

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ŠTUDIJ EKOLOGIJE IN BIODIVERZITETE

Primož DOVČ

**MEDSEBOJNI VPLIVI OSEBKOV MALE VODNE  
LEČE Z ELEKTROMAGNETNIMI VALOVANJI**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študij - 2. stopnja

Ljubljana, 2014

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ŠTUDIJ EKOLOGIJE IN BIODIVERZITETE

Primož DOVČ

**MEDSEBOJNI VPLIVI OSEBKOV MALE VODNE LEČE Z  
ELEKTROMAGNETNIMI VALOVANJI**

MAGISTRSKO DELO  
Magistrski študij – 2. stopnja

**INTRASPECIFIC INTERACTIONS IN COMMON DUCKWEED BY  
ELECTROMAGNETIC RADIATION**

M.Sc. THESIS  
Master Study Programmes

Ljubljana, 2014

Magistrsko delo je zaključek magistrskega študijskega programa druge stopnje Ekologija in biodiverziteta na Oddelku za biologijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Praktičen del naloge je bil opravljen na Inštitutu BION, Inštitut za bioelektromagnetiko in novo biologijo d.o.o. v Ljubljani.

Komisija za študij 1. in 2. stopnje Oddelka za biologijo, Biotehniške fakultete je dne 6. 2. 2013 odobrila naslov magistrskega dela in za mentorja imenovala prof. dr. Igorja Jermana, za somentorico prof. dr. Alenko Gaberščik in za recenzentko prof. dr. Matejo Germ.

Komisija za oceno in zagovor:

- Predsednica: prof. dr. Marjana REGVAR  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo
- Članica: doc. dr. Mateja GERM  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo
- Član: prof. dr. Igor JERMAN  
Inštitut BION, d.o.o.
- Članica: prof. dr. Alenka GABERŠČIK  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisani se strinjam z objavo svojega dela na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je delo, ki sem ga oddal v elektronski obliki, identično tiskani verziji.

Primož DOVČ

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Du2  
DK UDK 581.5:582.532.4(043.2)=163.6  
KG mala vodna leča/*Lemna minor* L./šibko sevanje fotonov/komunikacija  
AV DOVČ, Primož, dipl. biol.  
SA JERMAN, Igor (mentor)/GABERŠČIK, Alenka (somentorica)/ GERM, Mateja (recenzentka)  
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta  
LI 2014  
IN MEDSEBOJNI VPLIVI OSEBKOV MALE VODNE LEČE Z ELEKTROMAGNETNIMI VALOVANJI  
TD Magistrsko delo (Magistrski študij – 2. stopnja Ekologija in biodiverziteta)  
OP X, 40 str., 9 pregl., 10 sl., 1 pril., 51 vir.  
IJ sl  
JI sl/en  
AI Na primeru male vodne leče (*Lemna minor* L.) smo preverili, ali lahko potrdimo izmenjavo informacij med osebki v svetlobnem spektru (UV do IR) elektromagnetnih valovanj (EMV). Dve skupini osebkov smo ločili (manjša kristalizirka v večji, na ta način smo onemogočili prehajanje snovi preko gojišča) ter rastline v zunanji (večji) kristalizirki izpostavili različnim neugodnim dejavnikom (visoka gostota rastlin, gojišče brez kalcija) in opazovali, ali to vpliva na rast rastlin v notranji (manjši) kristalizirki glede na kontrolo. Primerjali smo tudi, ali obstajajo razlike v rasti, če pregrade med obema gojiščema prepuščajo različne spektre EMV. Uporabili smo navadno steklo, kvarčno steklo (za razliko od prejšnjega dodatno prepušča del UV spektra) in neprosojen ovoj (ne prepušča svetlobe). Glede na rezultate poskusov ne moremo potrditi medsebojnih vplivov med osebki male vodne leče na ravni EMV. Obstaja tudi možnost, da je učinek predpostavljene izmenjave informacij v svetlobnem spektru EMV na rast rastlin prenizek, da bi ga z izbrano metodo lahko zaznali. Znotraj posameznih poskusov smo sicer dobili določene statistično značilne razlike, vendar so ponovitve poskusov dale nasprotujoče rezultate. Kljub temu je naloga pomemben prispevek k optimizaciji metodologije za preučevanje medsebojnih vplivov med osebki male vodne leče na ravni EMV.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Du2  
DC UDC 581.5:582.532.4(043.2)=163.6  
CX common duckweed/*Lemna minor* L./ultra weak photon emission /communication  
AU DOVČ, Primož, dipl. biol.  
AA JERMAN, Igor (supervisor)/GABERŠČIK, Alenka (co-adviser)/ GERM, Mateja (reviewer)  
PP SI-1000 Ljubljana, Večna pot 111  
PB University of Ljubljana, Biotechnical faculty  
PY 2014  
TI INTRASPECIFIC INTERACTIONS IN COMMON DUCKWEED BY ELECTROMAGNETIC RADIATION  
DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes – Ecology and biodiversity)  
NO X, 40 p., 9 tab., 10 fig., 1 ann., 51 red.  
LA sl  
AL sl/en  
AB Common duckweed (*Lemna minor* L.) was used to test for the possibility of intraspecific information exchange with electromagnetic radiation (EMR) between UV and IR spectrum. We used two separate groups of plants (a small crystallizing dish inside a bigger one). Plants in outer (bigger) dish were exposed to different unfavorable conditions (high plant density, liquid medium without calcium) while the plants in small dish were monitored for any differences in growth in comparison to control. Additionally we checked if different types of barriers with different EMR permeability can affect plant growth in different way. Ordinary, quartz glass and light impermeable barriers were used. Our results do not confirm any intraspecific information exchange with EMR. It is possible that the effect of the presumed exchange of information in the light spectrum of the EMR was too small to be detected by the chosen method. Some of the experiments did show statistically significant results but their repetitions were contradictory. Nevertheless, this study presents an important contribution to the optimization of experimental conditions for studying the possibility of intraspecific information exchange with electromagnetic radiation in *Lemna minor*.

## KAZALO VSEBINE

	str.
<b>Ključna dokumentacijska informacija (KDI)</b>	<b>III</b>
<b>Key Words Documentation (KWD)</b>	<b>IV</b>
<b>Kazalo vsebine</b>	<b>V</b>
<b>Kazalo preglednic</b>	<b>VII</b>
<b>Kazalo slik</b>	<b>VIII</b>
<b>Kazalo prilog</b>	<b>IX</b>
<b>Okrajšave in simboli</b>	<b>X</b>
<b>1 UVOD</b>	<b>11</b>
1.1 CILJI NALOGE	11
1.2 DELOVNE HIPOTEZE	11
<b>2 PREGLED OBJAV</b>	<b>12</b>
2.1 RASTLINE KOT AKTIVNI ORGANIZMI	12
2.2 KOMUNIKACIJA PRI RASTLINAH	13
2.3 MOŽNOSTI ZA ALTERNATIVNO KOMUNIKACIJO	14
<b>2.3.1 Komunikacija preko svetlobnega spektra EMV</b>	<b>14</b>
<b>2.3.2 Komunikacija preko zvočnega valovanja</b>	<b>16</b>
2.4 POSEBNOSTI KOMUNIKACIJE V VODNEM OKOLJU	17
2.5 POMEN RAZISKAV S PODROČJA KOMUNIKACIJE PRI RASTLINAH	18
<b>3 MATERIAL IN METODE</b>	<b>19</b>
3.1 PRIPRAVA RASTLIN	19
3.2 ZASNOVA POSKUSOV	19
<b>3.2.1 Spremljanje rasti vodne leče</b>	<b>21</b>
<b>3.2.2 Obdelava podatkov</b>	<b>22</b>
<b>3.2.3 Statistična analiza</b>	<b>23</b>
3.3 OPIS POSKUSOV	24
<b>3.3.1 Sklop 1: Uvodni poskusi (poskus št. 1 do 5)</b>	<b>25</b>
<b>3.3.2 Sklop 2: Ugotavljanje vplivov izmenjave plinov v kristalizirki glede na tesnost pokrovov (poskus št. 6 do 9)</b>	<b>26</b>
<b>3.3.3 Sklop 3: Ugotavljanje vplivov različnih vrst stekla notranjih kristalizirk (poskus št. 10 in 11)</b>	<b>28</b>
<b>3.3.4 Sklop 4: Ugotavljanje vpliva odboja svetlobe (poskus št. 12 do 16)</b>	<b>28</b>
<b>3.3.5 Sklop 5: Ugotavljanje razlik med obema vrstama stekla kristalizirk glede na stresni dejavnik (poskus št. 17 do 20)</b>	<b>29</b>
<b>4 REZULTATI</b>	<b>29</b>
4.1 MERITVE RAZLIČNIH RASTNIH DEJAVNIKOV	29
4.2 PREGLED DINAMIKE RASTI	30
4.3 GRAFIČNI PRIKAZ IZBRANIH MERITEV PO SKLOPIH POSKUSOV	32
<b>4.3.1 Statistična obdelava relevantnih poskusov</b>	<b>36</b>
<b>5 RAZPRAVA IN SKLEPI</b>	<b>39</b>
5.1 RASTNE RAZMERE MED POSKUSI	39
5.2 PREGLED REZULTATOV	40
5.3 UPORABLJENE METODE	43
<b>6 SKLEPI</b>	<b>43</b>

<b>7</b>	<b>POVZETEK</b>	<b>44</b>
<b>8</b>	<b>VIRI</b>	<b>47</b>
	<b>ZAHVALA</b>	

## KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Pregl. 1: Sestava gojišča pripravljenega po ISO standardu (OECD, 2006: 21).....	20
Pregl. 2: Pregled izvedenih poskusov razdeljenih po sklopih.....	24
Pregl. 3: Sestava gojišča, pripravljenega po SIS standardu (povzeto po OECD: 21).....	26
Pregl. 4: Povzetek opisne statistike za meritve osvetljenosti v termostatskih komorah.....	30
Pregl. 5: Pregled možnih nenadzorovanih dejavnikov, ki bi lahko vplivali na rast pri poskusih.....	30
Pregl. 6: Povprečje in standardni odklon podvojitvenega časa vodne leče.....	31
Pregl. 7: Rezultati statistične analize za poskusa 10 in 11 (za vse teste so prikazane p-vrednosti).....	37
Pregl. 8: Rezultati statistične analize za poskuse 17, 18 in 20.....	38
Pregl. 9: P-vrednosti post hoc testa (Fischerjev LSD) za različne primerjave obravnavanj pri poskusu št. 18, kjer je test ANOVA našel statistično značilne razlike tudi po popravku za mnogotere primerjave.....	39



## KAZALO SLIK

	str.
Sl. 1: Primerjava normiranih spektrov žarnic v obeh uporabljenih rastnih komorah (RK1 in RK2). Meritve je izvedel Luka Jan (neobjavljeno).....	21
Sl. 2: Shema obdelave slik za potrebe merjenja površine rastlin.....	23
Sl. 3: Shema vgnezdene postavitve kristalizirk (manjša kristalizirka v večji), ki je bila uporabljena pri večini poskusov.....	27
Sl. 4: Kristalizirka pokrita s petrijevko, ki je privzdignjena s silikonsko tesnilno maso. S privzdignjenimi pokrovi smo omogočili boljšo izmenjavo plinov.....	27
Sl. 5: Aluminijaste mrežice zadržujejo rastline v manjših kristalizirkah čim bliže rastlinam v večjih kristalizirkah, tako da je omogočen kar najboljši prenos informacij z EMV.....	29
Sl. 6: Primerjava števila členkov rastlin pri poskusu 1, kjer smo primerjali dve različni gojišči.....	32
Sl. 7: Primerjava površine rastlin pri poskusu 9, kjer smo preverjali vplive različnih gostot okoliških rastlin (vgnezden tip poskusa, torej smo merili rastne parametre pri rastlinah v notranjih kristalizirkah, tiste v zunanjih so služile le kot oddajnik signala).....	33
Sl. 8: Primerjava suhe mase rastlin pri poskusu 11, kjer smo preverjali, če lahko različna prepustnost za svetlobo pri kvarčnem in navadnem steklu vpliva na prenos signala (in posledično na rast) od rastlin v zunanjih kristalizirkah do tistih v notranjih (pri obeh obravnavanjih je v zunanjih kristalizirkah bila visoka gostota rastlin).....	34
Sl. 9: Primerjava števila členkov rastlin pri poskusih 14 (pri enem obravnavanju so kristalizirke ovite v aluminijasto folijo) in 16 (pri enem obravnavanju so kristalizirke ovite v črno tkanino), kjer smo preverjali vplive prepustnosti različnih spektrov svetlobe (glede na vrsto stekla – navadno, kvarčno oz. ovito v material, ki ne prepušča svetlobe).....	35
Sl. 10: Primerjava števila členkov rastlin pri poskusih 17, 18 in 20, kjer smo preverjali, če lahko različna prepustnost za svetlobo pri kvarčnem in navadnem steklu vpliva na prenos signala (in posledično na rast) od rastlin v zunanjih kristalizirkah do tistih v notranjih.....	36

## KAZALO PRILOG

### PRILOGA A: PREGLEDNICA REZULTATOV VSEH POSKUSOV

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

EMV – elektromagnetno valovanje

IR – infrardeča svetloba

## 1 UVOD

Zaradi sprememb, ki so v naravnem okolju edina stalnica, je zaznavanje informacij o okolici za vsa živa bitja ključnega pomena. Na ta način se lahko nanje dejavno odzovejo na različnih nivojih (na genetskem, fiziološkem, vedenjskem in razvojnem) ter si s tem povečajo možnosti za preživetje in uspešno razmnoževanje. Ker vse te prilagoditve ponavadi zahtevajo tudi energijske vložke, je pomembno, da so odzivi na spremembe primerni, saj lahko v nasprotnem primeru povzročijo celo zmanjšanje možnosti za preživetje. Zato je pomembno, da imajo živa bitja čim bolj celovito sliko o svoji okolici, tako o živih kot tudi o neživih dejavnikih. Celovit pogled na okolje pa je možno doseči le s povezovanjem in navzkrižnim preverjanjem čim večjega števila različnih informacij. Tako na primer staranje (senescenca) listov rastlin v jeseni sproži več hkratnih dejavnikov (krajšanje dneva, nižanje temperatur idr.), saj bi ob upoštevanju le enega (npr. nizke temperature) lahko prišlo do prezgodnjega odpadanja listov.

Za rastline, ki so zaradi svojega pritrjenega načina življenja še bolj izpostavljene različnim stresnim dejavnikom okolja (npr. suša, objedanje živali, nizke temperature idr.), je zgodnja zaznava in predvidenje sprememb še toliko bolj pomembno, saj jim daje potreben čas za odziv. Zaznavanje fiziološkega stanja drugih rastlin v okolici bi jim lahko dalo dragocene dodatne podatke o njihovi okolici in dodaten čas za prilagajanje, saj se lahko pripravijo na neugoden dražljaj preden ta sploh nastopi (npr. kemijsko sporočanje preko zraka pri objedanju nekaterih akacij). Ker se je v zadnjem času pojavilo veliko raziskav, ki so potrdile obstoj zelo šibkega sevanja fotonov kot splošno razširjen pojav (Popp, 1998), se postavlja vprašanje, če lahko rastline uporabijo to vrsto elektromagnetnih valovanj (EMV) za pridobivanje informacij o okolici in si s tem izboljšajo možnosti za preživetje in uspešno razmnoževanje.

### 1.1 CILJI NALOGE

Glede na različne znanstvene raziskave nas je zanimalo, če lahko izmenjavo informacij na ravni elektromagnetnega valovanja v obliki zelo šibkega sevanja fotonov potrdimo tudi pri mali vodni leči (*Lemna minor* L.). S spremljanjem različnih rastijskih parametrov (štetje členkov, merjenje površine in tehtanje suhe mase rastlin) smo skušali posredno ugotoviti vplive ene skupine rastlin na drugo (obe skupini rastlin sta imeli ločeno tekoče gojišča). Z uporabo različnih vrst pregrad, ki so preprečile prenos kemijskih in selektivno tudi EMV informacij (navadno steklo v nasprotju s kvarčnim prepušča ožji UV spekter svetlobe, različni ovoji okrog kristalizirk pa svetlobe sploh ne prepuščajo) med dvema testnima skupinama rastlin, smo poskušali tudi približno določiti spekter EMV, preko katerega predpostavljena izmenjava informacij poteka.

### 1.2 DELOVNE HIPOTEZE

- Ob predpostavljene izmenjavi informacij z elektromagnetnimi valovanji pričakujemo višjo rast pri rastlinah, katerih sosednja skupina osebkov (z ločenim gojiščem) ni

izpostavljena negativnemu dejavniku (npr. visoka gostota rastlin ali pomanjkanje hranil) – pričakujemo, da bodo rastline z EMV zaznale neugodne pogoje, v katerih so sosednje rastline in se bodo temu primerno odzvale;

- ker predpostavljamo izmenjavo informacij med rastlinami v svetlobnem spektru EMV (najverjetneje v UV spektru), pričakujemo ob izpostavitvi negativnemu dejavniku ene od dveh s steklom ločenih skupin vodne leče razlike v rasti tudi pri drugi glede na uporabljeno vrsto stekla - kvarčno (prepušča tudi UV spekter svetlobe) ali navadno steklo (ki UV spektra svetlobe ne prepušča) - pri slednjem pričakujemo višjo rast (prenos informacije v UV spektru ni možen).

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 RASTLINE KOT AKTIVNI ORGANIZMI

Zaradi pritrjenega načina življenja smo rastline do nedavnega obravnavali kot pasivne organizme oz. kot nekakšne avtomate za rast. Kot take stres iz okolice (objedanje rastlinojedov suša ipd.) bodisi preživijo, torej so dobro prilagojene na svojo okolico in sposobne tekmovanja z okoliškimi rastlinami, bodisi tega ne preživijo, ker niso bile dobro prilagojene na razmere, kjer so vzkile. V zadnjih nekaj letih pa se pojavlja vse več raziskav, v katerih znanstveniki rastline prepoznavajo kot zelo odzivna bitja, ki so sposobna zaznavanja, ocenjevanja, interakcije in celo sodelovanja pri aktivnem pridobivanju informacij iz okolice (Heil in Ton, 2008). Različne stresne dejavnike so rastline sposobne prepoznati in se nanje dejavno odzvati, torej niso le nemi opazovalci dogajanja. S pomočjo različnih mehanizmov lahko spremljajo dogajanje v okolici, ocenijo, koliko energije potrebujejo za določen odziv in nato izberejo optimalno možnost (Witzany, 2006). Glavna dilema, s katero se rastline soočajo je, ali razpoložljivo energijo vložiti v rast (ter so tako tekmovalno uspešnejše v primerjavi z okoliškimi rastlinami) ali v obrambo (da preživijo pred napadi rastlinojedov in patogenov; Herms in Mattson, 1992). Zaradi tega jim zelo koristijo vsi pridobljeni podatki, ki jih obdelajo in se odzovejo v skladu z njimi ter tako poiščejo optimalno rešitev.

Rastline naj bi tako na primer bile sposobne zaznavanja prostornine zemlje, ki jo imajo na voljo (če je omejena), prepoznavanja lastnih korenin (Novoplansky, 2009), zaznavanja in izogibanja koreninam okoliških rastlin (Schenk in sod., 1999), zaznavanja okoliških rastlin (Gagliano in Renton, 2013) ipd. Zaznavanje okoliških organizmov rastlinam skozi očala evolucije in ekologije prinaša več prednosti. Zaradi pritrjenega načina življenja so omejene na mesto, kjer so vzkile, zato lahko npr. zaznava okoliških rastlin kalečemu semenu omogoča, da bolj smotrno uporabi energijo, ki jo ima na voljo (Gagliano in Renton, 2013). Informacije o konkurenci v bližini omogočajo rastlini, da prilagodi svoj razvoj, še preden se začnejo energetska zahtevna vlaganja v razvoj določene strukture oz. snovi.

