., Behmanesh M., Abdolmaleki P., Hajnorouzi A., Rajabbeigi E. 2013. Increase of seed germination, growth and membrane integrity of wheat seedlings by exposure to static and a 10-KHz electromagnetic field. *Electromagnetic biology and medicine*, 32, 4: 417–429
- Pazur A. in Rassadina V. 2009. Transient effect of weak electromagnetic fields on calcium ion concentration in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biology*, 9, 47: 9 str.
- Pazur A., Scheer H. 1992. The growth of freshwater green algae in weak alternating magnetic fields of 7.8 Hz frequency. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 47: 690 – 694

- Pazur A., Schimek C., Galland P. 2007. Magnetoreception in microorganisms and fungi. *Central European Journal of Biology*, 2, 4: 597–659
- Peñuelas J., Llusià J., Martínez B., Fontcuberta J. 2004. Diamagnetic Susceptibility and Root Growth Responses to Magnetic Fields in *Lens culinaris*, *Glycine soja*, and *Triticum aestivum*. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 23, 2: 97–112
- Piacentini P.M., Fraternali D., Piatti E., Ricci D., Vetrano F., Dacha M., Accorsi A. 2001. Senescence delay and change of antioxidant enzyme levels in *Cucumis sativus* L. etiolated seedlings by ELF magnetic fields. *Plant science*, 161: 45–53
- Pietak A.M. 2009. Describing long-range patterns in leaf vasculature by metaphoric fields. *Journal of theoretical biology*, 261, 2: 279–289
- Pietak A.M. 2011. Endogenous electromagnetic fields in plant leaves: a new hypothesis for vascular pattern formation. *Electromagnetic biology and medicine*, 30, 2: 93–107
- Pietak A.M. 2012. Structural evidence for electromagnetic resonance in plant morphogenesis. *Bio Systems*, 109, 3: 367–380
- Pike N. 2011. Using false discovery rates for multiple comparisons in ecology and evolution. *Methods in Ecology and Evolution*, 2, 3: 278–282
- Pilla A.A. 2007. Mechanisms and therapeutic applications of time-varying and static magnetic fields. V: *Biological and medical aspects of electromagnetic fields; handbook of biological effects of electromagnetic fields*. 3rd ed. Barnes F.S., Greenebaum B. (eds.). Boca Raton, CRC Press, Taylor & Francis Group: 1–79
- Pilla A.A., Muehsam D.J., Markov M.S. 1997. A dynamical systems/larmor precession model for weak magnetic field bioeffects: ion binding and orientation of bound water molecules. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* 43: 241–252
- Pittman U. 1963. Magnetism and plant growth: I. Effect on germination and early growth of cereal seeds. *Canadian Journal of Plant Science*, 43: 513–518
- Pittman U. 1964. Magnetism and plant growth: II. Effect on root growth of cereals. *Canadian Journal of Plant Science*, 44: 283–287

- Pittman U., 1970. Magnetotropic responses in roots of wild oats. *Canadian Journal of Plant Science*, 351: 350–351
- Pittman U.J. 1977. Effects of magnetic seed treatment on yields of barley, wheat, and oats in southern alberta. *Canadian Journal of Plant Sciences*, 57: 37–45
- Plankar M., Giudice E. Del, Tedeschi A., Jerman I. 2012. The Role of Coherence in a Systems View of Cancer Development. *Theoretical Biology forum*, 105, 2: 15–46
- Platten J.D., Foo E., Elliott R.C., Hecht V., Reid J.B., Weller J.L. 2005. Cryptochrome 1 contributes to blue-light sensing in pea. *Plant Physiology* 139: 1472–1482
- Pokorný J., Jelínek F., Trkal V. 1997. Vibrations in microtubules. *Journal of Biological Physics*, 23, 3: 171–179
- Pokorný J., Jelínek F., Trkal V. 1998. Electric field around microtubules. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 45, 2: 239–245
- Polk C. 1991. Biological effects of low-level low-frequency electric and magnetic fields. *IEEE transactions on education*, 34, 3: 243–249
- Popp F.A. 2003. Properties of biophotons and their theoretical implications. *Indian Journal of Experimental Biology*, 41: 391–402
- Popp F.A. 1994. Electromagnetism and living systems. V: *Bioelectrodynamics and biocommunication*. Ho M.W., Popp F.A., Wranke U. (eds.). Singapore, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd: 33–80
- Popp F., Li K. 1993. Hyperbolic relaxation as a sufficient condition of a fully coherent ergodic field. *International journal of theoretical physics*, 32, 9: 1573–1583
- Portet S., Tuszyński J.A, Hogue C.W.V, Dixon J.M. 2005. Elastic vibrations in seamless microtubules. *European Biophysics Journal*, 34, 7: 912–920
- Postow E., Swicord M.L. 1995. Modulated fields and “window” effects. V: *Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields*. 2nd ed. Polk C. in Postow E. (eds.). Boca Raton, CRC Press: 535–580

- Radhakrishnan R., Kumari B.D.R. 2012. Pulsed magnetic field: A contemporary approach offers to enhance plant growth and yield of soybean. *Plant and cell physiology*, 51: 139–144
- Rai M.K., Shende S., Strasser R.J. 2008. JIP test for fast fluorescence transients as a rapid and sensitive technique in assessing the effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi in *Zea mays*: Analysis of chlorophyll *a* fluorescence. *Plant Biosystems*, 142, 2: 191–198
- Rakosy-Tican L., Aurori C.M., Morariu V.V. 2005. Influence of near null magnetic field on *in vitro* growth of potato and wild *Solanum* species. *Bioelectromagnetics*, 26, 7: 548–557
- Razinger J., Dermastia M., Drinovec L., Drobne D., Zrimec A., Dolenc Koce J. 2007. Antioxidative responses of duckweed (*Lemna minor* L.) to short-term copper exposure. *Environmental Science and Pollution Research* 14, 3: 194–201
- Reina F.G., Pascual L.A. 2001. Influence of a stationary magnetic field on water relations in lettuce seeds. Part I: Theoretical considerations. *Bioelectromagnetics*, 22, 8: 589–595
- Reina F.G., Pascual L.A., Fundora I.A. 2001. Influence of a stationary magnetic field on water relations in lettuce seeds. Part II: Experimental results. *Bioelectromagnetics*, 22, 8: 596–602
- Relyea R.A. 2005. The impact of insecticides and herbicides on the biodiversity and productivity of aquatic communities. *Ecological applications*, 15, 2: 618–627
- Renger T., Schlodder E. 2011. Optical properties, excitation energy and primary charge transfer in photosystem II: Theory meets experiment. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 104: 126–141
- Ritz T., Adem S., Schulten K. 2000. A model for photoreceptor-based magnetoreception in birds. *Biophysical journal*, 78: 707–718
- Ritz T., Ahmad M., Mouritsen H., Wiltschko R., Wiltschko W. 2010. Photoreceptor-based magnetoreception: optimal design of receptor molecules, cells, and neuronal processing. *Journal of The Royal Society Interface* 7, Suppl 2: S135–S146
- Ritz T., Thalau P., Phillips J., Wiltschko R., Wiltschko W. 2004. Resonance effects indicate a radical-pair mechanism for avian magnetic compass. *Nature*, 1: 177–180

- Rothwell E.J., Cloud M.J. 2001. Electromagnetics. Boca Raton, CRC Press LLC: 535 str.
- Roux D., Vian A., Girard S., Bonnet P., Paladian F., Davies E., Ledoigt G. 2008. High frequency (900 MHz) low amplitude ( $5 \text{ V m}^{-1}$ ) electromagnetic field: a genuine environmental stimulus that affects transcription, translation, calcium and energy charge in tomato. *Planta*, 227, 4: 883–891
- Ružič R., Jerman I. 2002. Weak magnetic field decreases heat stress in cress seedlings. *electromagnetic Biology and Medicine*, 21, 1: 43–53
- Ružič R., Jerman I., Gogala N. 1998. Water stress reveals effects of ELF magnetic fields on the growth of seedlings. *Electro- and magnetobiology*, 17, 1: 17–30
- Saito T. 1969. Geomagnetic Pulsations. *Space Science Reviews*, 10, 3: 319–412
- Santamaría L. 2002. Why are most aquatic plants widely distributed? Dispersal, clonal growth and small-scale heterogeneity in a stressful environment. *Acta Oecologica*, 23, 3: 137–154
- SAS Institute. 2013. JMP 11 Basic Analysis. Cary, SAS Institute: 322 str.
- Schweitzer C., Schmidt R. 2003. Physical mechanisms of generation and deactivation of singlet oxygen. *Chemical Reviews*, 103: 1685–1757
- Semikhina P.L., Kiselev V.F. 1988. Effect of weak magnetic field on the properties of water and ice. *Russian Physics Journal*, 31: 351–354
- Semikhina L.P., Kiselev V.F., Levshin L.V., Saletskii, A.M. 1988. Effect of weak magnetic fields on the luminescence-spectral properties of a dye in an aqueous solution. *Journal of Applied Spectroscopy*, 48: 556–559
- Shaffer J. 1995. Multiple hypothesis testing. *Annual review of psychology*, 46: 561–584
- Shao R., Wang K., Shangguan Z. 2010. Cytokinin-induced photosynthetic adaptability of *Zea mays* L. to drought stress associated with nitric oxide signal: probed by ESR spectroscopy and fast OJIP fluorescence rise. *Journal of plant physiology*, 167, 6: 472–479

- Shcherbakov V.P., Winklhofer M. 1999. The osmotic magnetometer: a new model for magnetite-based magnetoreceptors in animals. *European Biophysics Journal*, 28, 5: 380–392
- Shemyakin E.I., Tsygankov S.S., 2009. Changes in the earth's magnetic field: Causes and possible consequences. *Herald of the Russian Academy of Sciences*, 79, 6: 558–563
- Shine M.B., Guruprasad K.N. 2012. Impact of pre-sowing magnetic field exposure of seeds to stationary magnetic field on growth, reactive oxygen species and photosynthesis of maize under field conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34, 1: 255–265
- Shine M.B., Guruprasad K.N., Anand A. 2011. Enhancement of germination, growth, and photosynthesis in soybean by pre-treatment of seeds with magnetic field. *Bioelectromagnetics*, 32, 6: 474–484
- Shine M.B., Guruprasad K.N., Anand A. 2012. Effect of stationary magnetic field strengths of 150 and 200 mT on reactive oxygen species production in soybean. *Bioelectromagnetics*, 33, 5: 428–437
- Simko M., 2007. Cell type specific redox status is responsible for diverse electromagnetic field effects. *Current Medicinal Chemistry*, 14: 1141–1152
- Slawinski J. 2005. Photon emission from perturbed and dying organisms: biomedical perspectives. *Forschende Komplementärmedizin und klassische Naturheilkunde*, 12, 2: 90–95
- Slawinski J., Popp F.A. 1987. Temperature Hysteresis of Low Level Luminescence from Plants and its Thermodynamical Analysis. *Journal of Plant Physiology*, 130: 111–123
- Small D.P., Hüner N.P.A., Wan W. 2012. Effect of static magnetic fields on the growth, photosynthesis and ultrastructure of *Chlorella kessleri* microalgae. *Bioelectromagnetics*, 33: 298–308
- Solov'yov I.A., Schulten K. 2012. Reaction kinetics and mechanism of magnetic field effects in cryptochrome. *The journal of physical chemistry B*, 116, 3: 1089–1099
- Stael S., Wurzinger B., Mair A., Mehler N., Vothknecht U.C., Teige M. 2012. Plant organellar calcium signalling: an emerging field. *Journal of experimental botany*, 63, 4: 1525–1542



- Stange B.C., Rowland R.E., Rapley B.I., Podd J.V. 2002. ELF magnetic fields increase amino acid uptake into *Vicia faba* L. roots and alter ion movement across the plasma membrane. *Bioelectromagnetics*, 23, 5: 347–354
- Stirbet A., Govindjee. 2011. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll *a* fluorescence induction) and Photosystem II: basics and applications of the OJIP fluorescence transient. *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology*, 104, 1-2: 236–257
- Strasser B.J., Strasser R.J. 1995. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP-test. V: *Photosynthesis: from Light to Biosphere*, Vol. 5. Mathis P. (ed.). Dordrecht, Kluwer Academic Publishers: 977–980
- Strasser R.J., Michael M.T., Srivastava A., Tsimilli-Michael M. 2004. Analysis of the Chlorophyll *a* Fluorescence Transient. V: *Chlorophyll a Fluorescence. A Signature of Photosynthesis*. Papageorgiou G.C., Govindjee (eds.). Dordrecht, Springer: 321–362
- Strauss A.J., Krüger G.H.J., Strasser R.J., Van Heerden P.D.R. 2006. Ranking of dark chilling tolerance in soybean genotypes probed by the chlorophyll *a* fluorescence transient O-J-I-P. *Environmental and Experimental Botany*, 56, 2: 147–157
- Sulzman F.M., Ellman D., Fuller C.A, Moore-Ede M.C., Wassmer G. 1984. Neurospora circadian rhythms in space: A reexamination of the endogenous-exogenous question. *Science*, 225, 14: 232–234
- Sun T.P., Gubler F. 2004. Molecular mechanism of gibberellin signaling in plants. *Annual review of plant biology*, 55: 197–223
- Szczęś A., Chibowski E., Hołysz L., Rafalski P. 2011. Effects of static magnetic field on water at kinetic condition. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 50, 1: 124–127
- Sze H., Liang F., Hwang I. 2000. Diversity and regulation of plant Ca<sup>2+</sup> pumps: insights from expression in yeast. *Annual review of plant molecular biology*, 51: 433–462
- Šraj Kržič N., Gaberščik A. 2005. Photochemical efficiency of amphibious plants in an intermittent lake. *Aquatic Botany* 83, 4: 281–288
- Teiz L., Zeiger E. 2006. *Plant Physiology*. 4th. ed. Sunderland, Sinauer Associates: 764 str.

- Tenforde T.S. 1991. Biological interactions of extremely-low-frequency electric and magnetic fields. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 25: 1–17
- Tenforde T.S. 1995. Spectrum and Intensity of Environmental Electromagnetic Fields from Natural and Man-Made Sources. V: *Electromagnetic Fields. Biological Interactions and Mechanisms*. Blank M. (ed.). Washington, American Chemical Society: 13–35
- Thomas S., Sun T. 2004. Update on gibberellin signaling. A tale of the tall and the short. *Plant Physiology*, 135: 668–676
- Tijing L.D., Lee D.H., Kim D.W., Cho Y.I., Kim C.S. 2011. Effect of high-frequency electric fields on calcium carbonate scaling. *Desalination*, 279: 47–53
- Tipler P.A., Llewellyn R.A., 2012. *The Zeeman Effect*. V: *Modern Physics*. New York, W.H. Freeman & Company: 34–37
- Tkalec M., Malarić K., Pevalek-Kozlina B. 2005. Influence of 400, 900, and 1900 MHz electromagnetic fields on *Lemna minor* growth and peroxidase activity. *Bioelectromagnetics*, 26, 3: 185–193
- Tkalec M., Malarić K., Pevalek-Kozlina B. 2007. Exposure to radiofrequency radiation induces oxidative stress in duckweed *Lemna minor* L. *The Science of the total environment*, 388: 78–89
- Tyner K.M., Kopelman R., Philbert M.A. 2007. “Nanosized voltmeter” enables cellular-wide electric field mapping. *Biophysical journal*, 93, 4: 1163–1174
- Vainshtein M., Suzina N., Kudryashova E., Ariskina E. 2002. New magnet-sensitive structures in bacterial and archaeal cells. *Biology of the cell*, 94, 1: 29–35
- Van P.T., Teixeira da Silva J.A., Ham L.H., Tanaka M. 2011. Effects of permanent magnetic fields on the proliferation of *Phalaenopsis* protocorm-like bodies using liquid medium. *Scientia Horticulturae*, 128, 4: 479–484
- Verginadis I.I., Simos Y.V., Velalopoulou A.P., Vadalouca A.N., Kalfakakou V.P., Karkabounas S.C., Evangelou A.M. 2012. Analgesic effect of the electromagnetic resonant frequencies derived from the NMR spectrum of morphine. *Electromagnetic biology and medicine*, 31, 4: 275–284

- Verginadis I., Velalopoulou A., Simos Y., Peschos D., Kalfakakou V., Karkabounas S., Havelas K., Evangelou A. 2011. Emission of the Resonant Electromagnetic Frequencies Derived from <sup>1</sup>H-NMR Spectra of Biological Active Substances Induce Similar Effects with the Substances Themselves. A new Approach in Investigation Treatment. V: Electrodynamic activity of living cells. 9th International Fröhlich's Symposium. Praga, 1. –3. jul. 2011. Cifra M., Pokorny J., Kučera O. (eds.). Praga, IOP Publishing: 55–56
- Volpe P. 2003. Interactions of zero-frequency and oscillating magnetic fields with biostructures and biosystems. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2: 637–648
- Wang C.Y., Li C.F., Adhikari S. 2009. Dynamic behaviors of microtubules in cytosol. *Journal of biomechanics*, 42, 9: 1270–1274
- Wang C.Y., Ru C.Q., Mioduchowski A. 2006. Vibration of microtubules as orthotropic elastic shells. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, 35, 1: 48–56
- Wang C.Y., Zhang L.C. 2008. Circumferential vibration of microtubules with long axial wavelength. *Journal of biomechanics*, 41, 9: 1892–1896
- Wang E., Zhao M., Forrester J., McCaig C. 2003. Electric fields and MAP kinase signaling can regulate early wound healing in lens epithelium. *Investigative ophthalmology & Visual Science*, 44, 1: 244–249
- Wang H.Y., Zeng X.B., Guo S.Y., Li Z.T. 2008. Effects of magnetic field on the antioxidant defense system of recirculation-cultured *Chlorella vulgaris*. *Bioelectromagnetics*, 29, 1: 39–46
- Wang W., Haberer G., Gundlach H., Gläßer C., Nussbaumer T., Luo M C., Lomsadze A., Borodovsky M., Kerstetter R.A., Shanklin J., Byrant D.W., Mockler T.C., Appenroth K.J., Grimwood J., Jenkins J., Chow J., Choi C., Adam C., Cao X.-H., Fuchs J., Schubert I., Rokhsar D., Schmutz J., Michael T.P., Mayer K.F.X., Messing J. 2014. The *Spirodela polyrhiza* genome reveals insights into its neotenus reduction fast growth and aquatic lifestyle. *Nature communications*, 5, 3311: 13 str.
- Wang Z., Hao F., Ding C., Yang Z., Shang P. 2014. Effects of static magnetic field on cell biomechanical property and membrane ultrastructure. *Bioelectromagnetics*, 35, 4: 251–261
- White P.J., Broadley M.R. 2003. Calcium in plants. *Annals of botany*, 92, 4: 487–511

