

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Aleksandra STEVANOVIĆ

**ALELOPATSKI UČINKI NAVADNE (*Solidago
virgaurea*) IN ORJAŠKE ZLATE ROZGE (*S. gigantea*)**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2012

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Aleksandra STEVANOVIĆ

**ALELOPATSKI UČINKI NAVADNE (*Solidago virgaurea*) IN
ORJAŠKE ZLATE ROZGE (*S. gigantea*)**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**ALLELOPATHIC EFFECTS OF GOLDENROD (*Solidago virgaurea*)
AND GIANT GOLDENROD (*S. gigantea*)**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2012

Diplomsko delo je zaključek Univerzitetnega študija biologije. Opravljeno je bilo na Katedri za botaniko in fiziologijo rastlin Oddelka za biologijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za biologijo je za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Marjano Regvar in dr. Matevža Likarja za somentorja.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Alenka GABERŠČIK
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

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

Član: dr. Matevž LIKAR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Član: doc. dr. Jasna DOLENC KOCE
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Datum zagovora: 9.7.2012

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

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Aleksandra Stevanović

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 581.1:547.56(043.2)=163.6
KG	navadna zlata rozga/orjaška zlata rozga/fenoli/alelopatija/kalitev/rast
AV	STEVANOVIĆ, Aleksandra
SA	REGVAR, Marjana (mentor)/LIKAR, Matevž (somentor)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Večna pot 111
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo
LI	2012
IN	ALELOPATSKI UČINKI NAVADNE (<i>Solidago virgaurea</i>) IN ORJAŠKE ZLATE ROZGE (<i>S. gigantea</i>)
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	IX, 41 str., 1 pregl., 23 sl., 8 pril., 42 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	Preučevali smo dve vrsti zlate rozge, avtohtono navadno zlato rozgo (<i>Solidago virgaurea</i>) in invazivno orjaško zlato rozgo (<i>S. gigantea</i>). Ugotavljali smo ali zalivanje z vodnimi izvlečki listov in korenin obeh vrst zlatih rozg, v razponu od 0,6 % do 4,0 % koncentracije, vpliva na hitrost in uspešnost kalitve semen ter uspevanje kalic ovčje bilnice (<i>Festuca ovina</i>) in črne detelje (<i>Trifolium pratense</i>). Zanimalo nas je tudi ali se učinki izvlečkov obeh vrst zlate rozge razlikujejo in ali so različni učinki posledica razlik v profilih in vsebnosti topnih fenolov v izvlečkih. Z izvlečki smo zalili filtrirni papir, na katerih so kalila semena, in substrat, v katerem so rasle kalice. Ločitev topnih fenolov v izvlečkih smo izvedli z visokotlačno tekočinsko kromatografijo, njihovo vsebnost pa smo določili spektrofotometrično. Topnih fenolov je bilo v izvlečkih listov več kot v izvlečkih korenin. Tako v izvlečkih listov kot korenin pa je več topnih fenolov vsebovala orjaška zlata rozga. Izvlečki so se med sabo razlikovali tudi po profilih fenolov. Kalitev semen ovčje bilnice in črne detelje so zavirali vsi izvlečki. Na ovčjo bilnico so vsi izvlečki delovali enako, na črno deteljo pa ne. Razlik med učinki izvlečkov nismo mogli pripisati razlikam v fenolnih profilih in ne različnim vsebnostim topnih fenolov. Sklepamo, da so opaženi vplivi izvlečkov odraz katerih drugih sekundarnih metabolitov. Na rast kalic izvleček listov navadne zlate rozge ni vplival, izvleček listov orjaške zlate rozge pa je v enem primeru pospešil rast črne detelje. Izboljšano rast bi lahko razložili s prisotnostjo katerega izmed fenolov, ki jih je v izvlečkih listov orjaške zlate rozge več kot v izvlečkih listov navadne zlate rozge, vendar bi za potrditev tega morali narediti dodatne poskuse.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn
 DC UDC 581.1:547.56(043.2)=163.6
 CX goldenrod/giant goldenrod/phenols/allelopathy/germination/growth
 AU STEVANOVIĆ, Aleksandra
 AA REGVAR, Marjana (supervisor)/LIKAR, Matevž (co-supervisor)
 PP SI-1000 Ljubljana, Večna pot 111
 PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Biology
 PY 2012
 TI ALLELOPATHIC EFFECTS OF GOLDENROD (*Solidago virgaurea*) AND GIANT GOLDENROD (*S. gigantea*)
 DT Graduation Thesis (University studies)
 NO IX, 41 p., 1 tab., 23 fig., 8 ann., 42 ref.
 LA sl
 AL sl/en
 AB We were studying two species of goldenrods, the autochthon goldenrod (*Solidago virgaurea*) and the invasive giant goldenrod (*S. gigantea*). We tested the effects of aqueous extracts of leaf and root of both goldenrods on seed germination and seedling growth of sheep's fescue (*Festuca ovina*) and red clover (*Trifolium pratense*). We were also trying to determine whether different effects of extracts are consequences of differences in plant phenol contents and profiles. Extracts were used to water filter papers, on which seeds germinated, and substrate, in which seedlings grew. HPLC was used to separate phenols and their content was determined using spectrophotometry. Higher phenol contents were found in leaf extracts than in root extracts. In both organs was phenol content higher in giant goldenrod than in goldenrod. Significant differences in phenol profiles among extracts were also observed. Seed germination was inhibited by all extracts. Sheep's fescue seeds were inhibited equally by all extracts while red clover seeds were not. Inhibited germination couldn't be attributed to different phenol contents or profiles. Therefore we assume that some other secondary metabolite(s) may have caused the observed inhibitory effects. Seedling growth was unaffected by goldenrod extract but red clover seedling growth was promoted in one case by giant goldenrod extract. Promoted seedling growth could be linked to any of the phenols that were present in higher contents in giant goldenrod extract than in goldenrod extract but more research is needed to confirm this.

KAZALO VSEBINE

		str.
	Ključna dokumentacijska informacija	III
	Key words documentation	IV
	Kazalo vsebine	V
	Kazalo preglednic	VII
	Kazalo slik	VIII
	Kazalo prilog	IX
1	UVOD	1
2	PREGLED OBJAV	2
2.1	ZLATA ROZGA (<i>Solidago</i> L.)	2
2.1.1	Navadna zlata rozga (<i>Solidago virgaurea</i> L.)	2
2.1.2	Orjaška zlata rozga (<i>Solidago gigantea</i> Aiton)	3
2.2	INVAZIVNOST	4
2.2.1	Tujerodna vrsta	4
2.2.2	Invazivna vrsta	5
2.2.3	Dovzetnost rastlinskih združb za vdor invazivnih rastlin	6
2.2.4	Posledice invazije	6
2.3	ALELOPATIJE	6
2.3.1	Alelopatske molekule	7
2.3.2	Pot skozi medij	7
2.3.3	Učinki	8
2.3.4	Pomen v ekosistemih	8
2.4	FENOLI	9
2.4.1	Enostavni fenoli	9
2.4.2	Flavonoidi	9
2.4.3	Tanini	10
2.4.4	Lignin	10
2.4.5	Sinteza fenolov	11
3	MATERIAL IN METODE	12
3.1	RASTLINSKI MATERIAL	12
3.2	METODE DELA	12
3.2.1	Priprava izvlečkov	12
3.2.2	Meritev topnih fenolov v izvlečkih	12
3.2.3	Analiza izvlečkov z visokotlačno tekočinsko kromatografijo (HPLC)	13
3.2.4	Vpliv izvlečkov na kalitev semen	13
3.2.5	Vpliv izvlečkov listov na rast kalic	14
3.2.6	Statistične metode	14
4	REZULTATI	15
4.1	ANALIZA IZVLEČKOV	15

4.1.1	Koncentracija topnih fenolov	15
4.1.2	Ločitev fenolov	16
4.2	VPLIV IZVLEČKOV ZLATE ROZGE NA KALITEV SEMEN	21
4.2.1	Vpliv izvlečkov na kalitev črne detelje	21
4.2.2	Vpliv izvlečkov na kalitev ovčje bilnice	25
4.2.3	Primerjava vplivov izvlečkov na črno deteljo in ovčjo bilnico	29
4.3	VPLIV IZVLEČKOV LISTOV NA RAST KALIC	32
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	33
5.1	RAZPRAVA	33
5.1.1	Analiza fenolnih snovi v izvlečkih korenin in listov	33
5.1.2	Kalitev semen	34
5.1.3	Rast kalic	35
5.2	SKLEPI	36
6	POVZETEK	37
7	VIRI	39
	ZAHVALA	
	PRILOGE	

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
pregl. 1 Vpliv različnih koncentracij izvlečkov listov in korenin navadne in orjaške zlate rozge na kalitev semen črne detelje in ovčje bilnice.	29

KAZALO SLIK

	str.	
sl. 1	Navadna zlata rozga, socvetje.	2
sl. 2	Navadna zlata rozga, cele rastline.	2
sl. 3	Orjaška zlata rozga, socvetje.	3
sl. 4	Orjaška zlata rozga, cele rastline.	3
sl. 5	Umeritvena krivulja za določitev vsebnosti topnih fenolov v vodnih izvlečkih listov in korenin zlate rozge.	13
sl. 6	Koncentracija topnih fenolov v izvlečkih listov in korenin navadne in orjaške zlate rozge.	15
sl. 7	Kromatogram vodnega izvlečka listov in korenin navadne zlate rozge.	16
sl. 8	Kromatogram vodnega izvlečka listov in korenin orjaške zlate rozge.	17
sl. 9	Kromatogram katehina in ferulne kisline.	18
sl. 10	Profili fenolov in njihove vsebnosti izražene kot površine vrhov kromatogramov izvlečkov listov in korenin navadne in orjaške zlate rozge.	19
sl. 11	Deleži fenolov s posameznimi retencijskimi časi v izvlečkih listov in korenin navadne in orjaške zlate rozge.	20
sl. 12	Vpliv izvlečka listov navadne zlate rozge na kalitev semen črne detelje.	21
sl. 13	Vpliv izvlečka korenin navadne zlate rozge na kalitev semen črne detelje.	22
sl. 14	Vpliv izvlečka listov orjaške zlate rozge na kalitev semen črne detelje.	23
sl. 15	Vpliv izvlečka korenin orjaške zlate rozge na kalitev semen črne detelje.	24
sl. 16	Vpliv izvlečka listov navadne zlate rozge na kalitev semen ovčje bilnice.	25
sl. 17	Vpliv izvlečka korenin navadne zlate rozge na kalitev semen ovčje bilnice.	26
sl. 18	Vpliv izvlečka listov orjaške zlate rozge na kalitev semen ovčje bilnice.	27
sl. 19	Vpliv izvlečka korenin orjaške zlate rozge na kalitev semen ovčje bilnice.	28
sl. 20	Deleži kalečih semen črne detelje, zalitih z različnimi koncentracijami izvlečka korenin in listov navadne in orjaške zlate rozge ter prikaz polovičnih efektivnih doz, 3. dan po imbibiciji.	30
sl. 21	Deleži kalečih semen ovčje bilnice, zalitih z različnimi koncentracijami izvlečka korenin in listov navadne in orjaške zlate rozge ter prikaz polovičnih efektivnih doz, 3. dan po imbibiciji.	31
sl. 22	Biomasa kalic črne detelje in ovčje bilnice, zalitih z 1 % izvlečkom listov navadne in orjaške zlate rozge. Prva ponovitev poskusa.	32
sl. 23	Biomasa kalic črne detelje in ovčje bilnice, zalitih z 1 % izvlečkom listov navadne in orjaške zlate rozge. Druga ponovitev poskusa.	32

KAZALO PRILOG

- pril. A Vpliv izvlečka listov navadne zlate rozge na kalitev semen črne detelje.
- pril. B Vpliv izvlečka korenin navadne zlate rozge na kalitev semen črne detelje.
- pril. C Vpliv izvlečka listov orjaške zlate rozge na kalitev semen črne detelje.
- pril. Č Vpliv izvlečka korenin orjaške zlate rozge na kalitev semen črne detelje.
- pril. D Vpliv izvlečka listov navadne zlate rozge na kalitev semen ovčje bilnice.
- pril. E Vpliv izvlečka korenin navadne zlate rozge na kalitev semen ovčje bilnice.
- pril. F Vpliv izvlečka listov orjaške zlate rozge na kalitev semen ovčje bilnice.
- pril. G Vpliv izvlečka korenin orjaške zlate rozge na kalitev semen ovčje bilnice.

1 UVOD

Rastline iz rodu zlata rozga (*Solidago* L.) rastejo v Evropi, Ameriki, Afriki in Aziji (Wit, 1978). Med predstavniki tega rodu najdemo v Sloveniji tako avtohtone vrste, kot je navadna zlata rozga (*Solidago virgaurea* L.), kot tudi invazivne tujerodne vrste, kot je npr. orjaška zlata rozga (*Solidago gigantea* Aiton) (Strgulc Krajšek, 2009). Slednje povzročajo spremembe v okolju, ogrožajo zdravje ljudi, gospodarstvo in/ali biotsko raznovrstnost (Kus Veenvliet in Veenvliet, 2009).

Eden od možnih mehanizmov invazije je sposobnost vrste, da sebi v prid spremeni značilnosti ekosistema (Gurevitch in sod., 2002), kar lahko stori z izločanjem alelopatskih snovi v okolje. Te lahko spremenijo lastnosti prsti, vplivajo na populacije talnih organizmov in na mnoge procese v okoliških rastlinah, med drugim na kalitev, rast, preživetje in razmnoževanje (Rizvi in sod., 1992; Lovett in Ryuntyu, 1992). V okolje se izločajo iz korenin, z razkrojem nad- in podzemnih delov rastlin ter s hlapenjem in izpiranjem z listov. Vse znane spojine z alelopatskimi učinki delimo na terpene, steroide, alkaloidne, organske cianide in fenole. Vse naštetje so rastlinski sekundarni metaboliti (Whittaker in Feeny, 1971).

Z našo nalogo smo želeli ugotoviti ali vodni izvlečki listov in korenin navadne in orjaške zlate rozge vplivajo na hitrost in uspešnost kalitve semen ter uspevanje kalic izbranih avtohtonih vrst. Ugotoviti smo želeli tudi ali se učinki izvlečkov navadne in orjaške zlate rozge razlikujejo ter ali so različni učinki posledica razlik v profilih in vsebnostih topnih fenolov v izvlečkih.

Pri našem delu smo postavili naslednje delovne hipoteze:

- 1.) Pričakujemo razlike med vsebnostmi in profili fenolov v izvlečkih korenin in listov navadne in orjaške zlate rozge.
- 2.) Pričakujemo, da bo zalivanje z izvlečki vplivalo na hitrost in uspešnost kalitve semen črne detelje in ovčje bilnice.
- 3.) Predvidevamo, da bomo opazili razlike med učinki izvlečkov orjaške zlate rozge in navadne zlate rozge.
- 4.) Pričakujemo razlike v učinkovitosti izvlečkov korenin in listov pri navadni in pri orjaški zlati rozgi.
- 5.) Domnevamo, da bodo alelopatske snovi v izvlečkih delovale tudi na rast in razvoj kalic izbranih avtohtonih vrst.
- 6.) Domnevamo, da bo črna detelja (dvokaličnica) bolj občutljiva na izvlečke od ovčje bilnice (enokaličnica).

2 PREGLED OBJAV

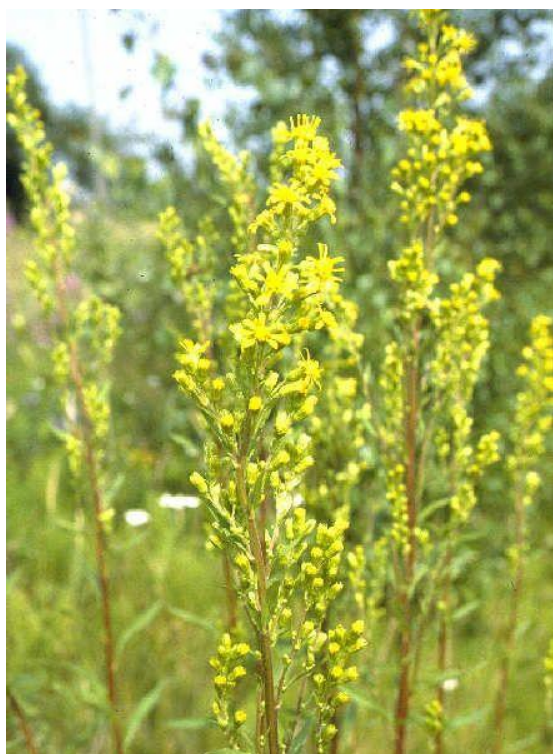
2.1 ZLATA ROZGA (*Solidago* L.)

Rod zlata rozga uvrščamo v družino nebinovk (*Asteraceae*) (Wraber, 1999), ki je razširjena po vsem svetu. Po številu vrst je najobsežnejša med dvokaličnicami – število vrst je ocenjeno na 20.000 (Wit, 1978). Značilnost nebinovk je, da ima cvetove združene v socvetja, imenovana koški (Wraber, 1999). Košek ima videz enega samega cveta, ta vtis pa stopnjuje ovojek, ki je sestavljen iz zelenih ovršnih listov in ki obdaja socvetje tako, kot navadno obdaja zelena čaša cvetni venec (Wit, 1978).

Skoraj vse vrste zlate rozge rastejo v Ameriki, le nekatere v Evropi in Aziji. Med sabo se zelo lahko križajo, mnoge tudi težko medsebojno ločimo. Točno število vrst je težko navesti, verjetno pa jih je okrog 130. Zlate rozge imajo v koških dve vrsti cvetov – na robu socvetja so jezičasti, v sredini pa cevasti cvetovi (Wit, 1978).

V Sloveniji rastejo 3 vrste: navadna zlata rozga (*Solidago virgaurea* L.) (sl. 1 in 2), kanadska zlata rozga (*Solidago canadensis* L.) in orjaška zlata rozga (*Solidago gigantea* Aiton) (sl. 3 in 4) (Wraber, 1999).

2.1.1 Navadna zlata rozga (*Solidago virgaurea* L.)



Slika 1. Navadna zlata rozga, socvetje.
 (www.henriettesherbal.com)



Slika 2. Navadna zlata rozga, cele rastline.
 (www.henriettesherbal.com)

Solidago virgaurea L., navadna zlata rozga, raste divje v Evropi, severni Afriki, Severni Ameriki in severni Aziji do 71° severne zemljepisne širine. V Sloveniji je zelo pogosta (Wit, 1978) in velja za avtohtono (Rastline – invazivne ...). Cvetove v koških ima rumene barve, koški pa so na vrhu stebela združeni v ozek grozd (Wit, 1978). Navadna zlata rozga je hemikriptofit, kar pomeni, da ob koncu rastne sezone nadzemni deli rastline odmrejo, brsti pa, zaščiteni z odmrli deli in snegom, prezimijo na površini tal (Wraber, 1999).

V Sloveniji raste dve podvrsti: subsp. *virgaurea* in subsp. *minuta* (L.) Arcangeli [*S. alpestris* Waldst. & Kit. ex Willd., *S. virgaurea* L. subsp. *alpestris* (Waldst. & Kit. ex Willd.) Hayek] (Wraber, 1999).

Solidago virgaurea subsp. *virgaurea*, navadna zlata rozga, raste po celi Sloveniji v svetlih gozdovih, na posekah, kamnitih in grmovnatih mestih od nižine do subalpinskega pasu. Koške ima široke 10 do 15 mm, združeni pa so v sestavljen grozd. Steblo je razraslo in visoko 30 do 100 cm. Cveti od julija do oktobra (Wraber, 1999).

Solidago virgaurea subsp. *minuta*, planinska zlata rozga, raste na alpskem in dinarskem območju na travnikih in pašnikih, med rušjem in grmovjem ter v svetlih gozdovih v montanskem in subalpinskem pasu. Njeni koški so široki 15 do 20 mm in združeni v enostavne, redkeje v sestavljene grozde. Steblo je visoko do 20 cm in večinoma nerazraslo. Cveti od julija do septembra (Wraber, 1999).

2.1.2 Orjaška zlata rozga (*Solidago gigantea* Aiton)



Slika 3. Orjaška zlata rozga, socvetje. (www.henriettesherbal.com) Slika 4. Orjaška zlata rozga, cele rastline. (www.discoverlife.org)

Solidago gigantea Aiton [*S. gigantea* Aiton subsp. *serotina* (O. Kuntze) Mc Neill], orjaška zlata rozga, izvira iz Severne Amerike (Wraber, 1999). Je zelnata trajnica. Zraste 30 do

280 cm visoko. Steblo ima golo in v celoti olistano. Cvetove ima rumene barve (Strgulc Krajšek, 2009). Koški so razvrščeni večinoma enostransko, redkeje združeni v pakobul. Tako kot navadna je tudi orjaška zlata rozga hemikriptofit (Wraber, 1999).