## 2.2 KOMUNIKACIJA PRI RASTLINAH

Takšni kompleksni odzivi ne bi bili mogoči brez učinkovite komunikacije, ki sočasno poteka na več ravneh: (1) med rastlinskimi celicami in znotraj njih, (2) med rastlinami, tako znotraj vrste kot tudi med različnimi vrstami v združbi, (3) med rastlinami in drugimi organizmi (Witzany, 2006). Kljub temu, da je komunikacija v naravi povsod prisotna, in da različna področja znanosti tej temi posvečajo veliko pozornosti, še vedno nimamo splošno sprejete definicije komunikacije (Scott-Phillips, 2008; Carazo in Font, 2010), v osnovi pa pomeni izmenjavo informacij med vsaj dvema enotama. Besedno zvezo »komunikacija pri rastlinah« (v nadaljevanju lahko tudi skrajšano kot »komunikacija«) v pričujoči magistrski nalogi uporabljamo v širšem pomenu, torej gre za izmenjavo informacij, ki pa ni nujno namenska.

Večina raziskav zgoraj naštete mehanizme razlaga z zaznavanjem razmerij med različnimi spektri svetlobe (npr. razmerje med rdečo in daljno rdečo svetlobo), s kemično komunikacijo ali s prepoznavanjem z neposrednim kontaktom. Vendar se predvsem v zadnjih letih pojavlja vse več raziskav, ki kažejo, da obstajajo tudi druge vrste komunikacije med rastlinami (npr. Gagliano in sod., 2012; Gagliano in Renton, 2013), čeprav so se raziskave na tem področju začele že skoraj pred stotimi leti (Gurwitsch, 1923). Še več raziskav na temo komuniciranja z elektromagnetnim valovanjem (EMV) je bilo narejenih na drugih organizmih (npr. Wainwright in sod., 1997; Musumeci in Scordino, 1999; Fels, 2009).

Rastline lahko zaznajo svoje sosede na več načinov (povzeto po Lambers in sod. 2008):

- z zaznavanjem razlik v svetlobi:
  - preko neposredne zaznave količine in kakovosti svetlobe (npr. razmerje rdeče in bližnje rdeče svetlobe) svetlobe s pomočjo kriptokromov in fitokromov,
  - preko topnih sladkorjev, ki nastanejo s fotosintezo – če ima določen del rastline na voljo manj PAR (photosynthetically active radiation), se v tistem delu tvori manj sladkorjev,
- z zaznavanjem kemičnih substanc:
  - preko hlapnih substanc,
  - preko substanc v tleh (npr. alelopatija),
- z zaznavanjem fizičnega stika,
- z zaznavanjem sprememb mikroklimе, ki jo povzročijo okoliške rastline.

Raziskovanje komunikacije med rastlinami je problematično področje, ki je večkrat tudi predmet nasprotovanj med različnimi znanstveniki, saj je ponavadi zelo težko ločiti med učinkom ostalih interakcij med rastlinami (npr. tekmovanja, sodelovanja ipd.) in učinkom same komunikacije. Tako je na primer v primeru alelopatije težko ločiti med škodljivimi učinki tekmovanja za različnimi viri in učinkovanjem kemičnih substanc (Willis, 1985). Ker so vse interakcije med organizmi (vključno s komunikacijo) med seboj tako tesno prepletene, je trenutno skoraj nemogoče neizpodbitno dokazati, da med rastlinami obstaja komunikacija (Gross, 2003). Do neke mere ostaja kontroverzna celo alelopatija (ki je od naštetih načinov komunikacije najbolj uveljavljena), čeprav se je v zadnjem času pojavilo

veliko raziskav, ki jo potrjujejo (Bais in sod., 2004). Težava tovrstnih raziskav je tudi to, da jih je skoraj nemogoče izvesti v naravnih razmerah.

## 2.3 MOŽNOSTI ZA ALTERNATIVNO KOMUNIKACIJO

Kljub temu, da je zgoraj naštetih več možnih načinov zaznavanja sosednjih organizmov, se v zadnjem času pojavljajo raziskave, ki kažejo na to, da obstajajo še dodatne možnosti zaznavanja, ki jih do sedaj nismo poznali. Tudi te raziskave so podvržene podobnim pomanjkljivostim, kot so naštete zgoraj, vendar je na voljo še manj zanesljivih podatkov. Trenutno obstajata vsaj dve hipotezi o doslej še nepoznanem načinu komunikacije med rastlinami: preko EMV (najverjetneje v spektru med UV in IR svetlobo, npr. Gurwitsch, 1923) in preko zvočnih valov (Gagliano in sod., 2012).

### 2.3.1 Komunikacija preko svetlobnega spektra EMV

Raziskovanje komunikacije preko EMV poteka torej že več kot 90 let. Začetnik te smeri raziskovanja je bil sovjetski znanstvenik A.G. Gurwitsch, ki je v 20. letih 20. stoletja opazoval vplive koreninskega vršička čebule (kjer se celice z mitozo aktivno delijo) na druge koreninice čebule (Gurwitsch, 1923). Opazil je, da če je koreninski vršiček usmerjen v drugo koreninico, to na njej sproži, okrepi in usmeri mitotske delitve (začetek rasti nove stranske koreninice v smeri prve koreninice), kljub temu, da je med njima tanko kvarčno steklo (in je torej kemična komunikacija onemogočena). V primeru, da je bilo med njima navadno steklo (ki za razliko od kvarčnega ne prepušča UV spektra EMV) tega učinka ni opazil, zato je sklepal, da komunikacija poteka v UV spektru. Ker je opazil vplive na delitve celic (mitozo), je tovrstno komunikacijo poimenoval kot *mitogenetski učinek oz. sevanje*. Od takrat je bilo narejenih veliko raziskav (Kučera in Cifra, 2013; ta dva avtorja poročata o preko 400 objavljenih člankih na to temo od leta 1923 naprej), vendar kljub temu ostaja ta način komunikacije sporen. Ponovitve poskusov so namreč dale tako pozitivne (npr. Borodin, 1930; Rahn in Barnes, 1936), kot tudi negativne rezultate (npr. Bateman, 1935; Richards in Taylor, 1932). Ker je veliko raziskav na to temo bilo izvedenih v Rusiji, obstajajo tudi jezikovne prepreke, zaradi česar je težko priti do vseh objavljenih člankov. Kljub temu obstaja nekaj preglednih člankov in knjiga (Rahn in Barnes, 1936), ki v angleščini povzemajo zgodnje, raziskave opravljene v Rusiji.

Raziskovanje komunikacije s svetlobnim spektrom EMV je VanWijk (2001) glede na značilnosti raziskav razdelil na 3 obdobja. Za prvo obdobje so značilne raziskave vplivov EMV (katerih vir so bili organizmi sami) na organizme, ki so jih v tem obdobju uporabljali kot biosenzorje za zaznavanje teh vplivov. V drugem obdobju so se raziskovalci osredotočili predvsem na dokazovanje radiacije šibke svetlobe organizmov z uporabo fotopomnoževalnih cevi. V tem času vprašanje o informacijski vrednosti te šibke svetlobe ni bilo pomembno, na kar so se ponovno osredotočili v tretjem obdobju. Kljub povečanemu zanimanju za to temo v zadnjem času ta še vedno ostaja le na obrobju znanosti in ne pritegne širšega zanimanja.

Gurwitschevi poskusi so bili deležni dvomov že od samega začetka (npr. Bateman, 1935), deloma so za to krivi tudi zahteven protokol dela in interpretacija rezultatov (Gray in Ouellet, 1933), kar bi lahko bil razlog, da več znanstvenikom ni uspelo ponoviti Gurwitschevih rezultatov. Poleg tega v tistem času ni bilo dovolj občutljivih naprav, ki bi lahko zaznale, ali organizmi zares oddajajo (zelo) šibko svetlobo. V nekaj desetletjih po začetnem Gurwitschevem poskusu se je tako pojavilo nekaj deset raziskav, ki njegovih odkritij niso potrdile, te pa so kljub nekaj sto potrditvam ustvarile nezaupanje do tovrstne tematike (Cifra in sod., 2011). Dodatno sta k spornosti te tematike pripomogli še slaba zasnova eksperimentov in pomanjkanje kritičnosti pri interpretaciji rezultatov predvsem pri starejših raziskavah ter začetek 2. svetovne vojne, ki je v zahodnih državah povsem ustavila raziskave s tega področja (VanWijk, 2001). Obširnejše raziskave so se v zahodnih državah nadaljevale šele po letu 1970, ko je raziskovalec iz različnih delov sveta uspelo dokazati šibko produkcijo svetlobe pri različnih organizmih (npr. Colli in Facchini, 1954; Rattemeyer in sod., 1981; Wainwright in sod., 1997). Veliko raziskav na to temo je bilo narejenih na Mednarodnem inštitutu za biofiziko (International Institute of Biophysics), ki ga je vodil Nemeč F.A. Popp, ki je za šibko svetlobo, ki jo oddajajo organizmi, skoval besedo »biofotoni«. Za to sevanje EMV v svetlobnem spektru se uporablja več različnih izrazov: šibka luminiscenca, zelo šibko sevanje fotonov (UPE – ultraweak photon emission), sevanje biofotonov ali autoluminiscenca oz. biološka luminiscenca za razliko od že dolgo znane in nesporne kemiluminiscence.

Kljub nekaterim napakam pri zasnovi določenih eksperimentov in nekritični interpretaciji rezultatov obstaja več novejših raziskav, kjer je eksperimentalna metodologija bolj striktna in imajo rezultati posledično večjo težo (Albrecht-Buehler, 1991, 2005; Shen in sod., 1994; Fels, 2009; Rossi in sod., 2011). Glavna negotovost gornjih poskusov ostaja vprašljiva kemična izolacija med dvema kulturama. Večina poskusov skuša to težavo zaobiti z uporabo različnih vrst stekla (običajno kvarčno in navadno) in primerjavo rezultatov med obema obravnavanjema. Glede na to, da ti dve vrsti prepuščata različne valovne dolžine (kvarčno steklo prepušča tudi del UV spektra, navadno pa ne), je najbolj logična razlaga, da komunikacija poteka v tem spektru svetlobe. Kljub temu Kučera in Cifra (2013) opozarjata tudi na to, da vzorci niso bili zvočno izolirani. Glede na to, da obstajajo tudi raziskave, ki kot možen medij za komunikacijo omenjajo zvok (Gagliano in sod., 2012), je pri nadaljnjih poskusih potrebno biti pozoren tudi na to.

Do danes je fenomen spontanega oddajanja šibke svetlobe potrdilo več laboratorijev po celem svetu, tako da gre za več ali manj splošno sprejet pojav (VanWijk, 2001), ki je očitno pri živih sistemih splošno razširjen (Popp, 1998). Običajno emisija znaša do 1000 fotonov/s cm<sup>2</sup> nad šumom senzorjev, ki se lahko ob poškodbi celic oz. ob spremembi fiziološke aktivnosti (mitoza ipd.) še poviša (npr. Chwirot, 1988; Winkler in sod., 2009). Še vedno pa ostaja odprto vprašanje, ali ima ta svetloba tudi določeno informacijsko vrednost (in bi v tem primeru šlo za "biofotone" v Poppovem smislu), ali pa gre zgolj za stranski produkt metabolizma (kemiluminiscenca). Zanimivo je, da oba pogleda, ki razlagata vzroke nastanka šibke svetlobe, utemljujeta svojo razlago ravno na šibkosti emisije – prvi jo razlaga s koherentnostjo svetlobe, ki pomeni optimizacijo komunikacijskega sredstva (koherentno svetlobo najdemo pri laserjih, kjer se svetloba zaradi prostorske koherence ohranja tudi na dolge razdalje kljub majhni skupni moči, saj se taka svetloba ne razprši), drugi pa to razlaga kot neke vrste stranski produkt metabolizma



(povrnitev v termično ravnovesje zaradi presežka energije ob kemično povzročenih optičnih prehodih snovi, ki jih po večini povezujejo z radikalsko reaktivnostjo oksidacijskih procesov; Popp, 1998). Če celice oz. organizmi res lahko komunicirajo med seboj preko svetlobnega medija, se postavi vprašanje, kako se lahko izognejo šumu, ki ga predstavljajo drugi viri EMV (sonce), ki lahko dosežejo do  $10^{15}$  fotonov/s  $\text{cm}^2$ . Ena izmed možnih razlag je, da se svetloba UVC spektra (100-280 nm) na poti skozi atmosfero skoraj povsem absorbira, zato je šum okolice v tem frekvenčnem območju precej nizek. EMV, ki niso v svetlobnem spektru, so kot komunikacijski medij manj verjetni, ker ni poznanih mehanizmov, s katerimi bi jih celice lahko zaznavale (Kučera in Cifra, 2013). UV spekter kot najverjetnejše območje svetlobe omenja tudi večina raziskav, ki so proučevale ne-kemično in ne-kontaktno komunikacijo (Gurwitsch, 1923; Wainwright in sod., 1997; Fels, 2009; idr.), čeprav nekatere raziskave nakazujejo tudi na možnost komunikacije v IR in vidnem spektru svetlobe (npr. Albrecht-Buehler, 1991; Fels, 2009).

Kljub vsem zgoraj naštetim težavam pa to področje raziskovanja ostaja sporno predvsem zaradi ponovljivosti rezultatov. Te težave so imeli raziskovalci že od samega začetka, kar v knjigi opisujeta Rahn in Barnes (1936), kjer je navedeno, da je take težave imel med drugimi tudi sam Gurwitsch, ko se mu ni posrečilo dobiti nobenega učinka po več dni ali celo tednov. Podobne težave so imeli tudi pri novejših raziskavah (npr. Wainwright in sod., 1997). To se ujema s poročanji drugih raziskovalcev - iz obsežnejših raziskav (v dobrih desetih letih je bilo narejenih več kot 12000 poskusov na 12 celičnih linijah) sta Kaznacheev in Mikhailova (1981, 1985, cit. po Cifra in sod., 2011) poročala o spremenljivosti zaznanega učinka glede na del leta (največje vplive sta zabeležila med junijem in avgustom, najmanjše pa decembra in januarja). Glede na to, da lahko spremembe naravnih magnetnih polj vplivajo na mitotsko aktivnost in viabilnost celic (Kaznacheev in Mikhailova, 1981, 1985, cit. po Cifra in sod., 2011; Volpe, 2003), lahko sklepamo, da ta vplivajo tudi na celične interakcije v vidnem spektru EMV (Cifra in sod., 2011). Omenjena ruska znanstvenika sta skozi leta raziskav ugotovila, da lahko na komunikacijo med celicami vplivajo motnje v sončni aktivnosti, geomagnetni aktivnosti in geografski položaj (1981, 1985, cit. po Cifra in sod., 2011). Kljub temu je opazovani pojav, kadar je prisoten, znatno izven meja eksperimentalnih napak (Cifra in sod., 2011). Zaradi tega je potrebno biti pozoren že pri sami zasnovi eksperimentov, da upoštevamo tudi morebitne druge elektromagnetne motnje.

### **2.3.2 Komunikacija preko zvočnega valovanja**

V zadnjih nekaj letih pa so raziskovalci postali pozorni še na eno možnost komunikacije - na zvok (Gagliano in sod., 2012, 2012a, 2012b; Gagliano in Renton, 2013). To področje je še manj raziskano kot komunikacija v svetlobnem spektru EMV, saj tudi sami avtorji niso mogli izključiti EMV kot možnega medija za komunikacijo, čeprav se jim zdi manj verjeten. Tudi na tem področju bo potrebno narediti še več raziskav, da bi omenjeni pojav nedvoumno potrdili.

## 2.4 POSEBNOSTI KOMUNIKACIJE V VODNEM OKOLJU

Razlike fizikalnih in kemijskih lastnosti vode glede na zrak zahtevajo prilagoditve organizmov na vseh ravneh, od molekulske, do fiziološke in naprej do ekološke. Voda ima lahko velik vpliv tudi na vse načine komunikacije med organizmi. Ker se pri rastlinah načine komuniciranja med osebki in med različnimi vrstami intenzivneje raziskuje šele v zadnjih nekaj letih, je za to temo na voljo malo literature. Kljub temu lahko določene vzporednice potegnemo iz prilagoditev komunikacije na vodno okolje pri živalih.

Pri komunikaciji s kemičnimi snovmi je zelo pomemben dejavnik tok vode, ki je v splošnem glede na tokove v zraku veliko bolj predvidljiv (tako hitrost kot tudi smer), hkrati pa je difuzija v vodi veliko bolj počasna (difuzijska konstanta za zrak je  $10^{-5}$ , za vodo pa  $10^{-9}$  m<sup>2</sup>/s; Hemilä in Reuter, 2008). Predvidljiva smer toka je lahko za kemično komunikacijo hkrati prednost in slabost, saj sam tok omogoča pospešeno izmenjavo kemičnih snovi (v vodi je zaradi počasnosti difuzije tok še bolj pomemben), hkrati pa močan tok v določeni smeri vnaprej določa smer komunikacije (signal se ne širi v vse smeri, zlasti izrazito je to v tekočih vodah). V vodi se drugače vedejo tudi snovi, ki jih rastline spuščajo v okolje, saj vse niso topne v vodi. Kljub temu lahko komunikacija poteka tudi s slabo (vodo)topnimi snovmi, saj se te v vodi lahko vežejo na druge majhne delce ali pa skupaj z dolgoverižnimi maščobnimi kislinami oblikujejo micelije (Fischer in Quijano, 1985). Vodne rastline imajo običajno tanjšo kutikulo, povezave med celicami so manj tesne, podvodni listi pa nimajo listnih rež – vse to naredi rastline veliko bolj propustne za različne snovi iz okolice, tudi za alelokemikalije (Gross, 2003). Za razliko od kopnega v vodnem okolju ne obstaja razlika med komunikacijo s kemičnimi snovmi v področju korenin (alelopatija) in komunikacijo s hlapnimi substancami (če gre za submerzne makrofite, pri ostalih vrstah vodnih rastlin je to še vedno mogoče).

Stalen tok vode v določeni smeri torej lahko predstavlja resno oviro pri komunikaciji med rastlinami s pomočjo kemičnih snovi, zato bi bilo smiselno iskati tudi druge načine komunikacije. Zaradi istega razloga je v tekočih vodah problematično tudi zaznavanje sprememb v mikroklimi, ki jo povzročajo okoliške rastline. Tudi v tem primeru je možno zaznavanje le rastlin, ki rastejo po toku navzgor, vendar je tudi to oteženo, saj tok hitro premeša vse snovi. Za razliko od zgoraj naštetih načinov pa komunikacija z zaznavanjem fizičnega stika v vodnem okolju ni spremenjena, vendar je ta način komunikacije omejen le na najbližje sosede.