- Wolters H., Jürgens G. 2009. Survival of the flexible: Hormonal growth control and adaptation in plant development. *Nature reviews. Genetics*, 10, 5: 305–317
- Xu C., Wei S., Lu Y., Zhang Y., Chen C., Song T. 2013. Removal of the local geomagnetic field affects reproductive growth in *Arabidopsis*. *Bioelectromagnetics*, 34, 6: 437–442
- Yamada M., Tanemura K., Okada S. 2007. Electrical stimulation modulates fate determination of differentiating embryonic stem cells. *Stem cells*, 25: 562–570
- Yao Y., Li Y., Yang Y., Li C. 2005. Effect of seed pretreatment by magnetic field on the sensitivity of cucumber (*Cucumis sativus*) seedlings to ultraviolet-B radiation. *Environmental and Experimental Botany*, 54, 3: 286–294
- Yano A., Ohashi Y., Hirasaki T., Fujiwara K. 2004. Effects of a 60 Hz magnetic field on photosynthetic CO<sub>2</sub> uptake and early growth of radish seedlings. *Bioelectromagnetics*, 25: 572–581
- Zhadin M.N. 2001. Review of Russian literature on biological action of DC and low-frequency AC magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 22, 1: 27–45
- Zhao M., Pu J., Forrester J., McCaig C. 2002. Membrane lipids, EGF receptors, and intracellular signals colocalize and are polarized in epithelial cells moving directionally in a physiological electric field. *The FASEB Journal*, 16, 8: 857–859
- Živčak M., Brestič M., Olšovska K., Slamka P., 2008. Performance index as a sensitive indicator of water stress in *Triticum aestivum* L. *Plant, Soil and Environment*, 54, 4: 133–139



## ZAHVALA

»Projekt doktorat« je skupinsko delo, ki ga zares spoznaš šele, ko tudi sam stopiš na pot k znanosti. Le-ta je polna ovir in učnih priložnosti in sam bi hitro zašel v slepo ulico. A k sreči se je vedno našel prijazen obraz, ki mi je v najbolj kritičnih trenutkih pokazal smer, odprl nova vrata ali pa mi vlil nove moči in energije. Neizmerno sem hvaležen vsem, ki ste mi pomagali na tej poti. Upam, da se vam bom lahko nekoč oddolžil za vse darove, ki so me pripeljali do sem.

V znanstvenem smislu, sem imel luksuz, kot malo kdo. Hvala Branka, da ste mi omogočili, da sem lahko preverjal precej nenavadne hipoteze in v prenovljenem laboratoriju soustvarjal poskuse od zasnove do izvedbe. Strogo in natančno, Rok, tako kot si me naučil. Nikoli ne bom pozabil skoraj hevreka trenutkov in težko bi si želel boljšega mentorja, ki bi me vpeljal v znanstveno delo. Igor, oče Biona in vizionar. Hvala za mnoge navdihujoče razprave, ki jih še najbolje povzema veliki med velikimi – Albert Einstein: »Za pravi napredek znanosti je potrebna kreativna domišljija, ki postavlja nova vprašanja, išče nove možnosti in stare probleme pogleda z novih zornih kotov«. Hvala Alenka za vso toplino in podporo v trenutkih, ko je vse skupaj izgledalo že brezupno in gojenje strogega znanstvenega pristopa, ki ga zagovarja tudi Adam Savege: »V znanstvenem smislu neuspeli poskusi ne obstajajo. Vsak poskus, ki da veljavne podatke, je uspel poskus«.

Dragi člani komisije. Iskrena hvala za potrpežljivost in dobro voljo prebiti se čez vse te strani raztresenega teksta in vse vaše usmeritve, ki so pripomogle k večji preglednosti in razumljivosti naloge.

Hvala Andreja, Drago, Dragan in Jože, da ste mi pomagali vzpostaviti poskusni sistem, Primož hvala za neprecenljivo pomoč v laboratoriju, Katarini in Romanu pa hvala za pomoč pri tretju vseh statističnih orehov.

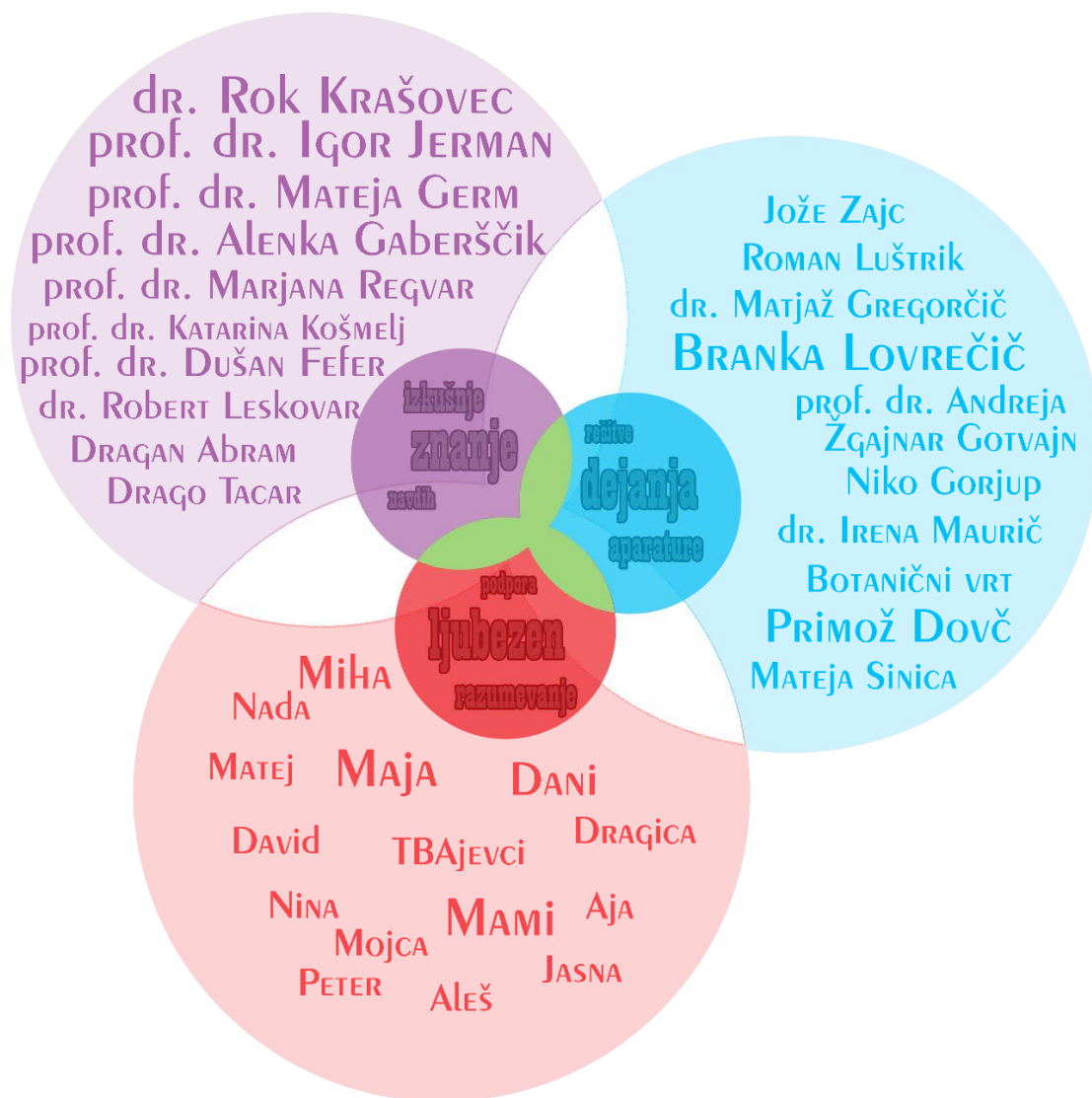
Nada, Peter in Matej. Z vami je bila to pot polna smeha in skupne rasti. Tekom takega projekta je vedno lažje, če je še kdo zraven in skupaj smo nekako le prišli do konca.

Dani, močna opora in zgled. Ne vem, če ti bom lahko kdaj povrnil vse, kar si mi dal in omogočil, se bom pa vse življenje trudil. TBAjevci, hvala za razumevanje in prevzemanje bremen. Aja, hvala ti za vse energetske pošiljke.

Majki. Nate sem se lahko kadarkoli zanesel, ne glede na to, kaj si imel sam pred sabo. Včasih je težko reči, kdo je tukaj starejši. Res hvala ti za vse. Mami. Za brezmejno ljubezen in podporo na vsakem koraku. Zlata si, najboljša.

Maja. Težko najdem prave besede, da bi izrazil vsa občutja. Srečen sem, da si na zaključku tega potovanja z mano in da skupaj že začnemo novo pot, verjamem, da še bolj polno in razburljivo, kot je bila tale moja doktorska. Tako kot si ti meni, ti bom tudi jaz stal ob strani in te podpiral na tvoji, najini.

Še veliko vas je, ki ste tako ali drugače prispevali kamenček v mozaik, ki tvori strani te »knjige«. Iz srca hvala.



HVALA!

»V dolgi zgodovini človeštva (in živalstva) so prevladali tisti,  
ki so se naučili najbolj učinkovito improvizirati in sodelovati.« Charles Darwin

#### FINANCIRANJE

Izdelavo doktorske disertacije je delno financirala Evropska unija iz Evropskega socialnega sklada. Operacija se je izvajala v okviru Operativnega programa razvoja človeških virov za obdobje 2007 – 2013, razvojne prioritete: Spodbujanje podjetništva in prilagodljivosti; prednostne usmeritve: Strokovnjaki in raziskovalci za konkurenčnost podjetij, program »Mladi raziskovalci iz gospodarstva – generacija 2008«.

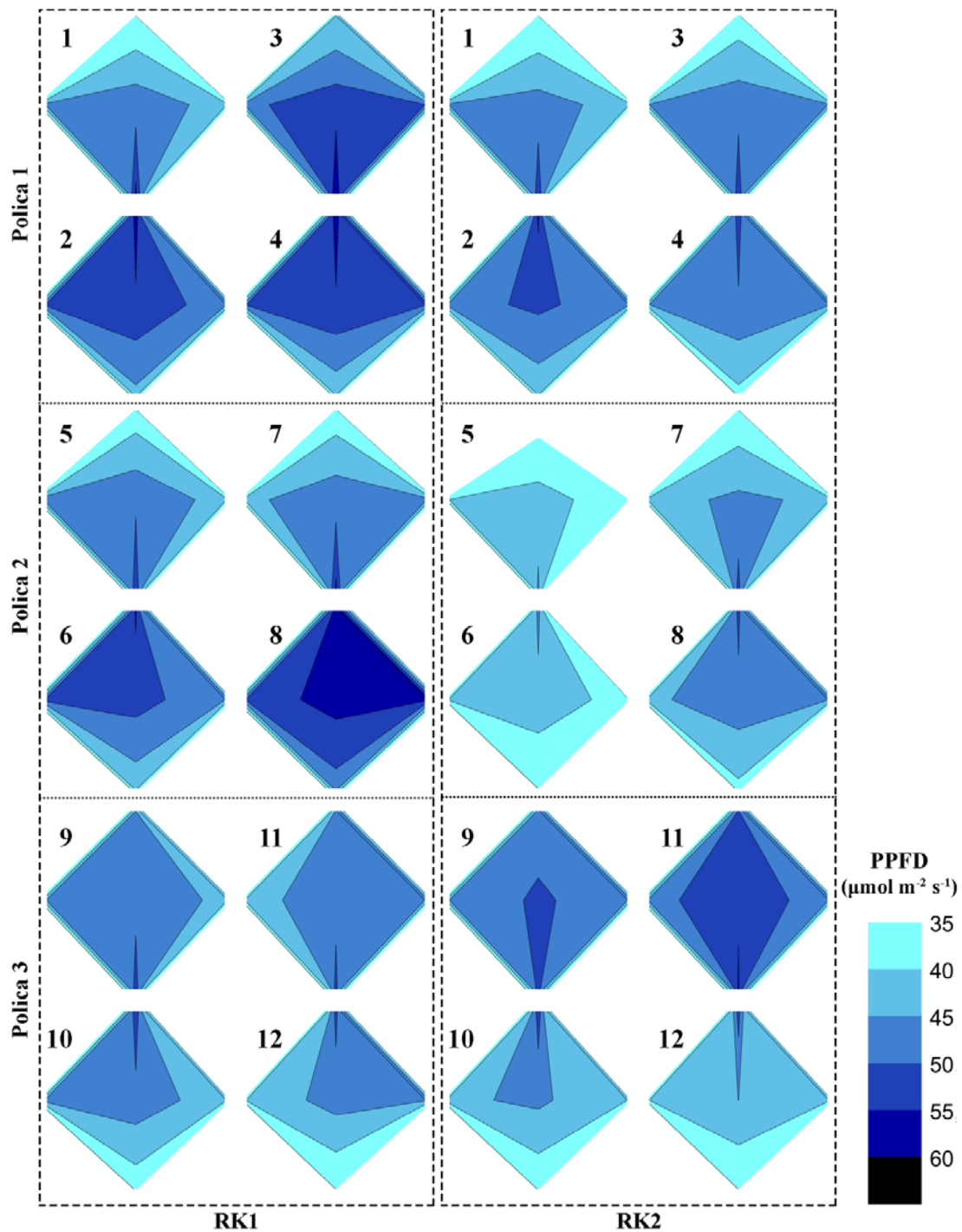
# PRILOGE

## PRILOGA A

### Svetlobne razmere med poskusi PMP (RK1 in RK2)

Količina PAR svetlobe v komorah RK1 in RK2 med poskusi v nihajočem magnetnem polju (PMP) za posamezen položaj kristalizirke od 1 do 12.

Average PAR intensity in the RK1 and RK2 growth chambers during the changing magnetic field (PMP) experiments for places from 1 to 12.





## PRILOGA B

### Merjenje magnetnega polja v tuljavi

Meritve je opravil Drago Tacar iz Laboratorija za osnove elektrotehnike in elektromagnetiko na Fakulteti za Elektrotehniko, Univerze v Ljubljani.

Meritve so bile opravljene s tokovno sondo AM503 in UI252A multimetrom (oboje Tektronix, Beaverton, OR, ZDA), LRC metrom ST2810D (Sourcetronic, Bremen, Nemčija) in osciloskopom DSO7014B (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ZDA).

Datum meritev: 8.9.2014

#### podatki o tuljavi:

$$R = 14,4 \, \Omega$$

$$L = 15,32 \, \text{mH} \quad / \quad f = 1 \, \text{kHz} \quad / \quad X_L = 96,3 \, \Omega$$

$$f_r = 137 \, \text{kHz} \quad (\text{lastna resonanca})$$

$$k = 1,58 \, \text{mT/A} \quad (\text{konstanta tuljave})$$

$$d = 12 \, \text{cm}, \quad l = 63,3 \, \text{cm}$$

**gostota magnetnega pretoka:**  $B = 1,58 \, \text{mT} \quad / \quad \text{DC} \quad / \quad I = 1 \, \text{A} \quad / \quad \text{sredina tuljave} \quad /$   
T-meter lastna izdelava /

#### napajanje tuljave:

signal iz PC / Zunanja zvočna kartica / OSVET (slika 43).