V Severni Ameriki, kjer so njena naravna nahajališča, jo najdemo kot diploid, tetraploid in heksaploid, redko tudi triploid in pentaploid (Schlaepfer in sod., 2008). Zaradi tega nekateri avtorji vrsto delijo v tri ločene taksone; diploid imenujejo *S. gigantea* Aiton, tetraploid *S. serotina* Aiton in heksaploid *S. shinnersii* (Beaudry) Beaudry (Strgulc Krajšek, 2009). Schlaepfer in sod. (2008) navajajo, da v Evropi najdemo le tetraploide, Strgulc Krajšek (2009) pa, da so v Evropi poleg tetraploidov prisotni tudi di- in heksaploidi. V Severni Ameriki orjaška zlata rozga uspeva predvsem na bogatih, vlažnih tleh, na dobro osvetljenih mestih. V Sloveniji glede rastišč ni zahtevna. Ustrezajo ji različni tipi, ne glede na vlažnost prsti, količino dušika v tleh, zgradbo tal ali osvetljenost. Najdemo jo na vlažnih bregovih voda, na gozdnih robovih, ob cestah, železnicah in drugih ruderalnih mestih (Strgulc Krajšek, 2009).

Vrsta je žužkocvetna (Strgulc Krajšek, 2009) in cveti od avgusta do oktobra (Wraber, 1999). Rastline po oploditvi tvorijo velike količine plodov, ki se z vetrom širijo na velike razdalje. Razmnožuje se tudi vegetativno. Vegetativnemu razmnoževanju služijo dolge in trpežne korenike iz katerih zrastejo novi poganjki. Na ta način tvori obsežne in goste sestoje, ki so trajni, v njih pa ne more uspevati nobena druga rastlinska vrsta. Na večje razdalje se lahko širi tudi z majhnimi delčki korenike, katere voda ali drugi prenašalci prenesejo na nova mesta, kjer se hitro ukoreninijo in zasnujejo nov sestoj (Strgulc Krajšek, 2009).

V Evropo so jo kot okrasno rastlino prinesli v 18. stoletju. Približno 100 let kasneje se je začela širiti z vrtov v naravo. Hitrost širjenja je ocenjena na 910 km²/leto. Prvi podatek o pojavljanju vrste v Sloveniji je iz leta 1852 (Strgulc Krajšek, 2009).

Pri nas velja za invazivno vrsto. V Severni Ameriki njeno prekomerno širjenje dobro nadzorujejo različne žuželke, ki se z njo hranijo. V Evropi teh rastlinojedov ni ali pa imajo zelo majhen vpliv. Tu bi širjenje populacij lahko ustavili z redno in pravočasno košnjo, s čimer bi se izčrpale zaloge hranil v korenikah in rastline bi propadle (Strgulc Krajšek, 2009).

2.2 INVAZIVNOST

2.2.1 Tujerodna vrsta

Tujerodna vrsta je vrsta, podvrsta ali takson nižje kategorije, ki se nahaja izven območja (pretekle ali sedanje) naravne razširjenosti oz. območja, ki bi ga lahko dosegla z naravnim

širjenjem. To vključuje katerikoli del organizma, ki lahko preživi in je sposoben razmnoževanja (npr. spolne celice, semena, jajca) (Kus Veenvliet in Veenvliet, 2009).

Številne so namerno naselili na nova območja z namenom, da bi se tam ustalile, človek pa bi imel od njih določeno korist. Druge se naseli nenamerno. Na novo območje se jih pripelje s transportnimi sredstvi, embalažo ali osebno prtljago. Nenamerne naselitve se zgodijo tudi zaradi odstranjene geografske ovire (npr. izgradnja mostov ter rečnih in morskih kanalov) (Kus Veenvliet in Veenvliet, 2009).

Večina tujerodnih organizmov v novem okolju ne preživi, bodisi ker se novemu okolju ne morejo prilagoditi ali pa je prisotnih premalo osebkov za uspešno razmnoževanje (Kus Veenvliet in Veenvliet, 2009).

Nekatere vrste lahko v novem okolju ostanejo dalj časa, take imenujemo prehodne tujerodne vrste. Prehodna tujerodna vrsta je tujerodna vrsta, ki se na nekem območju pojavlja le občasno. Lahko se celo občasno razmnožuje, vendar ne tvori trajnih populacij in se vzdržuje le s ponovnimi naselitvami (Kus Veenvliet in Veenvliet, 2009).

Posamezne vrste se postopoma prilagodijo na novo okolje. Prilagajanje lahko traja od nekaj let (Kus Veenvliet in Veenvliet, 2009) do več kot sto let (Gurevitch in sod., 2002). Takim vrstam rečemo naturalizirane vrste. Naturalizirana vrsta je tujerodna vrsta, ki se v novem okolju redno razmnožuje in samostojno, brez posredovanja človeka, vzdržuje populacije, vendar v okolju še ne povzroča zaznavne škode (Kus Veenvliet in Veenvliet, 2009).

2.2.2 Invazivna vrsta

Nekatere naturalizirane vrste lahko sčasoma postanejo invazivne. Invazivna tujerodna vrsta je tujerodna vrsta, ki se je ustalila in povzroča spremembe v okolju in ogroža zdravje ljudi, gospodarstvo in/ali domorodno biotsko raznovrstnost (Kus Veenvliet in Veenvliet, 2009). Vrsta lahko postane invazivna tudi v domačem okolju (Gurevitch in sod., 2002).

Za mnoge invazivne rastline je značilna hitra rast in razmnoževanje, učinkovito vegetativno razmnoževanje, cvetenje v drugem obdobju kot domorodne vrste ter odpornost na škodljivce in bolezni (Kus Veenvliet in sod., 2009). Številne so enoletnice, ki proizvedejo veliko semen, katera se lahko širijo z vetrom, s plodovi, ki jih raznašajo ptice, ali pa se s kaveljčki oprimejo živali in človeka. Aktivno jih širi tudi človek (Jogan, 2009b).

Za hitro rast invazivnih rastlin v novem okolju obstaja več možnih razlogov: 1) odsotnost rastlinojedov in parazitov, ki vrsto omejujejo v domačem okolju, 2) zmanjšana tekmovalna sposobnost domorodnih rastlin zaradi posegov ljudi, 3) obstoj praznih ekoloških niš in 4)

sposobnost tujerodne vrste, da spremeni značilnosti ekosistema, tako da ustreza njenim potrebam (Gurevitch in sod., 2002).

2.2.3 Dovzetnost rastlinskih združb za vdor invazivnih rastlin

V nekatere združbe invazivne rastline z lahkoto vdrejo, druge pa se invaziji učinkovito upirajo. Za zdaj odgovora, zakaj je temu tako, še ni. Že veliko raziskovalcev je poskušalo najti vzroke, a so prišli do nasprotujočih si rezultatov (Gurevitch in sod., 2002).

Elton (1958) je opazil, da invazivne rastline večinoma zasedajo kmetijske površine in tla, ki so jih ljudje močno spremenili, ter da le redko zaidejo globlje v naravo in na območja, kjer se je, kljub človeškim posegom, ohranila bujnost in pestrost rastlin. Hobbs (1989) je s poskusi pokazal, da motnje povečajo invazijo nekaterih rastlin. Ravno nasprotne rezultate sta dobila Smith in Knapp (1999). Njun poskus je pokazal, da motnje zmanjšajo možnost invazije.

Tako kot Elton (1958) sta tudi Tilman (1999) in Symstad (2000) mnenja, da so bolj raznolike združbe manj dovzetne za invazijo. Nasprotno, da so za invazijo bolj raznolike združbe bolj dovzetne, pa trdijo Levine (2000) ter Smith in Knapp (1999). Poskusi, ki so jih izvedli Stohlgren in sod. (1999), pa so pokazali en in drug pojav.

Hobbs (1989) ter Stohlgren in sod. (1999) so ugotovili da je invazija uspešnejša ob večji razpoložljivosti hranil.

Poleg že omenjenih dejavnikov na dovzetnost združbe za invazijo vplivajo tudi vrstna sestava, produktivnost, podnebje in lastnosti prsti (Tilman, 1999). Vloga vsakega izmed njih se med različnimi združbami verjetno razlikuje (Lodge, 1993).

2.2.4 Posledice invazije

Mnogi ekosistemi širom sveta so ogroženi zaradi invazivnih rastlin (Gurevitch in sod., 2002). Invazivne rastline izpodrivajo domorodne, spreminjajo združbe (Jogan, 2009a), manjšajo raznolikost in spreminjajo procese v ekosistemih (Gurevitch in sod., 2002). Kadar invazija poteka na bregovih lahko le-ti postanejo bolj podvrženi eroziji (Jogan, 2009a).

2.3 ALELOPATIJE

Izraz alelopatija pomeni biokemično interakcijo med rastlinami, pri kateri rastline, z izločanjem določenih molekul v okolje, vplivajo na rast in razvoj sosednjih rastlin (Rizvi in

sod., 1992). Izraz se večinoma nanaša na škodljive vplive, čeprav definicija vključuje tudi pozitivne učinke (Taiz in Zeiger, 2006).

2.3.1 Alelopatske molekule

Vse znane spojine z alelopatskimi učinki lahko razdelimo v pet skupin: 1) fenolne kisline, flavonoidi in druge aromatske spojine, 2) terpeni, 3) steroidi, 4) alkaloidi in 5) organski cianidi. Vse so rastlinski sekundarni metaboliti (Whittaker in Feeny, 1971).

Iz rastlin v okolje pridejo na več različnih načinov: z izločanjem iz korenin, z razkrojem nad- in podzemnih delov rastlin, s hlapenjem iz listov. Poleg tega jih s površine listov in žlez spirata dež (Whittaker in Feeny, 1971) in megla (Moral in Muller, 1969).

Kako učinkovito povzročajo alelopatije je odvisno od okolja (Cheng, 1992).

2.3.2 Pot skozi medij

Pri prehodu od vira do tarčnega organizma se lahko spojinam marsikaj zgodi. Ko enkrat vstopijo v okolje, se začnejo odvijati med seboj povezani procesi, katere lahko v grobem razdelimo na zadrževanje, transformacijo in transport. Nanje vplivajo prisotnost drugih spojin, lastnosti tal, okoljski pogoji in prisotni organizmi (Cheng, 1992).

Zadrževanje pomeni adsorpcijo spojine na delce prsti, kar prepreči premikanje spojine po prsti. Je fizikalni proces in vključuje mnoge medmolekulske sile. Prehod spojine skozi prst je odvisen od vsebnosti mineralnih in organskih komponent, velikosti delcev, vrednosti pH, oksidativnega stanja in izmenjave ionov. Večja kot je vsebnost glin in organskih snovi, večjo adsorpcijo ima prst. Razmerje med adsorbiranimi in raztopljenimi molekulami se lahko skozi čas spreminja (Cheng, 1992).

Transformacija vključuje kemične, biokemične in fotokemične procese, ki zmanjšujejo količino izhodnih spojin. Pri tem se spojine delno spremenijo ali v celoti razgradijo. Ob razgradnji spojine izgubijo toksičnost, ob spremembi pa lahko postanejo enostavnejše ali kompleksnejše ter bolj ali manj strupene. Glavni način transformacije v prsti je biokemična transformacija. Tako mikroorganizmi kot rastline so sposobni z različnimi encimi spojine razgraditi. Njihova aktivnost je odvisna od temperature, dnevnih in sezonskih temperaturnih sprememb, vlage, razpoložljivosti kisika in hranil ter lastnosti prsti. Fotokemična transformacija poteka kadar so spojine izpostavljene sončni svetlobi, ne pa tudi, kadar so v tleh. Kemična transformacija vključuje različne procese, kot so oksidacija, redukcija, hidroliza, substitucija, polimerizacija idr. in je odvisna od sestave prsti (Cheng, 1992).

Transport spojin pri prehodu skozi medij pravzaprav tekmuje z zadrževanjem in transformacijo. Spojine se prenašajo z gibanjem zraka in vode ter z difuzijo. Od topnosti spojin je odvisen transport z vodo, od parnega tlaka pa njihova hlapljivost, torej transport po zraku (Cheng, 1992).

2.3.3 Učinki

Izločene alelopatske molekule lahko spremenijo lastnosti prsti in njeno hranilno vrednost. Njihova prisotnost lahko spremeni populacije talnih organizmov (npr. mikroorganizmov, žuželk, glist) in njihovo aktivnost (Rizvi in sod., 1992).

Vplivajo na mnoge procese v rastlinah, kot so fotosinteza, dihanje, sinteza pigmentov in proteinov, aktivnost encimov, uravnavanje hormonov, prepustnost membrane, privzem mineralov, fiksacija dušika, odpiranje in zapiranje listnih rež ter rast pelodovega mešička. Vpliv imajo tudi na prevodne elemente, genetski material (Rizvi in sod., 1992) in odpornost (Rizvi in Rizvi, 1992). Učinkom alelopatskih snovi na metabolizem rastlin rečemo tudi primarni učinki (Winter, 1961, cit. po Lovett in Ryuntyu, 1992)

Spremembe, ki jih pri rastlinah vidimo, so sekundarni učinki in so le odraz primarnih (Winter, 1961, cit. po Lovett in Ryuntyu, 1992). Mednje spadajo zaviranje ali zamik kalitve semen ter pospešitev ali zaviranje rasti rastnega vršička korenine ali stebela (Lovett in Ryuntyu, 1992).

2.3.4 Pomen v ekosistemih

Pomembnost alelopatskih interakcij med rastlinami težko nedvoumno dokažemo (Gurevitch in sod., 2002). Sukcesija (Cowels, 1911) ter razporeditev in pojavljanje rastlin v naravi in na kmetijskih površinah so pod vplivom alelopatij, fizikalnih sprememb habitata, razpoložljivosti mineralov (Rizvi in sod., 1992), tekmovanja za izrabo virov in prisotnosti rastlinojedih živali (Gurevitch in sod., 2002).

Stowe (1979) je s poskusom pokazal, da se alelopatije večkrat pojavijo v umetnih pogojih kot v naravnih. Mnogo rastlin vsebuje strupene snovi, ki so primarno verjetno namenjene odganjanju rastlinojedov ali preprečevanju okužb z bakterijami ali glivami. Če jih iz rastlin izoliramo in z njimi tretiramo druge rastline, se lahko izkažejo za alelopatske (Gurevitch in sod., 2002). Mnoge od teh spojin so reaktivne in se lahko transformirajo med ekstrakcijo in analizo (Cheng, 1992). Vprašljivo je tudi ali se strupene snovi iz rastlin izločajo tudi v naravi in ali se izločajo v zadostnih količinah, da bi učinkovale na okoliške rastline (Gurevitch in sod., 2002).

Za potrditev alelopatskih učinkov ni dovolj, da se v bližini prizadetih rastlin najde fitotoksične molekule ter rastline, ki te molekule vsebujejo, ker samo na podlagi tega ne moremo sklepati, da so simptomi posledica teh spojin. Alelopatije se lahko ne pojavijo takoj, ko pa jih opazimo, je odgovorna snov lahko že dolgo odsotna (Cheng, 1992). Možno je tudi, da opaženi učinki in preučevane spojine sploh niso povezani (Elliott in Cheng, 1987, cit. po Cheng, 1992). Rizvi in sod. (1992) pa so mnenja, da prepričljivi dokazi, da imajo alelopatske interakcije med rastlinami ključno vlogo v ekosistemih, obstajajo.

2.4 FENOLI

Fenoli skupaj s terpeni in alkaloidi predstavljajo tri glavne skupine rastlinskih sekundarnih metabolitov. Sekundarni metaboliti, za razliko od primarnih, ne sodelujejo pri osnovnih življenjskih procesih v rastlinah (Gurevitch in sod., 2002), kot so fotosinteza, dihanje, asimilacija hranil, sinteza proteinov idr. Kljub temu, da nimajo neposredne vloge pri rasti in razvoju rastlin, so pomembni pri njihovi ekologiji. Varujejo jih pred rastlinojedimi živalmi in okužbami s patogenimi mikrobi. Rastlinam in njihovim plodovom dajejo vonj, okus ali barvo, ki privabljajo oprasovalce in druge živali. Pomembni so pri kompeticiji med rastlinami in simbiozi z mikroorganizmi. Od primarnih metabolitov se razlikujejo tudi po tem, da so vrstno specifični, kar pomeni, da določeno spojino najdemo le pri eni vrsti ali pri skupini sorodnih vrst (Taiz in Zeiger, 2006), pogosto le v določenih organih ali tkivih (Gurevitch in sod., 2002).

Rastlinskih fenolov poznamo okrog deset tisoč. Vsem je skupna osnovna zgradba – na aromatski obroč pripeta hidroksilna skupina. Med sabo se razlikujejo po kemičnih lastnostih in po funkcijah, ki jih imajo v rastlinah (Taiz in Zeiger, 2006).

2.4.1 Enostavni fenoli

Med enostavne fenole uvrščamo enostavne fenilpropanoide (npr. *trans*-cimetna kislina, *p*-kumarna kislina, kavna kislina, ferulna kislina), kumarine in derivate benzojske kisline. Fenilpropanoidi imajo na aromatski obroč pripeto stransko verigo iz treh ogljikovih atomov, derivati benzojske kisline imajo na aromatskem obroču pripeto stransko verigo z enim ogljikovim atomom, kumarini pa so fenilpropanoid laktoni (ciklični estri). Enostavni fenilpropanoidi in derivati benzojske kisline imajo alelopatske učinke (Taiz in Zeiger, 2006).

2.4.2 Flavonoidi

Eno največjih skupin rastlinskih fenolov predstavljajo flavonoidi (Taiz in Zeiger, 2006). Prisotni so v cvetovih, plodovih in listih, večinoma v vakuolah (Likar in Regvar, 2003). Njihov osnovni skelet predstavljata dva aromatska obroča, ki sta med seboj povezana z

mostičkom iz treh ogljikovih atomov. Na osnovno zgradbo so pripete mnoge različne skupine, npr. hidroksilne skupine, ogljikovi hidrati in metil etri. Štiri največje skupine flavonoidov so antociani, flavoni, izoflavoni in flavonoli (Taiz in Zeiger, 2006).

Antociani so najbolj razširjena skupina obarvanih flavonoidov. Cvetovom in plodovom dajejo rdečo, roza, vijolično in modro barvo. S tem privabljajo opraševalce ter živali, ki se hranijo s plodovi (Taiz in Zeiger, 2006).

Flavoni in flavonoli so prisotni v listih in cvetovih. Ljudje jih ne vidimo, žuželke, ki zaznavajo ultravijolični spekter svetlobe, pa. Njim kažejo kje se nahajata pelod in nektar. Poleg tega flavoni in flavonoli tudi absorbirajo premočno sevanje UV-B spektra (280-320 nm) in na ta način varujejo celice (Taiz in Zeiger, 2006).

Izoflavoni imajo v rastlinah več različnih nalog. Nekateri delujejo kot insekticidi. Drugi delujejo proti estrogenu in pri rastlinojedih živalih povzročajo neplodnost. Najbolj pa so znani kot fitoaleksini; to so protimikrobne spojine, ki se sintetizirajo ob bakterijski ali glivni okužbi in ki patogenom preprečujejo širjenje (Taiz in Zeiger, 2006).

2.4.3 Tanini

Tanini so verjetno najpomembnejše obrambne fenolne spojine semenk. Najdemo jih v vakuolah (Gurevitch in sod., 2002) in celičnih stenah (Likar in Regvar, 2003). V visokih koncentracijah so prisotni v listih mnogih lesnih rastlin (Gurevitch in sod., 2002) in v lubju dreves (Likar in Regvar, 2003), najdemo pa jih tudi v nezrelem sadju (Taiz in Zeiger, 2006), semenih in drevesnih šiškah. Delimo jih na galotanine in katehine (Likar in Regvar, 2003). Katehini so polimeri flavonoidov, galotanini pa polimeri enostavnih sladkorjev in fenolnih kislin, še posebej galne kisline. Delujejo tako, da nespecifično povezujejo proteine. S tem inaktivirajo prebavne encime ter tvorijo agregate z rastlinskimi proteini (Taiz in Zeiger, 2006) in na ta način zmanjšajo prebavljivost rastlinskih tkiv (Gurevitch in sod., 2002). Tanini mnoge živali odvrtaajo od hranjenja, tisti rastlinojedi, ki se z njimi redno hranijo, pa so nanje posebej prilagojeni (Taiz in Zeiger, 2006). V velikih količinah se lahko sproščajo iz korenin in odpadlega listja v tla in tako zavirajo rast konkurenčnih rastlin. Preprečujejo tudi rast mikroorganizmov (Likar in Regvar, 2003).

2.4.4 Lignin

Lignin je razvejan polimer fenilpropanoidov. Najdemo ga v različnih opornih in prevodnih tkivih, večinoma v sekundarni celični steni, lahko pa se pojavi tudi v primarni celični steni in osrednji lameli. V rastlinah opravlja primarne in sekundarne vloge. Njegova mehanska trdnost daje čvrstost stebelu in prevodnim tkivom in istočasno odvrtaa rastlinojede živali ter

preprečuje vdor patogenov. Zaradi svoje kemijske zgradbe je slabo prebavljiv (Taiz in Zeiger, 2006).

2.4.5 Sinteza fenolov

Fenoli nastajajo po več različnih biosinteznih poteh. Osnovni dve sta šikimatna in poliketidna pot. Pri višjih rastlinah večina fenolov nastane po šikimatni poti (Taiz in Zeiger, 2006).