Zaradi nekaterih omejitev, ki jih vodno okolje prinaša rastlinam, se zdijo dodatni načini komunikacije še toliko bolj smiselni. Trenutno na to temo za rastline nismo uspeli najti nobene literature, zato si je potrebno pomagati z raziskavami, opravljenimi na drugih vodnih organizmih oziroma ugotoviti, kako vodni medij vpliva na širjenje teh signalov. Glede na zrak se v vodi zvočni valovi širijo približno petkrat hitreje (odvisno od temperature, slanosti in še nekaterih drugih parametrov). Predmet, ki vibrira z določeno frekvenco, tako v vodi ustvari valove s petkrat daljšo valovno dolžino kot v zraku (Nummela in Thewissen, 2008). Ker se daljše valovne dolžine tako v vodi kot na zraku manj dušijo kot krajše, so bolj primerne za komunikacijo na daljše razdalje. Za nekatere vrste kitov je tako znano, da se lahko sporazumevajo tudi na razdalji več tisoč kilometrov (Hiyoshi in sod., 2004). Pri vodnih rastlinah sicer še niso odkrili nobenih specializiranih

struktur za zaznavanje zvočnega valovanja, a zaradi dobrega prevajanja zvočnega valovanja po vodi, ta možnost ostaja zanimiva, predvsem zaradi neodvisnosti širjenja od smeri toka vode.

V vodnem okolju je zanimiva tudi možnost komunikacije preko EMV v svetlobnem spektru. Širjenje svetlobe skozi vodni medij je zelo odvisno od razmer v vodi, ti pa so lahko veliko bolj variabilni kot na kopnem. Na absorpcijo svetlobe najbolj vplivajo suspendirani delci, ki jih je v vodi zaradi večje gostote in posledičnega večjega vzgona ponavadi več kot v zraku. Širjenje svetlobe je zato v vodi v večini primerov omejeno na krajše razdalje kot na zraku, saj se zaradi povečanega števila delcev valovanje hitreje absorbira. Vodni medij se od zračnega razlikuje tudi po selektivnosti absorpcije različnih valovnih dolžin. Barva vode je običajno modro-zelena, saj se kratke (ultravijolična do vijolična) in dolge valovne dolžine (rdeča in rumena) v vodi bolje absorbirajo (Jerlov, 1976). Podobno je tudi sipanje svetlobe v vodi odvisno od njene valovne dolžine, kratke valovne dolžine (vijolična do modra) se sipajo bolj kot dolge (zelena do rdeča; Jerlov, 1976). Sipanje in absorpcija v vodi omejujeta razdaljo, ki še omogoča organizmom komunikacijo, vendar sta oba parametra zelo odvisna od količine suspendiranih delcev v vodi, tako da se razdalja za učinkovito možnost komunikacije spreminja glede na specifične posameznega vodnega telesa.

## 2.5 POMEN RAZISKAV S PODROČJA KOMUNIKACIJE PRI RASTLINAH

Čeprav trenutno prevladuje mnenje, da komunikacija na nivoju EMV ali zvočnega valovanja ni verjetna oz. mogoča, obstaja več razlogov za nadaljevanje raziskovanja. Ker obstajajo znani mehanizmi zaznave svetlobnih, mehanskih (zvočnih) in elektro-kemičnih dražljajev tudi na nivoju celic, obstajajo povsem realne možnosti za take vrste komunikacijo. Zato se postavlja vprašanje, zakaj organizmi ne bi uporabljali obstoječega mehanizma, da bi si tako pridobili prednost v evolucijski tekmi (Kučera in Cifra, 2013). Obstaja tudi nekaj hipotez in modelov, ki te mehanizme opisujejo (npr. Popp in Jiin-ju, 2000; Mayburov in Volodyaev, 2009). Poznavanje vseh načinov komunikacije med organizmi je zelo pomembno tudi pri zasnovi kontrolnih eksperimentov, saj le s poznavanjem lahko preprečimo medsebojne vplive. Komunikacija na ravni EMV bi lahko poenotila mehanizem komunikacije na vseh nivojih, od celic do populacij, z njo pa bi bilo možno razložiti tudi nekatere do sedaj težko pojasnljive pojave. Raziskave s tega področja so torej pomembne tudi za ekologijo, saj ni mogoče razumeti vseh interakcij med organizmi, če ne poznamo vseh možnih načinov komunikacije med njimi.

### 3 MATERIAL IN METODE

#### 3.1 PRIPRAVA RASTLIN

Za potrebe poskusov smo uporabili gojeno laboratorijsko kulturo male vodne leče (*Lemna minor* L.), ki smo jo dobili pri doc. dr. Andreji Žgajnar Gotvajn (Katedra za kemijsko, biokemijsko in ekološko inženirstvo Fakultete za kemijo in kemijsko tehnologijo Univerze v Ljubljani). Rastline smo gojili v 600 mL gojišča pripravljene po smernicah organizacije OECD za testiranje kemikalij (OECD, 2006; Preglednica 1). Gojili smo jih v kontroliranih razmerah v posebej prirejeni rastlinski komori (svetloba 24h/dan, temperatura  $25 \pm 1$  °C), menjava gojišča je potekala enkrat tedensko. Ob menjavi gojišča smo najbolj vitalne rastline (take, ki niso imele vidnih okužb ali poškodb in so bile primerno velike) predstavili v sterilizirano destilirano vodo, kjer smo jih dobro premešali in tako zmanjšali možnost prenosa okužb v novo gojišče. Rastline smo nato ročno predstavili v sveže gojišče.

Pri izboru in prenosu rastlin za poskuse v kristalizirke smo bili še dodatno pozorni na več dejavnikov:

- izbrali smo rastline s tremi členki (ki jih je bilo največ) in jih predstavili v sterilizirano destilirano vodo;
- rastline smo v kristalizirke predstavljali postopoma – v vsako kristalizirko po eno rastlino, poleg tega smo pazili, da smo rastline pri različnih obravnavanjih dajali vzporedno (torej nismo najprej napolnili vseh kristalizirk iz enega obravnavanja, ampak smo hkrati predstavljali rastline pri vseh obravnavanjih, tako da pri katerem od obravnavanj nebi bile rastline v slabšem stanju), nato smo ta postopek ponovili še 2-krat;
- v kristalizirke smo iz vseh izbranih rastlin za poskus predstavljali naključne rastline (na ta način smo zmanjšati možnost pristranske izbire rastlin).

Ves potreben material za pripravo gojišča, z izjemo magnetnega mešala in pH metra, je bil steriliziran (1,5 ure na 170 °C suhe sterilizacije za steklovino oz. 1,5 ure avtoklaviranja za destilirano vodo). Gojenje rastlin je potekalo v komorah, vendar razmere v njih niso bile sterilne.

#### 3.2 ZASNOVA POSKUSOV

Ker je pričujoča magistrska naloga pilotna raziskava (na temo komunikacije med rastlinami na ravni EMV je bilo narejenih le malo raziskav, večina je bila izvedena le na določenih rastlinskih tkivih – za podrobnosti glej poglavje 2 - Pregled objav), smo izvedbo poskusov sproti prilagajali glede na predhodne rezultate. Kljub temu se osnovna zasnova poskusov ni spreminjala. Za potrebe poskusov smo uporabili tri različne vrste kristalizirk. Največje so imele zunanji premer 95 mm in višino 55 mm, ostali dve vrsti pa sta imeli zunanji premer 60 mm in višino 35 mm. Obe vrsti manjših kristalizirk sta bili enaki po velikosti, razlikovali sta se le v vrsti stekla. Polovica manjših kristalizirk je bila iz borosilikatnega stekla, ki se običajno uporablja pri laboratorijski steklovini, polovica pa iz kvarčnega stekla. Slednje se od ostalih vrst stekla razlikuje po tem, da prepušča širši

svetlobni spekter (borosilikatno steklo ne prepušča svetlobe pod okoli 300 nm, kvarčno pa ne pod 200 nm, torej slednje prepušča večji del UV spektra kot prvo). Vse večje kristalizirke so bile iz borosilikatnega stekla. Pri vseh poskusih smo pri manjših kristalizirkah uporabljali 60 mL gojišča, pri večjih pa 150 mL (če nismo uporabljali postavitve, kjer je bila manjša kristalizirka v večji) oz. 90 mL (postavitev z manjšo kristalizirko v večji – vgnezen tip poskusa). Prostornina gojišča v manjših kristalizirkah je bila manjša od priporočenih 100 mL (OECD, 2006) zaradi postavitve manjše kristalizirke v večjo pri vseh ključnih poskusih. Ker smo bili omejeni z večjimi kristalizirkami premera 95 mm, so bile edine primerne manjše s premerom 60 mm.

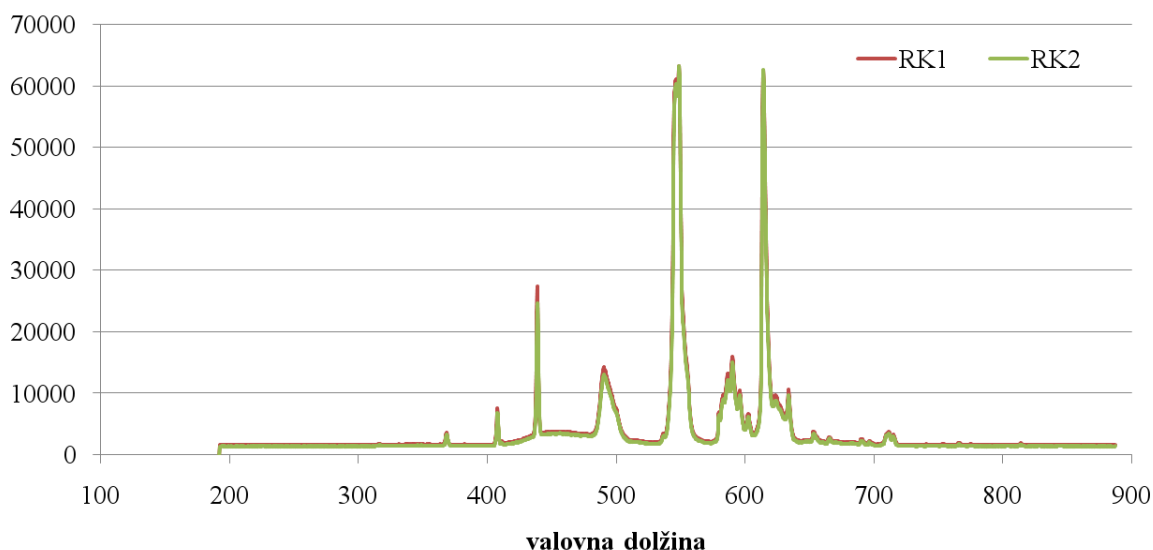
Preglednica 1: Sestava gojišča pripravljenega po ISO standardu (OECD, 2006: 21).

<b>snov</b>	<b>koncentracija</b>
<b>makroelementi</b>	<b>mg/L</b>
KNO <sub>3</sub>	350,00
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	295,00
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	90,00
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	12,60
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	100
<b>mikroelementi</b>	<b>µg/L</b>
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	120,00
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	180,00
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	44,00
MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	180,00
FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O	760,00
EDTA dinatrijev dihidrat	1500,00

Poskusi so trajali od 7 do 11 dni, izbrane parametre pa smo merili vsak drugi ali tretji dan (poskus smo vedno začeli v ponedeljek, tako so meritve potekale 1., 3., 5., 8., 10. in 12. dan). Pri poskusih 1 do 12 smo uporabili po tri vzporednice (ponovitve) pri vsakem obravnavanju, pri nadaljnjih poskusih pa smo jih imeli po šest. Za poskus smo v sveže gojišče prenesli devet členkov male vodne leče in jih poslikali za izračun površin. Kristalizirke z rastlinami smo postavili na standardna mesta v rastni komori (termostatska komora s fotoperiodnim sistemom ST3+/FOT6, Pol Eko Aparatura), ki smo ji pred začetkom izmerili osvetljenost (za potrebe poskusov smo uporabili fluorescenčne žarnice FSL T5 8W/640 s »cool white« spektrom svetlobe). Komora je bila nastavljena na 25 ± 1 °C ter na 18 ur svetlobe in 6 ur teme. Običajno je bila temotna faza nastavljena med 10. in 16. uro, točen čas pa je bil odvisen tudi od drugih dejavnosti v laboratoriju. Pri večini poskusov smo v temotni fazi izvedli tudi slikanje površine in štetje členkov rastlin. Izjema so bili le zadnji trije poskusi (18-20), kjer smo želeli podaljšati čas neprekinjene izpostavitve temi, v kateri bi lahko komunikacija v UV spektru EMV potekala z manj motnjami. Kristalizirke z rastlinami smo po štetju in slikanju vrnili v komore, vendar smo vsem zamenjali mesto, tako da so se osvetlitve med trajanjem poskusa čim bolj izenačile (mesta smo sistematično menjali, tako da kristalizirke nikoli niso bile dvakrat na istem mestu). Ker so hkrati potekali tudi drugi eksperimenti, ki so zahtevali gojenje v dveh ločenih komorah, je tudi večina naših eksperimentov potekala v obeh komorah. Podobno

kot mesta znotraj komore smo po vsakih meritvah kristalizirke z rastlinami prestavili v drugo komoro, s čimer smo čim bolj zmanjšali vplive različnih drugih dejavnikov, ki bi lahko vplivali na rast.

Pri poskusih smo se trudili, da bi čim bolj nadzirali različne dejavnike, ki bi lahko vplivali na rast. V prirejenih komorah je bila nastavljena temperatura na  $25 \pm 1$  °C, zaradi stalnega mešanja zraka pa se tudi temperature med različnimi mesti niso razlikovale za več kot 1 °C. Ker je bila ena izmed delovnih hipotez, da komunikacija poteka v UV spektru svetlobe, smo pred začetkom poskusov preverili tudi spekter, ki ga oddajajo žarnice (v območju med 200 in 850 nm, Slika 1). Meritve so bile opravljene z JAZ-EL200 spektrometrom (Ocean optics), v okviru svoje doktorske naloge jih je opravil Luka Jan (neobjavljeno). Kvarčno steklo prepušča spekter svetlobe nad okoli 180 nm, meritve spektra žarnic pa so pokazale, da je sevanje žarnic v valovnem območju med 200 in 400 nm zelo nizko in torej ne bi smelo vplivati na komunikacijo med rastlinami.



Slika 1: Primerjava normiranih spektrov žarnic v obeh uporabljenih rastnih komorah (RK1 in RK2). Meritve je izvedel Luka Jan (neobjavljeno).

### 3.2.1 Spremljanje rasti vodne leče

Poskusi so potekali med 10.6.2013 in 19.3.2014. Rast vodne leče smo spremljali na več različnih načinov: štetje členkov, merjenje površine, tehtanje suhe mase in merjenje pH gojišča.

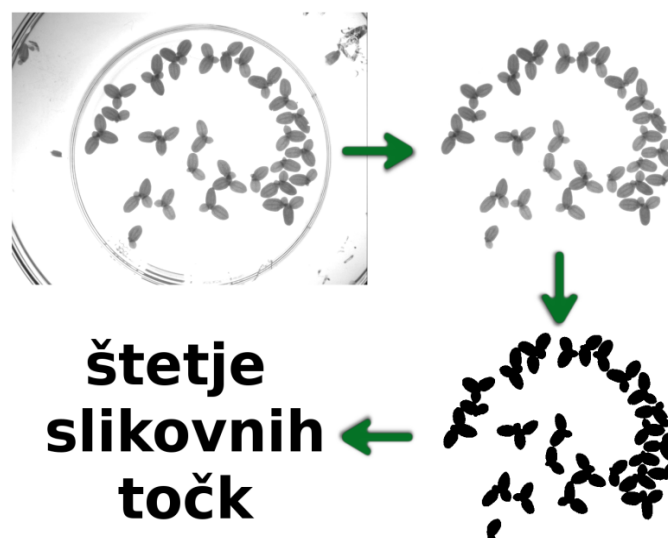
Štetje členkov je potekalo ročno, s pomočjo povečevalnega stekla z vgrajeno osvetlitvijo. Ta je rastlino osvetlila od zgoraj in jih zaradi bližine tudi presvetlila. Zaradi tega so bili boljše vidni tudi manjši členki, ki bi jih drugače lahko spregledali. Pri štetju smo si pomagali s sterilno pinceto, tako da smo si rastline umaknili na rob in jih ob preštevanju premikali na drug rob. Pinceto smo med različnimi kristalizirkami splaknili v destilirani vodi, tako da smo čim bolj zmanjšali možnost prenosa različnih snovi.

Površino smo merili s pomočjo digitalnega fotoaparata Uvitec Uvisave, ki je bil fiksno pritrjen na leseno ohišje. Stranice ohišja so bile po večini višine zaprte (odprta je bila le spodnja petina ohišja, kar je omogočalo dostop in manipulacijo s kristalizirkami), kar je zmanjšalo vpliv svetlobe iz okolice. Rastline smo v kristalizirkah (v eni ali v dveh v primeru vgnezenega tipa poskusov) postavili na ploščato neonsko luč, tako da so bile rastline osvetljene od spodaj. Fotoaparat je bil nastavljen tako, da je bila kristalizirka z gojiščem preosvetljena (na slikah je bila torej bele barve), medtem ko so rastline bile temnejših barv. Z nadaljnjo obdelavo in analizo posnetkov (glej poglavje 3.2.2 Obdelava podatkov) smo lahko iz njih izmerili površino rastlin. Zgoraj opisani metodi merjenja smo uporabljali 1., 3., 5. in 8. dan, ob podaljšanih poskusih pa še 10. in 12. dan. Dodatno smo uporabili še dve metodi, s katerima smo izvedli meritve le zadnji dan. Pri tehtanju suhe mase rastlin smo le te najprej posušili do konstantne teže (24 ur na 108 °C), ter jih stehali s tehtnico Mettler AE100 (SD = ±0,1 mg). Ko smo iz gojišča odstranili rastline in jih posušili za tehtanje suhe mase, smo izmerili še pH gojišč (uporabljeni pH meter je bil Voltcraft PH-100ATC).

Z izjemo zadnjih treh poskusov (18, 19 in 20) smo pri vseh meritvah izvajali v temotni fazi (da bi rastline imele čim daljše nemoteno obdobje svetlobne faze). Pri zadnjih treh poskusih smo meritve izvajali na koncu svetlobne faze, saj smo poskušali povečati možnosti komunikacije z neprekinjeno temotno fazo.

### **3.2.2 Obdelava podatkov**

Preden smo dobili uporabne meritve površine, je bilo potrebno dodatno obdelati slike rastlin (Slika 2). V prvem delu obdelave je bilo potrebno iz slik izločiti vse elemente razen rastlin. Moteči elementi so bili predvsem robovi kristalizirk, okoliške rastline (rastline v večji kristalizirki, v primeru da je šlo za vgnezen tip poskusa) ipd. Sledila je pretvorba slik v binarno obliko (le bela ali črna barva, brez odtenkov sivin). Vse te korake obdelave slik smo naredili v odprtokodnem programu za obdelavo slik GIMP (verzija 2.8.10). Tako obdelane slike omogočajo enostavno štetje slikovnih točk, ki smo ga izvršili v programu ImageJ (verzija 1.48). Uporabili smo orodje »Analyze particles«, kjer smo nastavili velikost na 1 slikovne točke (piksel), tako da je program štel posamezne slikovne točke. V nastavitvah smo odključali še nastavitvi »Display results« in »Summarize«. S tako obdelavo smo dobili površino rastlin izraženo v številu slikovnih točk. Iz znane referenčne površine smo lahko iz razmerja slikovnih točk izračunali še površino v mm<sup>2</sup>.



Slika 2: Shema obdelave slik za potrebe merjenja površine rastlin.