Oblika signala – sinus

**Napajanje tuljave pri različnih frekvencah sinusnega nihanja.**

**Voltage in the solenoid at the selected frequencies (sine waves).**

$f$ (Hz)	$U_{p-p}$ (V)	$I_{p-p}$ (A)	$U/I$	$X_L$
10	26	1,7	15,3	0,96
100	29	1,6	18,1	9,62
1000	44	0,425	103,5	96,3

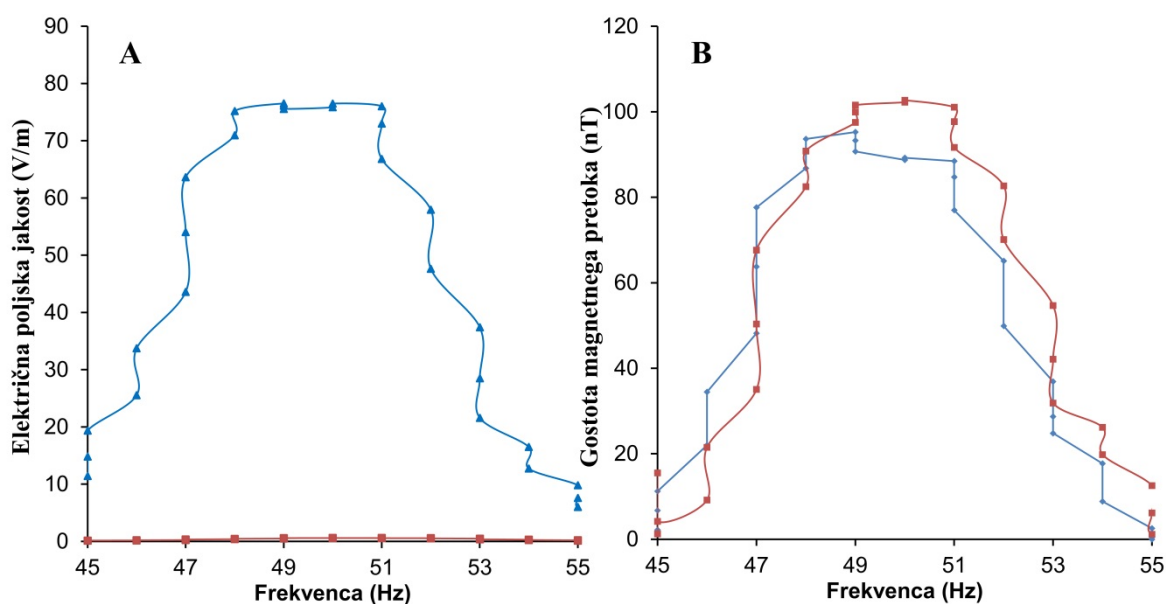
## PRILOGA C

### Vpliv Faradayeve kletke na količino elektromagnetnega smoga v območju poskusnih enot

Z merilcem nizkofrekvenčnega elektromagnetnega valovanja SPECTRAN NF-5020 (Aaronia AG, Euscheid, Nemčija) smo pomerili električni magnetni smog v laboratoriju med 45 in 55 Hz, ki je znašal pri 50 Hz 75 V/m za električno polje in 95 nT za magnetno polje. S Faradayevimi kletkami smo odstranili predvsem električno komponento smoga, medtem, ko je magnetna ostala bolj ali manj nespremenjena.

**Elektromagnetni smog v laboratoriju.** Zunaj Faradayeve kletke (—), v Faradayevi kletki (—). A – električna poljska jakost; B – gostota magnetnega pretoka.

**Electromagnetic background in the laboratory.** Outside the Faraday cage (—), in the Faraday cage (—). A – electric field; B – magnetic field.



## PRILOGA D

### Učinek temperature, količine svetlobe in koncentracije 3,5-diklorofenola na rast in fotokemično učinkovitost FSII male vodne leče

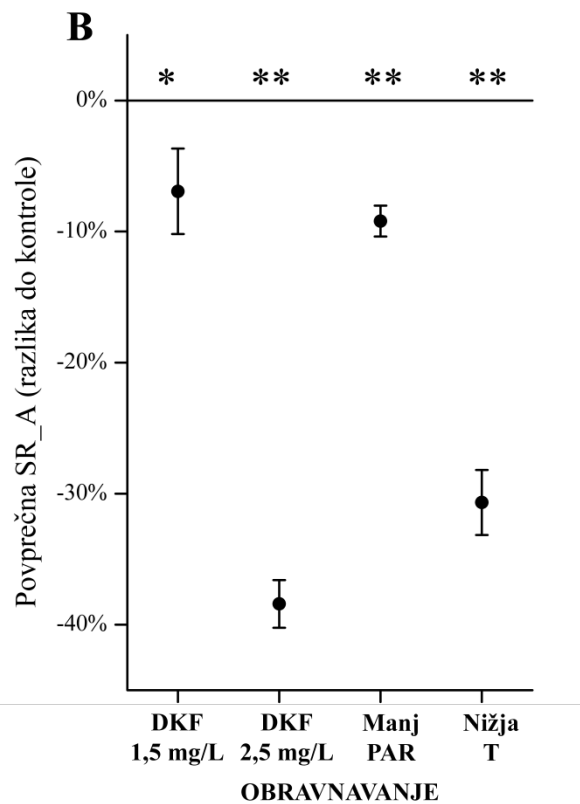
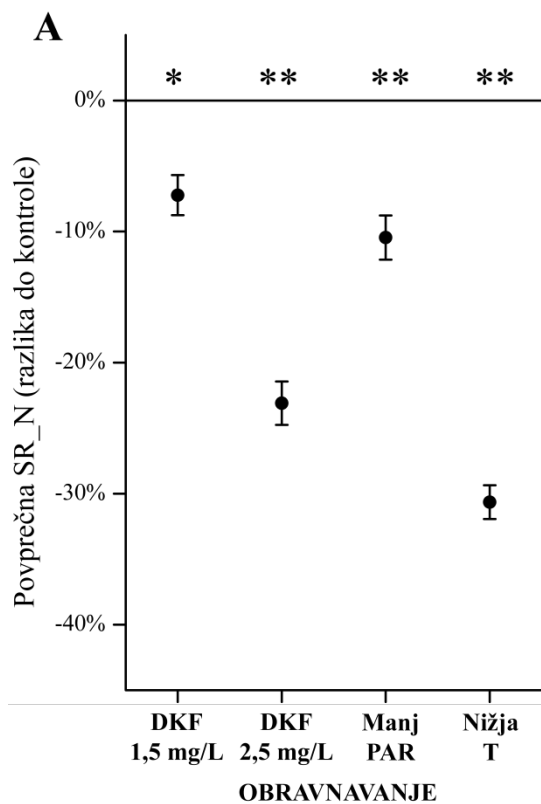
#### Vpliv znižane količine svetlobe in temperature na rast male vodne leče

Vpliv spremembe dveh ključnih okoljskih dejavnikov – količine gostote fotonov fotosintezno aktivnega spektra (PPFD) in nižje temperature inkubacije prikazuje priloga D1. 40 % znižanje PPFD je povzročilo  $\approx 20$  % inhibicijo osnovnih rastnih parametrov in 10 % znižanje stopenj rasti, medtem ko se fotokemična učinkovitost FSII ni statistično značilno razlikovala od rastlin kontrole. 5 °C nižja temperatura je imela 50 % inhibicijo na število stebelnih členkov in skupno površino stebelnih členkov ter 30 % inhibicijo povezanih stopenj rasti. Nižja temperatura ni statistično značilno različno vplivala na fotokemično učinkovitost FSII rastlin (pril. D2).

## PRILOGA D1

**Vpliv zmanjšane svetlobe, temperature ali povečane koncentracije toksina 3,5-diklorofenola na stopnjo rasti male vodne leče.** Prikazane so normirane povprečne razlike med izmerjenimi vrednostmi obravnavanja in kontrole po sedmih dneh inkubacije v naravnem geomagnetnem polju in relativne standardne napake ( $n=3$ ). \* označuje statistično značilno razliko glede na kontrolo ( $p < 0,025$ ). Poskus z zmanjšano svetlobo je potekal ločeno od poskusa z znižano temperaturo, vsak s tremi različnimi koncentracijami toksina (0 mg/L; 1,5 mg/L; 2,5 mg/L). Za poskuse z zmanjšano svetlobo smo uporabili  $(100 \pm 1) \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  in  $(60 \pm 1) \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  – 40 % znižanje v gostoti fotosinteznega toka fotonov (PPFD). Za temperature smo uporabili  $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$  in  $(20 \pm 1) ^\circ\text{C}$  – 20 % padec temperature. Vrednost 0 % predstavlja vrednosti kontrole ( $25 ^\circ\text{C}$  in 0 mg/L DKF ali  $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  in 0 mg/L DKF).  $SR_N$  – stopnja rasti glede na število stebelnih členkov,  $SR_A$  – stopnja rasti glede na skupno površino stebelnih členkov, PAR – fotosintezno aktivni del elektromagnetnega valovanja,  $T$  – temperatura.

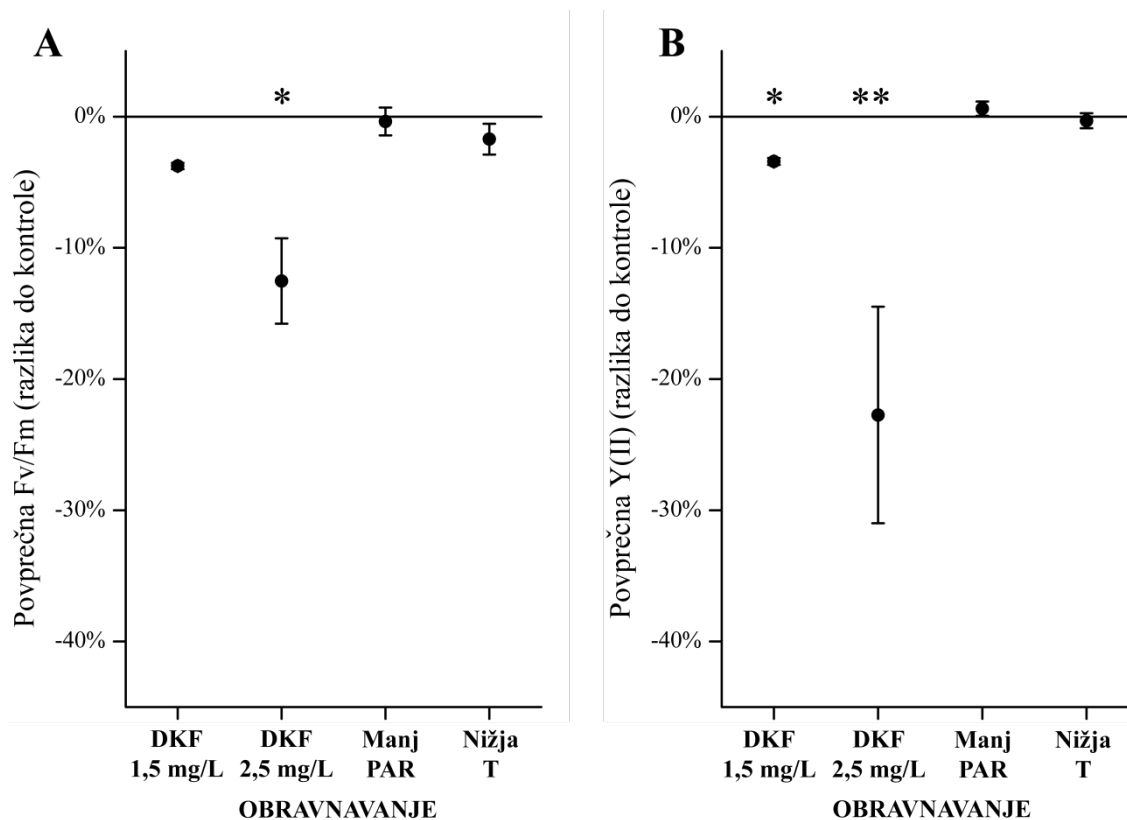
**Effects of reduced light, temperature or increased concentration of the toxin 3,5-dichlorophenol on growth rate of *Lemna minor* plants.** Average normalized differences between control and treatment after seven day incubation in natural geomagnetic field are shown. Relative standard errors are given ( $n = 3$ ). \* Indicates statistically significant difference compared to control ( $p < 0,025$ ). The experiment with reduced light was run separately from the experiment with reduced temperature, each run with three different toxin concentrations (0 mg/L; 1,5 mg/L ; 2,5 mg/L). For the reduced light experiments we used  $(100 \pm 1) \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  and  $(60 \pm 1) \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  – 40 % decrease in photosynthetic photon flux density (PPFD). For the temperature experiments we used  $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$  and  $(20 \pm 1) ^\circ\text{C}$  – 20 % decrease in temperature. Value 0 % represents values of the control ( $25 ^\circ\text{C}$  and 0 mg/L DKF or  $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  and 0 mg/L DKF).  $SR_N$  – growth rate for frond number,  $SR_A$  – growth rate for total frond area, PAR – photosynthetically active radiation,  $T$  - temperature.



## PRILOGA D2

**Vpliv zmanjšane svetlobe, temperature ali povečane koncentracije toksina 3,5-diklorofenola na fotokemično učinkovitost FSII male vodne leče.** Prikazane so normirane povprečne razlike med izmerjenimi vrednostmi obravnavanja in kontrole po sedmih dneh inkubacije v naravnem geomagnetnem polju in relativne standardne napake ( $n=3$ ). \* označuje statistično značilno razliko glede na kontrolo ( $p < 0,025$ ). Poskus z zmanjšano svetlobo je potekal ločeno od poskusa z znižano temperaturo, vsak s tremi različnimi koncentracijami toksina (0 mg/L; 1,5 mg/L; 2,5 mg/L). Za poskuse z zmanjšano svetlobo smo uporabili ( $100 \pm 1$ )  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  in ( $60 \pm 1$ )  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  – 40 % znižanje v gostoti fotosinteznega toka fotonov (PPFD). Za temperature smo uporabili ( $25 \pm 1$ ) °C in ( $20 \pm 1$ ) °C – 20 % padec temperature. Vrednost 0 % predstavlja vrednosti kontrole (25 °C in 0 mg/L DKF ali 100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  in 0 mg/L DKF).  $F_v/F_M$  – potencialna fotokemična učinkovitost FSII,  $Y(II)$  – dejanska fotokemična učinkovitost FSII.

**Effects of reduced light, temperature or increased concentration of the toxin 3,5-dichlorophenol on *Lemna minor* photochemical efficiency of PSII.** Average normalized differences between control and treatment after seven day incubation in natural geomagnetic field are shown. Relative standard errors are given ( $n = 3$ ). \* Indicates statistically significant difference compared to control ( $p < 0,025$ ). The experiment with reduced light was run separately from the experiment with reduced temperature, each run with three different toxin concentrations (0 mg/L; 1,5 mg/L ; 2,5 mg/L). For the reduced light experiments we used ( $100 \pm 1$ )  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  and ( $60 \pm 1$ )  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  – 40 % decrease in photosynthetic photon flux density (PPFD). For the temperature experiments we used ( $25 \pm 1$ ) °C and ( $20 \pm 1$ ) °C – 20 % decrease in temperature. Value 0 % represents values of the control (25 °C and 0 mg/L DKF or 100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  and 0 mg/L DKF).  $F_v/F_M$  – potential photochemical efficiency of PSII,  $Y(II)$  – actual photochemical efficiency of PSII.



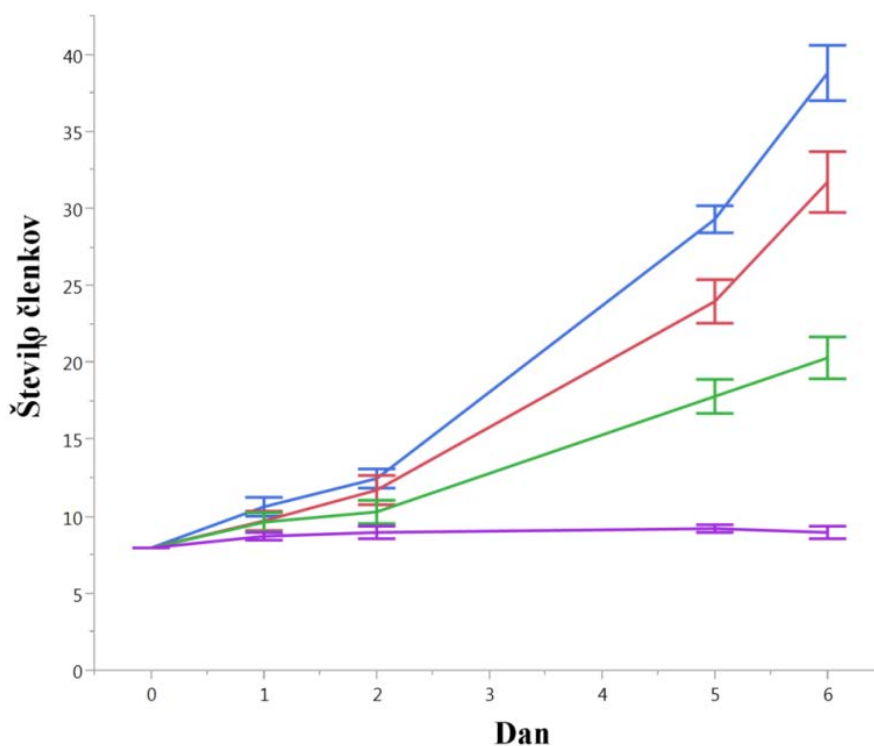
## Inhibicija rasti in fotokemične učinkovitosti FSII z DKF

Vpliv različnih koncentracij DKF na rast prikazujeta prilogi D3 in D4. Stopnja inhibicije rasti za število stebelnih členkov je bila -13 %, -41 % in -93 % za 1,25 mg, 2,5 mg in 5 mg DKF v litru gojišča. Pri istih koncentracijah DKF je bila stopnja inhibicije za skupno površino stebelnih členkov -6 %, -56 % in -98 %. Posamezne koncentracije so dale statistično značilno različne rezultate ( $p < 0,05$ ). Na osnovi dobljenih rezultatov smo za izpostavljanje rastlin stresnim razmeram izbrali dve koncentraciji DKF: 1,5 mg/L in 2,5 mg/L.

### PRILOGA D3

**Vpliv koncentracije 3,5-diklorofenola (DKF) na število stebelnih členkov male vodne leče.** Kontrolni poskus za potrditev protokola ( $n = 6$ ): Koncentracija DKF: 0 mg/L (—); 1,25 mg/L (—); 2,5 mg/L (—); 5 mg/L (—). Prikazane so povprečne vrednosti in pripadajoče standardne napake.