Izhodni spojini za šikimatno pot sta eritroza-4-fosfat (intermediat pentoza fosfatne poti) in fosfoenolpiruvat (intermediat glikolize). Iz njiju nastajajo tri aromatske aminokisljine: L-fenilalanin, L-tirozin in L-triptofan (Strack, 1997). Eden od intermediatov na poti je šikimat, po kateri je pot poimenovana (Taiz in Zeiger, 2006).

Večina sekundarnih fenolnih spojin nastane iz fenilalanina. Prvo reakcijo katalizira encim fenilalanin amonijak liaza (PAL), ki iz fenilalanina odcepi amonijak in nastane cimetna kislina (Taiz in Zeiger, 2006). Pri nekaterih travah in glivah PAL namesto fenilalanina cepi tudi tirozin (Strack, 1997). Ker je PAL meja med primarnim in sekundarnim metabolizmom, se pri njem odvija regulacija sinteze fenolnih spojin. Aktivnost encima je povezana z nekaterimi okoljskimi dejavniki. Povečana je npr. ob pomanjkanju hranil in glivnih okužbah (Taiz in Zeiger, 2006), medtem ko herbivorija na vsebnost fenolov ne vpliva (Saetan in Bätzli, 2009). Reakcije, od cimetne kisline naprej, pripeljejo do vseh različnih fenolnih spojin, ki jih najdemo v rastlinah (Taiz in Zeiger, 2006).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 RASTLINSKI MATERIAL

Vzorci smo nabirali poleti leta 2009. Orjaško zlato rozgo (*Solidago gigantea* Aiton) smo nabrali v Grosupljem (+45° 56' 52", +14° 38' 47", 343 m nadm. viš.) in Vrsniku (+46° 19' 31", +13° 38' 47", 684 m nadm. viš.), navadno zlato rozgo (*Solidago virgaurea* L.) pa v Kal-Koritnici (+46° 20' 6", +13° 38' 41", 546 m nadm. viš.). Nabran rastlinski material smo liofilizirali in ga do uporabe hranili na -20 °C.

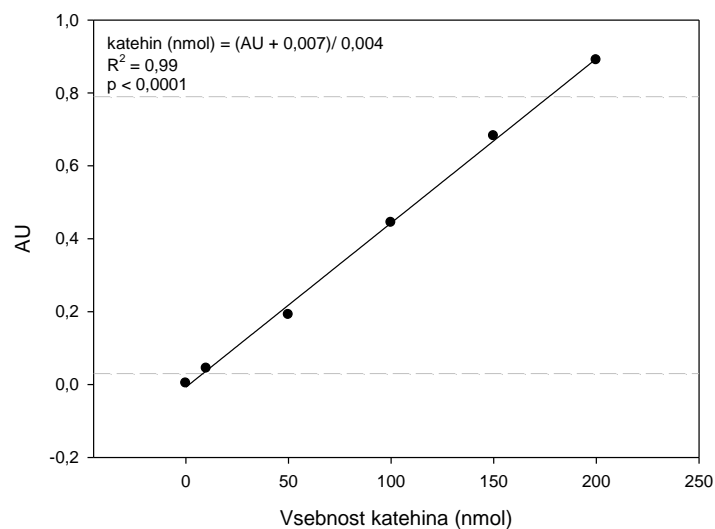
3.2 METODE DELA

3.2.1 Priprava izvlečkov

Za pripravo vodnih izvlečkov listov in korenin navadne in orjaške zlate rozge, smo rastlinski material najprej zdrobili z laboratorijskim mlinčkom (A 10 basic, IKA), nato pa še ob uporabi tekočega dušika v terilnici. Pred vsakim poskusom smo pripravili svež izvleček. Strt rastlinski material smo z destilirano vodo zmešali v 4 % (w/v) raztopino in jo za 30 minut postavili na magnetno mešalo pri hitrosti 500 obratov/minuto. Raztopino smo nato prefiltrirali in razredčili do končnih koncentracij: 3,4 %, 2,8 %, 2,2 %, 1,2 %, 1 % in 0,6 % raztopine.

3.2.2 Meritev topnih fenolov v izvlečkih

Za spektrofotometrično določitev koncentracije topnih fenolov v izvlečku smo v kiveto dali 100 µl izvlečka, 1 ml 2 % Na₂CO₃, premešali in dodali 75 µl Folin-Ciocalteu reagenta (Kemika, redčenega po navodilih proizvajalca). Kivete smo 15 minut inkubirali v temi pri 25 °C. Po inkubaciji smo vsebino kivete še 10-krat razredčili, in sicer smo 100 µl vsebine kivete zmešali z 900 µl destilirane vode. Nato smo izmerili absorpcijo pri 750 nm (HP 8452A spektrofotometer). Za določitev vsebnosti topnih fenolov smo uporabili umeritveno krivuljo narejeno z raztopino katehina (Sigma) v koncentracijskem razponu 0 – 200 nmol katehina (sl. 5). Rezultate smo preračunali na gram suhe mase listov oz. korenin.



Slika 5. Umeritvena krivulja za določitev vsebnosti topnih fenolov v vodnih izvlečkih listov in korenin zlate rozge. Enota AU na navpični osi pomeni absorpcijske enote.

3.2.3 Analiza izvlečkov z visokotlačno tekočinsko kromatografijo (HPLC)

Za analizo izvlečkov s HPLC smo izvlečke pripravili ločeno. Strt rastlinski material in destilirano vodo smo zmešali v 4 % vodno raztopino, ki smo jo za 30 minut postavili na stresalnik. Za tem smo jo 10 minut centrifugirali pri hitrosti 10.000 g in sobni temperaturi. Supernatant smo odpipetirali in posušili na rotavaporju (Rotavapor R-124, Vacobox B-177, Waterbath B-480, Büchi). Suh vzorec smo nato v ultrazvočni kopeli (T 460/H, Elma) raztopili v 2 ml metanola in dobili 8 % raztopino.

Kromatografsko ločitev topnih fenolov smo izvedli na HPLC-sistemu Waters (2690 in detektorja 996 in 474). Uporabljali smo kolono Spherisorb 250 x 4,6 mm, 5 µm. Elucija je potekla v 70 min z raztopinami (fazami) A: 1 % očetno kislina in B: mešanico metanol:acetonitril:voda (1:1:1, V/V/V) pri 40 °C in z gradientom: 0': 100 % A, 40': 60 % A, 70': 0 % A, pri pretoku 1 ml/min. Injicirali smo 50 µl vzorca. Kromatograme smo primerjali pri valovni dolžini 310 nm. Injiciranje izvlečkov posameznega dela rastline smo ponovili petkrat za vsako rastlinsko vrsto.

3.2.4 Vpliv izvlečkov na kalitev semen

Za testiranje vpliva izvlečkov na kalitev smo uporabili semena ovčje bilnice (*Festuca ovina* L.) in črne detelje (*Trifolium pratense* L.). Semena smo kalili v petrijevkah, na dveh plasteh filtrirnega papirja (100 semen / koncentracijo). Petrijevke smo zalili z 3 ml izvlečka in jih postavili v rastno komoro. V kontrolnem poskusu smo namesto izvlečka uporabili destilirano vodo. V rastni komori je dan trajal 14 ur in noč 10 ur, podnevi je bila temperatura 24 °C in 50 % zračna vlažnost, ponoči pa 20 °C in 60 % zračna vlažnost. Vsak

test je trajal sedem dni. Vlažnost petrijevk smo med poskusom redno preverjali in dodajali destilirano vodo, če je bilo potrebno. Poskus smo z izvlečkom korenin izvedli v treh ponovitvah, z izvlečkom listov pa v dveh.

Pred poskusom smo testirali vpliv načina zalivanja petrijevk na kalitev semen. Uporabili smo enaka semena kot pri testu vpliva izvlečkov. Kalili smo jih v petrijevkah, na dveh plasteh filtrirnega papirja (100 semen / način zalivanja). Uporabili smo 1 % koncentracijo izvlečka korenin orjaške zlate rozge. Testirali smo tri načine:

- 1) semena smo prvič zalili z izvlečkom, nato smo jih zalivali le z destilirano vodo,
- 2) semena smo zalivali le z izvlečkom in
- 3) semena smo prelagali v nove petrijevke, zalite z izvlečkom.

V kontrolni petrijevki smo semena zalivali le z destilirano vodo. Med načini zalivanja nismo opazili razlik v uspehu kalitve semen, zaradi česar smo se odločili za prvo varianto izvedbe poskusa.

3.2.5 Vpliv izvlečkov listov na rast kalic

Za testiranje vpliva izvlečkov listov na rast kalic smo uporabili semena ovčje bilnice (*Festuca ovina* L.) in črne detelje (*Trifolium pratense* L.). Poganjki so rasli v šotnih lončkih premera 6 cm na mešanici vermikulita in univerzalnega substrata za sajenje Humko (1:1, V/V). V vsakem lončku smo imeli 25 semen, delali pa smo v 10 paralelkah. Lončke smo zalivali z navadno vodo, po 1 tednu rasti pa smo vsakega zalili s 7 ml 1 % izvlečka. Rastline so rastle v rastni komori, kjer je bilo 19 °C in 60 % zračna vlažnost, dan je trajal 16 ur in noč 18 ur. Po koncu poskusa, ki je trajal 6 tednov, smo poganjke pobrali iz loncev in jih stehali.

3.2.6 Statistične metode

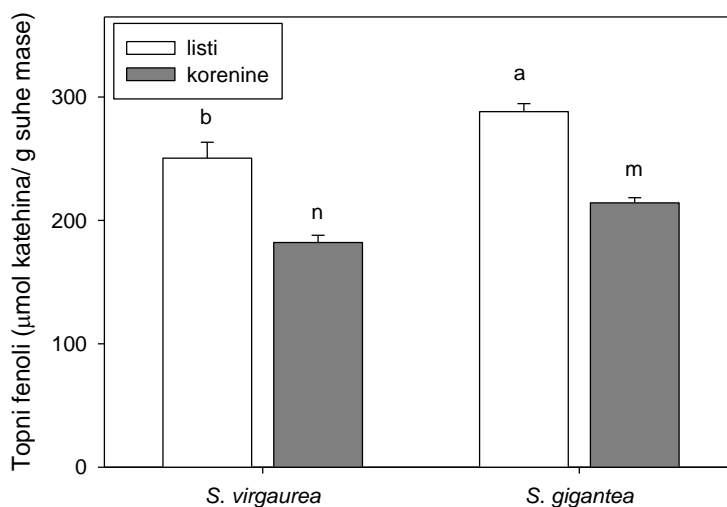
Površine vrhov kromatogramov in vpliv izvlečkov na biomaso poganjkov smo testirali s t-testom, deleže kalečih semen pa z enosmernim ANOVA testom in Holm-Sidak post hoc testom.

4 REZULTATI

4.1 ANALIZA IZVLEČKOV

4.1.1 Koncentracija topnih fenolov

Določali smo vsebnost topnih fenolov v vodnih izvlečkih listov in korenin navadne in orjaške zlate rozge.

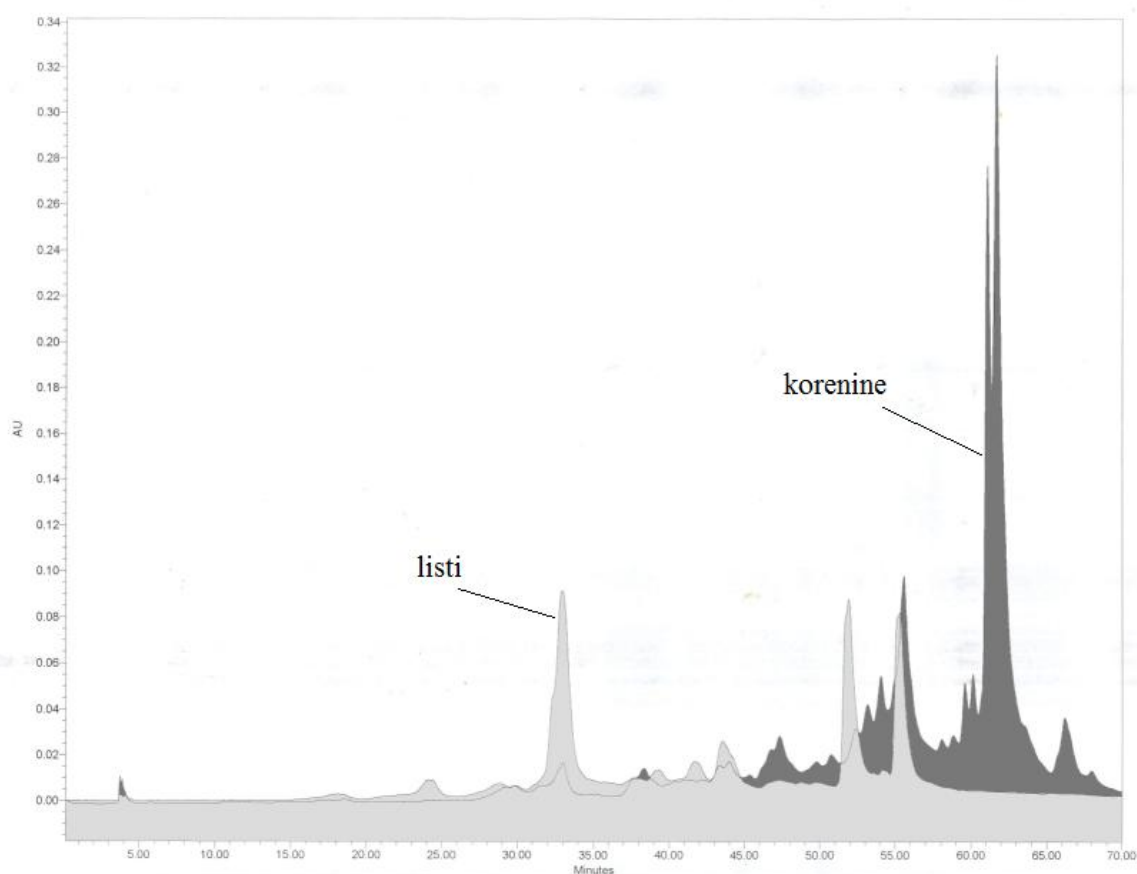


Slika 6. Koncentracija topnih fenolov v izvlečkih listov (beli stolpci) in korenin (sivi stolpci) navadne (*Solidago virgaurea*) in orjaške zlate rozge (*S. gigantea*) ($SV \pm SN$, $n = 5$), t-test. Različne črke označujejo statistično značilno razliko pri $p < 0,05$.

Vsebnost topnih fenolov je večja v izvlečkih listov kot v izvlečkih korenin. Vsebnost topnih fenolov je bila pri orjaški zlati rozgi večja kot pri navadni zlati rozgi (sl. 6).

4.1.2 Ločitev fenolov

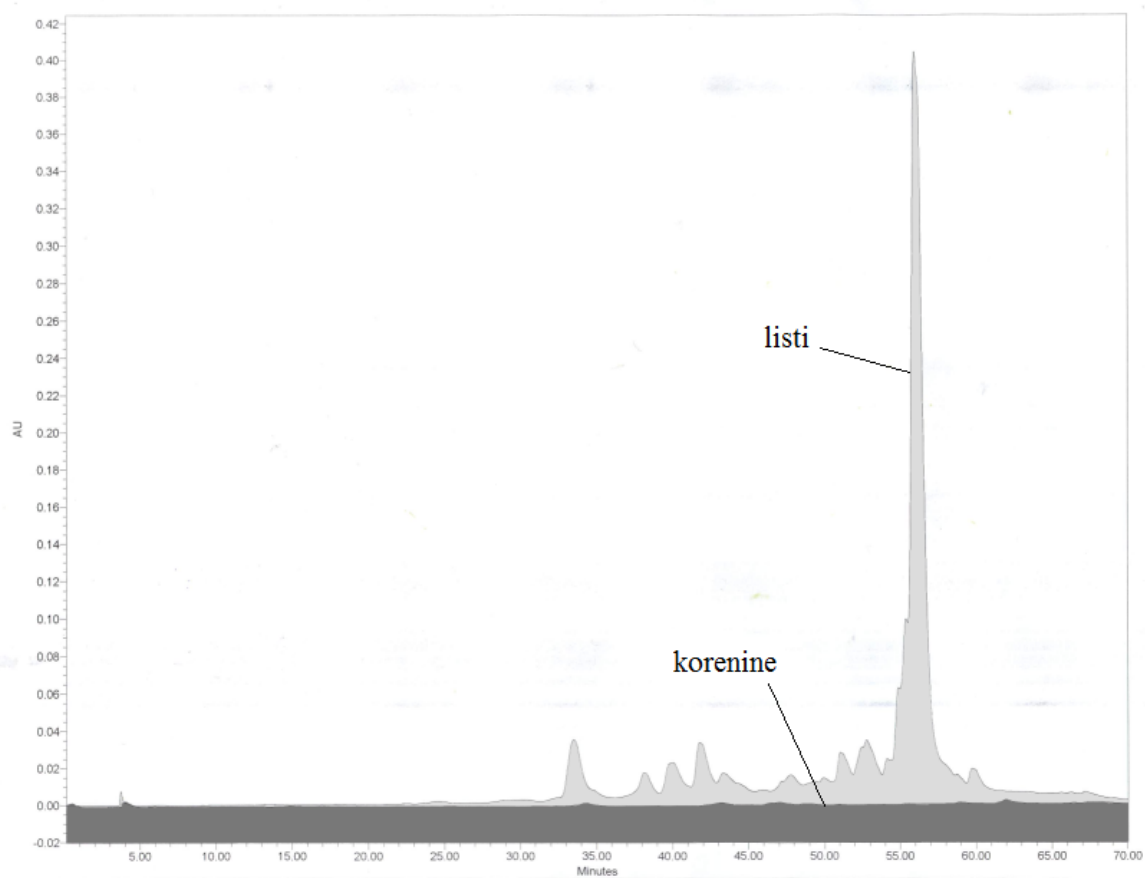
Vodna izvlečka listov in korenin navadne zlate rozge smo testirali s HPLC.



Slika 7. Kromatogram vodnega izvlečka listov in korenin navadne zlate rozge (*Solidago virgaurea*).

Izvlečka listov in korenin navadne zlate rozge imata različna profila fenolov (sl. 7). Izvleček listov ima izrazite vrhove pri 33., 52. in 55. minuti. Izvleček korenin ima več izrazitih vrhov, največji so vrh pri 55. in dvojni vrh pri 62. minuti.

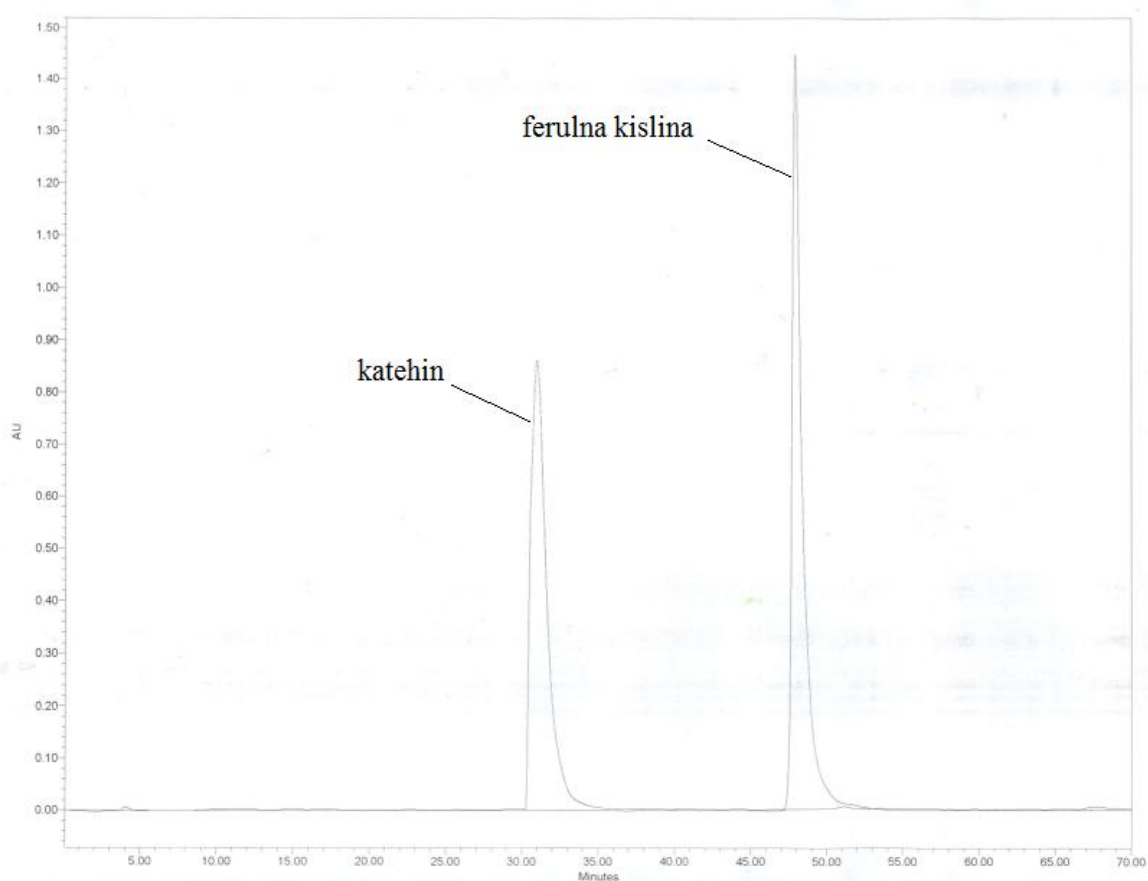
S HPLC smo analizirali tudi vodna izvlečka listov in korenin orjaške zlate rozge.