### 3.2.3 Statistična analiza

Statistično analizo smo izvedli v programu SPSS 20 (IBM). Vrsta analize se je razlikovala med poskusi, saj smo v začetnih imeli le po dve različni obravnavanji, po poskusu št. 13 pa smo vedno imeli po tri različna obravnavanja. Pri prvih 13 poskusih (z izjemo poskusa št. 4, ki je podobno kot kasnejši poskusi imel več kot dve obravnavanji) smo izvedli T-test za dva neodvisna vzorca, pri ostalih pa enosmerno analizo variance (ANOVA).

Pri poskusih št. 17, 18 in 20 smo naredili še mešani model ANOVA, ki združuje naključne (tisti, ki jih nismo uspeli nadzirati) in fiksne (različna obravnavanja) dejavnike znotraj teh treh poskusov. V primeru pričujoče magistrske naloge smo kot naključni dejavnik vzeli ponovitve poskusa, za fiksne pa posamezna obravnavanja. Med ponovitvami poskusov je lahko prišlo do sprememb različnih parametrov, kot je npr. različno začetno fiziološko stanje rastlin, naključne razlike v sestavi gojišča, druge razlike v rastnih dejavnikih ipd., zato smo ponovitve poskusa obravnavali kot naključen dejavnik.

Zaradi hkratnega testiranja več hipotez (mnogotere primerjave) se poveča verjetnost naključnih statistično značilnih razlik (torej verjetnost, da ničelno hipotezo zavrnamo, čeprav je pravilna). Zato smo uporabili Holm-Bonferronijev popravek, ki to težavo kompenzira. Postopek smo izvedli s statističnim programskim jezikom R (verzija 3.0.2). Uporabili smo paket »mutoss«, v katerem je že narejena funkcija »holm()«, ki popravi signifikance.

Ker smo pri večini poskusov naknadno ugotovili nenadzorovane dejavnike (z nadaljnjimi poskusi smo jih izločali), ki bi lahko vplivali na rast, v pričujoči nalogi prikazujemo le statistične analize poskusov, kjer takih dejavnikov nismo našli (poskusi 10, 11, 17, 18 in 20; glej poglavji 3.3.3 in 3.3.5).



## 3.3 OPIS POSKUSOV

Preglednica 2: Pregled izvedenih poskusov razdeljenih po sklopih. V stolpcih »obravnava« so predstavljeni dejavniki, ki so se med različnimi obravnavami razlikovali. Oznake v preglednici: p. – poskus, kr. - kristalizirka.

p.	obravnava		kr.		
<b>1. sklop: uvodni poskusi</b>					
1	ISO gojišče		SIS gojišče	velike	
2	rastline predhodno 1 teden rasle ob slabi svetlobi (stacionarna faza rasti)		rastline predhodno 1 teden rasle ob normalni svetlobi (eksponentna faza rasti)	velike	
3	rastline predhodno 1 teden rasle ob slabi svetlobi (stacionarna faza rasti)		rastline predhodno 1 teden rasle ob normalni svetlobi (eksponentna faza rasti)	majhne	
4	rastline predhodno 1 teden rasle ob slabi svetlobi (stacionarna faza rasti), majhne kr.	rastline predhodno 1 teden rasle ob normalni svetlobi (eksponentna faza rasti), majhne kr. z vmesno menjavo gojišča	rastline predhodno 1 teden rasle ob normalni svetlobi (eksponentna faza rasti), majhne kr.	rastline predhodno 1 teden rasle ob normalni svetlobi (eksponentna faza rasti), velike kr.	majhne v velikih
5	kr. pokrite s parafilmom		kr. pokrite s tesnimi petrijevki	majhne	
<b>2. sklop: ugotavljanje vplivov izmenjave plinov v kr. glede na tesnost pokrovov</b>					
6	visoka gostota rastlin v zunanjih kr., zaprte s tesnimi petrijevki		v zunanjih kr. ni rastlin, zaprte s tesnimi petrijevki	majhne v velikih	
7	visoka gostota rastlin v zunanjih kr., zaprte z naluknjanim parafilmom		v zunanjih kr. ni rastlin, zaprte z naluknjanim parafilmom	majhne v velikih	
8	visoka gostota rastlin v zunanjih kr., zaprte s privzdignjenimi petrijevki		v zunanjih kr. ni rastlin, zaprte s privzdignjenimi petrijevki	majhne v velikih	
9	visoka gostota rastlin v zunanjih kristalizirkah, zaprte s privzdignjenimi petrijevki		v zunanjih kristalizirkah ni rastlin, zaprte s privzdignjenimi petrijevki	majhne v velikih	
<b>3. sklop: ugotavljanje vplivov različnih vrst stekla notranjih kristalizirk</b>					
10	notranje kr. iz kvarčnega stekla, v zunanjih kr. visoka gostota rastlin		notranje kr. iz navadnega stekla, v zunanjih kr. visoka gostota rastlin	majhne v velikih	
11	notranje kr. iz kvarčnega stekla, v zunanjih kr. visoka gostota rastlin		notranje kr. iz navadnega stekla, v zunanjih kr. visoka gostota rastlin	majhne v velikih	
<b>4. sklop: ugotavljanje vpliva odboja svetlobe</b>					
12	notranje kr. iz kvarčnega stekla, v velikih kr. visoka gostota rastlin		notranje kr. ovite v alu folijo, v zunanjih kr. visoka gostota rastlin	majhne v velikih	
13	notranje kristalizirke iz kvarčnega stekla, v zunanjih kristalizirkah visoka gostota rastlin	notranje kristalizirke ovite v alu folijo, v zunanjih kristalizirkah visoka gostota rastlin	notranje kristalizirke iz navadnega stekla, v zunanjih kristalizirkah brez rastlin	majhne v velikih	
14	notranje kr. iz kvarčnega stekla, v zunanjih kr. visoka gostota rastlin	notranje kr. ovite v alu folijo, v zunanjih kr. visoka gostota rastlin	notranje kr. iz navadnega stekla, v zunanjih kr. brez rastlin	majhne v velikih	

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice 1. Pregled izvedenih poskusov razdeljenih po sklopih.

<b>p.</b>	<b>obravnava</b>			<b>kr.</b>
15	notranje kr. iz kvarčnega stekla, v zunanjih kr. visoka gostota rastlin	notranje kr. ovite v črno tkanino, v zunanjih kr. visoka gostota rastlin	notranje kr. iz navadnega stekla, v zunanjih kr. brez rastlin	majhne v velikih
16	notranje kr. iz kvarčnega stekla, v zunanjih kr. visoka gostota rastlin	notranje kr. ovite v črno tkanino, v zunanjih kr. visoka gostota rastlin	notranje kr. iz navadnega stekla, v zunanjih kr. brez rastlin	majhne v velikih
<b>5. sklop: ugotavljanje razlik med obema vrstama stekla kristalizirk glede na stresni dejavnik</b>				
17	notranje kr. iz kvarčnega stekla v zunanjih gojišče brez kalcija in z visoko gostoto rastlin	notranje kr. iz navadnega stekla, v zunanjih gojišče brez kalcija in z visoko gostoto rastlin	notranje kr. iz navadnega stekla, v zunanjih normalno gojišče in z visoko gostoto rastlin	majhne v velikih
18	notranje kr. iz kvarčnega stekla v zunanjih gojišče brez kalcija in z visoko gostoto rastlin	notranje kr. iz navadnega stekla, v zunanjih gojišče brez kalcija in z visoko gostoto rastlin	notranje kr. iz navadnega stekla, v zunanjih normalno gojišče in z visoko gostoto rastlin	majhne v velikih
19	notranje kr. iz kvarčnega stekla v zunanjih gojišče brez kalcija in z visoko gostoto rastlin	notranje kr. iz navadnega stekla, v zunanjih gojišče brez kalcija in z visoko gostoto rastlin	notranje kr. iz navadnega stekla, v zunanjih normalno gojišče in z visoko gostoto rastlin	majhne v velikih
20	notranje kr. iz kvarčnega stekla v zunanjih gojišče brez kalcija in z visoko gostoto rastlin	notranje kr. iz navadnega stekla, v zunanjih gojišče brez kalcija in z visoko gostoto rastlin	notranje kr. iz navadnega stekla, v zunanjih normalno gojišče in z visoko gostoto rastlin	majhne v velikih

### 3.3.1 Sklop 1: Uvodni poskusi (poskus št. 1 do 5)

Uvodni poskusi so bili namenjeni seznanjanju z gojenjem vodne leče in z metodologijo spremljanja njene rasti. Pri tem sklopu poskusov še nismo ugotavljali vplivov okoliških rastlin na rast, ampak le vplive različnih rastnih razmer. Pri prvem poskusu smo primerjali rast v dveh različnih vrstah standardiziranih gojišč – ena je bila pripravljena po švedskem standardu (SIS; Preglednica 3), druga pa po ISO standardu - Steinbergovo gojišče (Preglednica 1; OECD, 2006). Gojenje rastlin med poskusom je potekalo le v velikih kristalizirkah.

Pri naslednjih treh poskusih smo preverjali rast pri rastlinah, ki so bile predhodno 1 teden v stacionarni fazi (rastline niso bile izpostavljene neposredni svetlobi – gojili smo jih v senci) in v eksponentni fazi (rastline gojene neposredno pod virom svetlobe). S poskusi smo želeli ugotoviti, če gojenje v šibkih svetlobnih razmerah spravi rastline v stacionarno fazo. Preverjali smo torej, če po izenačenju razmer nastane razlika v rasti med obema skupinama - med rastlinami, gojenimi v šibki svetlobi in takimi, gojenimi neposredno pod virom svetlobe. Pri zadnjem poskusu pri tem sklopu smo še dodatno preverili, ali na rast vpliva tudi omejena prostornina gojišča (60 mL, kar je precej manj od priporočenih 100 mL; OECD, 2006) – pri enem obravnavanju smo 5. dan zamenjali gojišče, pri drugem pa smo rastline gojili v večjih kristalizirkah, kjer je bila prostornina gojišča 150 mL.

Pri 5. poskusu smo preverili, kako različni pokrovi vplivajo na izmenjavo plinov in posledično na rast rastlin. Ker tudi parafilm do neke mere prepušča manjše molekule plina, nas je zanimalo, če bi lahko z njim pokrili manjše kristalizirke, ne da bi to vplivalo na rast. Polovica kristalizirk je bila tako zaprta s steklenimi pokrovi, druga polovica pa s tesno prilegajočim se parafilmom. Pri obeh obravnavanjih smo rastline gojili v manjših kvarčnih kristalizirkah.

Preglednica 3: Sestava gojišča, pripravljene po SIS standardu (povzeto po OECD: 21).

<b>snov</b>	<b>koncentracija (mg/L)</b>
NaNO <sub>3</sub>	85
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	13,4
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	75
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	36
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	20
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1,0
MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0,20
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0,010
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0,050
CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0,0050
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0,010
FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0,84
Na <sub>2</sub> -EDTA 2H <sub>2</sub> O	1,4
MOPS (pufer)	490

### 3.3.2 Sklop 2: Ugotavljanje vplivov izmenjave plinov v kristalizirki glede na tesnost pokrovov (poskus št. 6 do 9)

V sledečih poskusih (št. 6-9) smo preverjali vpliv različnih gostot rastlin v zunanjih kristalizirkah na rast tistih v notranjih (manjših - vgnezden tip poskusa, Slika 3) in v kombinacijah z različnimi pokrovi. Pri obravnavanjih, kjer so v večjih kristalizirkah bile rastline, smo uporabili take, ki so bile en teden v šibkih svetlobnih razmerah (v senci), torej so bile v stacionarni fazi rasti (za več informacij glej poglavje 3.3.2). Na ta način smo želeli okrepiti potencialno signaliziranje o neugodnih razmerah za rast.

Vsi poskusi so potekali po enakem principu, v večjih zunanjih kristalizirkah so pri enem obravnavanju bila visoka gostota rastlin (pokrita celotna površina kristalizirke), pri drugem pa v njih ni bilo rastlin. Pri vseh obravnavanjih so bile manjše (notranje) kristalizirke kvarčne, saj smo želeli, da steklo prepušča čim širši svetlobni spekter. Želeli smo preveriti, če visoka zunanja gostota vplivajo na rast rastlin v manjših kristalizirkah. Hkrati smo pri teh poskusih preverjali, kateri od različnih pokrovov bi bil najbolj primeren za uporabo pri nadaljnjih poskusih. Poskusili smo tesno prilegajoče se petrijevke, naluknjan parafilm in privzdignjene petrijevke. Želeli smo namreč omogočiti čim večji pretok zraka v kristalizirke, saj bi lahko pri obravnavanjih z visoko okoliško gostoto prišlo do drugačnih razmer (npr. pomanjkanje CO<sub>2</sub>), kar bi vplivalo na rast. Pri tesno prilegajočih kristalizirkah sta se oba robova prekrivala za približno 1 cm, kar bi lahko znatno motilo izmenjavo

plinov z okolico. Zaradi tega smo poskusili kristalizirke pokriti z naluknjanim parafilmom (v parafilm smo s škarjami naredili 10 lukenj). V zadnjem primeru smo uporabili enake petrijevke kot v prvem primeru, le da smo jim na rob nanесли 0,75 cm silikonske tesnilne mase (Slika 4), ki se uporablja pri kaminih in je odporna na visoke temperature (do 300 °C), tako da je bilo pokrove še vedno mogoče sterilizirati. Na ta način smo petrijevke privzdignili, tako da sta se rob kristalizirke in rob petrijevke prekrivala le za približno 2 mm (pred tem sta se pokrova prekrivala za približno 1 cm).



Slika 3: Shema vgnezdene postavitve kristalizirk (manjša kristalizirka v večji), ki je bila uporabljena pri večini poskusov.



Slika 4: Kristalizirka pokrita s petrijevko, ki je privzdignjena s silikonsko tesnilno maso. S privzdignjenimi pokrovi smo omogočili boljšo izmenjavo plinov.

### **3.3.3 Sklop 3: Ugotavljanje vplivov različnih vrst stekla notranjih kristalizirk (poskus št. 10 in 11)**

V sledečih dveh poskusih smo preverili, ali obstaja kakšna razlika v rasti glede na uporabljeno vrsto stekla manjših kristalizirk. V obeh obravnavanjih je bila v večjih kristalizirkah visoka gostota rastlin (uporabljene so bile rastline v stacionarni fazi rasti), spremljali pa smo rast v manjših. Zanimalo nas je, ali se bo pojavila razlika v rasti med obema obravnavanjema zaradi različnih valovnih dolžin svetlobe, ki jih kristalizirki prepuščata (npr. kvarčno steklo bi prepuščalo potencialen signal v spektru UV svetlobe, medtem ko ga navadno steklo ne bi), saj so vse ostale razmere bile enake v obeh obravnavanjih.

### **3.3.4 Sklop 4: Ugotavljanje vpliva odboja svetlobe (poskus št. 12 do 16)**

Prvotna ideja tega sklopa poskusov je bila onemogočiti prenos morebitnih signalov tudi v spektru vidne svetlobe (torej razširiti spekter, ki skozi navadno steklo ne potuje, še na vidno svetlobo), zato smo manjše kristalizirke iz navadnega stekla ovili v aluminijasto folijo (poskusi št. 12, 13 in 14) in v dve plasti črne bombažne tkanine (poskus št. 15 in 16). Hkrati smo z izbiro materiala, ki odbija velik del svetlobe (aluminijasta folija) in materiala, ki jo velik del absorbira (črna bombažna tkanina), preverili še vpliv odboja svetlobe. Pri vseh poskusih smo v večje kristalizirke dali rastline, ki so bile en teden gojene neposredno pod virom svetlobe (torej nismo več uporabili rastlin v stacionarni fazi). Manjše kristalizirke smo ovili v izbrani material malo nad nivojem gojišča, tako da je bil onemogočen prenos signalov v svetlobnem spektru. Pazili smo, da prepreka ni bila nameščena previsoko, saj bi tako lahko senčila rastline pred virom svetlobe, kar bi upočasnilo rast glede na kontrolo. Rezultatov poskusa 12 nismo nikjer upoštevali, ker je zaradi neuporabe pokrovov prišlo do prevelikega izhlapevanja gojišča, zaradi česar smo morali poskus predčasno zaključiti.

Pri zadnjih dveh poskusih pri tem sklopu smo poskušali povečati možnosti za prenos svetlobne informacije s tem, da smo v gojišče vstavili aluminijaste mrežice (velikost odprtin 2x2 mm), ki so bile spete v obliki valja (Slika 5). Na ta način smo dosegli, da so rastline v manjših kristalizirkah bile ob robu stekla ter posledično čim bližje rastlinam v večji kristalizirki, ki naj bi oddajale signale. Mrežice so segale do nivoja gojišča (približno 2,5 cm višine), tako da niso senčile rastlin. Pri zadnjem poskusu iz tega sklopa smo namesto pokrovov, podloženih s silikonskim tesnilom, uporabili narobe obrnjene pokrove (petrijevke), tako da se robova pokrova in kristalizirke nista prekrivala. S tem smo želeli zagotoviti dovolj veliko izmenjavo vseh plinov.



Slika 5: Aluminijaste mrežice zadržujejo rastline v manjših kristalizirkah čim bliže rastlinam v večjih kristalizirkah, tako da je omogočen kar najboljši prenos informacij z EMV.

### 3.3.5 Sklop 5: Ugotavljanje razlik med obema vrstama stekla kristalizirk glede na stresni dejavnik (poskus št. 17 do 20)

Pri zadnjem sklopu poskusov smo pri dveh izmed treh obravnavanj v večjih kristalizirkah uporabili gojišče brez kalcija – gojišče smo pripravili brez  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (Preglednica 1; pri teh dveh obravnavanjih je bila edina razlika vrsta stekla manjših kristalizirk), medtem ko smo pri tretjem obravnavanju uporabili gojišče z vsemi potrebnimi hranili (manjše kristalizirke so imele pri vseh obravnavanjih gojišče z vsemi hranili). Z uporabo gojišča brez kalcija v zunanjih kristalizirkah smo želeli okrepiti neugodne razmere za rastline in tako povečati možnosti za morebiten prenos iz rastlin v zunanjih kristalizirkah na tiste v notranjih. Tudi pri tem sklopu poskusov smo uporabili mrežice, ki so rastline v manjših kristalizirkah zadrževale čim bliže tistim v večjih kristalizirkah. Z izjemo poskusa 19 smo tudi pri tem sklopu poskusov kot pokrove uporabili narobe obrnjene petrijevke. Pri poskusu 19 pokrovov nismo uporabili, saj smo želeli preveriti še rast pri popolnoma prosti izmenjavi plinov. Zaradi tega je gojišče prehitro izhlapelo in smo morali poskus predčasno zaključiti, tako da teh rezultatov nismo nikjer upoštevali.

## 4 REZULTATI

### 4.1 MERITVE RAZLIČNIH RASTNIH DEJAVNIKOV

Ob kakršnikoli spremembah v rastnih komorah smo merili osvetljenost na vsakem posameznem mestu v komori. Za te meritve smo uporabili luxmeter Iskra MI 7060. Povprečna izmerjena osvetljenost je bila 3420 luxov ( $\text{SD}=290$  luxov). Koeficient variacije osvetljenosti je bil pri večini poskusov med 5 in 7 % (Preglednica 4), izjema sta bila le prva dva poskusa, kjer je koeficient znašal 11 %. Z menjavo položajev kristalizirk z

rastlinami med poskusi smo koeficient variacije znižali za polovico, tako da je pri vseh poskusih (z izjemo prvih dveh) bil pod 4 %.