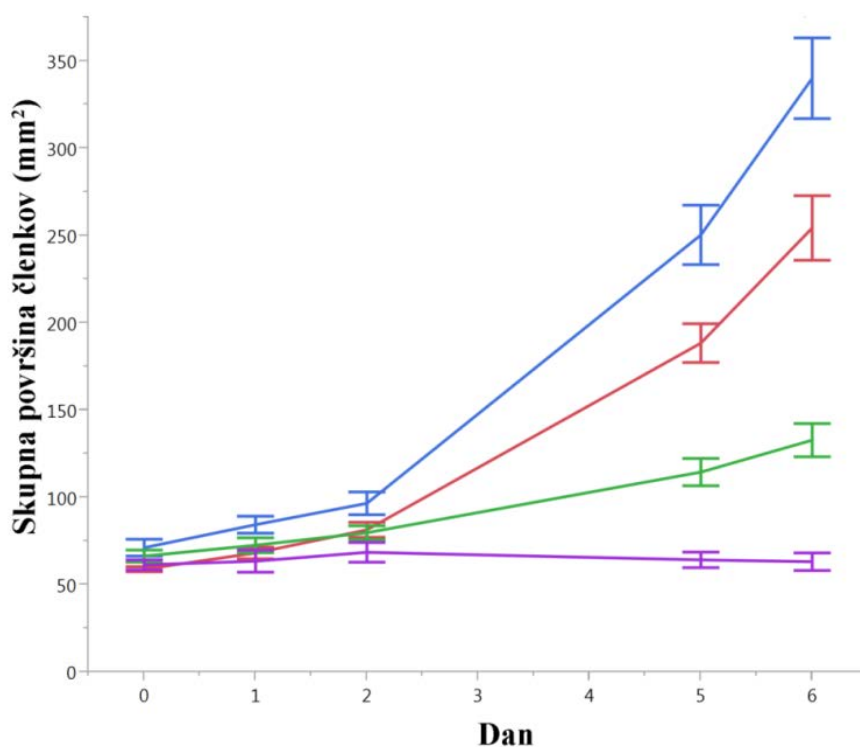
**Effect of 3,5-dichlorophenol (DKF) on *Lemna minor* frond number.** Method validation experiment ( $n = 6$ ): DKF concentration: 0 mg/L (—); 1,5 mg/L (—); 2,5 mg/L (—); 5 mg/L (—). Average values and standard errors are shown.



## PRILOGA D4

**Vpliv koncentracije 3,5-diklorofenola (DKF) na skupno površino stebelnih členkov male vodne leče.** Kontrolni poskus za potrditev protokola ( $n = 6$ ): Koncentracija DKF: 0 mg/L (—); 1,25 mg/L (—); 2,5 mg/L (—); 5 mg/L (—). Prikazane so povprečne vrednosti in pripadajoče standardne napake.

**Effect of 3,5-dichlorophenol (DKF) on *Lemna minor* total frond area.** Method validation experiment ( $n = 6$ ): DKF concentration: 0 mg/L (—); 1,25 mg/L (—); 2,5 mg/L (—); 5 mg/L (—). Average values and standard errors are shown.

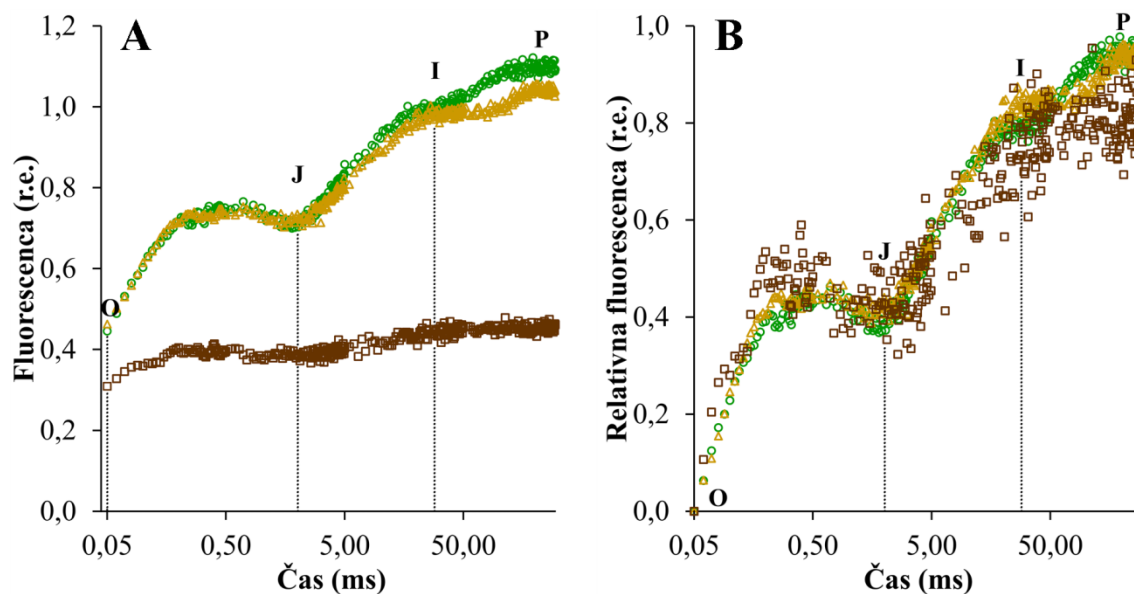


Vpliv izbranih koncentracij DKF na poli-fazno fluorescenco klorofila *a* prikazuje priloga D5. Dodatek 2,5 mg/L DKF v gojišče je izrazito znižal izmerjeno fluorescenco po sedmih dneh inkubacije, medtem, ko je koncentracija DKF 1,5 mg/L imelo majhen, a zaznaven vpliv na izmerjeno fluorescenco. V prilogi D6 so prikazane dobljene in prilagojene *p*-vrednosti za posamezne JIP parametre.

## PRILOGA D5

Povprečna poli-fazna izmerjena (A) in relativna (B) fluorescena klorofila *a* FSI na logaritemski časovni skali za 3 koncentracije 3,5-diklorofenola po sedmih dneh inkubacije (1. teden). Kontrola (●); 1,5 mg/L DKF (▲); 2,5 mg/L DKF (■);  $n = 3$ .

PSII chlorophyll *a* fluorescence transient for *Lemna minor* plants after seven day exposure to 3 different 3,5-dichlorophenol concentrations. Mean fluorescence (A) and mean relative fluorescence (B) plotted against time on a logarithmic scale. Control (●); 1,5 mg/L DKF (▲); 2,5 mg/L DKF (■);  $n = 3$ .





PRILOGA D6

***p*-vrednosti in pripadajoče prilagojene *p*-vrednosti za vpliv DKF na fluorescenco klorofila *a* v FSII rastlin *Lemna minor* po sedmih dneh izpostavitve toksinu.** *p*-vrednosti so urejene v ranžirno vrsto, z rdečo so označene  $p < 0,05$  ( $n = 3$ ). Glej preglednico 1 za razlago posameznih parametrov.

***p*-values and adjusted *p*-values for the analysis of the 3,5-dichlorophenol effect on the chlorophyll *a* fluorescence in *Lemna minor* plants after seven day exposure.** *p*-values are arranged according to their rang,  $p < 0,05$  are marked in red ( $n = 3$ ). See Table 1 for explanation of the JIP parameters.

Parameter	<i>p</i> -vrednosti iz modela	Holmov popravek	Benjamini-Yuketeli popravek
$F_V/F_M$	0,000	0,004	0,001
$Y(II)$	0,000	0,004	0,001
$F_{300}(300\mu s)$	0,000	0,004	0,001
$F_J(2ms)$	0,000	0,004	0,001
$F_I(30ms)$	0,000	0,004	0,001
$F_M(max)$	0,000	0,004	0,001
$F_V$	0,000	0,004	0,001
$\phi_{P0}$	0,000	0,004	0,001
$\phi_{D0}$	0,000	0,004	0,001
$\phi_{Ei20}$	0,000	0,004	0,001
$\delta_{RE10}$	0,000	0,004	0,001
$J^{ABS}/CS_M$	0,000	0,004	0,001
$J_0^{TR}/CS$	0,000	0,004	0,001
$J_0^{ET2}/CS$	0,000	0,004	0,001
$J_0^{RE1}/CS$	0,000	0,004	0,001
$RC/CS$	0,000	0,004	0,001
$PI_{ABS}$	0,000	0,004	0,001
$V_I$	0,000	0,004	0,002
$\psi_{RE10}$	0,000	0,004	0,002
$DF_{CS\ total}$	0,002	0,029	0,012
$PI_{CS0\ total}$	0,002	0,029	0,013
$F_{100}(100\mu s)$	0,002	0,029	0,013
$RC/J^{ABS}$	0,003	0,047	0,021
$J_0^{D1}/RC$	0,006	0,085	0,040
$F_0(50\mu s)$	0,031	0,402	0,185
$J_0^{D1}/CS$	0,031	0,402	0,185
$J^{ABS}/RC$	0,045	0,493	0,258
$J_0^{RE1}/RC$	0,053	0,526	0,292
$t_{(FM)}\ v\ ms$	0,083	0,743	0,442
$\phi_{RE10}$	0,258	1,000	1,000
$DF_{ABS\ total}$	0,433	1,000	1,000
$M_0$	0,614	1,000	1,000
$PI_{ABS\ total}$	0,626	1,000	1,000
$V_J$	0,687	1,000	1,000
$\psi_{ET20}$	0,687	1,000	1,000
$J_0^{ET2}/RC$	0,719	1,000	1,000
$J_0^{TR}/RC$	0,860	1,000	1,000

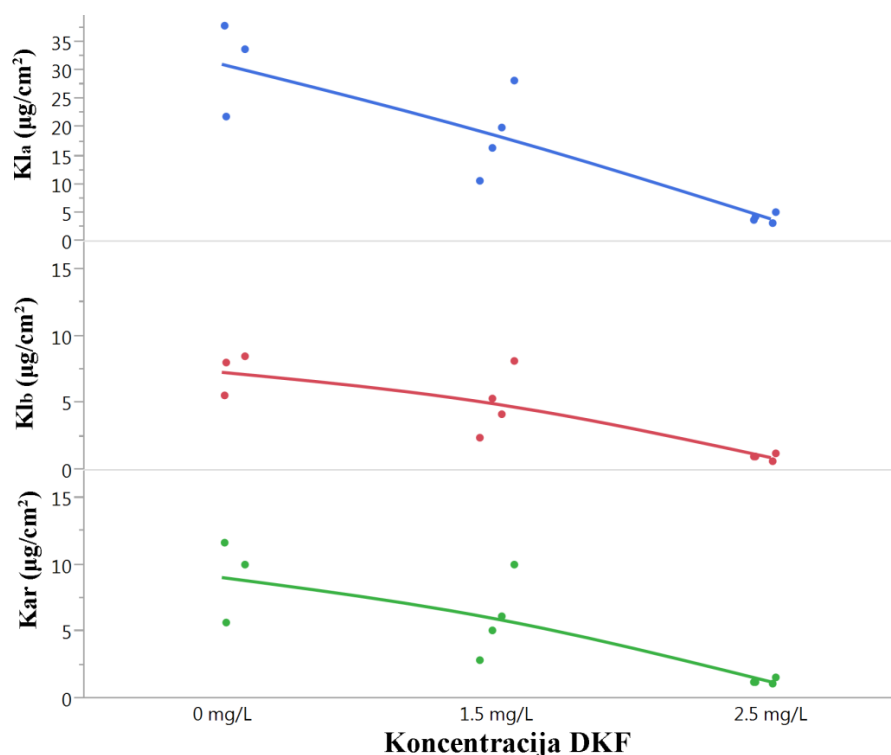
Priloga D1 prikazuje vpliv dveh različnih koncentracij DKF na stopnji rasti rastlin *Lemna minor* po sedmih dneh inkubacije v odsotnosti drugih dejavnikov. Dodatek 1,5 mg/L DKF je povzročil  $\approx 15\%$  znižanje osnovnih rastijskih parametrov in  $\approx 6\%$  znižanje specifičnih stopenj rasti, medtem ko je višja koncentracija (2,5 mg/L) povzročila  $\approx 2\times$  večjo inhibicijo ter  $\approx 10\%$  padec potencialne fotokemične učinkovitosti FSII in  $\approx 25\%$  padec dejanske fotokemične učinkovitosti FSII (pril. D2).

## PRILOGA D7

Vpliv DKF na vsebnost fotosinteznih barvil prikazuje spodnja slika. Dodatek 1,5 mg/L in 2,5 mg/L DKF je povzročil  $\approx 30\%$  do  $40\%$  in  $\approx 85\%$  znižanje vsebnosti fotosinteznih barvil.

**Vsebnost fotosinteznih barvil glede na dodano koncentracijo DKF v gojišče.** Kla – klorofil *a*, Klb – klorofil *b*, Kar – karotenoidi. Koncentracija je podana v razmerju mase na površino stebelnih členkov, prikazane so izmerjene vrednosti ( $n = 3$  za 0 mg/L in 2,5 mg/L ter  $n = 4$  za 1,5 mg/L) in zglajena krivulja.

**Effect of 3,5-dichlorophenol on photosynthetic pigment content in *Lemna minor* plants.** Kla – chlorophyll *a*, Klb – chlorophyll *b*, Kar – carotenoids. Concentration is given as a ratio of mass per frond area. Measured values ( $n = 3$  for 0 mg/L and 2,5 mg/L and  $n = 4$  for 1,5 mg/L) and smoothed curve are shown.



## PRILOGA E

### Kritične vrednosti za različne postopke kontroliranja za napako tipa-I

**Kritične  $p$ -vrednosti za izbrane FWER in FDR postopke kontroliranja napake tipa-I pri mnogoterih primerjavah.** Vrednosti so izračunane za primer 37 parametrov. FWER - stopnja napake na ravni družine; FDR – stopnja napačnih odkritij

**Critical  $p$ -values for the selected FWER and FDR procedures for control of type-I error in multiple comparisons.** Values are calculated for the case of 37 parameters. FWER – familywise error; FDR – false discovery rate.

Rang	FWER		FDR	
	Bonferoni	Holm	Benjamini-Hochberg	Benjamini-Yekutieli
1	0,0014	0,0014	0,0014	0,0003
2	0,0014	0,0014	0,0027	0,0006
3	0,0014	0,0014	0,0041	0,0010
4	0,0014	0,0015	0,0054	0,0013
5	0,0014	0,0015	0,0068	0,0016
6	0,0014	0,0016	0,0081	0,0019
7	0,0014	0,0016	0,0095	0,0023
8	0,0014	0,0017	0,0108	0,0026
9	0,0014	0,0017	0,0122	0,0029
10	0,0014	0,0018	0,0135	0,0032
11	0,0014	0,0019	0,0149	0,0035
12	0,0014	0,0019	0,0162	0,0039
13	0,0014	0,0020	0,0176	0,0042
14	0,0014	0,0021	0,0189	0,0045
15	0,0014	0,0022	0,0203	0,0048
16	0,0014	0,0023	0,0216	0,0051
17	0,0014	0,0024	0,0230	0,0055
18	0,0014	0,0025	0,0243	0,0058
19	0,0014	0,0026	0,0257	0,0061
20	0,0014	0,0028	0,0270	0,0064
21	0,0014	0,0029	0,0284	0,0068
22	0,0014	0,0031	0,0297	0,0071
23	0,0014	0,0033	0,0311	0,0074
24	0,0014	0,0036	0,0324	0,0077
25	0,0014	0,0038	0,0338	0,0080
26	0,0014	0,0042	0,0351	0,0084
27	0,0014	0,0045	0,0365	0,0087
28	0,0014	0,0050	0,0378	0,0090
29	0,0014	0,0056	0,0392	0,0093
30	0,0014	0,0063	0,0405	0,0096
31	0,0014	0,0071	0,0419	0,0100
32	0,0014	0,0083	0,0432	0,0103
33	0,0014	0,0100	0,0446	0,0106
34	0,0014	0,0125	0,0459	0,0109
35	0,0014	0,0167	0,0473	0,0113
36	0,0014	0,0250	0,0486	0,0116
37	0,0014	0,0500	0,0500	0,0119

## PRILOGA F

### Potrditev protokola in preverjanje enakosti rastnih razmer

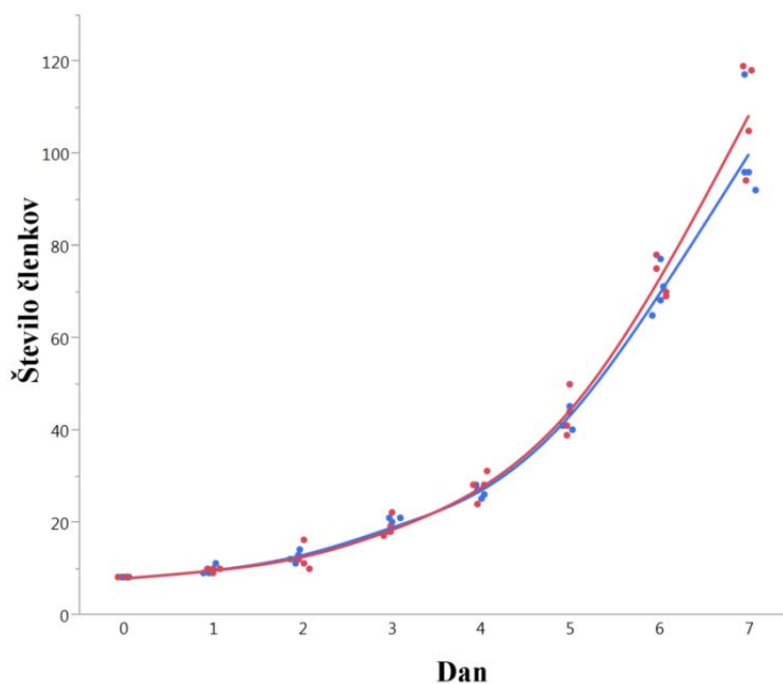
#### Rastni parametri

Mala vodna leča je v danih rastnih razmerah dosegla eksponentno rast tako v številu stebelnih členkov (pril. F1) kot tudi v skupni površini stebelnih členkov (pril. F2). Med komorama RK1 in RK2 ni bilo statistično značilnih razlik v merjenih parametrih. Število stebelnih členkov je v sedmih dneh v povprečju iz 8 naraslo na  $100 (\pm 6)$  stebelnih členkov v RK1 in  $109 (\pm 6)$  stebelnih členkov v RK2, s  $p$ -vrednostjo Welch t-testa  $p = 0,33$ . Skupna površina stebelnih členkov je v sedmih dneh v povprečju zrasla iz  $(70 \pm 5) \text{ mm}^2$  na  $(807 \pm 31) \text{ mm}^2$  za RK1 in iz  $(64 \pm 2) \text{ mm}^2$  na  $(816 \pm 46) \text{ mm}^2$  za RK2 s  $p$ -vrednostjo Welch t-testa  $p = 0,87$ . Preračunani stopnji rasti za število stebelnih členkov in skupno listno površino ( $SR\_N$  in  $SR\_A$ ) sta bili v povprečju 3 % in 4 % višji v RK2, vendar razlika ni bila statistično značilna (pril. F3).