Slika 8. Kromatogram vodnega izvlečka listov in korenin orjaške zlate rozge (*Solidago gigantea*).

Izvlečka listov in korenin orjaške zlate rozge imata različna profila fenolov (sl. 8). Izvleček listov ima izrazit vrh pri 56. minuti, izvleček korenin pa izrazitih vrhov nima oz. so zelo nizki.

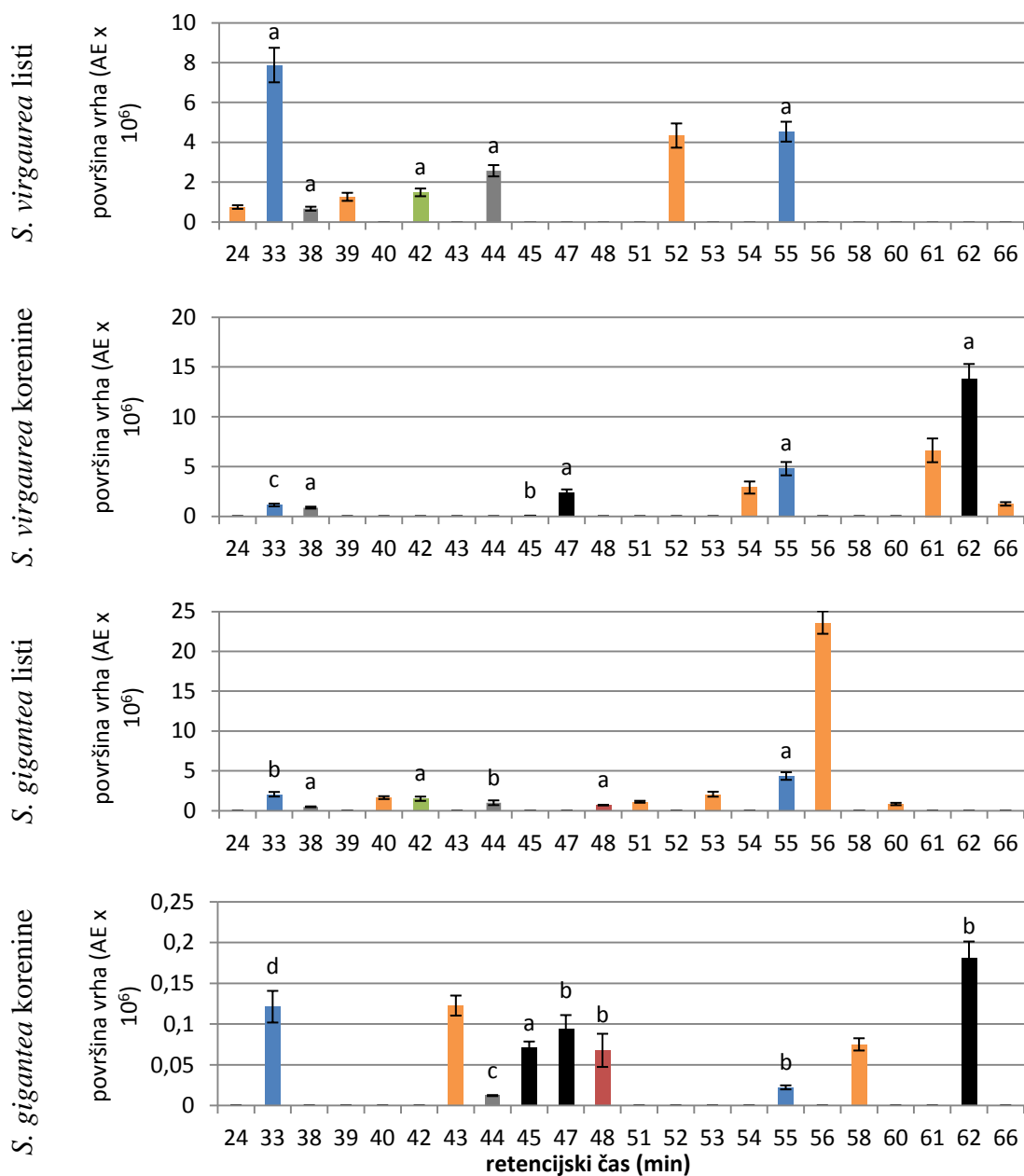
Pod enakimi pogoji kot smo testirali vodne izvlečke, smo s HPLC testirali tudi dva standarda, in sicer ferulno kislino in katehin, ter njuna vrhova primerjali z vrhovi izvlečkov. Katehin ima vrh pri 31. minuti, ferulna kislina pa pri 48. minuti (sl. 9).



Slika 9. Kromatogram katehina in ferulne kisline.

V izvlečkih navadne in orjaške zlate roge vrha pri 31. minuti nismo dobili, torej izvlečki katehina ne vsebujejo. Vrh pri 48. minuti pa sta imela izvlečka listov in korenin orjaške zlate rozge, kar pomeni, da sta vsebovala ferulno kislino.

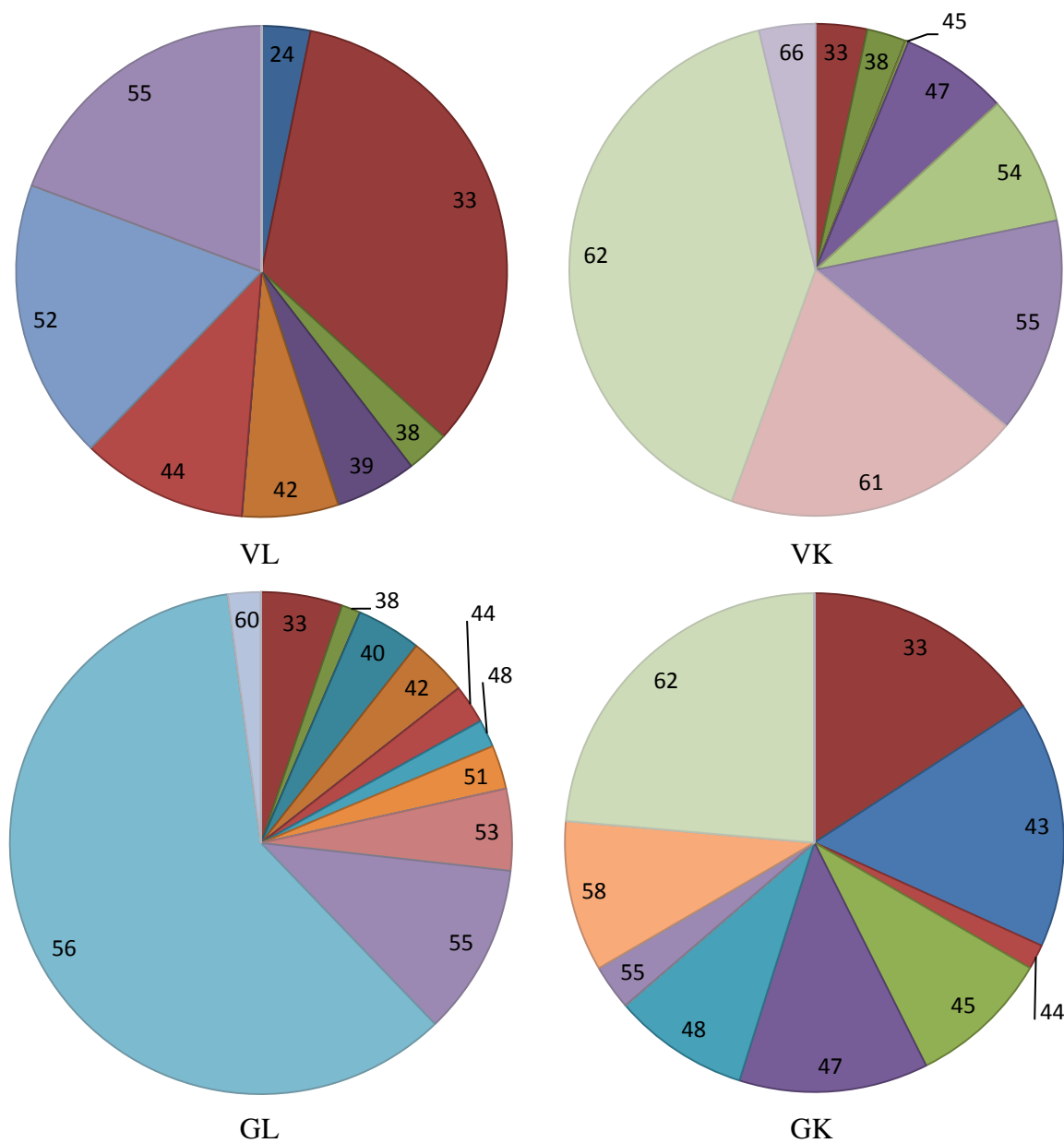
Vrhovom na kromatogramih smo izmerili površine. Vrhove pri posameznih retencijskih časih smo nato primerjali med izvlečki.



Slika 10. Profili fenolov in njihove vsebnosti izražene kot površine vrhov kromatogramov izvlečkov listov in korenin navadne (*Solidago virgaurea*) in orjaške zlate rozge (*S. gigantea*). Prikazane so SV ± SN, n = 5. Različne črke označujejo statistično značilno razliko med vrhovi pri istem retencijskem času (p < 0,05, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test).

Izvečki se med sabo razlikujejo po fenolnih profilih (sl. 10). Trinajst fenolov je prisotnih samo v enem izmed izvlečkov (oranžni stolpci), en samo v izvlečkih listov (zelen), trije samo v izvlečkih korenin (črni), en samo v izvlečkih orjaške zlate rozge (rdeč), dva v treh izvlečkih (siva) ter dva v vseh izvlečkih (modra).

Iz površin vrhov kromatogramov smo ugotavljali deleže posameznih fenolov v izvlečkih (sl. 11). Vsi štiri izvlečki se med sabo razlikujejo po deležih fenolov.



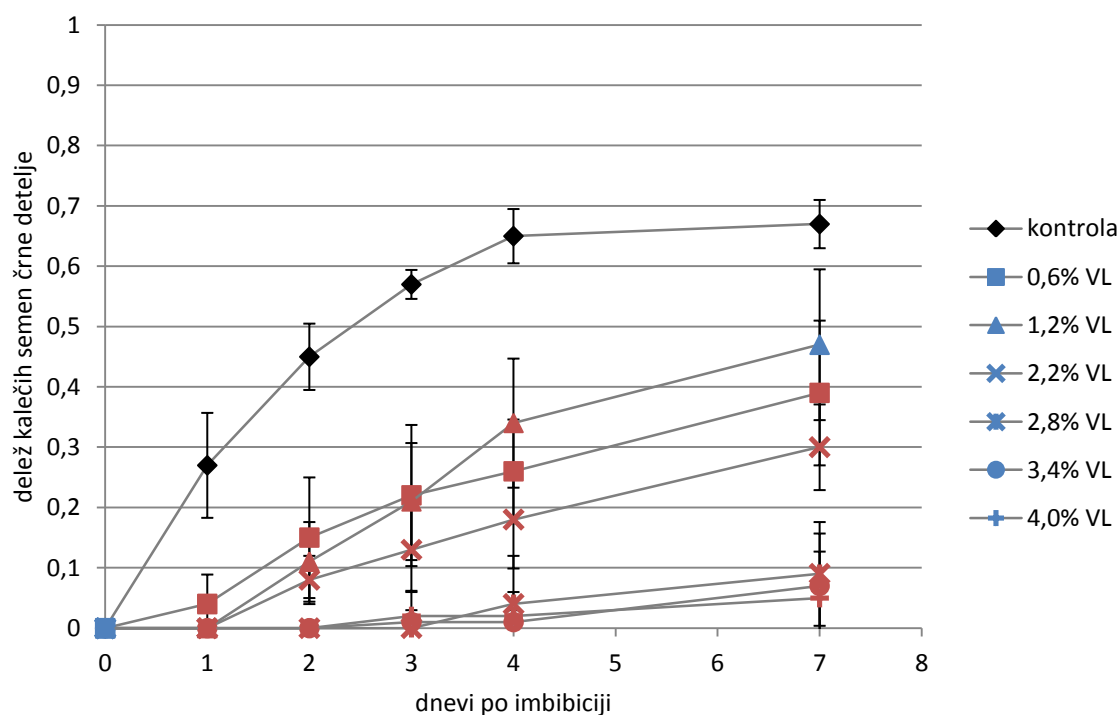
Slika 11. Deleži fenolov s posameznimi retencijskimi časi v izvlečkih listov (L) in korenin (K) navadne (*Solidago virgaurea*, V) in orjaške zlate rozge (*S. gigantea*, G), n = 5. Številke v grafih prikazujejo retencijski čas fenolov (min).

4.2 VPLIV IZVLEČKOV ZLATE ROZGE NA KALITEV SEMEN

Da bi ugotovili morebitne alelopatske učinke navadne in orjaške zlate rozge, smo semena testnih rastlinskih vrst črne detelje in ovčje bilnice zalivali z izvlečki listov in korenin obeh vrst zlate rozge in opazovali kalitev.

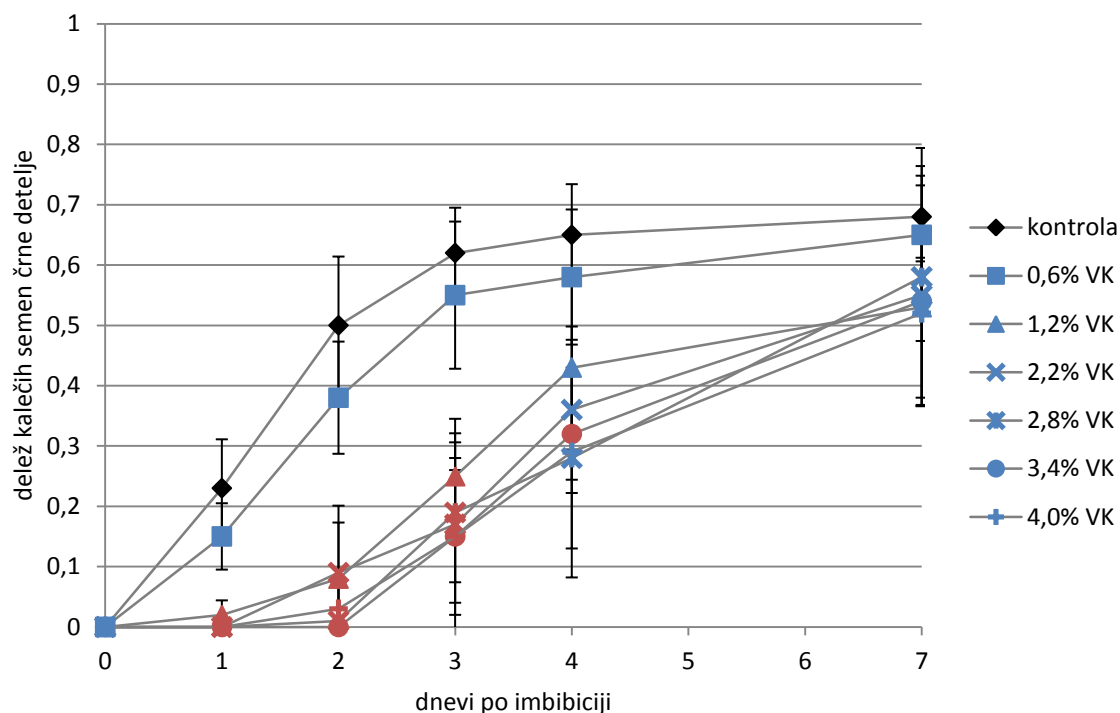
4.2.1 Vpliv izvlečkov na kalitev črne detelje

Semena črne detelje smo zalili z različnimi koncentracijami izvlečka listov navadne zlate rozge in spremljali potek kalitve (sl. 12). Semena črne detelje so slabše kalila pri vseh koncentracijah izvlečka listov navadne zlate rozge, vse dni poskusa. Le pri 1,2 % koncentraciji je vpliv izvlečka sedmi dan po imbibiciji izginil. Podoben rezultat smo dobili tudi v prvi ponovitvi poskusa (pril. A).



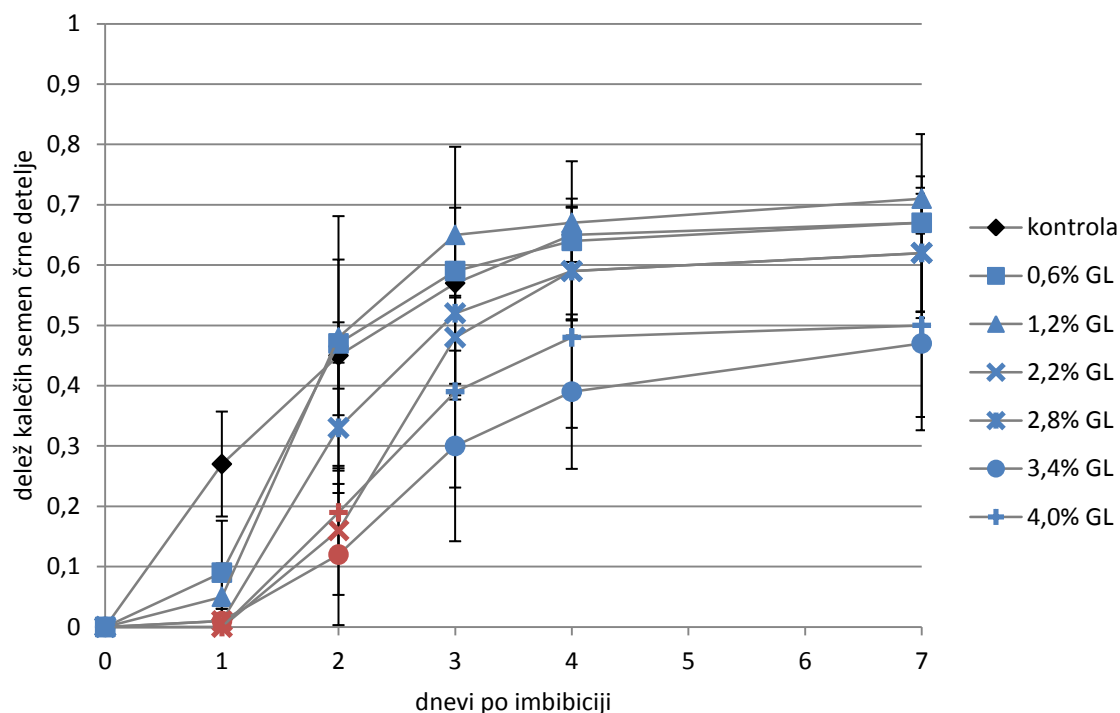
Slika 12. Vpliv izvlečka listov navadne zlate rozge (*Solidago virgaurea*) na kalitev semen črne detelje (*Trifolium pratense*). Prikazani so podatki 2. ponovitve poskusa (SV ± SN, n = 5). Rdeča barva označuje statistično značilno razliko od kontrole ($p < 0,05$, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test), modra barva pa, da se od kontrole statistično značilno ne razlikuje.

Semena črne detelje smo zalili tudi z različnimi koncentracijami izvlečka korenin navadne zlate rozge in spet spremljali potek kalitve (sl. 13). Na kalitev črne detelje 0,6 % koncentracija izvlečka korenin navadne zlate rozge ni vplivala. Slabšo kalitev semen smo prve tri dni po imbibiciji opazili pri 1,2 %, 2,2 %, 2,8 % in 4,0 % koncentraciji, prve štiri dni pa pri 3,4 % koncentraciji, v naslednjih dneh pa je vpliv izvlečka izginil. V prvi in drugi ponovitvi poskusa smo dobili podobne rezultate (pril. B).