Preglednica 4: Povzetek opisne statistike za meritve osvetljenosti v termostatskih komorah. Prikazane so vrednosti za primer, da kristalizirk z rastlinami ne bi premikali (stolpec »brez menjav«) in za primer, ko smo kristalizirkam na 2-3 dni menjali položaje (stolpec »z menjavami«). KV je kratica za koeficient variacije ( $KV=SD/povp$ ), ki kaže velikost standardne deviacije v primerjavi s povprečjem (relativna SD).

datum	poskusi	osvetljenost [lux]									
		brez menjav					z menjavami				
		max	min	povp	SD	KV	max	min	povp	SD	KV
19.06.13	1-2	3700	2500	3200	361,81	11,3 %	3486	2914	3200	206,75	6,5 %
18.07.13	3-5	3311	3123	3197	203,24	6,4 %	3311	3123	3197	70,21	2,2 %
26.08.13	6-8	3960	3380	3642	238,95	6,6 %	3763	3533	3642	100,95	2,8 %
16.09.13	9-12	3800	3400	3600	178,89	5,0 %	3686	3514	3600	72,28	2,0 %
13.11.13	13-15	3850	3080	3470	228,54	6,6 %	2349	2044	2208	75,76	3,4 %
03.01.14	16-20	3720	3040	3373	172,18	5,1 %	3496	3196	3373	85,06	2,5 %

Preglednica 5: Pregled možnih nenadzorovanih dejavnikov, ki bi lahko vplivali na rast pri poskusih.

poskus	možen dejavnik
1-5	-
6-9	razlike v sestavi zraka (različna poraba plinov), razlike v osvetljenosti (odboj svetlobe)
10-11	-
12-16	razlike v osvetljenosti (odboj svetlobe)
17-18	odboj svetlobe?
19	preveliko izhlapevanje gojišča
20	odboj svetlobe?

Podrobnejšo statistično analizo smo delali le pri poskusih 10, 11, 17, 18 in 20. Pri vseh ostalih smo po pregledu rezultatov in medsebojni primerjavi med poskusi ugotovili nekatere druge dejavnike (ki jih nismo nadzirali) in bi lahko vplivali na rezultate (Preglednica 5). Zato statistična analiza ni smiselna, čeprav bi pri nekaterih dobili statistično značilne razlike. Pri poskusih 17, 18 in 20 vplivov različne jakosti odboja svetlobe nismo mogli popolnoma izključiti, vendar pa različni rezultati pri poskusih, ki so bili v zasnovi enaki, nakazujejo, da je bil bolj pomemben nek drug dejavnik (za podrobnejša pojasnila glej poglavje 5).

## 4.2 PREGLED DINAMIKE RASTI

Po zahtevah OECD za testiranje kemikalij (OECD, 2006) mora biti za veljavnost testiranja podvojitveni čas (čas, v katerem se vrednost izbranega parametra, npr. števila členkov, podvoji) za posamezen parameter nižji od 2,5 dneva. Večina poskusov, ki smo jih izvedli, je bila nekje na tej meji, vendar je pretežno zadostila omenjeni zahtevi (Preglednica 6).

Preglednica 6: Povprečje in standardni odklon podvojitvenega časa vodne leče. Glede na priporočila OECD (OECD, 2006) mora biti za veljaven poskus podvojitveni čas pod 2,5 dneva. Rdeče so obarvane celice pri poskusih, ki niso zadostili temu kriteriju. Oznake: št. člen. – število členkov, s.m. – suha masa.

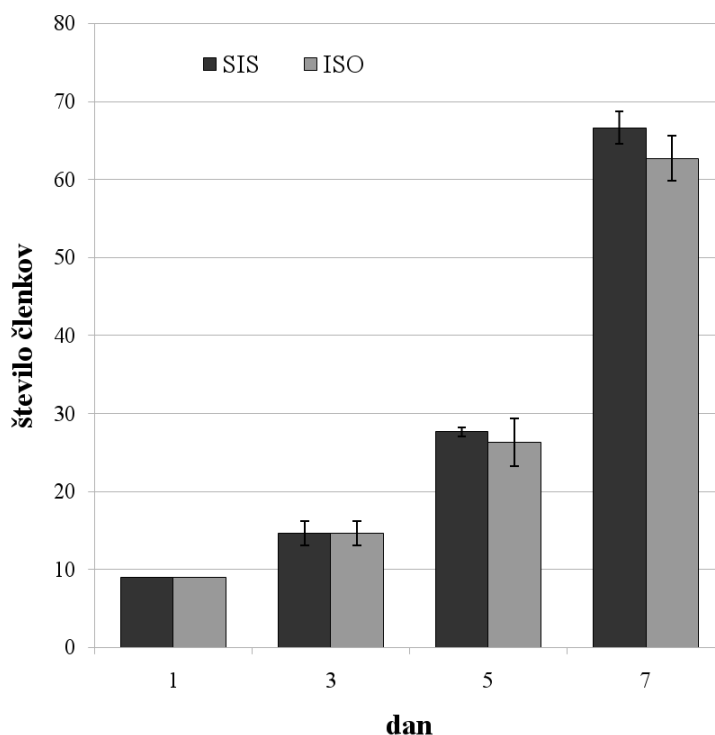
oznaka	obravnava	podvojitveni čas (povp.)			SD		
		št. člen.	površina	s. m.	št. člen.	površina	s.m.
p1	gojišče SIS	2,42	2,28	2,45	0,04	0,03	0,06
	gojišče ISO	<b>2,50</b>	2,25	2,48	0,06	0,08	0,08
p2	eksponentna faza	2,01	2,07	2,01	0,05	0,06	0,11
	stacionarna faza	2,31	2,42	2,34	0,06	0,12	0,22
p3	stacionarna faza	<b>2,87</b>	<b>2,76</b>	<b>2,88</b>	0,14	0,08	0,17
	eksponentna faza	<b>2,61</b>	2,42	<b>2,61</b>	0,10	0,06	0,12
p4	stacionarna faza	<b>2,62</b>	<b>3,01</b>	<b>2,89</b>	0,03	0,28	0,09
	eksponentna faza	2,49	<b>2,59</b>	2,44	0,05	0,13	0,11
	eksp. f. + menjava gojišča	2,46	<b>2,55</b>	2,45	0,12	0,04	0,18
	eksponentna faza, velike k.	2,37	2,43	2,27	0,02	0,03	0,07
p5	pokrito s steklom	1,83	/	1,75	0,03	/	0,02
	pokrito s parafilmom	<b>4,21</b>	/	<b>4,76</b>	0,08	/	0,47
p6	zunaj visoka gostota rastlin	<b>2,68</b>	/	<b>2,81</b>	0,06	/	0,25
	zunaj brez rastlin	2,26	/	2,19	0,06	/	0,06
p7	zunaj brez rastlin	2,22	2,27	2,20	0,04	0,03	0,01
	zunaj visoka gostota rastlin	2,31	2,46	2,34	0,01	0,06	0,11
p8	zunaj visoka gostota rastlin	<b>2,59</b>	<b>2,58</b>	<b>2,70</b>	0,10	0,12	0,12
	zunaj brez rastlin	2,49	<b>2,59</b>	2,40	0,11	0,12	0,02
p9	zunaj visoka gostota rastlin	2,46	2,44	2,49	0,02	0,09	0,00
	zunaj brez rastlin	2,30	2,23	2,28	0,05	0,07	0,08
p10	navadno steklo	<b>2,53</b>	<b>2,68</b>	<b>2,53</b>	0,10	0,13	0,19
	kvarčno steklo	<b>2,50</b>	<b>2,59</b>	<b>2,55</b>	0,18	0,18	0,30
p11	kvarčno steklo	2,28	2,49	2,20	0,07	0,22	0,02
	navadno steklo	2,28	<b>2,55</b>	2,40	0,04	0,17	0,18
p12	navadno s. ovito z alu folijo	2,22	/	2,15	0,12	/	0,08
	kvarčno steklo	2,47	/	<b>2,54</b>	0,20	/	0,17
p13	kvarčno s., visoka gost.	<b>2,50</b>	2,41	2,46	0,11	0,09	0,19
	nav. s., ovito z alu f., visoka gost.	2,40	2,30	2,34	0,08	0,18	0,18
	navadne k., brez rastl.	2,38	2,39	2,39	0,12	0,32	0,17
p14	kvarčno s., visoka gost.	2,36	2,36	2,41	0,12	0,11	0,11
	navadne k., brez rastl.	2,21	2,23	2,21	0,05	0,07	0,05
	nav. s., ovito z alu f., visoka gost.	2,31	2,29	2,32	0,04	0,03	0,03
p15	navadne k., brez rastl.	2,12	2,29	2,12	0,04	0,07	0,04
	nav. s., ovito s črno tk., visoka gost.	2,32	<b>2,50</b>	2,39	0,06	0,07	0,06
	kvarčno s., visoka gost.	2,25	2,33	2,29	0,11	0,06	0,15
p16	navadne k., brez rastl.	2,38	2,37	2,38	0,07	0,07	0,07
	kvarčno s., visoka gost.	2,48	<b>2,53</b>	<b>2,63</b>	0,03	0,07	0,11
	nav. s., ovito s črno tk., visoka gost.	<b>2,68</b>	<b>2,70</b>	<b>3,00</b>	0,10	0,10	0,18
p17	navadno s., vsa hranila	2,38	<b>2,52</b>	2,32	0,05	0,06	0,09
	navadno s., brez Ca <sup>2+</sup>	2,31	2,43	2,24	0,04	0,10	0,09
	kvarčno s., brez Ca <sup>2+</sup>	2,38	<b>2,53</b>	2,37	0,05	0,09	0,06
p18	navadno s., vsa hranila	2,31	2,41	2,31	0,02	0,06	0,08
	navadno s., brez Ca <sup>2+</sup>	2,34	2,41	2,36	0,03	0,08	0,05
	navadno s., brez Ca <sup>2+</sup>	2,41	2,48	2,38	0,07	0,06	0,09
p19	navadno s., vsa hranila	2,43	<b>3,00</b>	2,44	0,18	0,34	0,21
	kvarčno s., brez Ca <sup>2+</sup>	2,40	<b>3,11</b>	2,38	0,20	0,53	0,20
	navadno s., brez Ca <sup>2+</sup>	2,36	<b>2,76</b>	2,39	0,07	0,35	0,09
p20	kvarčno s., brez Ca <sup>2+</sup>	2,37	<b>2,54</b>	2,39	0,04	0,12	0,12
	navadno s., brez Ca <sup>2+</sup>	2,42	<b>2,53</b>	2,38	0,07	0,07	0,12
	navadno s., vsa hranila	2,45	<b>2,64</b>	2,49	0,10	0,09	0,14



Zanimivo je, da med različnimi parametri obstajajo razlike v občutljivosti. Pogoj OECD največkrat ni bil izpolnjen pri površini, medtem ko sta preostala dva parametra kazala zelo podobno sliko.

#### 4.3 GRAFIČNI PRIKAZ IZBRANIH MERITEV PO SKLOPIH POSKUSOV

Zaradi obsežnosti rezultatov so grafično predstavljeni le izbrani poskusi (po en poskus na sklop), pri katerih je prikazan le en parameter. Surovi podatki za prvi in zadnji dan meritev so prikazani v prilogi A.

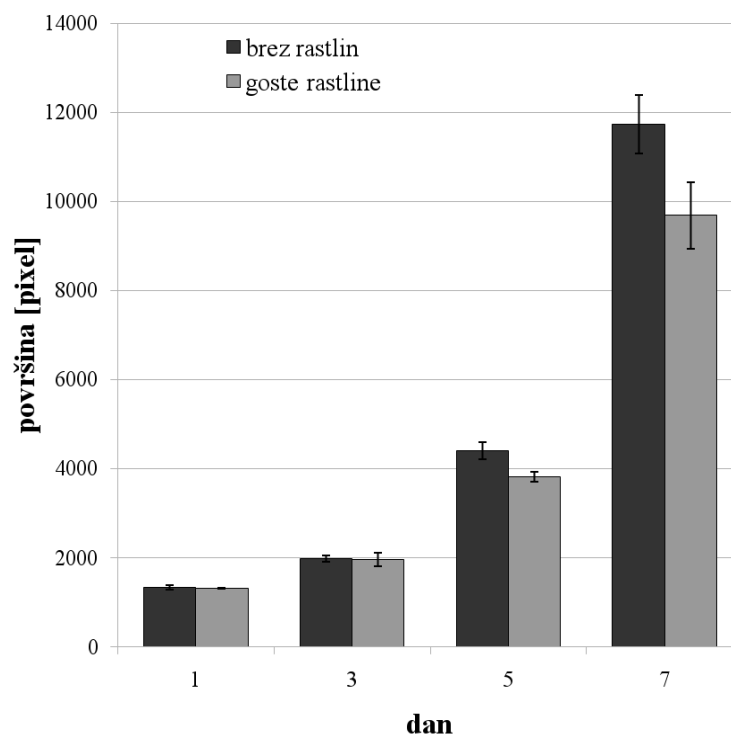


Slika 6: Primerjava števila členkov rastlin pri poskusu 1, kjer smo primerjali dve različni gojišči. Eno je bilo narejeno po švedskem standardu (SIS), drugi pa po ISO standardu - Steinbergovo gojišče (OECD, 2006). Pri vsakem obravnavanju smo imeli po tri ponovitve, na grafih je označena  $\pm$  SD.

Poskusi pri prvem sklopu so bili namenjeni seznanitvi z metodologijo in torej še niso bili neposredno povezani s temo raziskovanja. Pri poskusu 1 (prvi sklop, Slika 6) smo preverjali razlike v rasti med dvema različnima gojiščema - eden je bil pripravljen po ISO, drug pa po švedskem (SIS) standardu. Pokazale so se manjše razlike v rasti, pri čemer je ta bila malenkost slabša pri ISO gojišču. Razlika se je začela kazati po 5. dnevu. Določene razlike smo opazili še pri okužbah, ki so bile nekoliko bolj pogoste pri SIS gojišču. Pri obeh obravnavanjih je bil čas podvojitve pod 2,5 dneva, kar zahtevajo protokoli OECD.

Bolj očitne razlike v rasti smo lahko opazili pri poskusu 9 (Slika 7), ki pripada drugemu sklopu. V tem sklopu poskusov smo preverjali vplive različnih gostot rastlin v zunanjih

kristalizirkah na rast tistih v notranjih. V primeru, kjer okoli notranje kristalizirke ni bilo rastlin, je bila rast počasnejša, razlike so bile jasno razvidne že pri 5. dnev. Kljub temu je bila rast v obeh primerih še zadostna, da je bil čas podvojitve za vse 3 parametre pod 2,5 dneva (Preglednica 6).

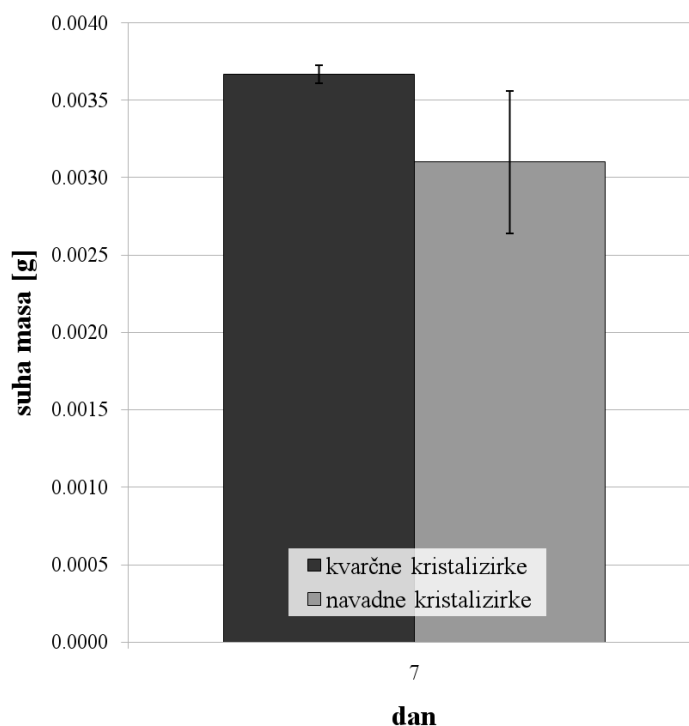


Slika 7: Primerjava površine rastlin pri poskusu 9, kjer smo preverjali vplive različnih gostot okoliških rastlin (vgnezden tip poskusa, torej smo merili rastne parametre pri rastlinah v notranjih kristalizirkah, tiste v zunanjih so služile le kot oddajnik signala). Pri enem obravnavanju je bila v zunanjih kristalizirkah visoka gostota rastlin, pri drugem pa rastlin ni bilo. Pri vsakem obravnavanju smo naredili po tri ponovitve, različne rastne parametre smo merili na rastlinah, ki so rasle v notranjih kristalizirkah. Na grafih je označena  $\pm$  SD.

Pri tretjem sklopu poskusov smo preverjali morebitno razliko v rasti vodne leče med navadnimi in kvarčnimi kristalizirkami, ko je v zunanjih kristalizirkah visoka gostota rastlin. Torej nas je zanimalo, če posredno opazimo prenos signalov v UV spektru EMV preko različnih vrst stekla (navadno in kvarčno). Pri nobenem od poskusov pri tretjem sklopu nismo opazili statistično značilnih razlik med obema obravnavanjema (Preglednica 7), še najbližje značilni razliki je bila suha masa pri poskusu 11 (Slika 8). Vendar je tu težave povzročala predvsem velika varianca podatkov pri gojenju v navadnih kristalizirkah. Pri večini parametrov je bil pri tem poskusu podvojitveni čas pod 2,5 dneva, medtem ko pri poskusu 10 noben parameter ni bil pod to mejo (Preglednica 6). Za statistično analizo poskusov 10 in 11 glej poglavje 4.3.1.

Pri četrtem sklopu poskusov smo poskušali povečati razliko v prepustnosti med obema vrstama kristalizirk, zato smo navadne kristalizirke obdali z različnimi materiali, ki ne prepuščajo vidne svetlobe. Pri tem sklopu nas je torej zanimalo, če lahko posredno zaznamo prenos signalov v UV in vidnem spektru EMV. Pri poskusih 14 in 16 je obakrat

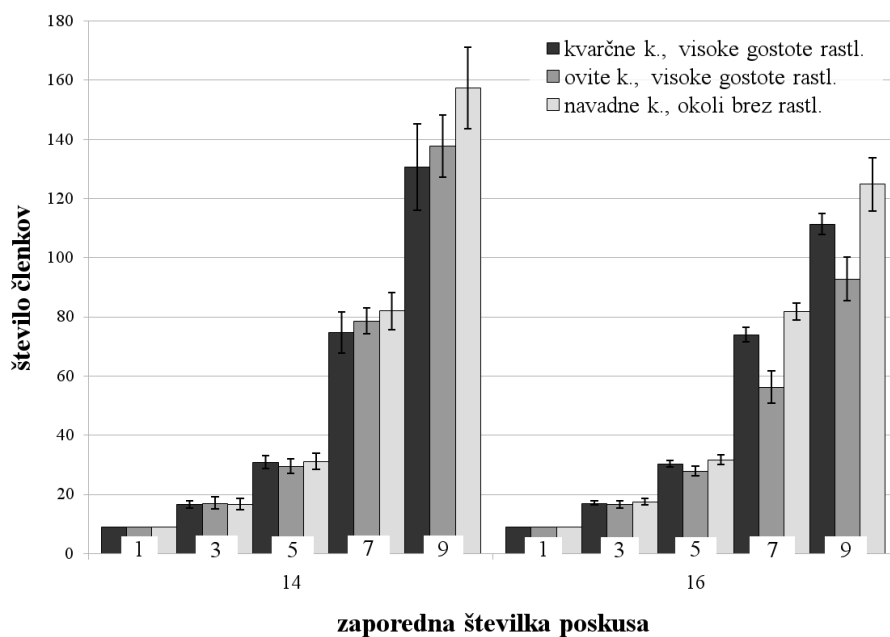
bila najvišja rast pri obravnavanjih, kjer v zunanjih kristalizirkah ni bilo rastlin (Slika 9). Rast se je zelo razlikovala tudi glede na optične lastnosti materiala, ki je pri enem od treh obravnavanj ovijal kristalizirke. Pri poskusu 14 smo uporabili aluminijasto folijo, pri poskusu 16 pa črno tkanino. Glede na obravnavanje s kvarčnimi kristalizirkami je bilo pri prvih opaziti povečano rast, medtem ko se je pri poskusu 16 ta težnja obrnila - pri črni tkanini smo zaznali zmanjšano rast. Pri poskusu 14 so bili podvojitveni časi vseh parametrov pod 2,5 dneva, medtem ko je bilo pri poskusu 16 takšnih manj kot polovica (Preglednica 6, za razlago glej poglavje 5).