## PRILOGA F1

**Eksponentna rast števila stebelnih členkov male vodne leče med sedem dnevnim testom.** Kontrolni poskus za potrditev protokola in rastnih komor ( $n = 4$ ): rastna komora 1 (—), rastna komora 2 (—). Prikazane so izmerjene vrednosti in zglajena krivulja.

**Exponential growth of *Lemna minor* frond number during seven day test.** Method validation experiment and growth chamber comparison ( $n = 4$ ): growth chamber 1 (—), growth chamber 2 (—). Measured values and smoothed line are shown.



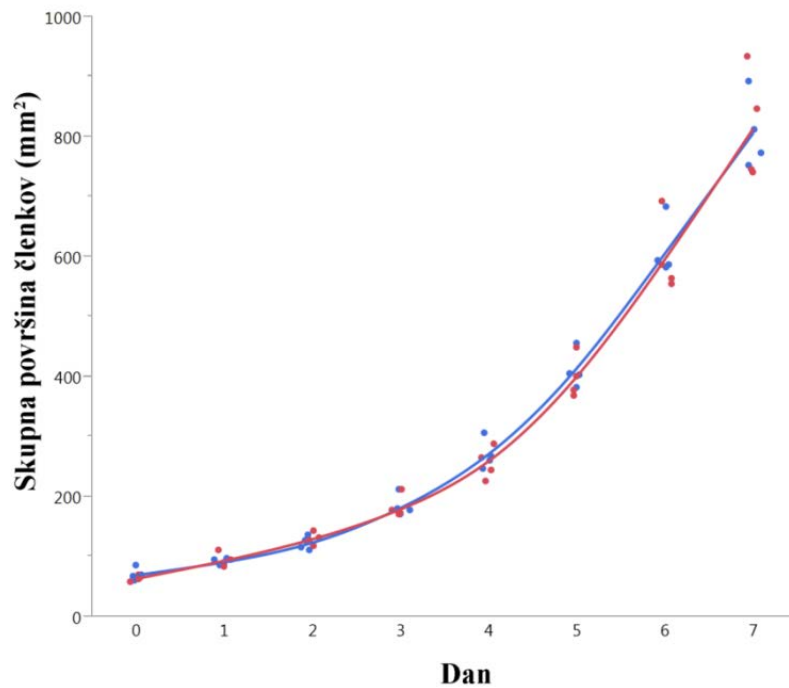
## PRILOGA F2

**Ekspontna rast skupne površine stebelnih členkov male vodne leče med sedem dnevnim testom.**

Kontrolni poskus za potrditev protokola in rastnih komor ( $n = 4$ ): rastna komora 1 (—), rastna komora 2 (—).

Prikazane so izmerjene vrednosti in zglajena krivulja.

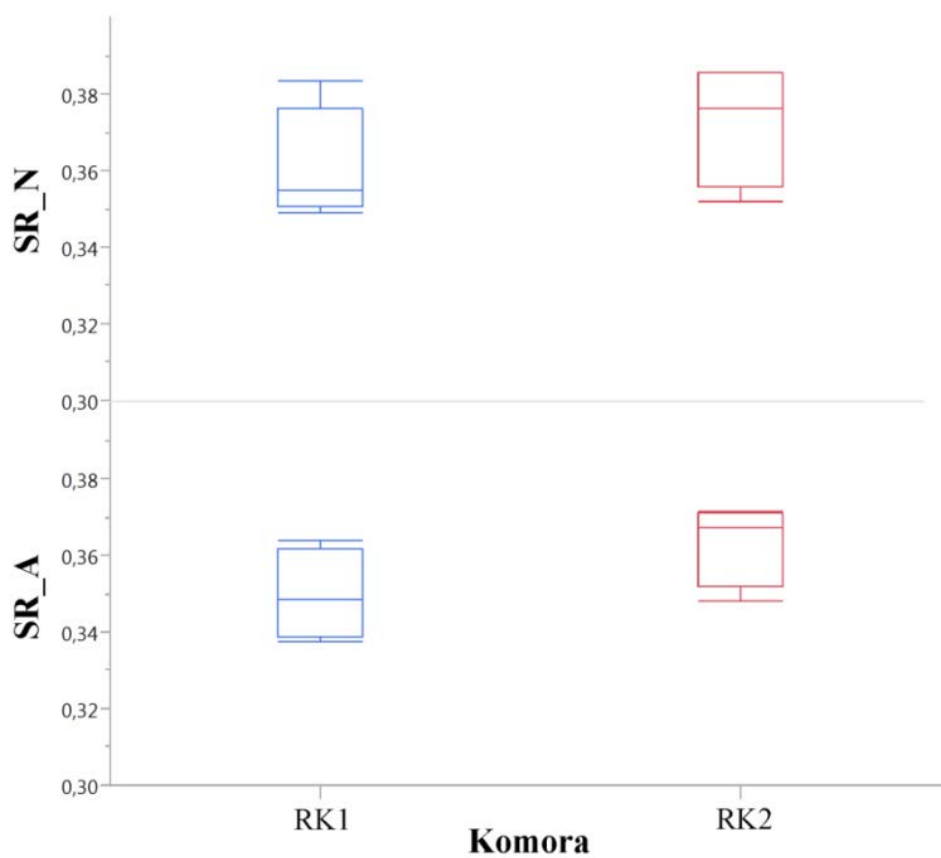
**Exponential growth of *Lemna minor* total frond area during seven day test.** Method validation experiment and growth chamber comparison ( $n = 4$ ): growth chamber 1 (—), growth chamber 2 (—). Measured values and smoothed line are shown.



### PRILOGA F3

**Stopnja rasti za število stebelnih členkov ( $SR_N$ ) in stopnja rasti za skupno površino stebelnih členkov ( $SR_A$ ) pri mali vodni leči po sedmih dneh inkubacije.** Kontrolni poskus za potrditev protokola in rastnih komor ( $n = 4$ ): rastna komora 1 (—), rastna komora 2 (—). Prikazani so okvirji z ročaji. Ordinata vsebuje prelom.

**Growth rate for frond number ( $SR_N$ ) and growth rate for total frond area ( $SR_A$ ) of *Lemna minor* plants after seven day incubation.** Method validation experiment and growth chamber comparison ( $n = 4$ ): growth chamber 1 (—), growth chamber 2 (—). Boxplots are drawn. There is a break in the ordinate.



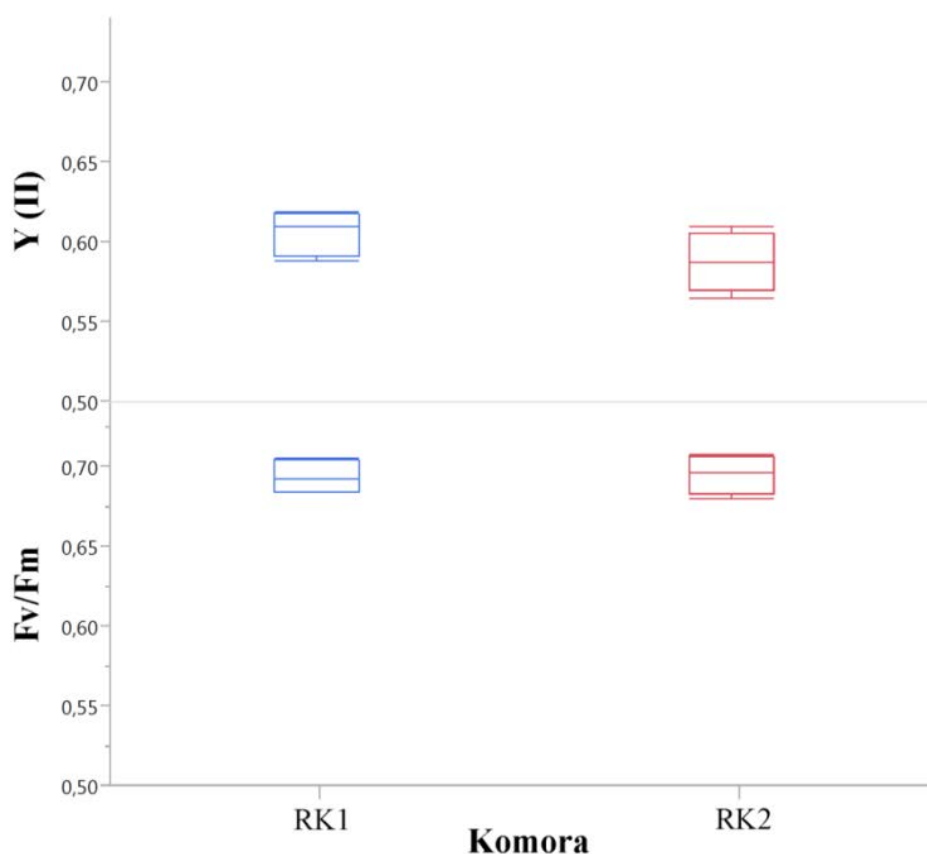
## PRILOGA F4

### Fotokemična učinkovitost FSII

Povprečna potencialna fotokemična učinkovitost FSII rastlin po sedmih dneh inkubacije je bila  $0,69 \pm 0,01$  za RK1 in  $0,70 \pm 0,01$  za RK2 ( $p$ -vrednost Welch t testa = 0,86). Povprečna dejanska fotokemična učinkovitost FSII je bila  $0,61 \pm 0,01$  za RK1 in  $0,59 \pm 0,01$  za RK2 ( $p$ -vrednost Welch testa = 0,16).

**Dejanska ( $Y(II)$ ) in potencialna ( $F_v/F_m$ ) fotokemična učinkovitost FSII po sedmih dneh inkubacije.** Kontrolni poskus za potrditev protokola in rastnih komor ( $n = 4$ ): rastna komora 1 (—), rastna komora 2 (—). Prikazani so okvirji z ročaji. Ordinata vsebuje prelom.

**Actual ( $Y(II)$ ) and potential photochemical efficiency of PSII after seven day incubation.** Method validation experiment and growth chamber comparison ( $n = 4$ ): growth chamber 1 (—), growth chamber 2 (—). Boxplots are drawn. Ordinate includes a break.



## PRILOGA G

### Izmerjene vrednosti poskusov v spremenjenem geomagnetnem polju

Izmerjene vrednosti in statistična analiza za rastne parametre, stopnje rasti in fotokemično učinkovitost FSII 4 poskusov v zmanjšanem (MGP) in 5 poskusov v povečanem geomagnetnem polju (VGP) po sedmih dneh inkubacije.

Measured values and statistical analysis for growth parameters, growth rates and photochemical efficiency of FSII for 4 experiments in reduced (MGP) and 5 experiments in enhanced geomagnetic field (VGP) after seven day incubation.

Parameter	Prim.	Posk.	Kontrola		GMP		Stat. test	p- vrednost	pril. p- vrednost $\eta_p$	$\eta_p^2$ ali	
			Povp.	SE	Povp.	SE				$r$	$r^2$
Št. stebelnih členkov	Znot	MGP	108	10,1	115	9,3	ANOVA	0,07		0,85	0,72
		VGP	144	5,8	127	7,6	bl.WRS	0,01*		-0,41	0,17
	Med						W.t-test	0,01*		0,84	0,70
Skupna površ. steb. člen. (mm <sup>2</sup> )	Znot	MGP	0,31	0,02	0,34	0,02	ANOVA	0,06		0,86	0,73
		VGP	0,34	0,01	0,33	0,01	bl.WRS	0,02*		-0,36	0,13
	Med						W.t-test	0,01*		0,83	0,69
Suha masa (mg)	Znot	MGP	0,76	0,01	0,76	0,01	bl.WRS	0,67		-0,15	0,02
		VGP	0,75	0,00	0,75	0,00	bl.WRS	0,01*		-0,39	0,15
	Med						W.t-test	0,09		0,63	0,40
Stopnja rasti za št. členkov	Znot	MGP	0,30	0,01	0,31	0,01	ANOVA	0,081	0,081	0,83	0,69
		VGP	0,34	0,01	0,32	0,01	ANOVA	0,040*	0,079	0,83	0,69
	Med						W.t-test	0,006**	0,006**	0,83	0,69
Stopnja rasti za skupno površ. člen.	Znot	MGP	0,31	0,02	0,34	0,02	ANOVA	0,010*	0,019*	0,96	0,92
		VGP	0,34	0,01	0,33	0,01	ANOVA	0,120	0,120	0,70	0,49
	Med						W.t-test	0,003**	0,006**	0,88	0,78
Potencialna fotokem. učinkovitost $F_V/F_M$	Znot	MGP	0,76	0,01	0,76	0,01	ANOVA	0,43	1,000	0,46	0,21
		VGP	0,75	0,00	0,75	0,00	bl.WRS	0,83	1,000	0,03	0,00
	Med						W.t-test	0,86	1,000	0,07	0,00
Dejanska fotokem. učinkovitost $Y(II)$	Znot	MGP	0,69	0,01	0,69	0,01	ANOVA	0,32	1,000	0,57	0,33
		VGP	0,65	0,00	0,66	0,00	ANOVA	0,02	1,000	0,89	0,79
	Med						WRS	0,18	1,000	-0,45	0,20

Opombe: MGP – zmanjšano geomagnetno polje, VGP – povečano geomagnetno polje, GMP – geomagnetno polje, ANOVA – mešani model; bl.WRS – bločni Wilcoxonov test vsote rangov, WRS – Wilcoxonov test vsote rangov, W.t-test – Welch t-test. Primerjava znotraj enakih poskusov (Znot) je primerjava izmerjenih vrednosti GMP s kontrolo, ločeno za MGP in VGP. Primerjava med različnimi poskusi (Med) je primerjava normaliziranih vrednosti MGP vs. VGP. Za posamezen statističen test je prikazana p-vrednost (\* in \*\* označuje prilagojene  $p < 0,05$  in prilagojene  $p < 0,01$ ). Velikost učinka je prikazana s parcialno eto ( $\eta_p$ ) ali biserialnim koeficientom korelacije ( $r$ ) ter  $\eta_p^2$  in  $r^2$  za odstotek skupne pojasnjene variabilnost.

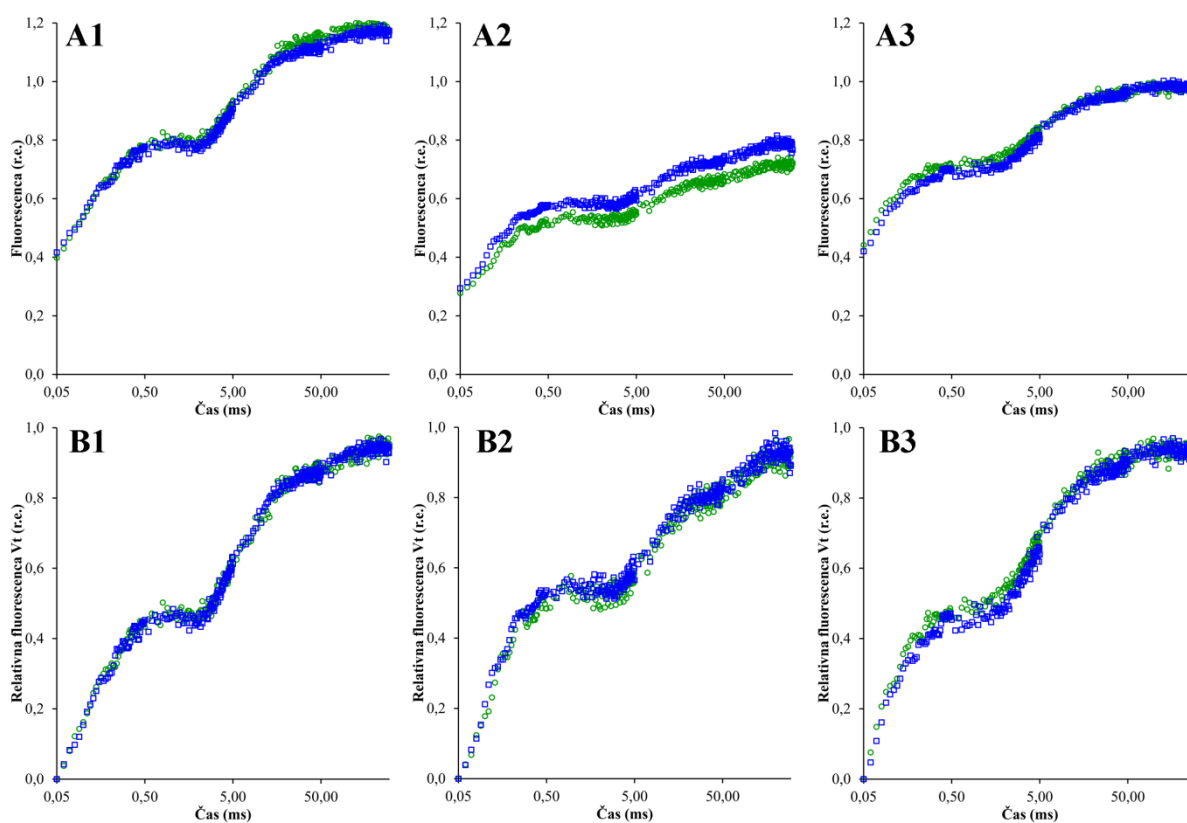


## PRILOGA H OJIP krivulje v posameznih poskusih

### PRILOGA H1

Povprečna poli-fazna izmerjena (A) in relativna (B) fluorescena klorofila *a* FSII na logaritemski časovni skali za 3 poskuse v zmanjšanem geomagnetnem polju (MGP) po sedmih dneh inkubacije.  $n = 3$ , kontrola (○), MGP (□).