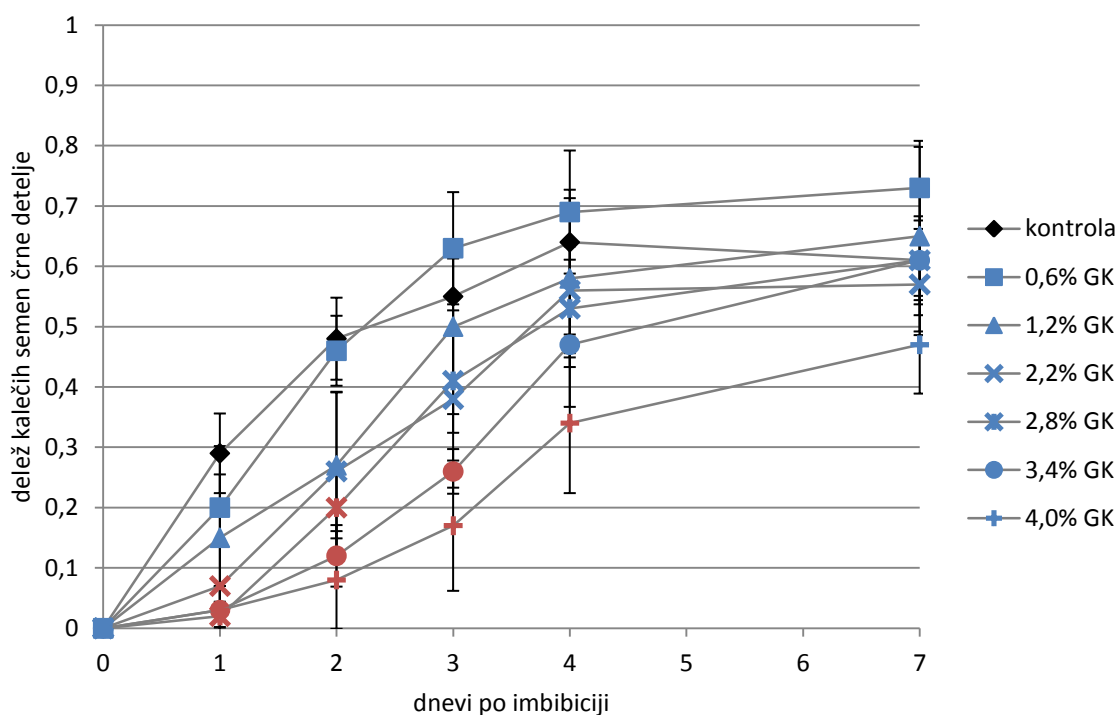
Slika 13. Vpliv izvlečka korenin navadne zlate rozge (*Solidago virgaurea*) na kalitev semen črne detelje (*Trifolium pratense*). Prikazani so podatki 3. ponovitve poskusa ($SV \pm SN$, $n = 5$). Rdeča barva označuje statistično značilno razliko od kontrole ($p < 0,05$, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test), modra barva pa, da se od kontrole statistično značilno ne razlikuje.

Semena črne detelje smo zalili z različnimi koncentracijami izvlečka listov orjaške zlate rozge in spremljali potek kalitve (sl. 14). Na kalitev črne detelje 0,6 % in 1,2 % koncentracija izvlečka listov orjaške zlate rozge nista vplivali. Slabšo kalitev smo prvi dan po imbibiciji opazili pri 2,8 % koncentraciji, prvi in drugi dan pa pri 2,2 %, 3,4 % in 4,0 % koncentraciji, ostale dni pa te koncentracije na kalitev niso imele vpliva. Podoben rezultat smo dobili tudi v prvi ponovitvi poskusa (pril. C).



Slika 14. Vpliv izvlečka listov orjaške zlate rozge (*Solidago gigantea*) na kalitev semen črne detelje (*Trifolium pratense*). Prikazani so podatki 2. ponovitve poskusa ($SV \pm SN$, $n = 5$). Rdeča barva označuje statistično značilno razliko od kontrole ($p < 0,05$, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test), modra barva pa, da se od kontrole statistično značilno ne razlikuje.

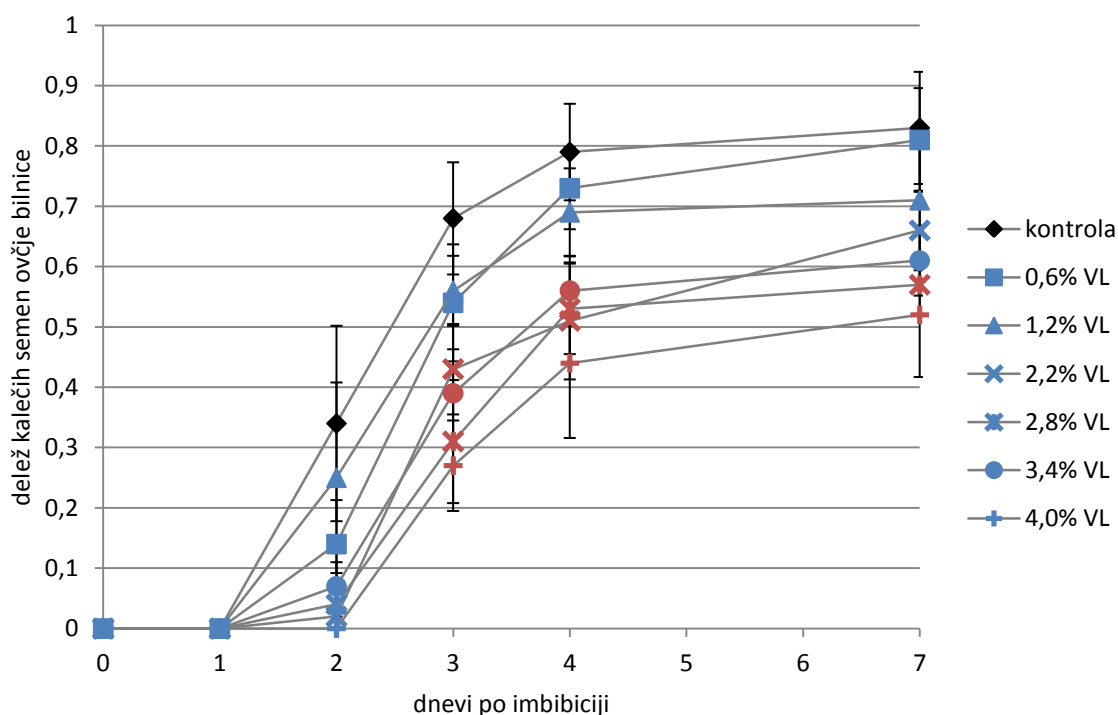
Semena črne detelje smo zalili tudi z različnimi koncentracijami izvlečka korenin orjaške zlate rozge in spremljali potek kalitve (sl. 15). Na kalitev črne detelje 0,6 % in 1,2 % koncentracija izvlečka korenin orjaške zlate rozge nista vplivali. Slabšo kalitev semen smo prvi dan po imbibiciji opazili pri 2,2 % koncentraciji, pri 2,8 % koncentraciji do drugega dne, pri 3,4 % do tretjega dne, pri 4,0 % pa do četrtega dne, ostale dni pa te koncentracije na kalitev niso vplivale. Podobne rezultate smo dobili tudi v prvi in drugi ponovitvi poskusa (pril. Č).



Slika 15. Vpliv izvlečka korenin orjaške zlate rozge (*Solidago gigantea*) na kalitev semen črne detelje (*Trifolium pratense*). Prikazani so podatki 3. ponovitve poskusa ($SV \pm SN$, $n = 5$). Rdeča barva označuje statistično značilno razliko od kontrole ($p < 0,05$, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test), modra barva pa, da se od kontrole statistično značilno ne razlikuje.

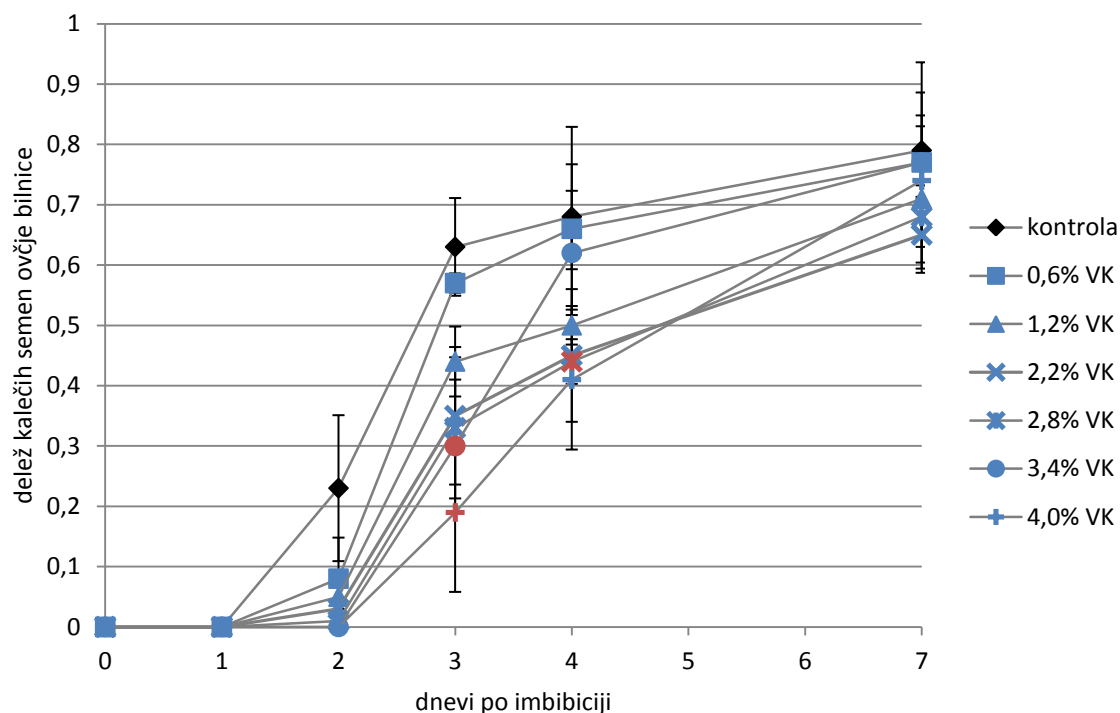
4.2.2 Vpliv izvlečkov na kalitev ovčje bilnice

Semena ovčje bilnice smo zalili z različnimi koncentracijami izvlečka listov navadne zlate rozge in spremljali potek kalitve (sl. 16). Na kalitev ovčje bilnice 0,6 % in 1,2 % koncentracija izvlečka listov navadne zlate rozge nista vplivali. Slabšo kalitev semen smo tretji in četrti dan po imbibiciji opazili pri 2,2 % in 3,4 % koncentraciji, od tretjega do sedmega dne pa pri 2,8 % in 4,0 % koncentraciji, ostale dni pa te koncentracije na kalitev niso vplivale. Podoben rezultat smo dobili tudi v prvi ponovitvi poskusa (pril. D).



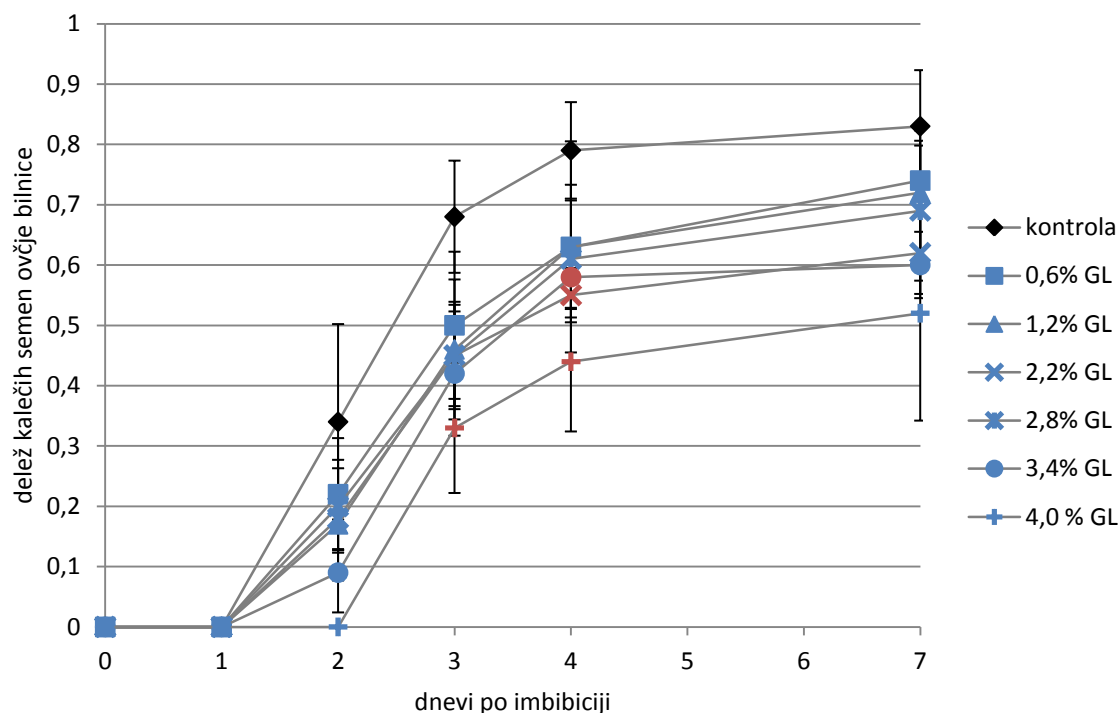
Slika 16. Vpliv izvlečka listov navadne zlate rozge (*Solidago virgaurea*) na kalitev semen ovčje bilnice (*Festuca ovina*). Prikazani so podatki 2. ponovitve poskusa (SV \pm SN, n = 5). Rdeča barva označuje statistično značilno razliko od kontrole ($p < 0,05$, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test), modra barva pa, da se od kontrole statistično značilno ne razlikuje.

Semena ovčje bilnice smo zalili z različnimi koncentracijami izvlečka korenin navadne zlate rozge in spremljali potek kalitve (sl. 17). Na kalitev ovčje bilnice 0,6 %, 1,2 % in 2,2 % koncentracija izvlečka korenin navadne zlate rozge niso vplivale. Slabšo kalitev smo tretji dan po imbibiciji opazili pri 3,4 % in 4,0 % koncentraciji, četrti dan pa pri 2,8 % koncentraciji, ostale dni pa te koncentracije na kalitev niso vplivale. Podoben rezultat smo dobili tudi v prvi in drugi ponovitvi poskusa (pril. E).



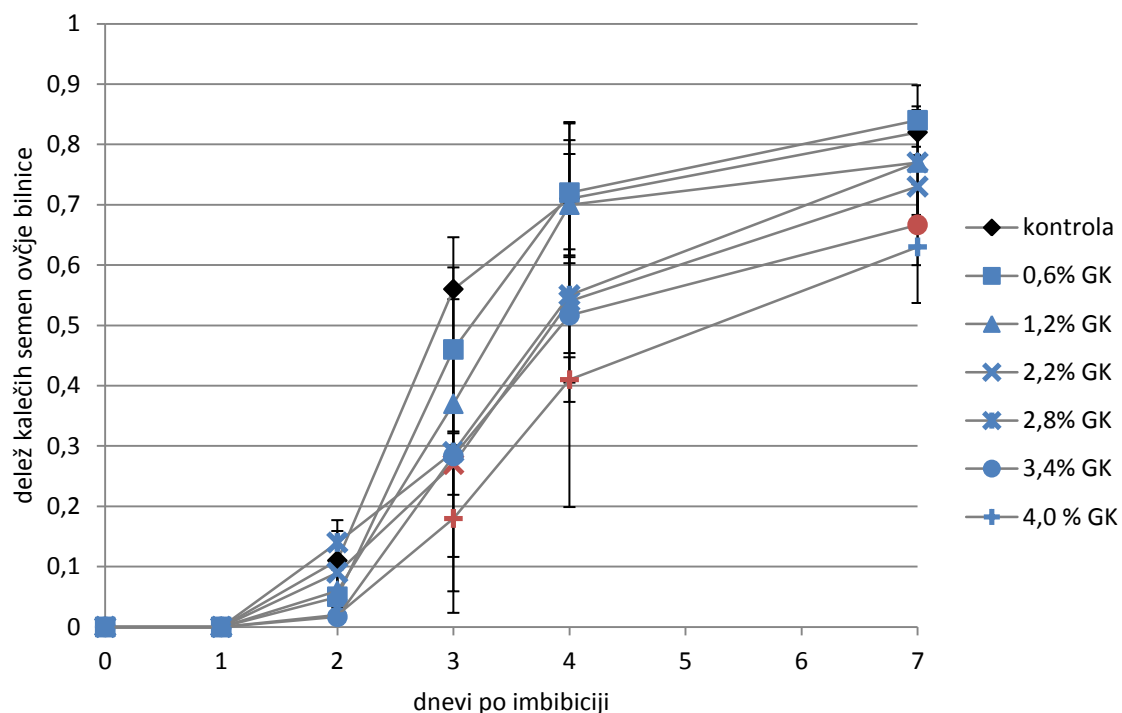
Slika 17. Vpliv izvlečka korenin navadne zlate rozge (*Solidago virgaurea*) na kalitev semen ovčje bilnice (*Festuca ovina*). Prikazani so podatki 3. ponovitve poskusa ($SV \pm SN$, $n = 5$). Rdeča barva označuje statistično značilno razliko od kontrole ($p < 0,05$, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test), modra barva pa, da se od kontrole statistično značilno ne razlikuje.

Semena ovčje bilnice smo zalili z različnimi koncentracijami izvlečka listov orjaške zlate rozge in spremljali potek kalitve (sl. 18). Na kalitev ovčje bilnice 0,6 %, 1,2 % in 2,8 % koncentracija izvlečka listov orjaške zlate rozge niso vplivale. Slabšo kalitev semen smo četrty dan po imbibiciji opazili pri 2,2 % in 3,4 % koncentraciji, tretji in četrty dan pa pri 4,0 % koncentraciji, ostale dni pa te koncentracije na kalitev niso vplivale. Podoben rezultat smo dobili tudi v prvi ponovitvi poskusa (pril. F).



Slika 18. Vpliv izvlečka listov orjaške zlate rozge (*Solidago gigantea*) na kalitev semen ovčje bilnice (*Festuca ovina*). Prikazani so podatki 2. ponovitve poskusa ($SV \pm SN$, $n = 5$). Rdeča barva označuje statistično značilno razliko od kontrole ($p < 0,05$, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test), modra barva pa, da se od kontrole statistično značilno ne razlikuje.

Semena ovčje bilnice smo zalili z različnimi koncentracijami izvlečka korenin orjaške zlate rozge in spremljali potek kalitve (sl. 19). Na kalitev ovčje bilnice 0,6 %, 1,2 % in 2,8 % koncentracija izvlečka korenin orjaške zlate rozge niso imele vpliva. Slabšo kalitev semen smo tretji dan po imbibiciji opazili pri 2,2 % koncentraciji, tretji in četrti dan pri 4,0 % koncentraciji ter sedmi dan pri 3,4 % koncentraciji, ostale dni pa te koncentracije na kalitev niso vplivale. Podoben rezultat smo dobili tudi v prvi in drugi ponovitvi poskusa (pril. G).



Slika 19. Vpliv izvlečka korenin orjaške zlate rozge (*Solidago gigantea*) na kalitev semen ovčje bilnice (*Festuca ovina*). Prikazani so podatki 3. ponovitve poskusa ($SV \pm SN$, $n = 5$). Rdeča barva označuje statistično značilno razliko od kontrole ($p < 0,05$, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test), modra barva pa, da se od kontrole statistično značilno ne razlikuje.

4.2.3 Primerjava vplivov izvlečkov na črno deteljo in ovčjo bilnico

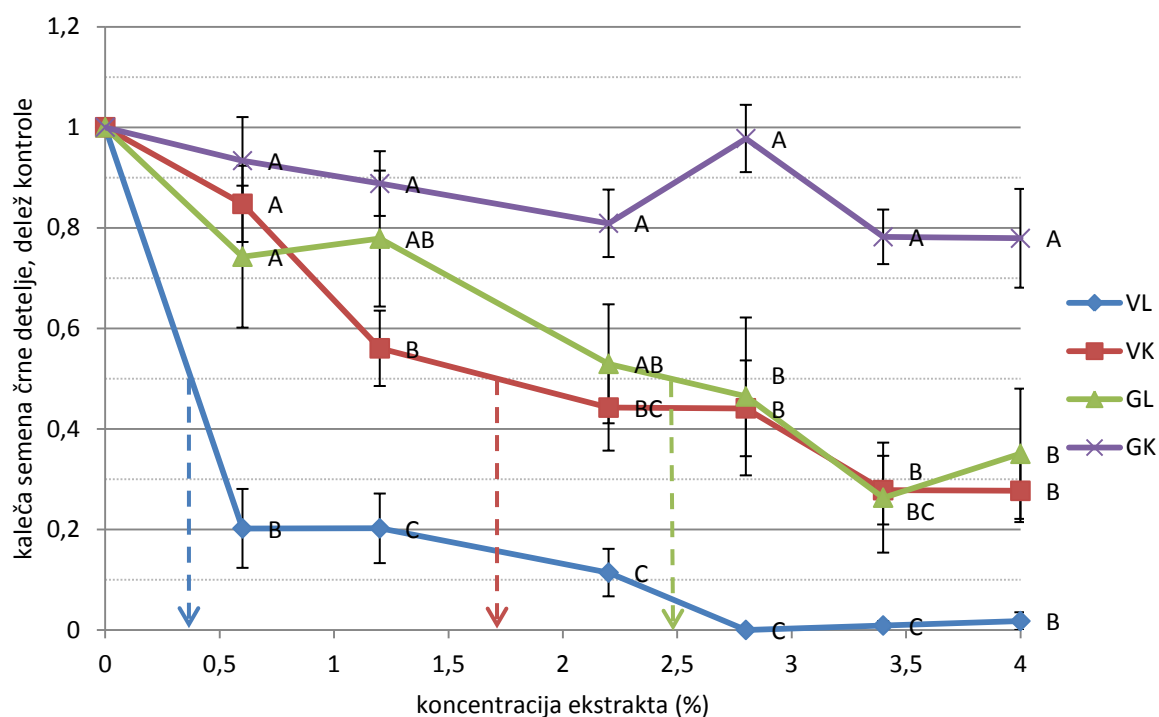
Semena črne detelje in ovčje bilnice smo zalili z različnimi koncentracijami izvlečkov listov in korenin navadne in orjaške zlate rozge in spremljali potek kalitve (pregl. 1). Izvlečka listov sta kalitev semen zavirala bolj od izvlečkov korenin. Prav tako sta kalitev bolj zavirala izvlečka navadne zlate rozge kot izvlečka orjaške zlate rozge. Vsi štirje izvlečki so imeli na črno deteljo več učinka kot na ovčjo bilnico.