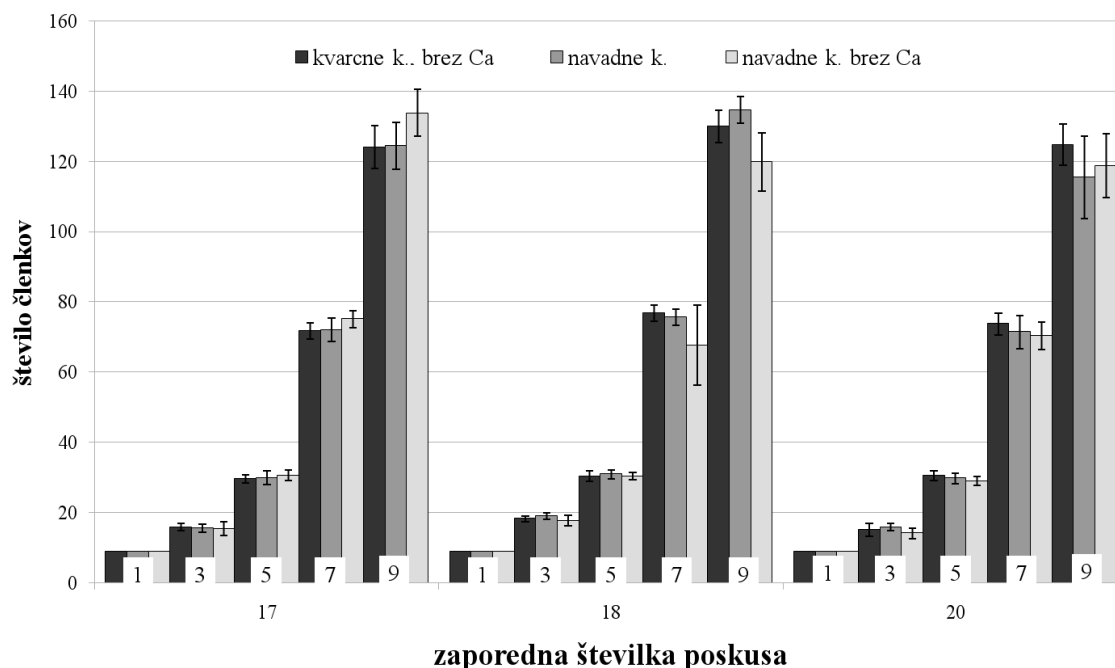
Slika 8: Primerjava suhe mase rastlin pri poskusu 11, kjer smo preverjali, če lahko različna prepustnost za svetlobo pri kvarčnem in navadnem steklu vpliva na prenos signala (in posledično na rast) od rastlin v zunanjih kristalizirkah do tistih v notranjih (pri obeh obravnavanjih je v zunanjih kristalizirkah bila visoka gostota rastlin). Pri vsakem obravnavanju smo imeli po tri ponovitve, različne rastne parametre smo merili na rastlinah, ki so rasle v notranjih kristalizirkah. Na grafih je označena  $\pm$  SD.

Pri petem sklopu poskusov smo podobno kot pri tretjem preverjali morebitne razlike v rasti med navadnimi in kvarčnimi kristalizirkami, ko je v zunanjih kristalizirkah visoka gostota rastlin. Vendar smo tukaj poskušali povečati neugodne razmere v zunanjih kristalizirkah, tako da smo poleg visoke gostote pri dveh od treh obravnavanj uporabili gojišče brez kalcija. Zaradi prevelikega izhlapevanja gojišča smo iz analize morali izločiti poskus 19, saj so bile variance prevelike. V preostalih treh poskusih so bili nekateri odzivi rastlin znotraj posameznega poskusa statistično značilno različni, vendar pri skupnih rezultatih teh razlik ni bilo več opaziti (za podrobnejšo statistično analizo glej poglavje 4.3.1). Težnje pri določenem obravnavanju so se med poskusi razlikovale (Slika 10). Pri poskusu 17 je bila največja rast pri navadnih kristalizirkah brez kalcija v gojišču, medtem ko je bila v sledečem poskusu rast ravno pri tem obravnavanju najnižja, v zadnjem pa izenačena z

rastjo v navadnih kristalizirkah s kalcijem. Pri kvarčnih kristalizirkah brez kalcija v gojišču v poskusu 17 ni bilo razlik glede na navadne kristalizirke s kalcijem, v sledečem poskusu pa je bila rast pri prvih malenkost nižja, pri zadnjem poskusu pa malenkost višja (za podrobnejšo statistično analizo glej poglavje 4.3.1). Pri večini parametrov vseh treh poskusov je bil podvojitveni čas nižji od 2,5 dneva. Zanimivo je, da je pri poskusih 17 in 20 le pri površini bil ta čas malenkost višji.



Slika 9: Primerjava števila členkov rastlin pri poskusih 14 (pri enem obravnavanju so kristalizirke ovite v aluminijasto folijo) in 16 (pri enem obravnavanju so kristalizirke ovite v črno tkanino), kjer smo preverjali vplive prepustnosti različnih spektrov svetlobe (glede na vrsto stekla – navadno, kvarčno oz. ovito v material, ki ne prepušča svetlobe). Pod grafom so v belih kvadratih številke, ki označujejo dan poskusa. Pri vsakem obravnavanju smo imeli po šest ponovitev, različne rastne parametre smo merili na rastlinah, ki so rasle v notranjih kristalizirkah. Na grafih je označena  $\pm$  SD.



Slika 10: Primerjava števila členkov rastlin pri poskusih 17, 18 in 20, kjer smo preverjali, če lahko različna prepustnost za svetlobo pri kvarčnem in navadnem steklu vpliva na prenos signala (in posledično na rast) od rastlin v zunanjih kristalizirkah do tistih v notranjih. Pri dveh obravnavanjih smo poskušali narediti razmere za rast v zunanjih kristalizirkah še bolj neugodne (ter tako ojačiti tudi morebiten prenos te informacije z EMV v notranje kristalizirke), zato smo uporabili gojišče brez kalcija. Pod grafom so v belih kvadratih številke, ki označujejo dan poskusa. Pri vsakem obravnavanju smo imeli po šest ponovitev, različne rastne parametre smo merili na rastlinah, ki so rasle v notranjih kristalizirkah. Na grafih je označena  $\pm$  SD.

#### 4.3.1 Statistična obdelava relevantnih poskusov

Z izjemo poskusa 18 pri nobenem drugem niso bili izpolnjeni vsi pogoji za izvedbo T-testa oz. testa ANOVA (Preglednica 7 in Preglednica 8). Za problematično se je izkazala normalnost podatkov (Shapiro-Wilk test). Zato smo poleg omenjenih dveh testov (oba spadata med parametrične, torej je normalnost podatkov pogoj) hkrati naredili še neparametrične teste (Mann-Whitney U test za neodvisne vzorce kot alternativa T-testu in Kruskal-Wallis ANOVA kot alternativa testu ANOVA), kjer normalnost podatkov ni pogoj za izvedbo. Ker se statistično značilne razlike niso bistveno razlikovale, so v tem poglavju predstavljeni rezultati parametričnih testov.

Statistično značilne razlike smo dobili le pri poskusu 18 (Preglednica 8), kjer je test ANOVA pokazal statistično značilno razliko ( $p < 0,05$ ) pri številu členkov. Če bi vzeli manj strogo mejo za statistično značilnost ( $p < 0,1$ ), potem bi lahko kot statistično značilno različno vzeli še suho maso pri poskusu 17.

Ob pregledu post hoc testov za poskus 18 (Preglednica 9) lahko vidimo, da je statistično značilna razlika le med navadnimi kristalizirkami s kalcijem in navadnimi kristalizirkami brez kalcija. Obravnavanje s kvarčnimi kristalizirkami brez kalcija je bilo po številu členkov nekje vmes, kar je razvidno tudi iz grafičnega prikaza (Slika 10).

Preglednica 7: Rezultati statistične analize za poskusa 10 in 11 (za vse teste so prikazane p-vrednosti). S statističnimi testi smo preverjali, če obstajajo razlike v rasti male vodne leče v notranjih kristalizirkah glede na različno propustnost za svetlobo pri dveh vrstah stekla kristalizirke. Poleg pregleda statistično značilnih rezultatov T-testa ( $p < 0,05$ ) so prikazani še rezultati Shapiro-Wilk testa (preverja normalnost podatkov) in Levenovega testa (preverja homogenost varianc). Z rdečo barvo so označene vrednosti, kjer niso izpolnjene predpostavke T-testa (podatki so normalno razporejeni, če je  $p > 0,1$  - Shapiro-Wilk test; variance so homogene, če je  $p > 0,05$  - Levenov test).

obravnavanje	poskus 10		poskus 11		
	navadne k.	kvarčne k.	navadne k.	kvarčne k.	
Shapiro-Wilk test	število členkov	0,878	0,407	0,000	0,407
	površina	0,254	0,027	0,786	0,864
	suha masa	0,726	0,817	0,637	0,000
Levenov test	število členkov	0,190		0,328	
	površina	0,112		0,274	
	suha masa	0,562		0,075	
t-test	število členkov	<b>0,757</b>		<b>1,000</b>	
	površina	<b>0,929</b>		<b>0,784</b>	
	suha masa	<b>1,000</b>		<b>0,101</b>	

Preglednica 8: Rezultati statistične analize za poskuse 17, 18 in 20. S statističnimi testi smo preverjali, če obstajajo razlike v rasti male vodne leče v notranjih kristalizirkah glede na različno propustnost za svetlobo (in posledično različno možnost prenosa informacije z EMV) pri dveh vrstah stekla kristalizirke. Pri dveh obravnavanih poskušli narediti razmere za rast v zunanjih kristalizirkah še bolj neugodne (ter tako ojačiti tudi morebiten prenos te informacije z EMV v notranje kristalizirke), zato smo uporabili gojišče brez kalcija. Poleg pregleda statistično značilnih rezultatov testa ANOVA ( $p > 0,05$ ; pri združenih poskusih 17, 18 in 20 je bil uporabljen mešani model ANOVA) so prikazani še rezultati Shapiro-Wilk testa (preverja normalnost podatkov) in Levenovega testa (preverja homogenost varianc). Z rdečo barvo so označene vrednosti, kjer niso izpolnjene predpostavke testa ANOVA (podatki so normalno razporejeni, če je  $p > 0,1$  - Shapiro-Wilk test; variance so homogene, če je  $p > 0,05$  - Levenov test). Z zeleno barvo je označena vrednost, kjer se je med različnimi obravnavami pokazala statistično značilna razlika. Pri ločeni statistični obravnavi so p-vrednosti popravljene za mnogotere primerjave (metoda Holm-Bonferroni), medtem ko pri združenih rezultatih vrednosti zaradi prenizkih p-vrednosti niso popravljene (ni statistično značilnih razlik). Oznake: nav. k. – navadne kristalizirke, kv. k. – kvarčne kristalizirke.

obravnavanje	poskus 17			poskus 18			poskus 20			združeno p17,18,20			
	nav. k. brez Ca <sup>2+</sup>	kv. k. brez Ca <sup>2+</sup>	nav. k. s Ca <sup>2+</sup>	nav. k. brez Ca <sup>2+</sup>	kv. k. brez Ca <sup>2+</sup>	nav. k. s Ca <sup>2+</sup>	nav. k. brez Ca <sup>2+</sup>	kv. k. brez Ca <sup>2+</sup>	nav. k. s Ca <sup>2+</sup>	nav. k. brez Ca <sup>2+</sup>	kv. k. brez Ca <sup>2+</sup>	nav. k. s Ca <sup>2+</sup>	
Shapiro-Wilk test	število členkov	0,014	0,107	0,450	0,435	0,376	0,835	0,417	0,129	0,751	0,014	0,107	0,450
	površina	0,670	0,584	0,831	0,921	0,652	0,299	0,363	0,286	0,681	0,363	0,286	0,299
	suha masa	0,753	0,571	0,647	0,614	0,660	0,584	0,023	0,240	0,578	0,023	0,240	0,578
Levenov test	število členkov		0,954			0,074			0,403			0,287	
	površina		0,837			0,239			0,874			0,370	
	suha masa		0,441			0,246			0,999			0,304	
ANOVA	število členkov		0,093			0,006			0,714			0,937	
	površina		0,191			0,170			0,714			0,965	
	suha masa		0,093			0,238			0,714			0,649	

Preglednica 9: P-vrednosti post hoc testa (Fischerjev LSD) za različne primerjave obravnavanj pri poskusu št. 18, kjer je test ANOVA našel statistično značilne razlike tudi po popravku za mnogotere primerjave. Prikazane statistično značilne razlike so popravljene za mnogotere primerjave (metoda Holm-Bonferroni). Z zeleno barvo so označene vrednosti, kjer se je med različnimi obravnavanji pokazala statistično značilna razlika ( $p < 0,05$ ). S statističnim testom smo preverjali, če obstajajo razlike v rasti male vodne leče v notranjih kristalizirkah glede na različno propustnost za svetlobo (in posledično različno možnost prenosa informacije z EMV) pri dveh vrstah stekla kristalizirke. Pri dveh obravnavanjih poskušali narediti razmere za rast v zunanjih kristalizirkah še bolj neugodne (ter tako ojačiti tudi morebiten prenos te informacije z EMV v notranje kristalizirke), zato smo uporabili gojišče brez kalcija.

parameter	primerjava		p-vrednost
število členkov	kvarčne k. brez Ca <sup>2+</sup>	navadne k. brez Ca <sup>2+</sup>	0,080
	kvarčne k. brez Ca <sup>2+</sup>	navadne k. s Ca <sup>2+</sup>	0,960
	navadne k. s Ca <sup>2+</sup>	navadne k. brez Ca <sup>2+</sup>	0,009
površina	kvarčne k. brez Ca <sup>2+</sup>	navadne k. brez Ca <sup>2+</sup>	0,960
	kvarčne k. brez Ca <sup>2+</sup>	navadne k. s Ca <sup>2+</sup>	0,960
	navadne k. s Ca <sup>2+</sup>	navadne k. brez Ca <sup>2+</sup>	0,203
suha masa	kvarčne k. brez Ca <sup>2+</sup>	navadne k. brez Ca <sup>2+</sup>	0,960
	kvarčne k. brez Ca <sup>2+</sup>	navadne k. s Ca <sup>2+</sup>	0,960
	navadne k. s Ca <sup>2+</sup>	navadne k. brez Ca <sup>2+</sup>	0,678

## 5 RAZPRAVA IN SKLEPI

### 5.1 RASTNE RAZMERE MED POSKUSI

Ker so poskusi potekali v termostatskih komorah, sta bili tako temperatura ( $25 \pm 1$  °C) kot svetloba (ni bilo dostopa naravne svetlobe) med poskusom stalni. Kljub temu pa je bilo težko zagotoviti enakomerno osvetlitev med različnimi mesti v komori, saj določene razlike obstajajo že pri samih žarnicah, svoje pa dodajo še različni odboji v komori (do spodnje in srednje police pride tudi nekaj svetlobe iz višje police ipd.). Zaradi tega je bilo potrebno pred začetkom poskusov kar nekaj časa posvetiti zagotovitvi čim bolj enakomerni osvetlitvi. Spremenljivost osvetlitve smo zmanjšali tudi z menjavanjem mest kristalizirk na 2 do 3 dni, s čimer smo koeficient variacije osvetljenosti zmanjšali za polovico (Preglednica 4).

Kljub skrbnemu načrtovanju poskusa in trudu, da se zagotovi čim večja enakomernost osvetlitve, je svetloba še vedno predstavljala najbolj problematičen nenadzorovan dejavnik (Preglednica 5). V določenih postavitvah (pri poskusih 6-9 in 12-16) nam je težave predstavljal odboj svetlobe, česar nikakor nismo mogli izenačiti med vsemi obravnavanji. Tako so (malce nepričakovano) že različne gostote rastlin v zunanjih kristalizirkah med različnimi obravnavanji povzročile takšno razliko v odboju svetlobe, da bi ta lahko imela



pomemben ali celo prevladujoč vpliv na rezultate. Ker svetloba neposredno vpliva na učinkovitost fotosinteze in s tem posredno na rast, je to eden izmed dejavnikov, kateremu je v podobnih poskusih na rastlinah potrebno nameniti največjo pozornost (npr. Wilkonson, 1963).

Ob različnih gostotah rastlin v zunanjih kristalizirkah bi lahko vpliv na rast imela tudi različna sestava zraka v kristalizirkah. Zaradi tega smo jih pokrivali z narobe obrnjenimi petrijevki, tako da je bil pretok zraka čim večji. Zaradi tega se je sicer povečala možnost okužbe gojišča, vendar s tem na srečo nismo imeli večjih težav. Občasno se je sicer pojavila kakšna okužena rastlina, vendar se patogeni med poskusi (8 do 10 dni, v določenih primerih tudi 12 dni) niso množično namnožili.

Pri poskusih se je izkazalo, da težave povzročata tudi prostornina notranjih kristalizirk, v katere smo nalivali le po 60 mL gojišča (glede na standard OECD je najmanjša priporočena prostornina 100 mL - OECD, 2006). Na razpolago smo namreč že imeli zunanje kristalizirke s premerom 95 mm, zato večjih notranjih kristalizirk ne bi mogli uporabiti. Premajhna prostornina notranjih kristalizirk je bila verjetno tudi eden izmed razlogov za precej dolg podvojitveni čas (Preglednica 4), ki pa je bil kljub temu v povprečju ravno okoli zgornje meje (2,5 dni) veljavnosti testov za testiranje strupenosti z malo vodno lečo (OECD, 2006). K počasni rasti so v še večji meri pripomogle prenizke vrednosti osvetljenosti, ki bi naj po priporočilih bile med 6500 in 10000 luxi, pri nas pa je v povprečju bila okrog 3400 luxov (Preglednica 4).

Zaradi prostornine kristalizirk smo bili omejeni tudi z začetnim številom členkov, ki ni smelo biti preveliko, da ne bi rastline znotraj poskusa prešle iz eksponentne v stacionarno fazo. Kljub temu je bilo začetno število členkov (9) ravno še na spodnji priporočljivi meji (OECD, 2006).