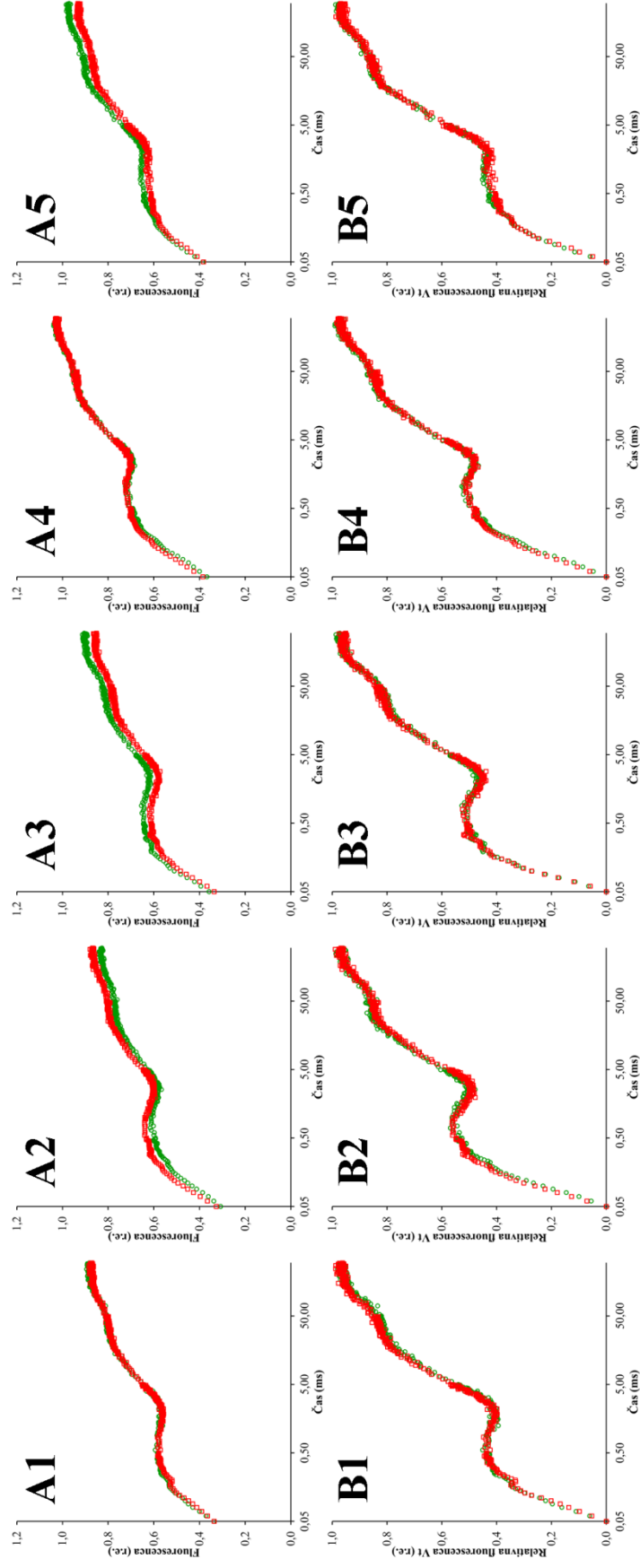
Average PSII chlorophyll *a* fluorescence transient for *Lemna minor* plants in 3 experiments after seven day incubation in reduced geomagnetic field (MGP). Mean fluorescence (A) and mean relative fluorescence (B) plotted against time on a logarithmic scale.  $n = 3$ , control (○), MGP (□).



## PRILOGA H2

Povprečna poli-fazna izmerjena (A) in relativna (B) fluorescena klorofila *a* FSII na logaritemski časovni skali za 5 poskusov v povečanem geomagnetnem polju (VGP) po sedmih dneh inkubacije.  $n = 3$ , kontrola (●), VGP (■).

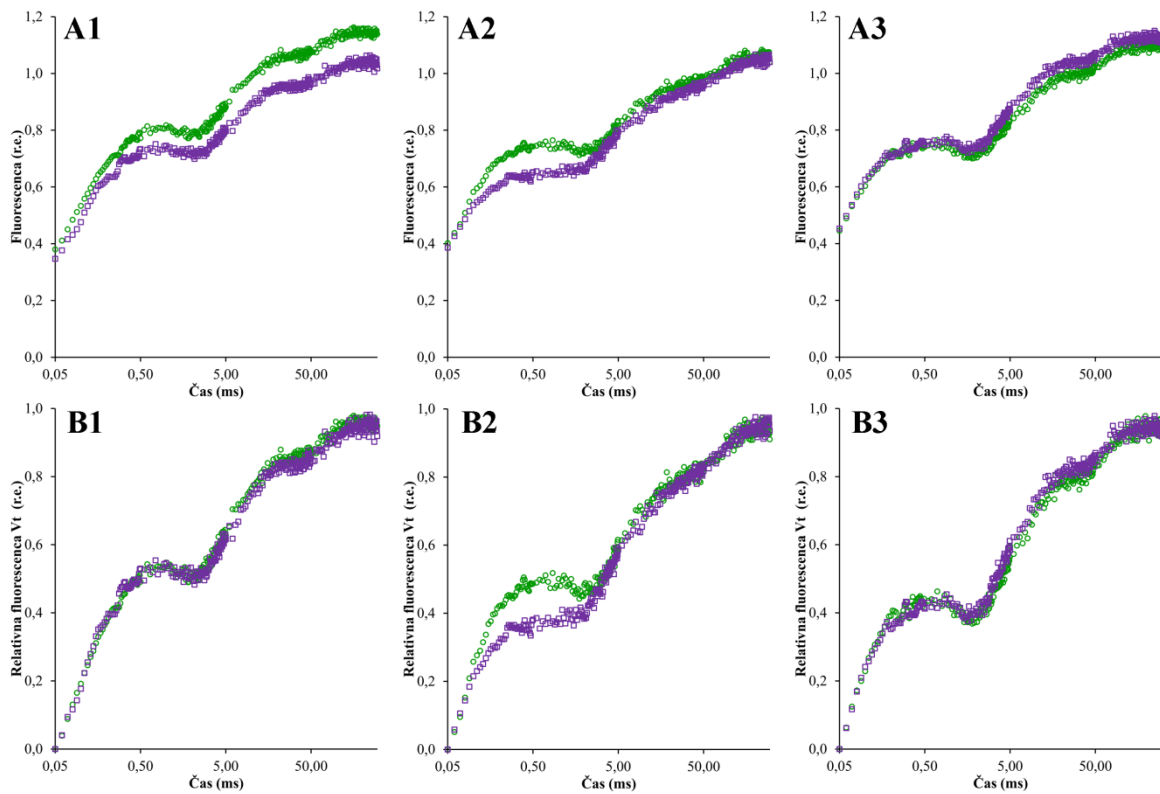
Average PSII chlorophyll *a* fluorescence transient for *Lemna minor* plants in 5 experiments after 7 day incubation in enhanced geomagnetic field (VGP). Mean fluorescence (A) and mean relative fluorescence (B) plotted against time on a logarithmic scale.  $n = 3$ , control (●), VGP (■).



### PRILOGA H3

Povprečna poli-fazna izmerjena (A) in relativna (B) fluorescenca klorofila *a* FSII na logaritemski časovni skali za posamezen poskus v nihajočem magnetnem polju (PMPi) po sedmih dneh inkubacije (1. teden).  $n = 3$ , kontrola (○), PMPi (□).

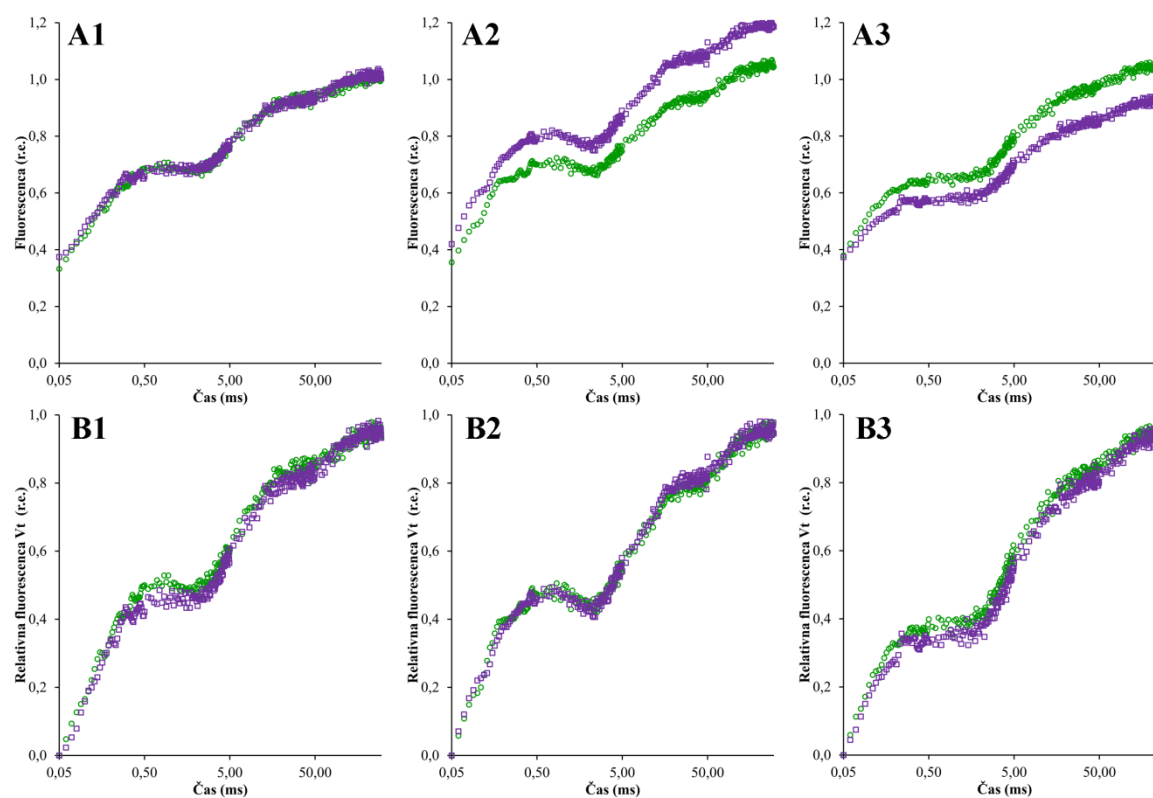
Average PSII chlorophyll *a* fluorescence transient for *Lemna minor* plants in 5 experiments after seven day incubation (1. week) in changing magnetic field (PMPi). Mean fluorescence (A) and mean relative fluorescence (B) plotted against time on a logarithmic scale.  $n = 3$ , control (○), PMPi (□).



## PRILOGA H4

Povprečna poli-fazna izmerjena (A) in relativna (B) fluorescena klorofila *a* FSII na logaritemski časovni skali za posamezen poskus v nihajočem magnetnem polju (PMPi) po sedmih dneh inkubacije (2. teden).  $n = 3$ , kontrola (○), PMPi (□).

Average PSII chlorophyll *a* fluorescence transient for *Lemna minor* plants in 5 experiments after seven day incubation (2. week) in changing magnetic field (PMPi). Mean fluorescence (A) and mean relative fluorescence (B) plotted against time on a logarithmic scale.  $n = 3$ , control (○), PMPi (□).

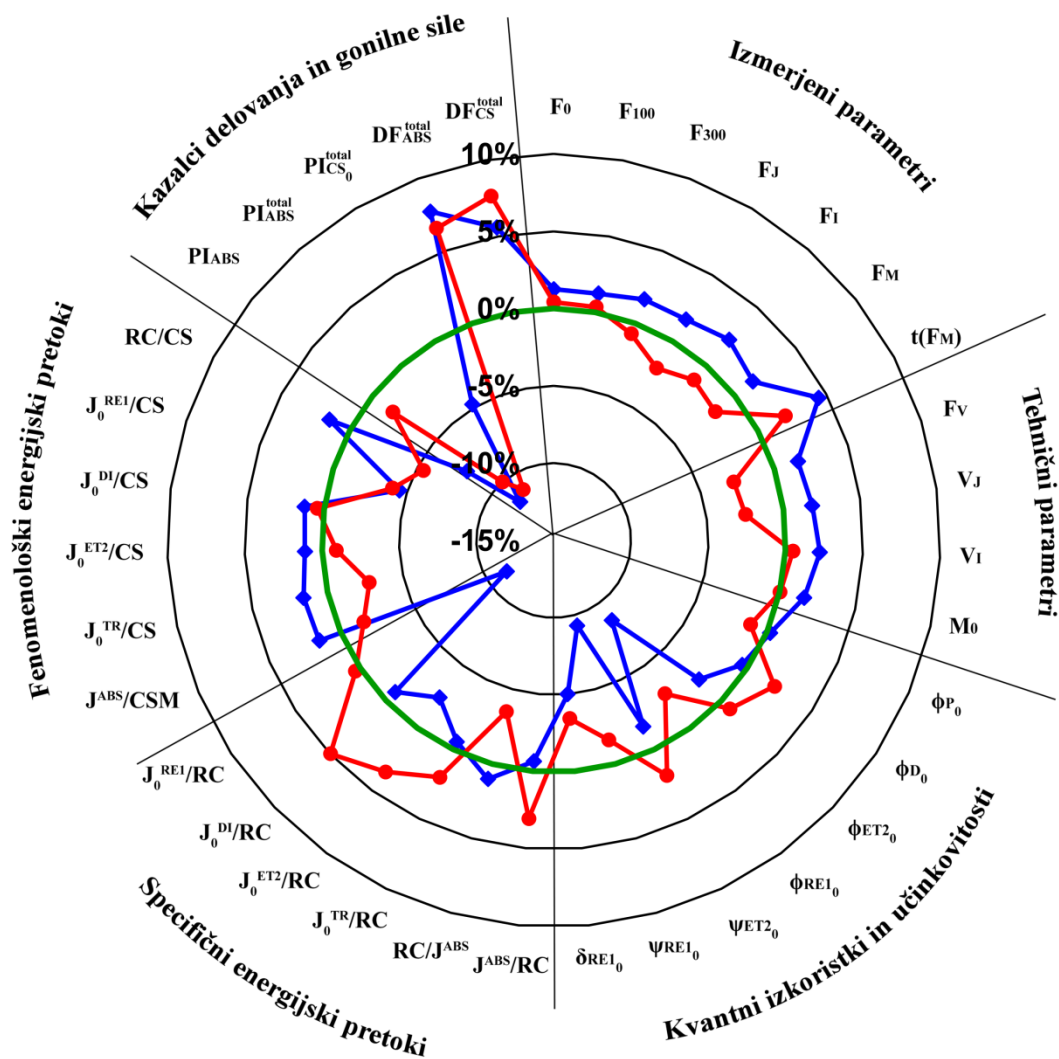


# PRILOGA I JIP PARAMETRI V MGP, VGP in SMP

## PRILOGA I1

Povprečne razlike parametrov JIP testa v primerjavi s kontrolo znotraj istega poskusa po sedmih dneh izpostavitve spremenjenemu geomagnetnemu polju. Kontrola ( $n = 3$  ali  $19$ ) (—), 3 poskusi v zmanjšanem geomagnetnem polju ( $n = 3$ ) (◆) in 5 poskusov v povečanem geomagnetnem polju ( $n = 19$ ) (●). Glej preglednico 1 za razlago JIP parametrov.