Preglednica 1. Vpliv različnih koncentracij izvlečkov listov (L) in korenin (K) navadne (*Solidago virgaurea*, V) in orjaške zlate rozge (*S. gigantea*, G) na kalitev semen črne detelje (*Trifolium pratense*) in ovčje bilnice (*Festuca ovina*). Prva in druga ponovitev poskusa z izvlečki listov, $n = 5$; druga in tretja ponovitev poskusa z izvlečki korenin, $n_2 = 10$, $n_3 = 5$. Rdeča barva označuje statistično značilno razliko od kontrole, ki se je pojavila v obeh ponovitvah, rumena barva statistično značilno razliko od kontrole, ki se je pojavila le v eni izmed ponovitev ($p < 0,05$, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test), bela barva pa, da se od kontrole ne razlikuje.

ČRNA DETELJA													
VL	0,6%	1,2%	2,2%	2,8%	3,4%	4,0%	GL	0,6%	1,2%	2,2%	2,8%	3,4%	4,0%
dan 1							dan 1						
dan 2							dan 2						
dan 3							dan 3						
dan 4							dan 4						
dan 7							dan 7						
VK	0,6%	1,2%	2,2%	2,8%	3,4%	4,0%	GK	0,6%	1,2%	2,2%	2,8%	3,4%	4,0%
dan 1							dan 1						
dan 2							dan 2						
dan 3							dan 3						
dan 4							dan 4						
dan 7							dan 7						
OVČJA BILNICA													
VL	0,6%	1,2%	2,2%	2,8%	3,4%	4,0%	GL	0,6%	1,2%	2,2%	2,8%	3,4%	4,0%
dan 1							dan 1						
dan 2							dan 2						
dan 3							dan 3						
dan 4							dan 4						
dan 7							dan 7						
VK	0,6%	1,2%	2,2%	2,8%	3,4%	4,0%	GK	0,6%	1,2%	2,2%	2,8%	3,4%	4,0%
dan 1							dan 1						
dan 2							dan 2						
dan 3							dan 3						
dan 4							dan 4						
dan 7							dan 7						

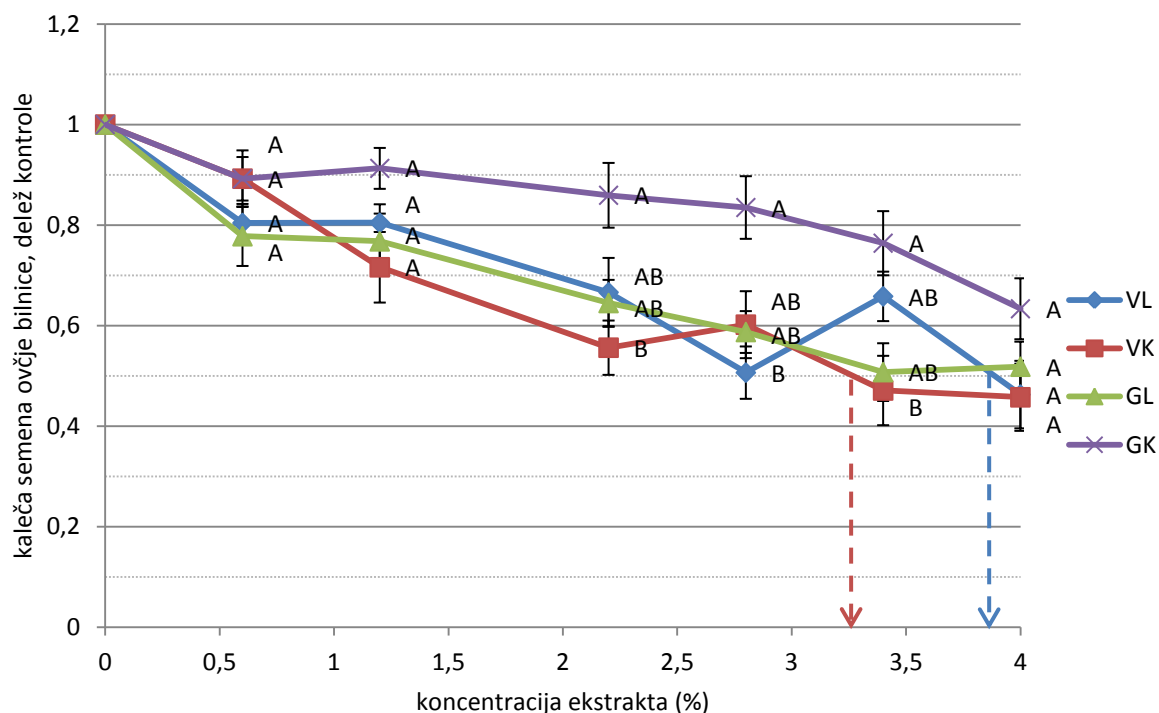
Kateri izvleček najbolj oz. najmanj zavira kalitev semen smo določali tretji dan po imbibiciji. Ta dan smo izbrali, ker smo v večini primerov takrat opazili največja odstopanja od kontrole. Kontrola je v vseh serijah kalila primerljivo, zato smo rezultate lahko združili in iz njih razbrali polovično efektivno dozo (ED_{50}) posameznega izvlečka na posamezno vrsto. Polovična efektivna doza (ED_{50}) pomeni koncentracijo izvlečka, pri kateri se uspeh kalitve semen zmanjša na polovico. Nižja kot je ED_{50} , močnejši vpliv ima izvleček.

Kalitev semen črne detelje je najbolj zaviral izvleček listov navadne zlate rozge, ki ima ED_{50} pri 0,4 % (sl. 20). Njegov vpliv se značilno razlikuje od ostalih treh izvlečkov. Manj vpliva sta imela izvleček korenin navadne zlate rozge, z ED_{50} pri 1,7 %, in izvleček listov orjaške zlate rozge, z ED_{50} pri 2,5 %. Kljub različnim vrednostima ED_{50} med vplivoma izvlečkov ni značilnih razlik. Najmanj vpliva je na kalitev črne detelje imel izvleček korenin orjaške zlate rozge, za katerega ED_{50} nismo mogli določiti, ker delež kalečih semen nikoli ni padel pod polovico. Njegov vpliv se značilno razlikuje od preostalih izvlečkov.



Slika 20. Deleži kalečih semen črne detelje (*Trifolium pratense*), zalitih z različnimi koncentracijami izvlečka korenin (K) in listov (L) navadne (*Solidago virgaurea*, V) in orjaške zlate rozge (*S. gigantea*, G) ter prikaz polovičnih efektivnih doz, 3. dan po imbibiciji (črtkana črta). Združeni so podatki vseh serij, $SV \pm SN$, $n_{\text{listi}} = 10$, $n_{\text{korenine}} = 25$, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test. Različne črke označujejo statistično značilno razliko znotraj koncentracije ($p < 0,05$).

Med vplivi izvlečkov na kalitev ovčje bilnice nismo opazili značilnih razlik (sl. 21). Najnižjo ED₅₀ ima sicer izvleček korenin navadne zlate rozge, pri 3,25 %, izvleček listov navadne zlate rozge pa pri 3,9 %. Izvlečkoma listov in korenin orjaške zlate rozge ED₅₀ nismo mogli določiti, ker delež kalečih semen nikoli ni bil manjši od polovice.

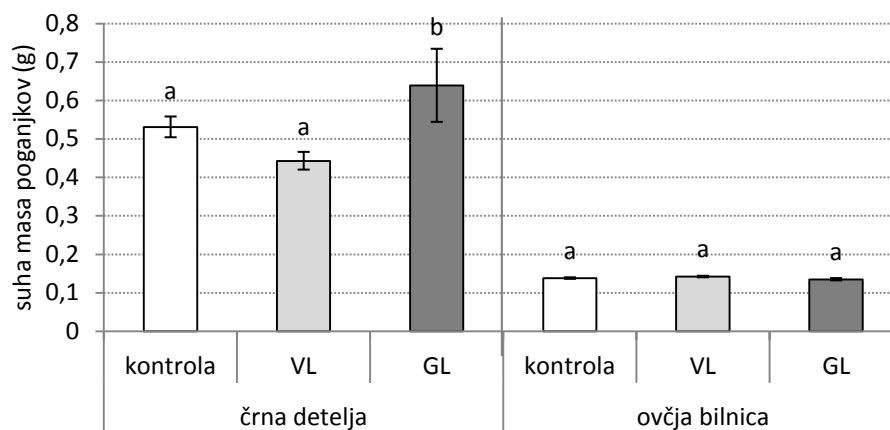


Slika 21. Deleži kalečih semen ovčje bilnice (*Festuca ovina*), zalitih z različnimi koncentracijami izvlečka korenin (K) in listov (L) navadne (*Solidago virgaurea*, V) in orjaške zlate rozge (*S. gigantea*, G) ter prikaz polovičnih efektivnih doz, 3. dan po imbibiciji (črtkana črta). Združeni so podatki vseh serij, $SV \pm SN$, $n_{\text{listi}} = 10$, $n_{\text{korenine}} = 25$, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test. Različne črke označujejo statistično značilno razliko znotraj koncentracije ($p < 0,05$).

Trije izmed izvlečkov, razen izvlečka korenin orjaške zlate rozge, so kalitev črne detelje zavirali pri nižjih koncentracijah kot kalitev ovčje bilnice.

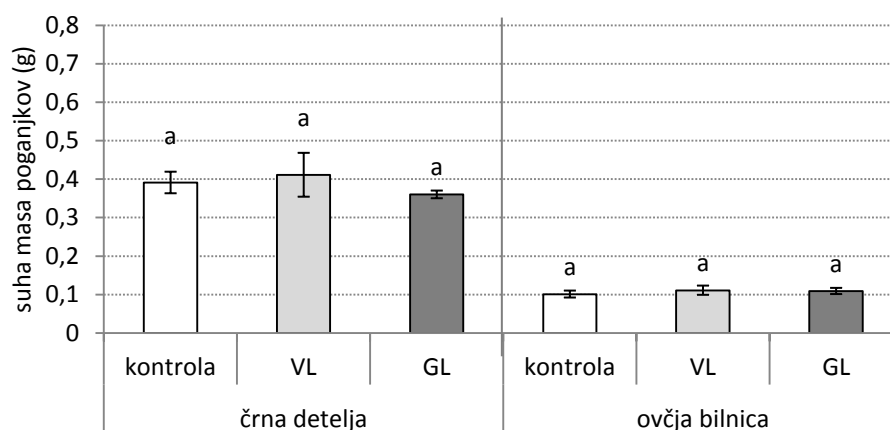
4.3 VPLIV IZVLEČKOV LISTOV NA RAST KALIC

Kalice črne detelje in ovčje bilnice smo po enem tednu rasti zalili z 1 % vodnim izvlečkom listov navadne in orjaške zlate rozge. Po šestih tednih smo primerjali vpliv izvlečkov na njihovo biomaso (sl. 22)



Slika 22. Biomasa kalic črne detelje (*Trifolium pratense*) in ovčje bilnice (*Festuca ovina*), zalitih z 1 % izvlečkom listov navadne (*Solidago virgaurea*, VL) in orjaške zlate rozge (*S. gigantea*, GL). Prva ponovitev poskusa (SV ± SN, n = 10), t-test. Različne črke označujejo statistično značilno razliko pri p < 0,05.

V prvi ponovitvi poskusa izvleček listov navadne zlate rozge na rast kalic ni vplival, izvleček listov orjaške zlate rozge pa je vplival le na kalice črne detelje, in sicer se je biomasa povečala za 20 %. Na sliki je prikaz suhe mase poganjkov, vendar se je na enak način povečala tudi sveža masa poganjkov (podatki niso prikazani). V drugi ponovitvi poskusa nobeden od izvlečkov ni vplival na biomaso kalic (sl. 23). Na sliki je prikaz suhe mase poganjkov, sveža masa poganjkov je dala enake rezultate (podatki niso prikazani).



Slika 23. Biomasa kalic črne detelje (*Trifolium pratense*) in ovčje bilnice (*Festuca ovina*), zalitih z 1 % izvlečkom listov navadne (*Solidago virgaurea*, VL) in orjaške zlate rozge (*S. gigantea*, GL). Druga ponovitev poskusa (SV ± SN, n = 10), t-test. Različne črke označujejo statistično značilno razliko pri p < 0,05.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Navadna in orjaška zlata rozga sta znani kot zaviralci rasti drugih organizmov. Našli smo poročila, ki potrjujejo njune negativne učinke na mikroorganizme (Zlata rozga; Kristó in sod., 2002; Thiem in Gošličska, 2002) in amebe (Derda in sod., 2008). Z našo raziskavo pa smo želeli preveriti alelopatske učinke obeh vrst zlate rozge na izbrane avtohtone rastline. V ta namen smo testirali vpliv vodnih izvlečkov listov in korenin avtohtone in invazivne zlate rozge na kalitev in rast črne detelje in ovčje bilnice, kateri sta po Sloveniji široko razširjeni (Wraber, 1999). Ker je orjaška zlata rozga tujerodna invazivna, navadna zlata rozga pa avtohtona rastlinska vrsta (Rastline – invazivne ...), smo več alelopatskih učinkov pričakovali pri orjaški zlati rozgi. Rezultati pa so pokazali, da jih ima pravzaprav več navadna zlata rozga.

5.1.1 Analiza fenolnih snovi v izvlečkih korenin in listov

Merjenje koncentracij topnih fenolov je pokazalo, da se vsi štirje testirani izvlečki med sabo razlikujejo v njihovi vsebnosti. Izvlečki listov jih vsebujejo več kot izvlečki korenin, tako v izvlečkih listov kot korenin pa jih ima orjaška zlata rozga več kot navadna (sl. 6). Poleg tega smo ugotovili, da se izvlečki med sabo močno razlikujejo tudi v fenolnih profilih (sl. 7 in 8). Posamezne fenole vsebujejo vsi izvlečki, nekatere samo izvlečki listov, druge samo izvlečki korenin, enega samo izvlečki orjaške zlate rozge, večino pa smo zasledili samo v enem izmed izvlečkov (sl. 10).

Fenolne snovi v izvlečkih smo primerjali z dvema standardoma, in sicer s katehinom in ferulno kislino. Katehina nismo našli v nobenem izmed izvlečkov, ferulna kislina pa je bila prisotna v izvlečku listov in korenin orjaške zlate rozge. Rezultat je pričakovan, saj je ferulna kislina sestavni del rastlinske celične stene (Mathew in Abraham, 2004).

Preostalih fenolnih snovi v izvlečkih nismo uspeli identificirati, zato navajamo nekatere ugotovitve drugih avtorjev. Orjaško zlato rozgo so analizirali le Kristó in sod. (2002) in ugotovili prisotnost klorogenske kisline, sedmih flavonoidov (med njimi rutin in izokvercitrin) ter še dveh fenolnih kislin, ki ju natančneje niso analizirali. Koncentracija klorogenske kisline v rastlinskem materialu je bila 15,305 mg/g, rutina 27,312 mg/g in izokvercitrina 4,018 mg/g. Preostali avtorji so analizirali navadno zlato rozgo. Pietta in sod. (1991) so v navadni zlati rozgi analizirali samo flavonole in našli štiri različne flavonol glikozide. Derda in sod. (2008) so v nadzemnih delih navadne zlate rozge zasledili več lipofilnih flavonoidov, natančneje pa jih niso določili. V listih navadne zlate rozge pa so Jaiswal in sod. (2011) iskali hidroksicimetne kisline in našli sedem različnih. Raziskav, ki bi testirale alelopatske učinke teh spojin, nismo našli.

Med naštetimi ugotovitvami drugih avtorjev smo zasledili dve spojini, katerih prisotnost so potrdili tako v navadni kot v orjaški zlati rozgi. Gre za klorogensko kislino (oz. 5-kafeoilkininsko kislino), ki je ena izmed hidroksicimetnih kislin, in rutin, ki spada med flavonoide (Kristó in sod., 2002; Jaiswal in sod., 2011; Pietta in sod., 1991).

Jaiswal in sod. (2011) imajo v raziskavi navedeno, da so testirali liste navadne zlate rozge. Pietta in sod. (1991) navajajo samo, da so testirali navadno zlato rozgo, ne pa kateri organ. Enako tudi Kristó in sod. (2002) navajajo le, da so analizirali orjaško zlato rozgo, vendar povedo tudi v kakšnih koncentracijah so bili testirani izvlečki. Pomanjkljivi podatki v omenjenih raziskavah otežujejo primerjavo njihovih rezultatov z našo analizo površin vrhov kromatogramov. Glede na prisotnost v organih, bi klorogenska kislina lahko pri nas imela retencijski čas 33, 38, 42, 44 ali 55 minut, rutin pa 33, 38, 42, 44, 45, 47, 55 ali 62 minut, vendar bi za potrditev tega morali izvlečke primerjati še s tema dvema standardoma. Glede na absorpcijske enote, ki so v sorazmerju s koncentracijo v izvlečkih, pa naših podatkov z drugimi ne moremo primerjati. Uporabili smo namreč drugačen način ekstrakcije in absorpcijo merili pri drugi valovni dolžini kot Kristó in sod. (2002)

Enostavni fenilpropanoidi (kamor spadata npr. klorogenska kislina in ferulna kislina) imajo znane alelopatske učinke, flavonoidi (npr. rutin, katehin) pa ne (Taiz in Zeiger, 2006). Vendar Bais in sod. (2002) navajajo, da katehin alelopatske učinke vendarle ima. Naj jih ima ali ne, katehina v naših izvlečkih ni bilo, zato tudi opaženi učinki izvlečkov niso posledica njegove prisotnosti.

5.1.2 Kalitev semen

Ugotovili smo, da izvlečki listov in korenin navadne in orjaške zlate rozge zmanjšajo uspeh kalitve črne detelje in ovčje bilnice (sl. 12-21). Iz tega sklepamo, da vsi izvlečki vsebujejo alelopatske snovi. Zmanjšana kalitev je bila v nekaterih poskusih prisotna le nekaj dni, v drugih pa vse dni poskusa. To je lahko posledica različnih koncentracij alelopatskih snovi v izvlečkih - manjša kot je koncentracija, hitreje vpliv izgine (Oracz in sod., 2011) - ali pa transformacije alelopatskih molekul tekom poskusov (Cheng, 1992).

Ker so izvlečki na črno deteljo delovali drugače kot na ovčjo bilnico, moramo rezultate komentirati za vsako posebej.

Kalitev črne detelje je najbolj zaviral izvleček listov navadne zlate rozge. Nekoliko manj sta kalitev zavirala izvleček korenin navadne zlate rozge in izvleček listov orjaške zlate rozge, najmanj pa izvleček korenin orjaške zlate rozge (sl. 20). Domnevamo, da v enakem vrstnem redu kot izvlečki vplivajo na kalitev črne detelje, upada tudi vsebnost alelopatske snovi v izvlečkih. Pri analizi površin vrhov kromatogramov nismo opazili, da bi se koncentracija katerega izmed fenolov v izvlečkih zmanjševala v istem zaporedju. Se mu pa

približa vsebnost fenola z retencijskim časom 33 minut. Tega je največ v izvlečku listov navadne zlate rozge in najmanj v izvlečku korenin orjaške zlate rozge, izvleček listov orjaške zlate rozge in izvleček korenin navadne zlate rozge pa imata sicer statistično značilno različni vsebnosti tega fenola, vendar sta si, v primerjavi s preostalima dvema izvlečkoma, zelo podobni. Torej bi omenjeni fenol lahko bil tisti, ki je odgovoren za slabšo kalitev črne detelje. Sodeč po raziskavah drugih avtorjev (Kristó in sod., 2002; Jaiswal in sod., 2011; Pietta in sod., 1991) je možno, da je ta spojina klorogenska kislina ali rutin. Zaradi nepopolnega ujemanja pa je bolj verjetno, da je sovpadanje učinkov izvlečkov in vsebnosti fenola z retencijskim časom 33 minut naključno, in da so na kalitev vplivali kateri drugi sekundarni metaboliti, vsebnosti katerih nismo preverjali.

Kalitev semen ovčje bilnice so vsi štirje izvlečki zavirali enako (sl. 21). Domnevamo, da je tudi alelopatska snov, ki vpliva na kalitev ovčje bilnice, v vseh izvlečkih prisotna v enaki koncentraciji. Pri analizi površin vrhov kromatogramov nismo našli fenola, ki bi temu ustrezal. Zato sklepamo, da alelopatska snov, ki je povzročila zmanjšano kalitev, ni fenol, temveč kateri drugi sekundarni metabolit.

Rezultati kažejo, da bi kalitev črne detelje in ovčje bilnice lahko zavirali dve različni alelopatski snovi. Izkazalo se je tudi, da je črna detelja na izvlečke zlatih rozg občutljiva bolj kot ovčja bilnica. Oba pojava bi lahko bila opažena zato, ker je črna detelja dvokaličnica in ovčja bilnica enokaličnica, vendar bi za točnejšo trditev morali izvesti poskuse na večjem številu vrst.