Vse pomembnejše poskuse smo izvedli med 23.9.2013 in 10.3.2014, torej v jesenskem in zimskem času. Glede na izkušnje nekaterih ruskih raziskovalcev (Kaznacheevn in Mikhailova, 1981, 1985, cit. po Cifra in sod., 2011) je bil ta čas pri zarodnih celicah fibroblastov pri poskusih komunikacije med celicami v spektru EMV manj ugoden (poročata o največjem vplivu med julijem in avgustom in najmanjšem v decembru in januarju). V splošnem ima več avtorjev, ki so uspeli potrditi tovrstno komunikacijo težave s ponovljivostjo svojih poskusov, saj naj bi pričakovani učinek nihal (npr. Gurwitsch, 1923, Wainwright in sod., 1997).

## 5.2 PREGLED REZULTATOV

Ker gre za pilotno raziskavo, smo poskuse sproti prilagajali in poskušali različne zasnove. Po pregledu in primerjavi preteklih poskusov smo večkrat ugotovili nenadzorovane dejavnike, ki bi lahko pomembno vplivali na razlike v rasti.

Pri prvih petih poskusih naknadno nismo odkrili morebitnih nenadzorovanih dejavnikov. Kljub temu rezultati statistične analize niso prikazani v pričujoči nalogi, saj je šlo za uvodne poskuse, kjer smo se seznanjali z metodologijo. Pri prvem poskusu smo primerjali

razliko med gojiščema ISO in SIS (Slika 6), kjer smo malenkost večjo rast izmerili pri gojišču SIS. Kljub temu smo se odločili za uporabo gojišča ISO, saj je bilo pri tem opaziti manj okužb.

Pri poskusih 6-9 smo naknadno ugotovili, da lahko različne gostote rastlin v večjih kristalizirkah poleg vplivov na sestavo zraka (v poskusih 6-9 smo poskušali ta dejavnik čim bolj zmanjšati) posredno vplivajo še na odboj svetlobe in s tem neposredno na fotosintezo. Na koncu tega sklopa smo idejo o različnih gostotah v zunanjih kristalizirkah opustili, saj nismo našli enostavnega načina, kako izenačiti odboj svetlobe. Pri teh poskusih je sicer prišlo do precejšnje razlike med obema obravnavanjema (npr. pri poskusu 9 - Slika 7), a je ta najverjetneje posledica omenjenih dveh nenadzorovanih dejavnikov.

Pri tretjem sklopu poskusov smo zaradi težav z nenadzorovanimi dejavniki v prejšnjih poskusih obe obravnavanji povsem izenačili, razlikovali sta se le v vrsti stekla notranjih kristalizirk. V tem primeru so bili vsi nenadzorovani dejavniki med obema obravnavanjema izenačeni, vendar pa po končanih poskusih med njima tudi ni bilo opaziti nobenih statistično značilnih razlik (Preglednica 7). Še najbližje temu je bila suha masa pri poskusu 11 (Slika 8), kjer pa je težavo predstavljala precejšna razpršenost podatkov. Razlogov za to je lahko več, vendar iz rezultatov ne moremo razbrati, kateri je k temu poglavitno prispeval (za možne razloge glej poglavje 5.1).

Namen poskusov 12-16 je bil razširiti spektralno območje EMV, ki ga navadne kristalizirke ne prepuščajo. Za to smo jih obdali z aluminijasto folijo (poskusi 12-14) in črno tkanino (poskusa 15 in 16) ter tako med večjo in manjšo kristalizirko onemogočili tudi prehajanje svetlobe v vidnem spektru. Vendar pa se je naknadno izkazalo, da tudi v tem primeru lahko na rezultate vpliva odboj svetlobe, zato statistične analize nismo vključili v rezultate. V vseh primerih je bila namreč najvišja rast pri navadnih kristalizirkah, kadar v večji kristalizirki ni bilo rastlin. V ovitih navadnih kristalizirkah, ki so naokoli imele rastline, se je rast v primerjavi s kvarčnimi z enakimi razmerami spreminjala glede na odbojnost ovoja – pri aluminijasti foliji je bila višja, pri črni tkanini pa nižja kot pri neovitih kvarčnih kristalizirkah.

Pri zadnjem sklopu poskusov smo želeli narediti rastne razmere v zunanjih kristalizirkah manj ugodne, zato smo pri dveh izmed treh obravnavanj uporabili gojišče brez kalcija, da bi na ta način okrepili morebiten signal o slabih razmerah, ki bi prehajal skozi notranjo kristalizirko. Pri poskusu 19 smo hoteli dodatno preveriti še, če različno fiziološko stanje rastlin v zunanjih kristalizirkah lahko spremeni sestavo zraka, čeprav je bilo delno kroženje zraka zagotovljeno s pokrovi, ki se kristalizirkam niso tesno prilegali. Zato smo v tem poskusu poskušali gojiti rastline v odprtih petrijevkah. Vendar je to povzročilo preveliko izhlapevanje gojišča, zaradi česar smo morali poskus predčasno zaključiti (7. dan), poleg tega so bile razlike v rasti znotraj obravnavanj prevelike za nadaljnjo obdelavo podatkov.

Pri poskusih 17, 18 in 20 smo pri merjenih parametrih dobili določene razlike, ki pa so bile statistično značilne le pri enem parametru (Preglednica 8). Pri poskusu 18 (Preglednica 9) je bila razlika statistično značilna pri številu členkov med navadnimi kristalizirkami s kalcijem in navadnimi kristalizirkami brez kalcija. Vrednosti merjenih parametrov kvarčnih kristalizirk z medijem brez kalcija so bile nekje vmes med obema. Vse te

statistične razlike so popravljene s Holm-Bonferronijevo metodo za mnogotere primerjave (Holm, 1979, Huang in sod., 2007). Kljub enaki zasnovi pri poskusih 17, 18 in 20 so primerjalno prišla med obravnavanji različna razmerja (Slika 10). Očitno je na rast vplival nek nenadzorovan dejavnik, ki je povzročil (statistično značilne) razlike v rasti. Kaj točno je to bilo, iz poskusov nismo mogli ugotoviti, možnih pa je več dejavnikov. Lahko bi to bilo kemično sporazumevanje preko zraka (Das in sod., 2012), vendar bi v takem primeru pričakovali, da se bosta statistično značilno od gojišča s kalcijem razlikovali obe gojišči brez kalcija, kar pa se ni zgodilo (oz. se je zgodilo le pri poskusu 18, pri ostalih dveh pa ne), zato to ni verjetno. Podobno tudi ne moremo zaključiti, da je kot nenadzorovan dejavnik deloval odboj svetlobe, ker bi tu enako kot v prejšnjem primeru morale izstopati le obravnavanje, kjer je v zunanjih kristalizirkah bilo gojišče s kalcijem. Ker so se spreminjala razmerja med vsemi obravnavanji, je bolj verjetno, da je deloval nek zunanji nenadzorovan dejavnik, ki je povzročil naključne razlike. To bi lahko bilo različno začetno fiziološko stanje rastlin, ki smo jih uporabili v poskusu (in ki so bile naključno predstavljene v manjše kristalizirke), lahko so to manjše razlike v osvetljenosti, napake pri metodah (čepprav tudi to ni verjetno, ker so težnje ob primerjavi vseh treh uporabljenih metod - štetja števila členkov, merjenje površine in tehtanje suhe mase - precej podobne), ipd. Zelo verjetno je šlo za kombinacijo naštetih dejavnikov. Pomembno pa sta k naključnim razlikam verjetno pripomogla tudi majhna prostornina gojišča v notranjih kristalizirkah in šibka osvetlitev, ki sta povzročila, da je bil celoten sistem preobčutljiv za majhne začetne razlike.

Podobno zasnovo poskusov, kot smo jo uporabili v pričujoči nalogi, so uporabili tudi na paramecijah (*Paramecium caudatum* Ehr.; Fels, 2009). V tej raziskavi so, v nasprotju z nami, potrdili prenos informacij z EMV. Ker niso uporabili rastlin, tudi niso imeli težav z različnimi svetlobnimi razmerami, kar je bila ena izmed največjih težav pri naših poskusih. Kljub temu da je bila prostornina gojišča v notranjih kristalizirkah premajhna glede na priporočila za gojenje male vodne leče (OECD, 2006), je bila razdalja za komunikacijo še vedno precej velika – razdalja med rastlinami, ki so bile ločene s steklom, se je gibala od 2 mm (kolikor je debelo steklo kristalizirke) do največ 3 cm (kolikor znaša polmer notranjih kristalizirk). Glede na to, da je največja opažena razdalja, pri kateri so še zaznali komunikacijo, okoli 4 cm (Kučera in Cifra, 2013), smo v naših poskusih bili precej blizu zgornje meje. Pri podobnih raziskavah v večini uporabljajo manjše organizme oz. njihove posamezne celice (npr. Musumeci in Scordino, 1999; Wainwright in sod., 1999; Albrecht-Buehler, 2005; Fels, 2009).

Ker je zelo težko zagotoviti popolno kemično ločenost dveh skupin testnih organizmov, smo komunikacijo preko EMV skušali pokazati posredno, z uporabo različno prepustnih vrst stekla. Podobno težavo z zagotavljanjem kemične ločenosti rešuje tudi večina raziskav iz tega področja (npr. Gurwitsch, 1923; Musumeci in Scordino, 1999; Fels, 2009). Vendar lahko tudi razlike v kemični sestavi stekla vzbudijo dvome o pravilnosti razlage rezultatov (Kučera in Cifra, 2013), saj ne nudijo vse testne enote popolnoma enakih kemičnih razmer.

### 5.3 UPORABLJENE METODE

Izmed uporabljenih metod (štetje členkov, merjenje površine in tehtanje suhe mase) se je kot najboljša izkazala metoda štetja členkov. Če pregledamo število statistično značilnih rezultatov (brez Holm-Bonferronijevega popravka, zato da je število statističnih značilnosti večje), lahko ugotovimo, da jih je največ pri številu členkov (4 značilni rezultati izmed 9 možnih). Ker smo po končanju poskusov v vsaki notranji kristalizirki izmerili tudi pH gojišča, smo statistično obdelali tudi te meritve (ANOVA). Zanimivo je, da smo dobili več statistično značilnih razlik (3 od 9 možnih) kot pri površini in pri suhi masi (pri vsaki le po 1 izmed 9 možnih). Razlog za to so lahko pomanjkljivosti v metodologiji pri slednjih dveh. Pri tehtanju je bila problematična majhna suha masa rastlin (do max. 18 mg, v večini primerov je bila okoli 5 mg – odvisno od zasnove poskusa). Glede na to, da je ločljivost tehtnice 0,1 mg, so bile meritve že na robu merilnega območja. Tudi pri meritvah površine bi se dalo uporabljeno metodologijo še izboljšati. Tudi v tem primeru je bila težavna majhna površina rastlin v povezavi z majhnimi notranjimi kristalizirkami. Majhna površina kristalizirk je onemogočala podaljšanje poskusov na več kot 9 dni oz. je omejevala največje začetno število členkov, saj bi sicer rastline prerasle površino in bi prišlo do prekrivanja med njimi. Omejitev pri merjenju površine rastlin je bila tudi nizka ločljivost uporabljene kamere (0,44 milijonov slikovnih pik), tako da je bil v povprečju 1 členek velik malo manj kot 300 slikovnih pik. Glede na to, da je bilo potrebno iz slik ročno odstraniti moteče elemente (robove kristalizirk ipd.), lahko nizka ločljivost pripelje do napak. Poleg višje ločljivosti kamere bi bilo priporočljivo uporabiti še večje kristalizirke, tako da se rastline ne bi držale robov, kar poveča število motečih elementov na sliki.

Kljub najboljšim rezultatom je lahko problematična tudi metoda štetja členkov, saj je ta metoda od vseh uporabljenih najmanj objektivna. Kljub temu, da smo uporabljali dodatno osvetlitev in povečevalno steklo, je bilo včasih zelo težko določiti, kaj je členek in kaj ne (predvsem so težavni manjši, ki se šele razvijajo). Pri tej metodi bi bilo zaradi možne pristranskosti potrebno zagotoviti, da oseba, ki šteje, ne ve, kateremu obravnavanju posamezna kristalizirka pripada.

## 6 SKLEPI

Kljub temu da so mnoge raziskave na ne-vodnih rastlinah in na majhnih vodnih živalih nakazale na možnost obstoja doslej še nepoznanega načina komunikacije, tega v okviru pričujoče magistrske naloge na primeru male vodne leče (*Lemna minor* L.) nismo uspeli pokazati. Prav tako pri uporabljenih testnih rastlinah v danih razmerah nismo potrdili nobene od postavljenih hipotez. Če komunikacija med osebki male vodne leče v svetlobnem spektru EMV obstaja, potem je njen vpliv na rast za razmere naše raziskave (gostota organizmov, pomanjkanje kalcija) relativno majhen, tako da ga z uporabljenimi metodami nismo mogli zaznati ali pa uporabljene metode niso primerne za tovrstno raziskovanje.

Glede na rezultate naloge lahko tudi zaključimo, da je uporabljena zasnova poskusov z uporabo vodnih rastlin precej zahtevna, saj hitro pride do razlik v odboju svetlobe, kar lahko vpliva na rezultate. Na splošno je uporaba rastlin za testne organizme na področju

komunikacije med osebki iste vrste relativno zahtevna zaradi vpliva svetlobe, ki je pri njih ključnega pomena za rast. Majhne razlike v osvetljenosti znotraj poskusa (npr. 8 do 10 dni) povzročijo opazne spremembe v rasti. Težave nam je pri nalogi povzročala tudi premajhna prostornina notranjih kristalizirk (dovoljevale so poskuse z največ 60 mL gojišča) ter prešibke osvetlitve (okoli 3400 luxov). Zaradi obeh dveh dejavnikov je bil po naši oceni poskusni sistem nestabilen (majhne začetne razlike so pripeljale do opaznih razlik na koncu poskusa).

Naloga je kljub težavam pomembno prispevala k optimizaciji metodologije za preučevanje medsebojnih vplivov med osebki male vodne leče na ravni EMV. Kljub skoraj stoletni zgodovini raziskav iz področja komunikacije na ravni EMV pa jih bo za dokončno potrditev oziroma ovrženje tega pojava v prihodnosti opraviti še več. Na podlagi izkušenj pridobljenih z eksperimentalnim delom pa lahko svetujemo naslednje:

- poskuse je potrebno natančno načrtovati, največ pozornosti pa je potrebno nameniti čim bolj enakomerni osvetlitvi (pozoren je potrebno biti tudi na odboje svetlobe),
- zmanjšanje razdalje med rastlinami, ki (morebitni) signal oddajajo in tistimi, ki ga sprejemajo na najmanjšo možno raven (npr. uporaba mrežic, ki rastline v notranjih kristalizirkah drži na zunanem obodu),
- uporaba kristalizirk, v katere lahko natočimo vsaj 100 mL gojišča,
- vsaj po šest vzporednic (ponovitev) na posamezen poskus, da je statistična analiza bolj občutljiva,
- vsaj po tri ponovitve posameznega poskusa, da lahko izključimo vplive naključnih dejavnikov,
- uporaba najmanj dveh načinov spremljanja rasti rastlin (kot najboljša metoda se je izkazalo štetje členkov),
- izvedba poskusov v različnih letnih časih, saj so rastline lahko v določenem delu leta bolj neodzivne kot v drugem.

## 7 POVZETEK

Vsa živa bitja so stalno pod vplivom sprememb, katerim se morajo sproti prilagajati. Zaradi tega potrebujejo raznolike čutilne sisteme, ki jim omogočajo čim bolj celostno zaznavanje tako živih kot tudi neživih dejavnikov v okolju. Raznolikost zaznanih dražljajev jim omogoča bolj zanesljivo ocenjevanje stanja v okolici, saj se z njihovim povezovanjem in navzkrižnim preverjanjem zmanjša možnost za napačno sliko, ki bi si jo lahko ustvarili na podlagi le enega čutilnega sistema. Zaradi kompleksnosti naravnega okolja lahko pričakujemo, da bodo živa bitja uporabila čim večje število različnih dražljajev, ki jim bodo omogočila celovit pogled na njihovo okolico. Ker je več raziskav pokazalo, da je zelo šibko sevanje fotonov splošen fenomen živih bitij, se postavlja vprašanje, če ima šibko sevanje svetlobe tudi kakšno informacijsko vrednost (npr. pove kaj o fiziološkem stanju organizma). Če to drži, je povsem upravičeno tudi vprašanje, ali lahko okoliški organizmi to sevanje zaznavajo in tako pridobijo določene informacije. Prvi izsledki o izmenjavi informacij na ravni svetlobnega spektra EMV so se pojavili že v dvajsetih letih prejšnjega stoletja, ko je ruski znanstvenik A. Gurwitsch izvedel poskuse na koreninah čebule. Od takrat je bilo narejenih že preko 400 raziskav. Narejene so bile na

zelo različnih organizmih - na bakterijah, glivah, praživalih, rastlinah in različnih celičnih kulturah. Kljub temu pa na tem področju ni splošnega soglasja, saj so nekatere raziskave tezo o izmenjavi informacij preko svetlobnega spektra EMV podprle, druge pa ovrgle.

V okviru pričujoče magistrske naloge nas je zanimalo, ali lahko potrdimo medsebojne vplive med osebki male vodne leče (*Lemna minor* L.) na ravni EMV. Z uporabo različnih vrst pregrad, ki preprečujejo prenos kemijskih in selektivno tudi EMV informacij med dvema testnima skupinama rastlin, smo poskušali tudi okvirno določiti spekter, preko katerega poteka predpostavljena izmenjava informacij. Kolikor nam je znano, tovrsten tip poskusa na vodnih rastlinah še ni bil izveden, torej smo izvedli neke vrste pilotni poskus. Želeli smo preveriti prenos informacij na nivoju med osebki. Za to smo uporabili dve različni velikosti kristalizirk, pri čemer je bila manjša nameščena v večji, tako da izmenjava kemičnih snovi preko tekočega gojišča ni bila mogoča. Zunanja skupina rastlin je bila oddajna, notranja pa sprejemna. Pri zunanji smo izzvali različne neugodne razmere in preverjali, ali se to pozna na rasti rastlin v notranji kristalizirki. Z ločeno uporabo kvarčnega (prepušča tudi del UV spektra svetlobe) in navadnega stekla (UV spektra ne prepušča) smo poskušali ugotoviti približen spekter predvidene izmenjave informacij. Poskusi so trajali od 8 do 12 dni. Vsak drugi do tretji dan smo merili površino rastlin in šteli členke, zadnji dan pa smo izmerili še pH gojišča ter po 24-urnem sušenju stehtali suho maso rastlin.

Pri večini poskusov smo po obdelavi in primerjavi rezultatov ugotovili vplive nenadzorovanih dejavnikov, tako da statistične obdelave takih rezultatov niso vključene v pričujočo nalogo. Vplivov nenadzorovanih dejavnikov, ki bi se razlikovali med različnimi obravnavanji, ni bilo pri dveh sklopih poskusov, in sicer pri tretjem (poskusa 10 in 11) in pri petem (poskusi 17, 18 in 20, poskus 19 smo zaradi težav predčasno končal). Pri omenjenih dveh sklopih poskusov smo naredili tudi statistično analizo - pri tretjem sklopu smo naredili T-test (imeli smo 2 različni obravnavanji), pri petem sklopu pa smo naredili test ANOVA (3 različna obravnavanja). Pri sledenju smo dodatno naredili še mešani model ANOVA, ki je zajel vse tri ponovitve istega poskusa.