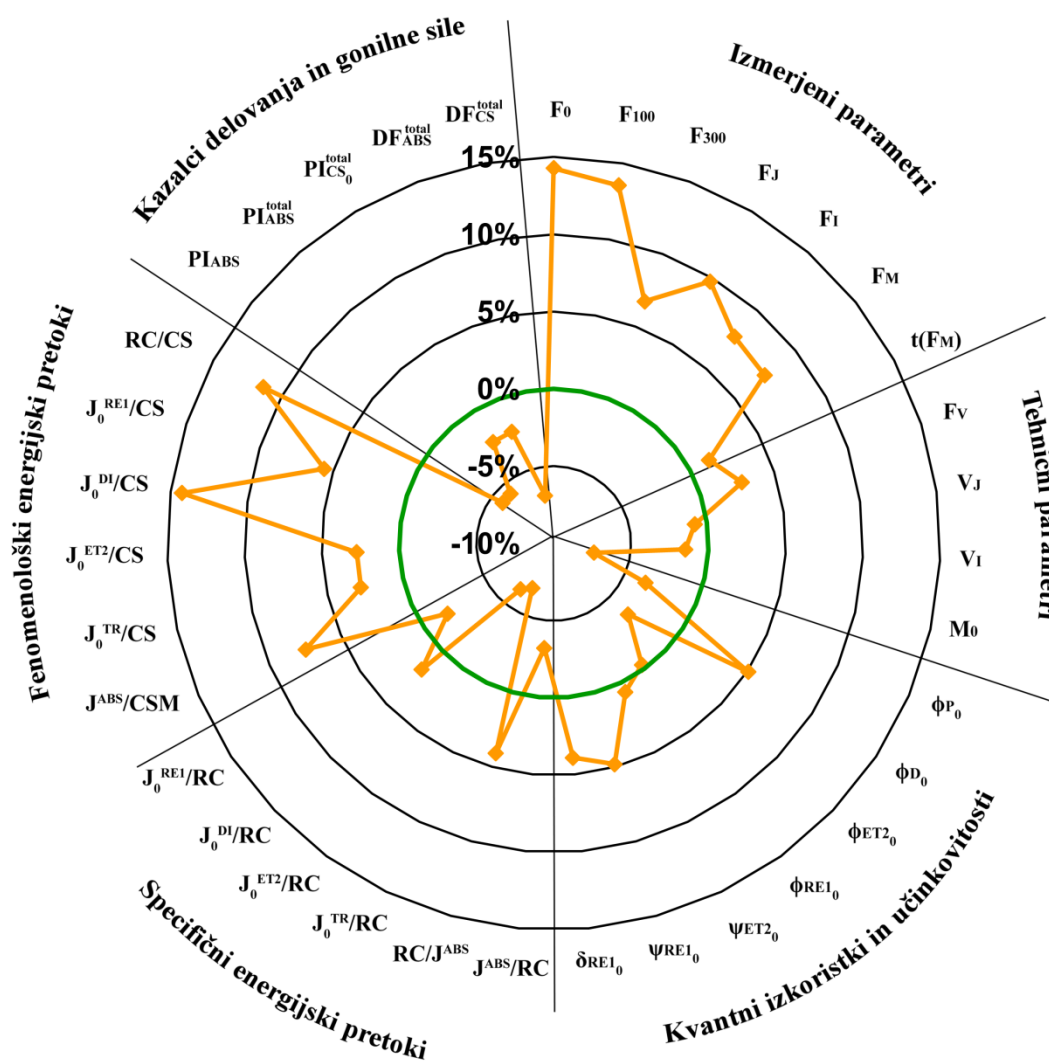
Average differences in the JIP parameters of *Lemna minor* plants after seven day exposure to modified geomagnetic field compared to the control. Control ( $n = 3$  ali  $19$ ) (—), 3 experiments in reduced geomagnetic field ( $n = 3$ ) (◆) and 5 experiments in enhanced geomagnetic field ( $n = 19$ ) (●) are shown. See Table 1 for explanation of the JIP parameters.



## PRILOGA I2

Povprečne razlike parametrov JIP testa v primerjavi s kontrolo znotraj istega poskusa po sedmih dneh izpostavitve močnemu statičnemu magnetnemu polju (SMP). Kontrola (—), 3 poskusi v močnem statičnem magnetnem polju (◆), ( $n = 9$ ). Glej preglednico 1 za razlago JIP parametrov.

Average differences in the JIP parameters of *Lemna minor* plants after seven day exposure to strong static magnetic field (SMP) compared to the control. Control (—), 3 experiments in strong static magnetic field (◆) are shown, ( $n = 9$ ). See Table 1 for explanation of the JIP parameters.



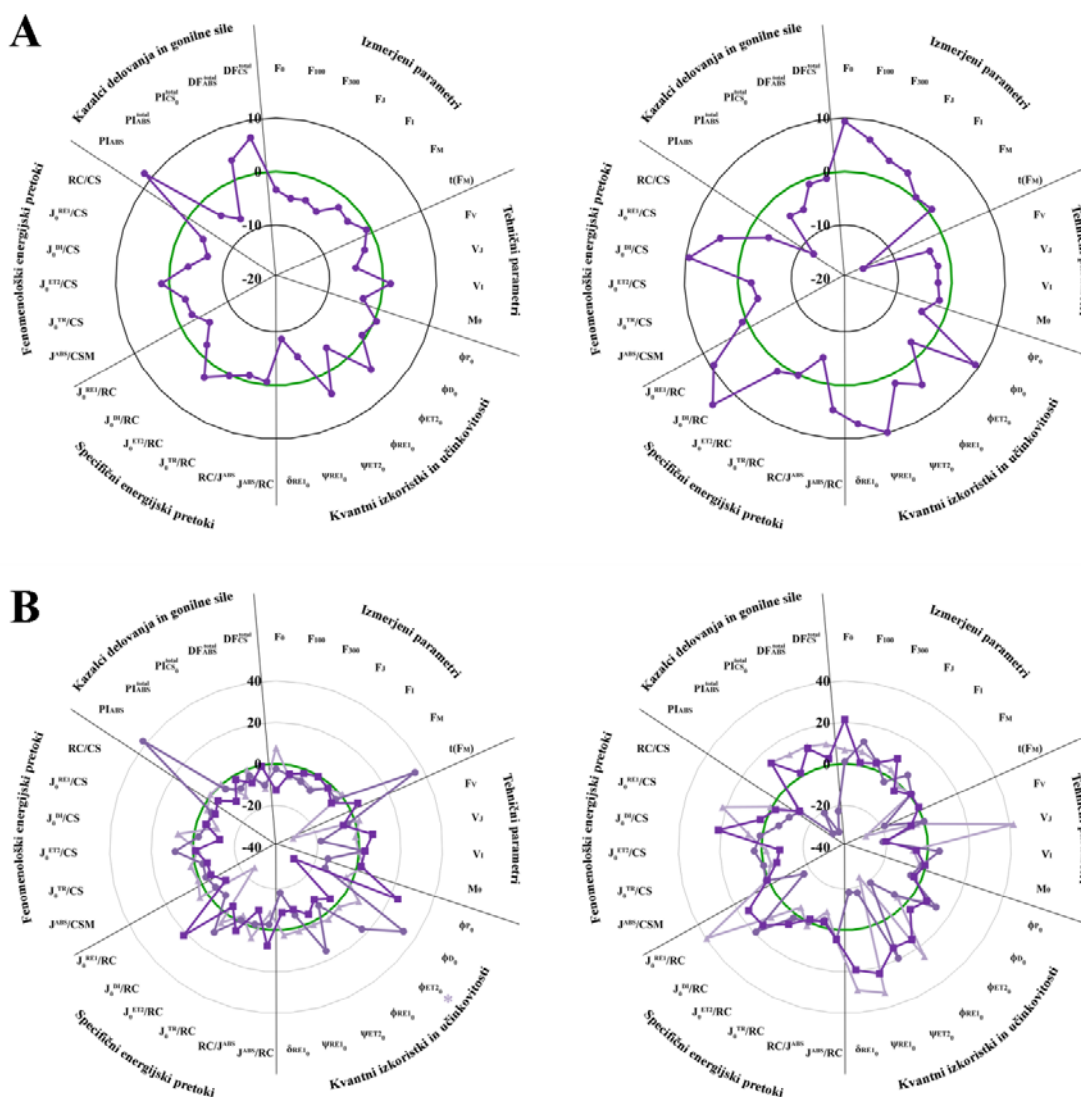
## PRILOGA J JIP PARAMETRI V PMPi

Prilagojene povprečne razlike parametrov JIP testa v primerjavi s kontrolo po prvem in drugem tednu izpostavitve nihajočemu magnetnemu polju z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi). Zgoraj prilagojene povprečne vrednosti 3 poskusov (skupaj  $n = 9$ ) (A), spodaj posamezni poskusi (B), vrednosti po prvem (levo) in drugem (desno) tednu izpostavitve: Kontrola (—), 3 poskusi v nihajočem magnetnem polju ( $\blacktriangle$  – PMPi 1,  $\bullet$  – PMPi 2,  $\blacksquare$  – PMPi 3), vsaka točka je povprečje 3 meritev. Glej preglednico 1 za razlago JIP parametrov.

Average differences in the JIP parameters of *Lemma minor* plants after seven day exposure (week 1 and 2) to changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies (PMPi) compared to the control. Adjusted average values for 3 experiments ( $n = 9$ ) (A), individual experiments (B) Control (—), 3 experiments in changing magnetic field ( $\blacktriangle$  – PMPi 1,  $\bullet$  – PMPi 1,  $\blacksquare$  – PMPi 1), each point represents the average of 3 measurements. See Table 1 for explanation of the JIP parameters.

### 1. teden

### 2. teden



## PRILOGA K

### JIP PARAMETRI PO IZPOSTAVITVI PMPi IN DKF IN OKREVANJEM

Prilagojene povprečne razlike ( $n = 3$ ) parametrov JIP testa rastlin izpostavljenih nihajočemu magnetnemu polju z domnevno zaviralnimi frekvencami (PMPi) v primerjavi z rastlinami kontrole pri treh različnih koncentracijah 3,5-diklorofenola (DKF; A – 0 mg/L; B – 1,5 mg/L; C – 2,5 mg/L). (1) po sedmih dneh izpostavitve DKF in (2) po sedmih dneh okrevanja. Kontrola (—); 0 mg/L DKF in izpostavitve PMPi (●); 1,5 mg/L DKF in izpostavitve PMPi (■); 2,5 mg/L DKF in izpostavitve PMPi (■). Glej preglednico 1 za razlago JIP parametrov.

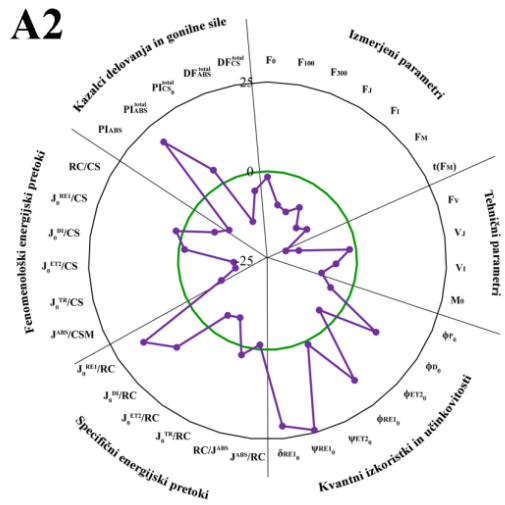
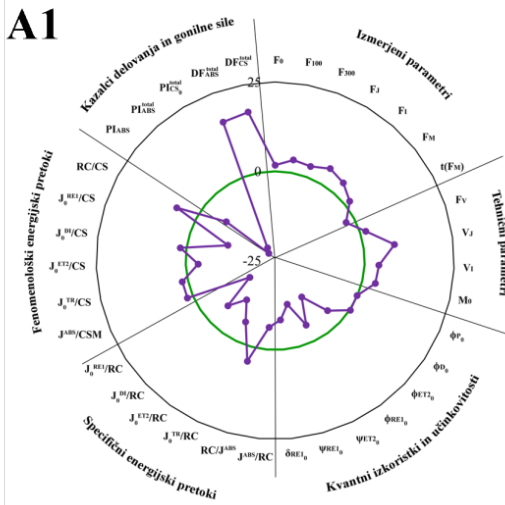
Adjusted average differences in the JIP parameters of *Lemna minor* plants in changing magnetic field with supposedly inhibitory frequencies (PMPi) compared to the control ( $n = 3$ ) for 3 different 3,5-dichlorophenol concentrations (DKF; A – 0 mg/L; B – 1,5 mg/L; C – 2,5 mg/L) after seven day exposure (1) and seven day recovery (2). Control (—); 0 mg/L DKF and exposure to PMPi (●); 1,5 mg/L DKF and exposure to PMPi (■); 2,5 mg/L DKF and exposure to PMPi (■). See Table 1 for explanation of the JIP parameters.



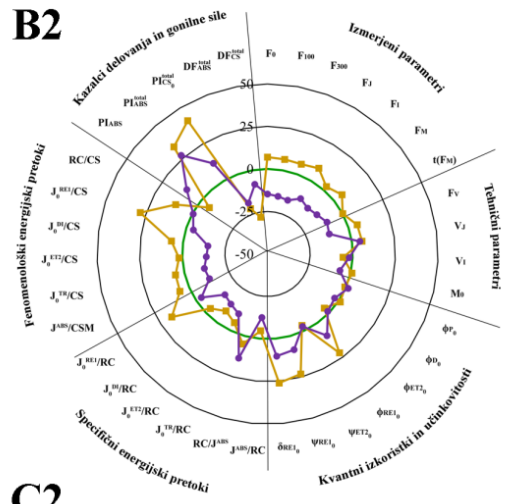
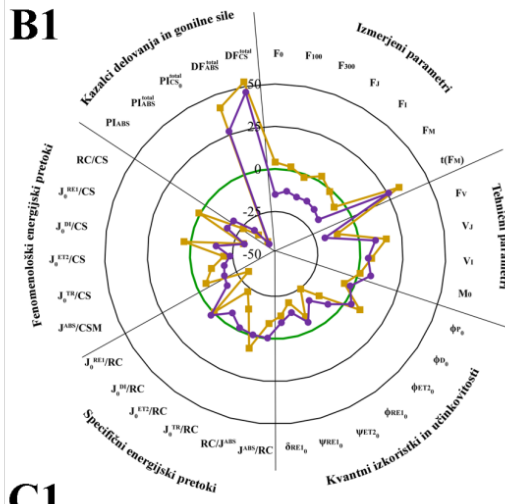
# IZPOSTAVITEV DKF

# OKREVANJE

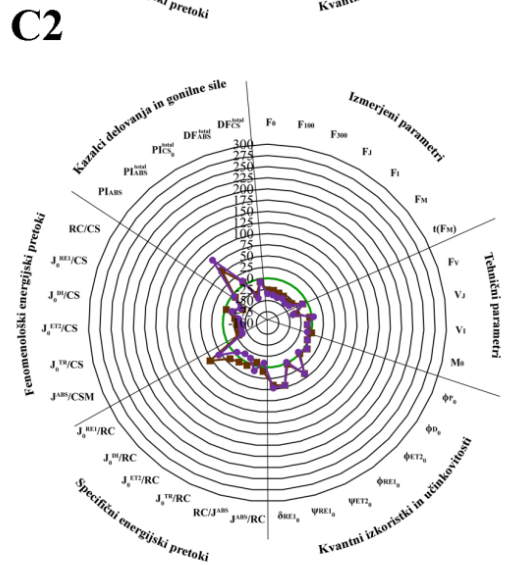
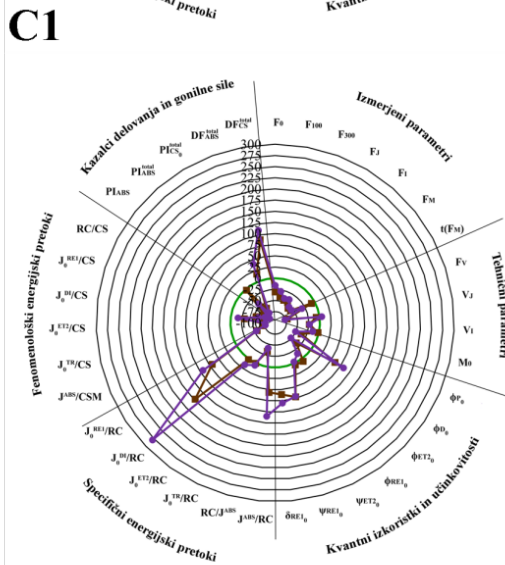
0 mg/L DKF



1,5 mg/L DKF



2,5 mg/L DKF



## PRILOGA L

### JIP PARAMETRI PO IZPOSTAVITVI PMPs

**Vpliv nihajočega magnetnega polja z domnevno spodbujevalnimi frekvencami (PMPs) in koncentracije giberelinske kisline v gojišču ( $GA_3$ ) na izbrane JIP parametre v popolnem dvofaktorskem modelu ANOVA po 14 dneh inkubacije.** Za vsak parameter so podani: število poskusnih enot ( $N$ ), stopinje prostosti za fiksni dejavnik ( $SP$ ),  $F$  statistika,  $p$ -vrednost in prilagojena  $p$ -vrednost (dvostranska  $p$ -vrednost s Holmovim popravkom za dejavnik v modelu kjer \* oz. \*\* označuje statistično značilno različen vpliv dejavnika za  $p < 0,05$  oz.  $p < 0,01$ ) glede na dejavnik v modelu ANOVA. sig. enak  $GA_3$  pa navaja koncentracijo  $GA_3$ , pri kateri so se rastline, izpostavljene PMPs in rastline kontrole statistično značilno razlikovale.

**Effect of the changing magnetic field with supposedly stimulatory frequencies (PMPs) at 3 different concentrations of  $GA_3$  on the selected JIP parameters in a mixed model ANOVA after 14 days of incubation.** For each parameter and factor in the ANOVA model, the number of experimental units ( $N$ ), degrees of freedom for the fixed factor ( $SP$ ),  $F$  statistics and two-sided Holm adjusted  $p$ -values (Pril.  $p$ -vrednost; \* and \*\* mark significant differences for  $p < 0.05$  and  $p < 0,01$  respectively) are given. sig. enak  $GA_3$  gives the  $GA_3$  concentration where post hoc test found significant difference between PMPs and control treatment.