Podobno raziskavo kot mi sta izvedla Norby in Kozłowski (1980), v kateri sta testirala vpliv vodnega izvlečka listov orjaške zlate rozge na kalitev semen bora (*Pinus resinosa* Aiton). V njunem poskusu izvleček na uspešnost kalitve ni vplival, vendar njun rezultat težko natančno primerjamo z našim, ker sta uporabila semena druge rastlinske vrste in ker v nam dostopnih podatkih ni navedene testne koncentracije.

Opazili smo, da se vpliv izvlečkov na kalitev semen ne ujema s skupno vsebnostjo fenolov v izvlečkih. Iz tega sklepamo, da vsebnost skupnih fenolov sama po sebi nima pomena pri alelopatiji. S tem, da izvlečka listov obeh vrst zlatih rozg vsebujeta več topnih fenolov kot izvlečka korenin, sovpada samo to, da sta kalitev črne detelje izvlečka listov navadne in orjaške zlate rozge zavirala bolj od izvlečka korenin iste zlate rozge.

5.1.3 Rast kalic

S poskusi smo ugotovili, da na biomaso kalic črne detelje in ovčje bilnice izvlečka listov navadne in orjaške zlate rozge v splošnem ne vplivata. Le v eni ponovitvi smo pri kombinaciji črne detelje in orjaške zlate rozge opazili povečanje biomase kalic, vendar se rezultat v drugi seriji ni ponovil (sl. 22 in 23).

Sklepamo, da izvlečka ne vsebujeta snovi, ki bi zavirale rast kalic. Možno pa je, da se v izvlečku listov orjaške zlate rozge nahaja snov, ki rast kalic pospešuje. Izvleček listov orjaške zlate rozge ima najvišjo vsebnost topnih fenolov, kar bi lahko bilo povezano z opaženo izboljšano rastjo. Na kromatogramu bi, če je omenjena snov fenol, lahko imela vrh pri retencijskem času 40, 48, 53, 56 ali 60 minut. Pri teh retencijskih časih je namreč vsebnost posameznega fenola v izvlečku listov orjaške zlate rozge večja kot v izvlečku listov navadne zlate rozge. Možno pa je seveda tudi, da snov, ki vpliva na rast kalic, ni fenol, ampak kateri drugi sekundarni metabolit.

Naša ugotovitev se delno ujema z rezultati raziskave, ki so jo izvedli Scharfy in sod. (2009). Določali so biomaso rastlin v naravi v odvisnosti od prisotnosti ali odsotnosti orjaške zlate rozge. Ugotovili so, da je nadzemna biomasa okoliških rastlin večinoma, a ne vedno, večja na lokacijah kjer raste tudi orjaška zlata rozga.

To, da smo pozitiven vpliv na rast videli le pri črni detelji, bi lahko razložili z večjo občutljivostjo te vrste, kar smo opazili že pri poskusih kalitve semen. To znova nakazuje na večjo občutljivost dvokaličnic, vendar bi za potrditev tega morali poskuse izvesti na večjem številu vrst.

5.2 SKLEPI

Izvlečki listov in korenin navadne in orjaške zlate rozge se med sabo razlikujejo po vsebnosti topnih fenolov in fenolnih profilih.

Zalivanje z izvlečki zlatih rozg zmanjša hitrost in uspešnost kalitve semen črne detelje in ovčje bilnice.

Izvlečki listov in korenin se pri navadni in pri orjaški zlati rozgi razlikujejo po učinkovitosti. Večje razlike kot med izvlečki listov in korenin smo opazili med izvlečki navadne in orjaške zlate rozge. Izvlečki navadne zlate rozge namreč kalitev semen zavirajo bolj od izvlečkov orjaške zlate rozge.

Vzrok za razlike v učinkovitosti izvlečkov niso ne različni fenolni profili in ne različna vsebnost topnih fenolov, ampak najverjetneje različna vsebnost katerega drugega sekundarnega metabolita.

Na rast kalic izvleček listov navadne zlate rozge ne vpliva, izvleček listov orjaške zlate rozge pa v nekaterih primerih izboljša rast črne detelje.

Črna detelja je na izvlečke zlatih rozg bolj občutljiva kot ovčja bilnica, kar kaže na večjo občutljivost dvokaličnic.

6 POVZETEK

Alelopatija je biološki pojav, ko rastline izločajo snovi, s katerimi vplivajo na kalitev, rast, preživetje in razmnoževanje sosednjih rastlin (Rizvi in sod., 1992; Lovett in Ryuntyu, 1992). Molekule z alelopatskimi učinki so sekundarni metaboliti rastlin in spadajo med fenole, terpene, alkaloidi, steroide in organske cianide. V okolje se izločajo iz korenin, z razkrojem nad- in podzemnih delov rastlin ter s hlapljenjem in izpiranjem z listov (Whittaker in Feeny, 1971). Njihova prisotnost v okolju lahko spremeni lastnosti tal in talnih organizmov (Rizvi in sod., 1992). To pa je eden od možnih razlogov za uspešno širjenje invazivnih rastlin (Gurevitch in sod., 2002). Ena izmed invazivnih rastlin pri nas je orjaška zlata rozga (*Solidago gigantea* Aiton), ki so jo iz Severne Amerike prinesli kot okrasno rastlino. V Sloveniji je bila prvič zabeležena sredi 19. stoletja. Orjaška zlata rozga je zelnata trajnica, ki z vegetativnim razmnoževanjem tvori obsežne in goste sestoje (Strgulc Krajšek, 2009). Navadna zlata rozga (*S. virgaurea*) je prav tako zelnata trajnica (Wraber, 1999), ki pa je pri nas avtohtona (Rastline – invazivne ...).

Z našo nalogo smo želeli ugotoviti ali zalivanje z vodnimi izvlečki listov in korenin navadne in orjaške zlate rozge vpliva na hitrost in uspešnost kalitve semen in uspevanje kalic. Ugotoviti smo želeli tudi ali se učinki izvlečkov navadne in orjaške zlate rozge razlikujejo in ali so različni učinki posledica razlik v profilih in vsebnostih topnih fenolov v izvlečkih.

Za poskuse smo nabrali liste in korenine navadne in orjaške zlate rozge. Material smo nabirali poleti, ga liofilizirali in do uporabe hranili na hladnem. Za pripravo vodnih izvlečkov smo zdrobljen material zmešali z destilirano vodo, raztopine prenučirali in filtrate redčili do končnih koncentracij, v razponu med 0,6 % in 4,0 %. Z izvlečki smo zalili filter papirje, na katerih so kalila semena ovčje bilnice in črne detelje, in substrat, kjer so rasle njune kalice. V izvlečkih smo z visokotlačno tekočinsko kromatografijo ločili topne fenole in kromatograme primerjali pri valovni dolžini 310 nm. Vsebnost topnih fenolov v izvlečkih smo določali spektrofotometrično, z merjenjem absorpcije pri 750 nm. Za preračunavanje smo uporabili umeritveno krivuljo s katehinom.

Topnih fenolov smo v izvlečkih listov našli več kot v izvlečkih korenin. Tako v izvlečkih listov kot korenin pa je več topnih fenolov vsebovala orjaška zlata rozga. Vsi štiri izvlečki so se med sabo močno razlikovali tudi po fenolnih profilih. Ob zalivanju semen z omenjenimi izvlečki smo opazili, da kalitev zavirajo vsi. Kalitev črne detelje je najbolj zaviral izvleček listov navadne zlate rozge, nekoliko manj vpliva sta imela izvleček korenin navadne zlate rozge in izvleček listov orjaške zlate rozge, najmanj učinkovit pa je bil izvleček korenin orjaške zlate rozge. Kalitev ovčje bilnice so vsi štiri izvlečki zavirali enako. Izvlečki so na črno deteljo vplivali bolj kot na ovčjo bilnico. Ob zalivanju kalic z

izvlečki listov vpliva na rast nismo opazili, izjema je le kombinacija črne detelje in izvlečka listov orjaške zlate rozge, ki je v eni ponovitvi povzročila povečanje biomase.

Razlike v delovanju izvlečkov smo poskusili povezati z razlikami v fenolnih profilih in koncentracijah topnih fenolov. Ugotovili smo, da vsebnost topnih fenolov pri alelopatijah sama po sebi nima pomena. Profil fenolov v izvlečku pa je pomemben, če je alelopatska snov fenol. Primerjava površin vrhov kromatogramov z vplivom izvlečkov na kalitev semen je pokazala, da na kalitev semen najverjetneje ne vplivajo fenoli, ker nismo našli nobenega, katerega vsebnost bi se ujemala z zaporedjem učinkovitosti izvlečkov. Enkrat opaženo izboljšano rast kalic pa bi lahko razložila prisotnost fenola, z vrhom pri 40, 48, 53, 56 ali 60 minutah, vendar bi za potrditev tega morali izvesti dodatne poskuse.

7 VIRI

- Bais H.P., Walker T.S., Stermitz F.R., Hufbauer R.A., Vivanco J.M. 2002. Enantiomeric-Dependent Phytotoxic and Antimicrobial Activity of (\pm)-Catechin. A Rhizosecreted Racemic Mixture from Spotted Knapweed. *Plant Physiology*, 128, 4: 1173-1179
- Cheng H.H. 1992. A conceptual framework for assessing allelochemicals in the soil environment. V: *Allelopathy: Basic and applied aspects*. Rizvi S.J.H., Rizvi V. (eds). London (etc.), Chapman & Hall: 21-29
- Cowels H.C. 1911. The causes of vegetative cycles. *Botanical Gazette*, 51, 3: 161-183
- Derda M., Hadaś E., Thiem B. 2008. Plant extracts as natural amoebicidal agents. *Parasitology Research*, 104, 3: 705-708
- Elton C.S. 1958. *The ecology of invasions by animals and plants*. London, Methuen and Co. Ltd.: 181 str.
- Gurevitch J., Scheiner S.M., Fox G.A. 2002. *The ecology of plants*. Sunderland, Sinauer Associates, Inc., Publishers: XVI, 523 str.
- Hobbs R.J. 1989. The nature and effects of disturbance relative to invasions. V: *Biological invasions: A global perspective*. Drake J.A., Mooney H.A. (eds.). New York, John Wiley & Sons: 389-405
- Jaiswal R., Kiprotich J., Kuhnert N. 2011. Determination of the hydroxycinnamate profile of 12 members of the *Asteraceae* family. *Phytochemistry*, 72, 8: 781-790
- Jogan N. 2009a. *Tujerodne vrste: informativni listi izbranih invazivnih vrst*. Grahovo, Zavod Symbiosis: 67 str.
- Jogan N. 2009b. *Tujerodne rastline v Sloveniji*. V: *Tujerodne vrste: priročnik za naravovarstvenike*. Kus Veenvliet J. (ur.). Grahovo, Zavod Symbiosis: 14-16
- Kristó Sz.T., Ganzler K., Apáti P., Szőke É., Kéry Á. 2002. Analysis of antioxidant flavonoids from asteraceae and moraceae plants by capillary electrophoresis. *Chromatographia*, 56, 1: S121-S126
- Kus Veenvliet J., Veenvliet P. 2009. Uvod. V: *Tujerodne vrste: priročnik za naravovarstvenike*. Kus Veenvliet J. (ur.). Grahovo, Zavod Symbiosis: 1-13
- Kus Veenvliet J., Veenvliet P., Bačič M., Frajman B., Jogan N., Strgulc Krajšek S. 2009. *Tujerodne vrste: ubežnice z vrtov*. Grahovo, Zavod Symbiosis: 24 str.
- Likar M., Regvar M. 2003. *Praktikum fiziologije rastlin*. Ljubljana, Študentska založba: 94 str.
- Levine J.M. 2000. Species diversity and biological invasions: Relating local process to community pattern. *Science, New Series*, 288, 5467: 852-854
- Lodge D.M. 1993. Biological invasions: Lessons for ecology. *Trends in ecology & evolution*, 8, 4: 133-137
- Lovett J., Ryuntyu M. 1992. Allelopathy: broadening the context. V: *Allelopathy: Basic and applied aspects*. Rizvi S.J.H., Rizvi V. (eds). London (etc.), Chapman & Hall: 11-19

- Mathew S., Abraham T.E. 2004. Ferulic Acid: An Antioxidant Found Naturally in Plant Cell Walls and Feruloyl Esterases Involved in its Release and Their Applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 24, 2-3: 59-83
- Moral R. del, Muller C.H. 1969. Fog drip: A mechanism of toxin transport from *Eucalyptus globulus*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 96, 4: 467-475
- Norby R.J., Kozlowski T.T. 1980. Allelopathic potential of ground cover species on *Pinus resinosa* seedlings. *Plant and soil*, 57, 2-3: 363-374
- Orazc K., Voegelé A., Tarkowská D., Jacquemoud D., Turečková V., Urbanová T., Strnad M., Sliwinska E., Leubner-Metzger G. 2012. Myriganone A Inhibits *Lepidium sativum* Seed Germination by Interference with Gibberellin Metabolism and Apoplastic Superoxide Production Required for Embryo Extension Growth and Endosperm Rupture. *Plant and Cell Physiology*, 53, 1: 81-95
- Pietta P., Gardana C., Mauri P., Zecca L. 1991. High-performance liquid chromatographic analysis of flavonol glycosides of *Solidago virgaurea*. *A Journal of Chromatography*, 558, 1: 296-301
- Rastline – invazivne tujerodne vrste. Ministrstvo za okolje in prostor.
http://www.mop.gov.si/si/delovna_podrocja/narava/invazivne_tujerodne_vrste_rastlin_in_zivali/rastline_invazivne_tujerodne_vrste/ (6.8.2011)
- Rizvi S.J.H., Haque H., Singh V.K., Rizvi V. 1992. A discipline called allelopathy. V: *Allelopathy: Basic and applied aspects*. Rizvi S.J.H., Rizvi V. (eds). London (etc.), Chapman & Hall: 1-10
- Rizvi S.J.H., Rizvi V. 1992. Exploitation of allelochemicals in improving crop productivity. V: *Allelopathy: Basic and applied aspects*. Rizvi S.J.H., Rizvi V. (eds). London (etc.), Chapman & Hall: 443-472
- Saetnan E.R., Batzli G.O. 2009. Effects of simulated herbivory on defensive compounds in forage plants of norwegian alpine rangelands. *Journal of Chemical Ecology*, 35, 4: 469-475
- Scharfy D., Eggenschwiler H., Olde Venterink H., Edwards P.J., Güsewell S. 2009. The invasive alien plant species *Solidago gigantea* alters ecosystem properties across habitats with differing fertility. *Journal of Vegetation Science*, 20, 6: 1072-1085
- Schlaepfer D.R., Edwards P.J., Semple J.C., Billeter R. 2008. Cytogeography of *Solidago gigantea* (Asteraceae) and its invasive ploidy level. *Journal of biogeography*, 35, 11: 2119-2127
- Smith M.D., Knapp A.K. 1999. Exotic plant species in a C₄-dominated grassland: invasibility, disturbance, and community structure. *Oecologia*, 120: 605-612
- Sokmen A., Jones B.M., Erturk M. 1999. The in vitro antibacterial activity of Turkish medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 67, 1: 79-86
- Stohlgren T.J., Binkley D., Chong G.W., Kalkhan M.A., Schell L.D., Bull K.A., Otsuki Y., Newman G., Bashkin M., Son Y. 1999. Exotic plant species invade hot spots of native plant diversity. *Ecological Monographs*, 69, 1: 25-46

- Stowe L.G. 1979. Allelopathy and its influence on the distribution of plants in an Illinois old-field. *Journal of Ecology*, 67: 1065-1085
- Strack D. 1997. Phenolic metabolism. V: *Plant biochemistry*. Dey P.M. (ed.), Harborne J.B. (ed.). San Diego (etc.), Academic Press: 387-416
- Strgulc Krajšek S. 2009. Orjaška zlata rozga *Solidago gigantea*. V: *Tujerodne vrste: informativni listi izbranih invazivnih vrst*. Jogan N. (ur.). Grahovo, Zavod Symbiosis: 48-50
- Symstad A.J. 2000. A test of the effects of functional group richness and composition on grassland invasibility. *Ecology*, 81, 1: 99-109
- Teiz L., Zeiger E. 2006. *Plant physiology*. Fourth edition. Sunderland, Sinauer Associates, Inc., Publishers: XXVI, 764 str.
- Thiem B., Gošliška O. 2002. Antimicrobial activity of *Solidago virgaurea* L. from in vitro cultures. *Fitoterapia*, 73, 6: 514-516
- Tilman D. 1999. The ecological consequences of changes in biodiversity: A search for general principles. *Ecology*, 80, 5: 1455-1474
- Whittaker R.H., Feeny P.P. 1971. Allelochemicals: Chemical interactions between species. *Science, New Series*, 171, 3973: 757-770
- Wit H.C.D. de 1978. *Rastlinski svet. 2, Semenovke 2*. Ljubljana, Mladinska knjiga: 378 str.
- Wraber T. 1999. *Asteraceae*. V: *Mala flora Slovenije: ključ za določanje praprotnic in semenk. 3., dopolnjena in spremenjena izdaja* (ur. Martinčič A. in sod.). Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 845 str.
- Zlata rozga. Gorenjske lekarne.
http://www.gorenjske-lekarne.si/si/zdravilne-rastline_3/zlata-rozga (20.8.2011)

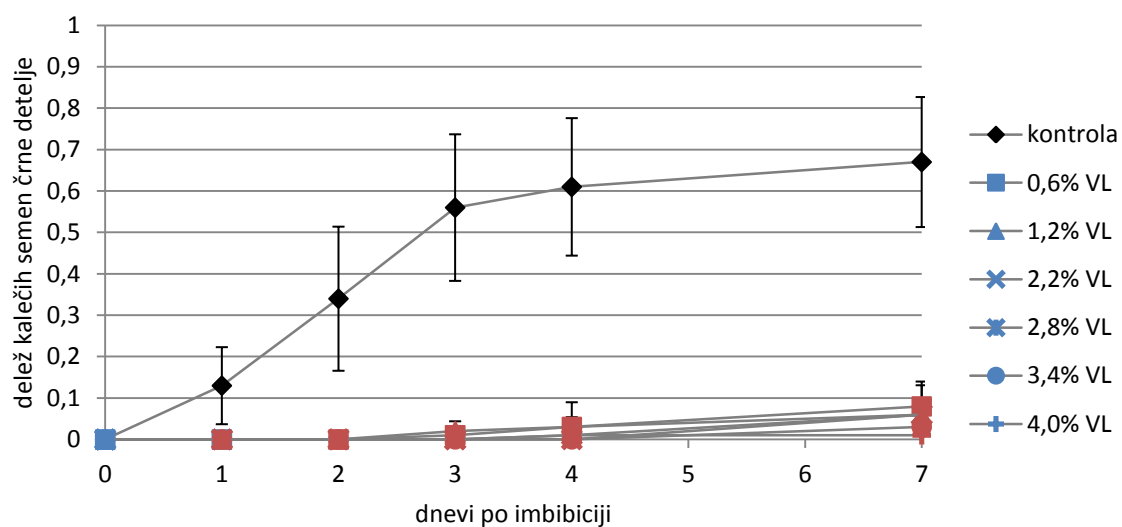
ZAHVALA

Zahvaljujem se zaposlenim na Katedri za botaniko in fiziologijo rastlin, ki so mi omogočili delo in mi pomagali pri izdelavi diplomske naloge.

PRILOGA A

Vpliv izvlečka listov navadne zlate rozge (*Solidago virgaurea*) na kalitev semen črne detelje (*Trifolium pratense*).

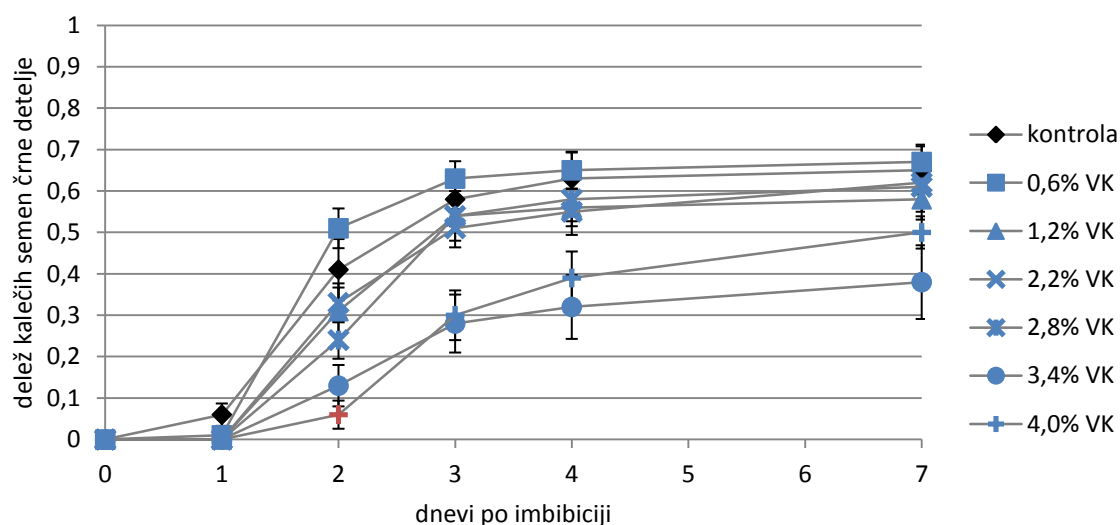
Prva ponovitev poskusa (SV \pm SN, n = 5). Rdeča barva označuje statistično značilno razliko od kontrole (p < 0,05, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test), modra barva pa, da se od kontrole statistično značilno ne razlikuje.



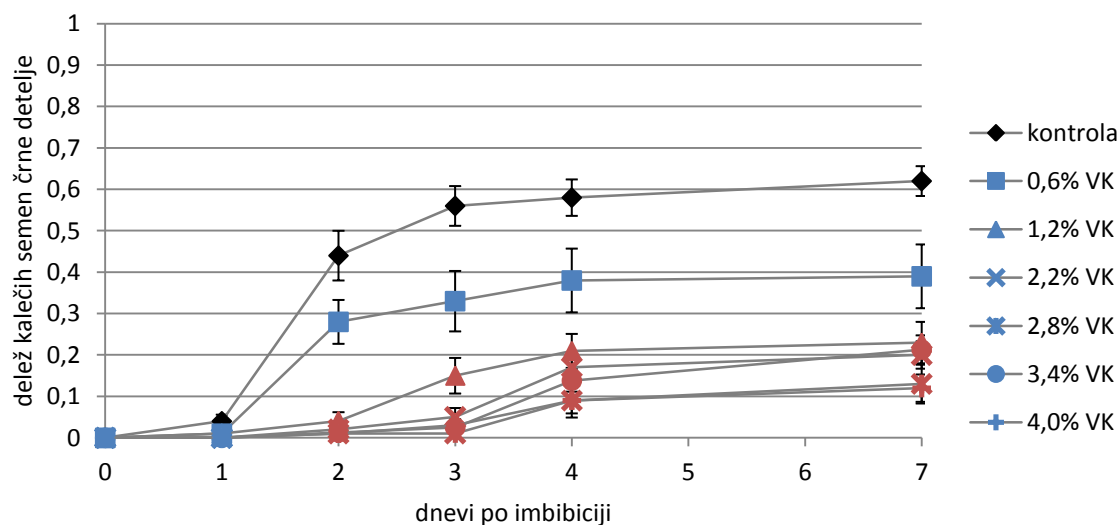
PRILOGA B

Vpliv izvlečka korenin navadne zlate rozge (*Solidago virgaurea*) na kalitev semen črne detelje (*Trifolium pratense*).

Prva ponovitev poskusa (SV \pm SN, n = 10). Rdeča barva označuje statistično značilno razliko od kontrole (p < 0,05, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test), modra barva pa, da se od kontrole statistično značilno ne razlikuje.



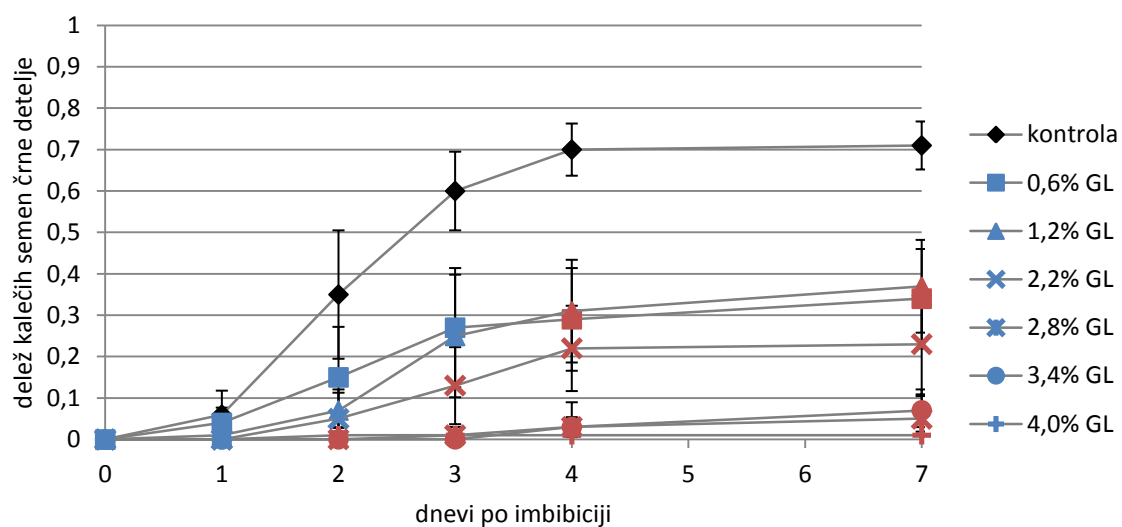
Druga ponovitev poskusa (SV \pm SN, n = 10). Rdeča barva označuje statistično značilno razliko od kontrole (p < 0,05, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test), modra barva pa, da se od kontrole statistično značilno ne razlikuje.



PRILOGA C

Vpliv izvlečka listov orjaške zlate rozge (*Solidago gigantea*) na kalitev semen črne detelje (*Trifolium pratense*).

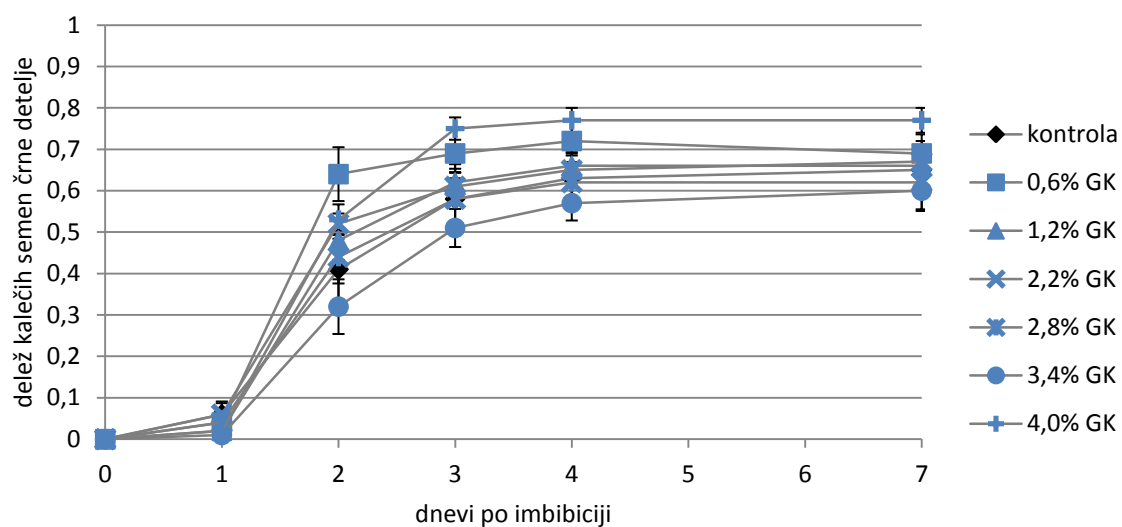
Prva ponovitev poskusa (SV \pm SN, n = 5). Rdeča barva označuje statistično značilno razliko od kontrole (p < 0,05, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test), modra barva pa, da se od kontrole statistično značilno ne razlikuje.



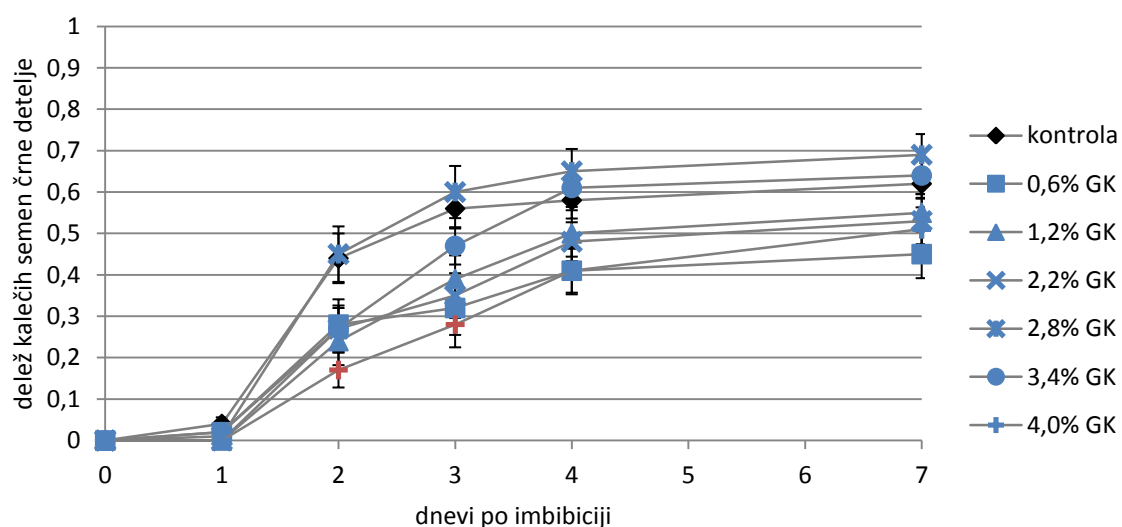
PRILOGA Č

Vpliv izvlečka korenin orjaške zlate rozge (*Solidago gigantea*) na kalitev semen črne detelje (*Trifolium pratense*).

Prva ponovitev poskusa (SV \pm SN, n = 10). Modra barva označuje, da se od kontrole statistično značilno ne razlikuje (p < 0,05, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test).



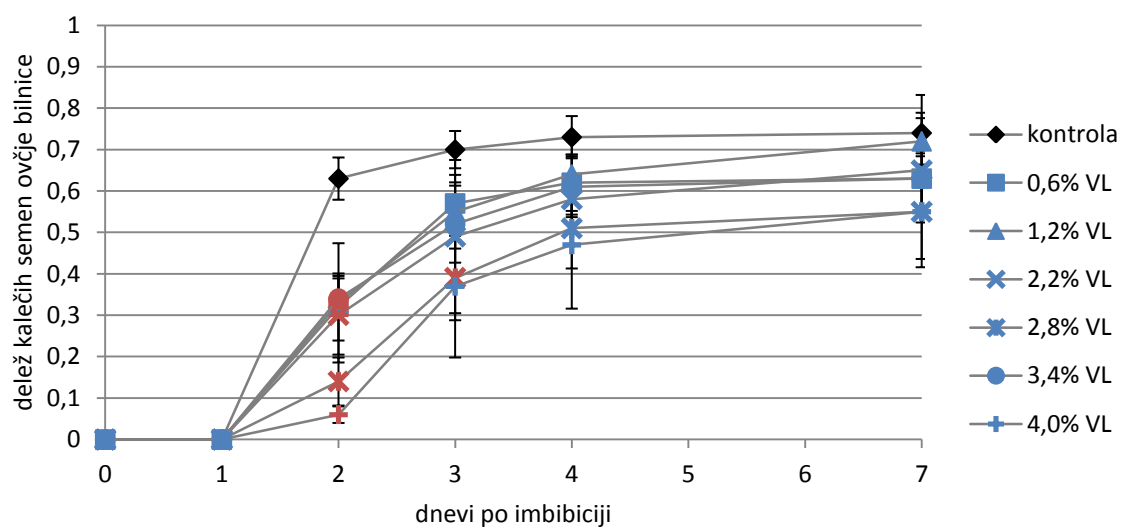
Druga ponovitev poskusa (SV \pm SN, n = 10). Rdeča barva označuje statistično značilno razliko od kontrole (p < 0,05, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test), modra barva pa, da se od kontrole statistično značilno ne razlikuje.



PRILOGA D

Vpliv izvlečka listov navadne zlate rozge (*Solidago virgaurea*) na kalitev semen ovčje bilnice (*Festuca ovina*).

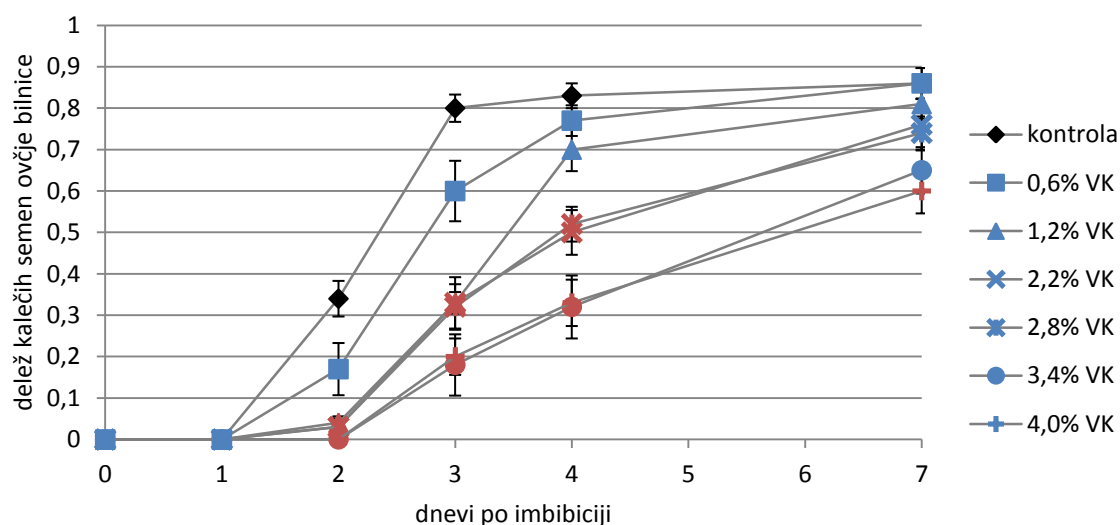
Prva ponovitev poskusa (SV \pm SN, n = 5). Rdeča barva označuje statistično značilno razliko od kontrole (p < 0,05, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test), modra barva pa, da se od kontrole statistično značilno ne razlikuje.



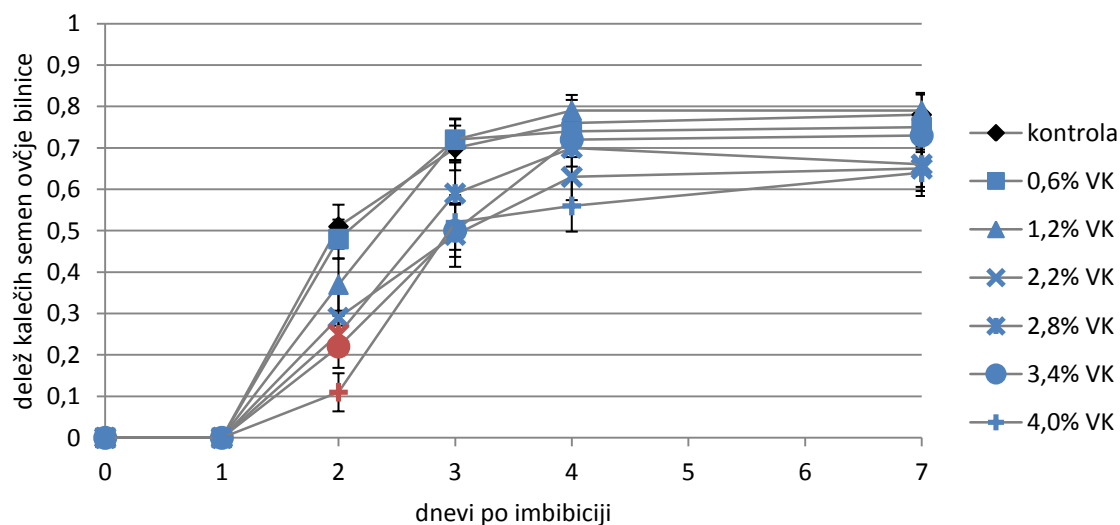
PRILOGA E

Vpliv izvlečka korenin navadne zlate rozge (*Solidago virgaurea*) na kalitev semen ovčje bilnice (*Festuca ovina*).

Prva ponovitev poskusa (SV \pm SN, n = 10). Rdeča barva označuje statistično značilno razliko od kontrole (p < 0,05, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test), modra barva pa, da se od kontrole statistično značilno ne razlikuje.



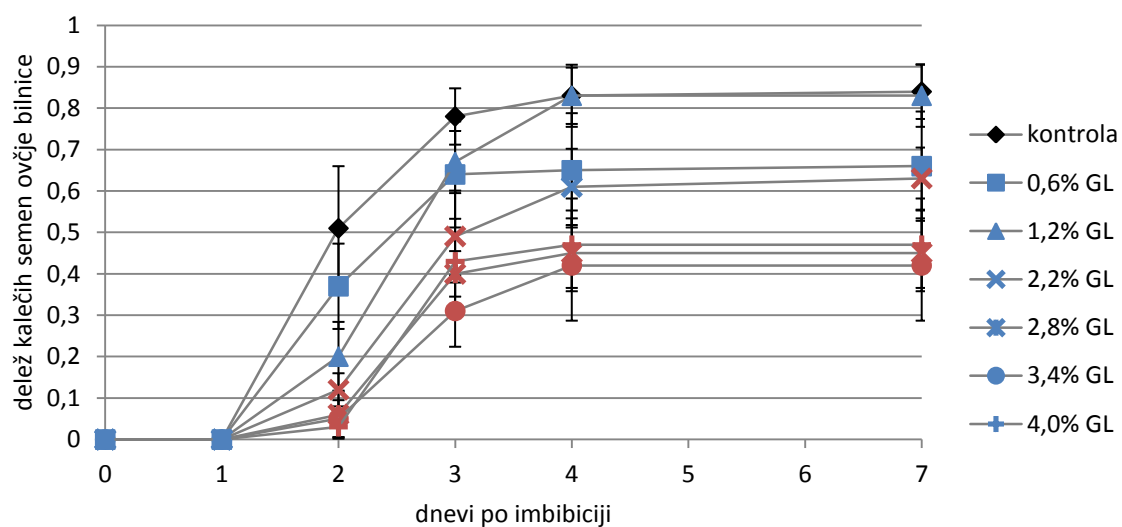
Druga ponovitev poskusa (SV \pm SN, n = 10). Rdeča barva označuje statistično značilno razliko od kontrole (p < 0,05, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test), modra barva pa, da se od kontrole statistično značilno ne razlikuje.



PRILOGA F

Vpliv izvlečka listov orjaške zlate rozge (*Solidago gigantea*) na kalitev semen ovčje bilnice (*Festuca ovina*).

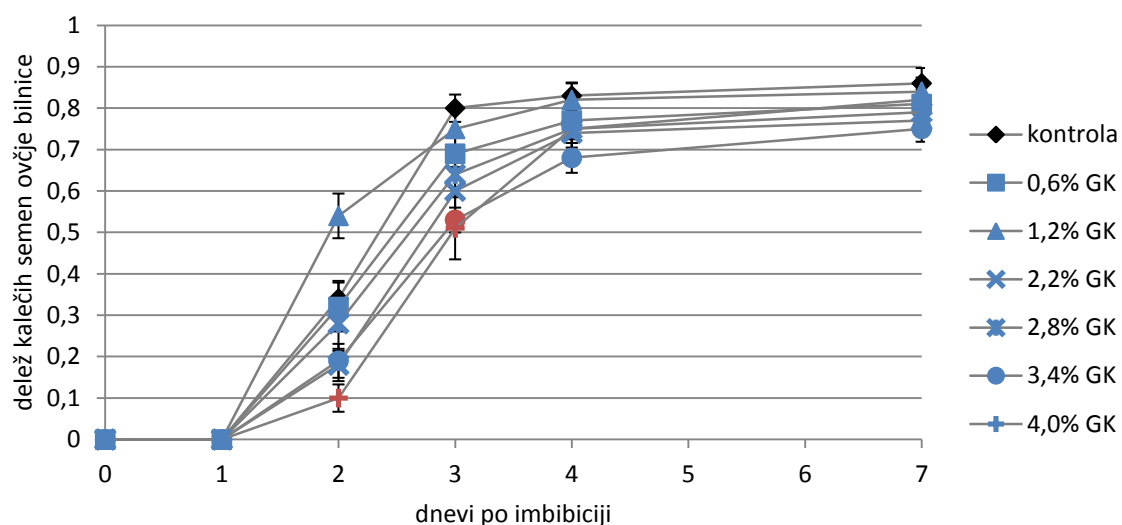
Prva ponovitev poskusa ($SV \pm SN$, $n = 5$). Rdeča barva označuje statistično značilno razliko od kontrole ($p < 0,05$, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test), modra barva pa, da se od kontrole statistično značilno ne razlikuje.



PRILOGA G

Vpliv izvlečka korenin orjaške zlate rozge (*Solidago gigantea*) na kalitev semen ovčje bilnice (*Festuca ovina*).

Prva ponovitev poskusa (SV \pm SN, n = 10). Rdeča barva označuje statistično značilno razliko od kontrole (p < 0,05, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test), modra barva pa, da se od kontrole statistično značilno ne razlikuje.



Druga ponovitev poskusa (SV \pm SN, n = 10). Rdeča barva označuje statistično značilno razliko od kontrole (p < 0,05, enosmerna ANOVA, Holm-Sidak post hoc test), modra barva pa, da se od kontrole statistično značilno ne razlikuje.