Parameter	Dejavnik	N	SP	F	p- vrednost	Pril. p- vrednost	Sig. enak GA <sub>3</sub> (p < 0,05)
<i>F</i> <sub>0</sub>	PMPs	18	1	0,15	0,71	1,00	
	GA <sub>3</sub>	18	2	0,55	0,59	1,00	
	PMPs×GA <sub>3</sub>	18	2	3,36	0,07*	1,00	
<i>F</i> <sub>100</sub>	PMPs	18	1	0,08	0,79	1,00	
	GA <sub>3</sub>	18	2	0,44	0,65	1,00	
	PMPs×GA <sub>3</sub>	18	2	3,68	0,06	1,00	
<i>V</i> <sub>J</sub>	PMPs	18	1	6,90	0,02*	0,74	K vs. PMPs
	GA <sub>3</sub>	18	2	0,72	0,51	1,00	K 0 mg/L vs PMPs 0 mg/L
	PMPs×GA <sub>3</sub>	18	2	4,76	0,03*	0,90	PMPs 5mg/L vs PMPs 0 mg/L
<i>M</i> <sub>0</sub>	PMPs	18	1	4,44	0,06	1,00	
	GA <sub>3</sub>	18	2	0,24	0,79	1,00	
	PMPs×GA <sub>3</sub>	18	2	2,26	0,15	1,00	K 10 mg/L vs PMPs 10 mg/L
$\phi$ <i>P</i> <sub>0</sub>	PMPs	18	1	0,18	0,68	1,00	
	GA <sub>3</sub>	18	2	0,71	0,51	1,00	PMPs 0 mg/L vs PMPs 5 mg/L
	PMPs×GA <sub>3</sub>	18	2	5,46	0,02*	0,64	K 5 mg/L vs PMPs 5 mg/L
$\phi$ <i>D</i> <sub>0</sub>	PMPs	18	1	0,18	0,68	1,00	
	GA <sub>3</sub>	18	2	0,71	0,51	1,00	PMPs 0 mg/L vs PMPs 5 mg/L
	PMPs×GA <sub>3</sub>	18	2	5,46	0,02*	0,64	K 0 mg/L vs PMPs 0 mg/L
$\phi$ <i>ET</i> <sub>20</sub>	PMPs	18	1	5,11	0,04*	1,00	K vs PMPs
	GA <sub>3</sub>	18	2	0,00	1,00	1,00	
	PMPs×GA <sub>3</sub>	18	2	0,25	0,79	1,00	
$\psi$ <i>ET</i> <sub>20</sub>	PMPs	18	1	6,90	0,02*	0,74	K vs PMPs
	GA <sub>3</sub>	18	2	0,72	0,51	1,00	
	PMPs×GA <sub>3</sub>	18	2	4,76	0,03*	0,90	K 0 mg/L vs PMPs 0 mg/L
<i>JABS/RC</i>	PMPs	18	1	1,14	0,31	1,00	0 mg/L vs 10 mg/L
	GA <sub>3</sub>	18	2	3,59	0,06	1,00	K 0 mg/L vs PMPs 0 mg/L
	PMPs×GA <sub>3</sub>	18	2	16,35	0,00**	0,00**	K 0 mg/L vs K 5 mg/L; PMPs 0 mg/L vs (5 + 10) mg/L PMPs
<i>RC/JABS</i>	PMPs	18	1	0,19	0,67	1,00	
	GA <sub>3</sub>	18	2	1,85	0,20	1,00	K 0 mg/L vs PMPs 0 mg/L
	PMPs×GA <sub>3</sub>	18	2	11,61	0,00**	0,00**	PMPs 0 mg/L vs (5 + 10) mg/L PMPs
<i>J</i> <sub>0</sub> <i>TR/RC</i>	PMPs	18	1	2,51	0,14	1,00	0 mg/L vs 10 mg/L
	GA <sub>3</sub>	18	2	2,47	0,13	1,00	K 0 mg/L vs PMPs 0 mg/L
	PMPs×GA <sub>3</sub>	18	2	8,03	0,01**	0,34	PMPs 0 mg/L vs (5 + 10) mg/L PMPs
<i>J</i> <sub>0</sub> <i>ET2/RC</i>	PMPs	18	1	7,16	0,02*	0,74	K vs M
	GA <sub>3</sub>	18	2	2,26	0,15	1,00	K 0 mg/L vs PMPs 0 mg/L
	PMPs×GA <sub>3</sub>	18	2	8,39	0,01**	0,34	PMPs 0 mg/L vs (5 + 10) mg/L PMPs
<i>J</i> <sub>0</sub> <i>DI/RC</i>	PMPs	18	1	0,40	0,54	1,00	K 0 mg/L vs PMPs 0 mg/L
	GA <sub>3</sub>	18	2	2,62	0,11	1,00	K 5 mg/L vs PMPs 5 mg/L
	PMPs×GA <sub>3</sub>	18	2	13,38	0,00**	0,00*	PMPs 0 mg/L vs (5 + 10) mg/L PMPs
<i>J</i> <sub>0</sub> <i>REI/RC</i>	PMPs	18	1	0,58	0,46	1,00	
	GA <sub>3</sub>	18	2	1,91	0,19	1,00	
	PMPs×GA <sub>3</sub>	18	2	4,15	0,04*	1,00	PMPs 0 mg/L vs PMPs (5 + 10) mg/L
<i>J</i> <sub>0</sub> <i>DI/CS</i>	PMPs	18	1	0,15	0,71	1,00	
	GA <sub>3</sub>	18	2	0,55	0,59	1,00	
	PMPs×GA <sub>3</sub>	18	2	3,36	0,07	1,00	PMPs 0mg/L vs PMPs 5 mg/L
<i>RC/CS</i>	PMPs	18	1	0,01	0,94	1,00	
	GA <sub>3</sub>	18	2	0,96	0,41	1,00	PMPs 0 mg/L vs PMPs 10 mg/L
	PMPs×GA <sub>3</sub>	18	2	4,92	0,03*	0,90	K 0 mg/L vs PMPs 0 mg/L
<i>PI</i> <sub>ABS</sub>	PMPs	18	1	4,35	0,06	1,00	
	GA <sub>3</sub>	18	2	0,29	0,75	1,00	
	PMPs×GA <sub>3</sub>	18	2	2,00	0,18	1,00	K 10 mg/L vs. PMPs 10 mg/L

**PRILOGA M**  
**STOPNJE RASTI GLEDE NA NABOR FREKVENC PMP**

Vpliv nabora frekvenc nihajočega magnetnega polja (PMPi in PMPs) na stopnje rasti in fotokemično učinkovitost FSII rastlin *Lemna minor*. Prikazane so povprečne vrednosti za rastline kontrole in izpostavljene rastline (PMP) s pripadajočimi standardnimi napakami in prilagojenimi *p*-vrednostmi (Holmov popravek), dobljenimi z analizo mešanega modela ANOVA s frekvenco kot fiksnim dejavnikom.

**Growth rates and photochemical efficiency of PSII for *Lemna minor* plants at two different sets of frequencies of changing magnetic field (PMPi and PMPs).** Average values and standard error for control and PMP treatments are given. Pril. *p* are adjusted *p* values (Holm adjustment) from the mixed model ANOVA where frequency was modeled as a fixed factor.

Parameter	Frekv.	Kontrola		PMP		Pril. <i>p</i> -vrednosti
		Povp.	SE	Povp.	SE	
Stopnja rasti za št. stebelnih členkov	PMPi	0,28	0,01	0,28	0,01	0,23
	PMPs	0,30	0,02	0,31	0,02	
Stopnja rasti za skupno površ. steb. člen.	PMPi	0,28	0,03	0,29	0,03	0,74
	PMPs	0,31	0,03	0,32	0,03	
Potencialna fotokem. učinkovitost $F_V/F_M$	PMPi	0,77	0,00	0,76	0,00	0,25
	PMPs	0,62	0,01	0,60	0,01	
Dejanska fotokem. učinkovitost $Y(II)$	PMPi	0,69	0,01	0,69	0,01	0,44
	PMPs	0,50	0,02	0,45	0,02	

## PRILOGA N

### PRILAGOJENE P-VREDNOSTI ZA 37 JIP PARAMETROV

**Vpliv različnih magnetnih polj na JIP parametre.** Podane so izmerjene in prilagojene  $p$ -vrednosti za 37 parametrov v poskusih v zmanjšanem (MGP) in povečanem (VGP) geomagnetnem polju, močnem statičnem magnetnem polju (SMP) ter v dveh različnih setih frekvenc nihajočega magnetnega polja (PMPi in PMPs). Statistično značilno različne  $p$ -vrednosti so označene z rdečo.

**Effect of different magnetic fields on the JIP parameters.** Average measured and adjusted  $p$  values for 37 parameters are given. MGP – reduced geomagnetic field, VGP – enhanced geomagnetic field, SMP – strong static magnetic field, PMP – changing magnetic field. Statistically significant  $p$  values are written in red.

Parameter	Izmerjene $p$ -vrednosti					Benjamini-Yuketeli prilagojene $p$ -vrednosti				
	MGP	VGP	SMP	PMPi	PMPs	MGP	VGP	SMP	PMPi	PMPs
$F_V/F_M$	0,433	0,757	0,880	0,133	0,250	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$Y(II)$	0,312	0,016	0,821	0,144	0,863	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$F_0$ (50 $\mu$ s)	0,757	0,845	0,036	0,894	0,708	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$F_{100}$ (100 $\mu$ s)	0,800	0,909	0,073	0,945	0,786	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$F_{300}$ (300 $\mu$ s)	0,728	0,807	0,312	0,768	0,978	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$F_J$ (2 ms)	0,796	0,345	0,144	0,746	0,897	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$F_I$ (30 ms)	0,517	0,591	0,196	0,651	0,663	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$F_M$ (max)	0,654	0,490	0,333	0,511	0,603	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$t_{(FM)}$ v ms	0,565	0,591	0,637	0,506	0,301	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$F_V$	0,767	0,293	0,793	0,188	0,592	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$V_J$	0,865	0,073	0,709	0,717	0,022	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$V_I$	0,206	0,536	0,538	0,843	0,801	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$M_0$	0,803	0,995	0,171	0,954	0,057	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$\phi_{P0}$	0,922	0,215	0,274	0,151	0,681	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$\phi_{D0}$	0,922	0,215	0,274	0,151	0,681	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$\phi_{Ei20}$	0,848	0,405	0,546	0,267	0,043	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$\phi_{RE10}$	0,109	0,368	0,978	0,314	0,849	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$\psi_{ET20}$	0,865	0,073	0,709	0,717	0,022	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$\psi_{RE10}$	0,206	0,536	0,538	0,843	0,801	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$\delta_{RE10}$	0,707	0,132	0,523	0,627	0,446	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$J^{ABS}/RC$	0,886	0,314	0,472	0,530	0,307	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$RC/J^{ABS}$	0,815	0,218	0,421	0,673	0,669	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$J_0^{TR}/RC$	0,908	0,463	0,133	0,819	0,139	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$J_0^{ET2}/RC$	0,867	0,331	0,187	0,799	0,020	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$J_0^{D1}/RC$	0,892	0,231	0,881	0,414	0,538	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$J_0^{RE1}/RC$	0,220	0,973	0,835	0,822	0,461	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$J^{ABS}/CS_M$	0,654	0,490	0,333	0,511	0,603	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$J_0^{TR}/CS$	0,767	0,293	0,793	0,188	0,592	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$J_0^{ET2}/CS$	0,895	0,818	0,811	0,251	0,156	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$J_0^{D1}/CS$	0,757	0,843	0,036	0,894	0,708	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$J_0^{RE1}/CS$	0,406	0,345	0,792	0,340	0,572	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$RC/CS$	0,827	0,063	0,326	0,368	0,938	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$PI_{ABS}$	0,670	0,596	0,634	0,388	0,059	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$PI_{ABS}$ total	0,115	0,071	0,712	0,303	0,572	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$PI_{CS0}$ total	0,497	0,089	0,799	0,267	0,410	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$DF_{ABS}$ total	0,025	0,191	0,880	0,623	0,652	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$DF_{CS}$ total	0,290	0,178	0,725	0,500	0,562	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

**PRILOGA O**  
**MNOGOTERE PRIMERJAVE S PAKETOM »mutoss«**

**SINTAKSA R**

(# pomeni, da ne zaženi vrstice)

```
##### PRIPRAVA R #####
```

```
## Najprej nastavi mapo za uvoz/izvoz (klikni na okno R Console; nato pa meni File->Change dir)
```

```
## LOAD LIBRARY (če program ne najde paketa, ga je potrebno še namestiti)
```

```
library(mutoss)
```

```
library(mutossGUI)
```

```
library(gdata)
```

```
##### PRIPRAVA PODATKOV #####
```

```
## Uvoz xls datoteke (datoteka mora biti v nastavljeni mapi; podatki morajo biti na prvem listu)
```

```
mydata = read.xls("ime_datoteke.xls")
```

```
list(mydata)
```

```
parameter <- mydata[, "naslov stolpca z imeni parametrov"]
```

```
parameter
```

```
pvector <- mydata[, "naslov stolpca s p-vrednostmi"]
```

```
pvector
```

```
## Nastavi vrednost alpha oz q (za FWER ali FDR); uporabi se isti ukaz
```

```
alpha <- 0.05
```

```
##### 4 TESTI HKRATI (Bonferroni, Holm, Benjamini-Hochberg, Benjamini-Yekutieli #
```

```
## Hiter prelet rezultatov
```

```
resultBONF <- bonferroni(pvector, alpha)
```

```
resultHOLM <- holm(pvector, alpha)
```

```
resultBH <- BH(pvector, alpha)
```

```

resultBY <- BY(pvector, alpha)

## Priprava tabele z »adjusted P values« in »rejected list« in izvoz v txt datoteko

adjPValuesBONF <- resultBONF$adjPValues
rejectedBONF <- resultBONF$rejected
adjPValuesHOLM <- resultHOLM$adjPValues
rejectedHOLM <- resultHOLM$rejected
adjPValuesBH <- resultBH$adjPValues
rejectedBH <- resultBH$rejected
adjPValuesBY <- resultBY$adjPValues
rejectedBY <- resultBY$rejected

df_adjPV <- data.frame(parameter,pvector,adjPValuesBONF,rejectedBONF,
adjPValuesHOLM,rejectedHOLM,adjPValuesBH,rejectedBH,adjPValuesBY,rejectedBY)
print(df_adjPV)

write.table(df_adjPV,file = "adjPValues.txt")

## Priprava tabele s kritičnimi p-vrednostmi (odvisna zgolj od števila p-vrednosti) in izvoz
v txt
## Pazi! Te vrednosti so že razvrščene od najmanjše do največje, medtem ko adjusted p
values niso. Preden združuješ, je potrebno adj. p values razvrstiti od najmanjše do največje
(najbolje po uvozu v Excel).

critPValuesHOLM <- resultHOLM$criticalValues
critPValuesBH <- resultBH$criticalValues
critPValuesBY <- resultBY$criticalValues

df_critPV <- data.frame(critPValuesHOLM,critPValuesBH,critPValuesBY)
print(df_critPV)
write.table(df_critPV,file = "criticalPValues.txt")

##### POSAMEZNI TESTI #####

## The classical Bonferroni correction (strong FWER, arbitrary dependence of the input p-
values)

resultBONF <- bonferroni(pvector, alpha)

```

```
resultBONF
```

```
adjPValuesBONF <- resultBONF$adjPValues
```

```
rejectedBONF <- resultBONF$rejected
```

```
df_adjPV_BONF <- data.frame(parameter,pvector,adjPValuesBONF,rejectedBONF)
```

```
print(df_adjPV_BONF)
```

```
write.table(df_adjPV_BONF,file = "adjPValuesBONF.txt")
```

```
## Holm's (1979) step-down-procedure (strong FWER under arbitrary dependency)
```

```
resultHOLM <- holm(pvector, alpha)
```

```
resultHOLM
```

```
adjPValuesHOLM <- resultHOLM$adjPValues
```

```
critPValuesHOLM <- resultHOLM$criticalValues
```

```
rejectedHOLM <- resultHOLM$rejected
```

```
df_adjPV_HOLM <- data.frame(parameter,pvector,adjPValuesHOLM,rejectedHOLM)
```

```
print(df_adjPV_HOLM)
```

```
write.table(df_adjPV_HOLM,file = "adjPValuesHOLM.txt")
```

```
df_critPV_HOLM <- data.frame(critPValuesHOLM)
```

```
print(df_critPV_HOLM)
```

```
write.table(df_critPV_HOLM,file = "criticalPValuesHOLM.txt")
```

```
## Benjamini-Hochberg (1995) linear step-up procedure (FDR; stochastically independent  
or satisfy positive regression dependency)
```

```
resultBH <- BH(pvector, alpha)
```

```
resultBH
```

```
adjPValuesBH <- resultBH$adjPValues
```

```
critPValuesBH <- resultBH$criticalValues
```

```
rejectedBH <- resultBH$rejected
```

```
df_adjPV_BH <- data.frame(parameter,pvector,adjPValuesBH,rejectedBH)
```

```
print(df_adjPV_BH)
```



```
write.table(df_adjPV_BH,file = "adjPValuesBH.txt")

df_critPV_BH <- data.frame(critPValuesBH)
print(df_critPV_BH)
write.table(df_critPV_BH,file = "criticalPValuesBH.txt")

## Benjamini-Yekutieli (2001) step-up procedure (FDR; for any dependency structure)

resultBY <- BY(pvector, alpha)
resultBY

adjPValuesBY <- resultBY$adjPValues
critPValuesBY <- resultBY$criticalValues
rejectedBY <- resultBY$rejected

df_adjPV_BY <- data.frame(parameter,pvector,adjPValuesBY,rejectedBY)
print(df_adjPV_BY)
write.table(df_adjPV_BY,file = "adjPValuesBY.txt")

df_critPV_BY <- data.frame(critPValuesBY)
print(df_critPV_BY)# LOAD LIBRARY
```