Pri poskusih 10 in 11 smo preverili, ali obstaja razlika v rasti rastlin v notranjih kristalizirkah, če so v zunanjih kristalizirkah velike gostote rastlin (te naj bi preko svetlobnega spektra EMV oddajale signal o neugodnih razmerah) in pri čemer je edina razlika med obravnavanjema v vrsti stekla notranjih kristalizirk. Pri enem obravnavanju so bile iz kvarčnega (prepušča del UV spektra svetlobe), pri drugem pa iz navadnega (ne prepušča UV spektra svetlobe) stekla. Pri poskusih 17, 18 in 20 smo poleg visoke gostote v zunanjih kristalizirkah dodatno okrepili neugodne razmere, tako da dve obravnavanji v zunanjih kristalizirkah nista imeli kalcija. Ti dve sta se ponovno razlikovali le v vrsti stekla notranjih kristalizirk, ki prepuščata različne spektre svetlobe. Statistično značilna razlika med obravnavanji se je po Holm-Bonferronijevem popravku za mnogotere primerjave pokazala le pri številu členkov pri poskusu 18. Pri ostalih dveh ponovitvah tega poskusa (17 in 20) statistično značilnih razlik ni bilo, prav tako tudi ne pri poskusih 10 in 11. Če primerjamo rezultate poskusov 17, 18 in 20, lahko ugotovimo, da so bile opazne manjše razlike, vendar pa so se razmerja rastnih parametrov med obravnavanji pri treh ponovitvah razlikovala. Zato sklepamo, da je statistično značilna razlika, ki se je pokazala pri poskusu 18, le posledica naključnih dogodkov. Težava pri vseh poskusih je namreč bila v

premajhnih notranjih kristalizirkah, kar nas je omejevalo pri prostornini gojišča. Druga težava pri vseh poskusih je bila prešibka osvetljenost v komori. Predvidevamo, da je bil celoten sistem zaradi teh dveh omejitev nestabilen, zaradi česar so že majhna začetna odstopanja (zaradi naključnega izbora so bile neke npr. malo bolj vitalne in večje rastlin ipd.) pripeljala do statistično značilnih razlik.

Izmed vseh uporabljenih metod spremljanja rasti vodne leče se je kot najboljša izkazala metoda štetja členkov, ki je med obravnavanji pokazala največ statistično značilnih razlik med merjenimi parametri (čeprav je po Holm-Bonferronijevem popravku ostal le en tak rezultat). Presenetljivo je večje razlike kot suha masa in površina pokazal pH gojišča, ki smo ga prvotno merili le zaradi nadzora razmer za rast. Razlogi za manjšo občutljivost pri suhi masi in površini so verjetno v pomanjkljivostih pri uporabljeni metodologiji. Pri površini je bila težava v prenizki ločljivosti fotoaparata v povezavi s premajhno površino rastlin (zaradi majhnosti notranjih kristalizirk) in zapleteno obdelavo slik (ročno odstranjevanje robov kristalizirk, senc ipd.). Pri suhi masi pa je bila težavna majhna skupna masa rastlin (večinoma okrog 5 mg, občutljivost uporabljene tehtnice je bila 0,1 mg), kar je ponovno povezano s (pre)majhnimi notranjimi kristalizirkami.

V okviru magistrske naloge torej nismo uspeli potrditi medsebojnih vplivov osebkov malih vodnih leč na ravni EMV, tako da nobene od dveh postavljenih hipotez nismo mogli potrditi. Če komunikacija med osebki male vodne leče v svetlobnem spektru EMV obstaja, potem je njen vpliv na rast relativno majhen, tako da ga z uporabljenimi metodami nismo mogli zaznati ali pa eksperimentalne razmere niso bile primerne, da bi zaznali razlike. Vendar smo tudi pri uporabljenih metodah naleteli na težave, ki so deloma posledica pomanjkanja raziskav iz tega področja in ki so zmanjšale občutljivost poskusnega sistema. Poleg tega so vodne rastline, kot je vodna leča, za tovrstne raziskave lahko nevhvaležen poskusni subjekt, saj težave povzročajo odboj svetlobe, ki gre mimo rastlin skozi gojišče in se od stekla odbije nazaj. Ta lahko zaradi različnih gostot v zunanjih kristalizirkah povzroči razlike v rasti v notranjih. Naloga je pomembno prispevala k optimizaciji metodologije za preučevanje medsebojnih vplivov med osebki male vodne leče na ravni EMV.

## 8 VIRI

- Albrecht-Buehler, G. 1991. Surface extensions of 3T3 cells towards distant infrared light sources. *The Journal of Cell Biology*, 114, 3: 493–502
- Albrecht-Buehler, G. 2005. A long-range attraction between aggregating 3T3 cells mediated by near-infrared light scattering. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102, 14: 5050–5055
- Bais, H. P., Park, S.-W., Weir, T. L., Callaway, R. M., Vivanco, J. M. 2004. How plants communicate using the underground information superhighway. *Trends in Plant Science*, 9, 1: 26–32
- Bateman, J. 1935. Mitogenetic radiation. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 10, 1: 42–71
- Borodin, D. N. 1930. Energy Emanation During Cell Division Processes (M-Rays). *Plant Physiology*, 5, 1: 119–129
- Carazo, P. in Font, E. 2010. Putting information back into biological communication. *Journal of Evolutionary Biology*, 23, 4: 661–669
- Chwirot, W. 1988. Ultraweak photon emission and anther meiotic cycle in *Larix europaea*. (Experimental investigation of Nagl and Popp's electromagnetic model of differentiation.). *Experientia*, 44, 7: 594–599
- Cifra, M., Fields, J. Z., Farhadi, A. 2011. Electromagnetic cellular interactions. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 105, 3: 223–246
- Colli, L. in Facchini, U. 1954. Light emission by germinating plants. *Il Nuovo Cimento*, XII, 1: 150–153
- Das, A., Lee, S.-H., Hyun, T. K., Kim, S.-W., Kim, J.-Y. 2012. Plant volatiles as method of communication. *Plant Biotechnology Reports*, 7, 1: 9–26
- Fels, D. 2009. Cellular communication through light. *PloS One*, 4, 4: e5086. doi:10.1371/journal.pone.0005086: 8 str.
- Fischer, N. H. in Quijano, L. 1985. Allelopathic Agents from Common Weeds. V: The Chemistry of Allelopathy. A. C. Thompson, (eds). Washington DC, American Chemical Society: 133-147
- Gagliano, M., Mancuso, S., Robert, D. 2012. Towards understanding plant bioacoustics. *Trends in Plant Science*, 17, 6: 323–325
- Gagliano, M. in Renton, M. 2013. Love thy neighbour: facilitation through an alternative signalling modality in plants. *BMC Ecology*, 13, 19. doi:10.1186/1472-6785-13-19: 6 str.



- Gagliano, M., Renton, M., Duvdevani, N., Timmins, M., Mancuso, S. 2012a. Acoustic and magnetic communication in plants, 7, 10: 1346–1348
- Gagliano, M., Renton, M., Duvdevani, N., Timmins, M., Mancuso, S. 2012b. Out of sight but not out of mind: alternative means of communication in plants. *PloS One*, 7, 5: e37382. doi:10.1371/journal.pon:0037382: 9 str.
- Gray, J. in Ouellet, C. 1933. Apparent mitogenetic inactivity of active cells. *Proceedings of the Royal Society of London. Section B - Biological Sciences*, 114, 786: 1–9
- Gross, E. M. 2003. Allelopathy of aquatic autotrophs. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22, 3-4: 313–339
- Gurwitsch, A. G. 1923. Die natur des spezifischen erregers der zellteilung. *Archiv Für Mikroskopische Anatomie Und Entwicklungsmechanik*, 100, 1-2: 11–40
- Heil, M. in Ton, J. 2008. Long-distance signalling in plant defence. *Trends in Plant Science*, 13, 6: 264–272
- Hemilä, S. in Reuter, T. 2008. *The Physics and Biology of Olfaction and Taste. V: Sensory evolution on the threshold: adaptations in secondarily aquatic vertebrates.* J. Thewissen in S. Nummela. (eds.). Berkeley, University of California Press: 351 str.
- Herns, D. A., in Mattson, W. J. 1992. The Dilemma of Plants: To Grow or Defend. *The Quarterly Review of Biology*, 67, 3: 283-355
- Hiyoshi, Y., Tsuchiya, T., Naoi, J., Futa, K., Kikuchi, T. 2004. The difference in the low frequency sound propagation across the North Pacific sound communication in various species of baleen whales. *V Ocean '04 - MTS/IEEE Techno-Ocean '04: Bridges across the Oceans - Conference Proceedings*, IEEE: 2308–2315
- Holm, S. 1979. A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scandinavian Journal of Statistics*, 6: 65-70
- Huang, Y. in Hsu, J. 2007. Hochberg's step-up method: cutting corners off Holm's step-down method. *Biometrika*, 94, 4: 965-975
- Jan, L. neobjavljeno. Vpliv magnetnega polja na stopnjo rasti in fotokemično učinkovitost vodnega makrofita (*Lemna minor*). Doktorska naloga. Univerza v Ljubljani: Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo.
- Jerlov, N. 1976. *Marine Optics*. Amsterdam, Elsevier Science: 230 str.
- Kučera, O. in Cifra, M. 2013. Cell-to-cell signaling through light: just a ghost of chance? *Cell Communication and Signaling*, 11,87: doi:10.1186/1478-811X-11-87: 8 str.
- Lambers, H., Chapin III, F. Stuart in Pons, T. L. 2008. *Plant physiological ecology*, 2nd ed. New York, Springer Science & Business Media: 605 str.

- Mayburov, S. N. in Volodyaev, I. 2009. Photons Production and Communications in Biological Systems. Progress In Electromagnetics Research Symposium Proceedings: 1937–1941
- Musumeci, F. in Scordino, A.. 1999. Intercellular communication during yeast cell growth. *Europhysics letters* 47, 6: 736–742
- Novoplansky, A.. 2009. Picking battles wisely: plant behaviour under competition. *Plant, Cell & Environment*, 32, 6: 726–741
- Nummela, S. in Thewissen, J. G. M. 2008. The Physics of Sound in Air and Water. V: Sensory evolution on the threshold: adaptations in secondarily aquatic vertebrates. J. Thewissen & S. Nummela, (eds.). Berkeley, University of California Press: 175-180
- OECD 221. Guidelines for the Testing of Chemicals - Lemna sp. Growth Inhibition Test. 2006: 22 str.  
[http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals\\_chem\\_guide\\_pkg-en](http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals_chem_guide_pkg-en)
- Popp, F. 1998. About the Coherence of Biophotons. V: Macroscopic Quantum Coherence. Sassarali, E., Srivastara, Y., Swain, J., Widam, E. (eds.). Macroscopic Quantum Coherence Singapore, New Jersey, London: World Scientific: 12 str.
- Popp, F. in Jiin-ju, Z. J. C. 2000. Mechanism of interaction between electromagnetic fields and living organisms, 43, 5: 507-518
- Rahn, O. in Barnes, S. 1936. Invisible radiations of organisms. Berlin, Gebrueder Borntraeger: 215 str.
- Rattemeyer, M., Popp, F. A., Nagl, W. 1981. Evidence of photon emission from DNA in living systems. *Die Naturwissenschaften*, 68, 11: 572–573
- Richards, O. in Taylor, G. 1932. “Mitogenetic rays”—a critique of the yeast-detector method. *The Biological Bulletin*, 63: 113–128
- Rossi, C., Foletti, A., Magnani, A., Lamponi, S. 2011. New perspectives in cell communication: Bioelectromagnetic interactions. *Seminars in Cancer Biology*, 21, 3: 207–214
- Schenk, H., Callaway, R., Mahall, B. 1999. Spatial Root Segregation: Are Plants Territorial? *Advances in Ecological Research*, 28: 145–180
- Scott-Phillips, T. C. 2008. Defining biological communication. *Journal of Evolutionary Biology*, 21, 2: 387–395

- Shen, X., Mei, W., Xu, X. 1994. Activation of neutrophils by a chemically separated but optically coupled neutrophil population undergoing respiratory burst. *Experientia*, 50, 10: 963–968
- VanWijk, R. 2001. Bio-photons and Bio-communication. *Journal of Scientific Exploration*, 15, 2: 183–197
- Volpe, P. 2003. Interactions of zero-frequency and oscillating magnetic fields with biostructures and biosystems. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2, 6: 637-648
- Wainwright, M., Killham, K., Russel, C., Grayston, J. 1997. Partial evidence for the existence of mitogenetic radiation. *Microbiology*, 143: 1–3
- Wilkinson, R. 1963. Effects of light intensity and temperature on the growth of waterstargrass, coontail, and duckweed. *Weeds*, 11, 4: 287–290
- Willis, R. 1985. The historical bases of the concept of allelopathy. *Journal of the History of Biology*, 18, 1: 71–102
- Winkler, R., Guttenberger, H., Klima, H. 2009. Ultraweak and induced photon emission after wounding of plants. *Photochemistry and Photobiology*, 85, 4: 962–965
- Witzany, G. 2006. Plant Communication from Biosemiotic Perspective. *Plant Signaling & Behavior*, 1, 4: 169–178

## **ZAHVALA**

Najlepše se zahvaljujem tako mentorju, prof. dr. Igorju Jermanu, kot tudi somentorici, prof. dr. Alenki Gaberščik. Oba sta mi pomagala in me usmerjala pri nalogi, ko nisem vedel več kako in kam.

Vse zahvale Luku Janu, ki me je vpeljal v laboratorijsko delo in mi je veliko pomagal pri izvedbi poskusov ter pri obdelavi podatkov. Brez njegove pomoči bi obupal nad statistiko.

Hvala doc. dr. Mateji Germ in prof. dr. Marjani Regvar za hiter pregled naloge.

Zahvaljujem se tudi staršem, ki so mi omogočili ugodne razmere za študij.

Zelo sem hvaležen tudi Tjaši, mojemu dekletu, ki mi je z ljubeznijo stala ob strani, mi pripravljala odlične obroke, pomagala pri slovnici... Brez nje bi bilo to obdobje veliko bolj puščobno.

PRILOGE

PRILOGA A: PREGLEDNICA REZULTATOV VSEH POSKUSOV

zap. št.	datum	dan	obravnavanje	vrsta stekla kristalizirke	št. členkov	površina (pixel)	suha masa [g]	pH
<b>Primerjava rasti med rastlinami v ISO in SIS gojišču</b>								
1	10.6.13	1	gojišče SIS	navadno	9	4098		
1	10.6.13	1	gojišče SIS	navadno	9	4036		
1	10.6.13	1	gojišče SIS	navadno	9	4122		
1	10.6.13	1	gojišče ISO	navadno	9	3797		
1	10.6.13	1	gojišče ISO	navadno	9	3716		
1	10.6.13	1	gojišče ISO	navadno	9	4132		
1	17.6.13	8	gojišče SIS	navadno	69	35594	0.0043	
1	17.6.13	8	gojišče SIS	navadno	66	33282	0.0041	
1	17.6.13	8	gojišče SIS	navadno	65	34136	0.0039	
1	17.6.13	8	gojišče ISO	navadno	66	35496	0.0043	
1	17.6.13	8	gojišče ISO	navadno	61	32100	0.0038	
1	17.6.13	8	gojišče ISO	navadno	61	32920	0.0039	
<b>Primerjava rasti med rastlinami, ki so predhodno 1 teden bile v eksponentni in 1 teden v stacionarni rasti (velike kristalizirke)</b>								
2	24.6.13	1	eksponentna faza	navadno	10	4898		
2	24.6.13	1	eksponentna faza	navadno	10	4287		
2	24.6.13	1	eksponentna faza	navadno	10	3668		
2	24.6.13	1	stacionarna faza	navadno	10	4487		
2	24.6.13	1	stacionarna faza	navadno	10	3996		
2	24.6.13	1	stacionarna faza	navadno	10	4132		
2	1.7.13	8	eksponentna faza	navadno	109	47580	0.0074	
2	1.7.13	8	eksponentna faza	navadno	119	46866	0.0067	
2	1.7.13	8	eksponentna faza	navadno	107	39476	0.0057	
2	1.7.13	8	stacionarna faza	navadno	85	33817	0.0058	

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice rezultatov vseh poskusov

zap. št.	datum	dan	obravnavanje	vrsta stekla kristalizirke	št. členkov	površina (pixel)	suha masa [g]	pH
2	1.7.13	8	stacionarna faza	navadno	77	26809	0.0039	
2	1.7.13	8	stacionarna faza	navadno	84	33663	0.0046	

**Primerjava rasti med rastlinami, ki so predhodno 1 teden bile v eksponentni in 1 teden v stacionarni rasti (majhne kristalizirke)**

3	15.7.13	1	stacionarna faza	kvarčno	8	1722		
3	15.7.13	1	stacionarna faza	kvarčno	8	1538		
3	15.7.13	1	stacionarna faza	kvarčno	8	1538		
3	15.7.13	1	eksponentna faza	kvarčno	8	1541		
3	15.7.13	1	eksponentna faza	kvarčno	8	1692		
3	15.7.13	1	eksponentna faza	kvarčno	8	1990		
3	22.7.13	8	stacionarna faza	kvarčno	48	9830	0.0022	
3	22.7.13	8	stacionarna faza	kvarčno	42	9442	0.002	
3	22.7.13	8	stacionarna faza	kvarčno	41	8611	0.0018	
3	22.7.13	8	eksponentna faza	kvarčno	48	11393	0.0022	
3	22.7.13	8	eksponentna faza	kvarčno	51	13280	0.0023	
3	22.7.13	8	eksponentna faza	kvarčno	55	14142	0.0026	

**Primerjava rasti med rastlinami, ki so predhodno 1 teden bile v eksponentni in 1 teden v stacionarni rasti (majhne in velike kristalizirke, pri enem obravnavanju vmesna menjava gojišča)**

4	22.7.13	1	stacionarna faza	kvarčno	8	1939		
4	22.7.13	1	stacionarna faza	kvarčno	8	2106		
4	22.7.13	1	stacionarna faza	kvarčno	8	2184		
4	22.7.13	1	eksponentna faza	kvarčno	8	2095		
4	22.7.13	1	eksponentna faza	kvarčno	8	2348		
4	22.7.13	1	eksponentna faza	kvarčno	8	2368		
4	22.7.13	1	eksp. f. + menjava gojišča	kvarčno	8	1846		
4	22.7.13	1	eksp. f. + menjava gojišča	kvarčno	8	2281		
4	22.7.13	1	eksp. f. + menjava gojišča	kvarčno	8	2271		
4	22.7.13	1	eksponentna faza, velike k.	navadno	8	2142		
4	22.7.13	1	eksponentna faza, velike k.	navadno	8	2290		
4	22.7.13	1	eksponentna faza, velike k.	navadno	8	2456		

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice rezultatov vseh poskusov

zap. št.	datum	dan	obravnavanje	vrsta stekla kristalizirke	št. členkov	površina (pixel)	suha masa [g]	pH
4	29.7.13	8	stacionarna faza	kvarčno	52	11200	0.002	
4	29.7.13	8	stacionarna faza	kvarčno	51	9113	0.002	
4	29.7.13	8	stacionarna faza	kvarčno	50	11293	0.0022	
4	29.7.13	8	eksponentna faza	kvarčno	57	15063	0.0028	
4	29.7.13	8	eksponentna faza	kvarčno	58	13942	0.0026	
4	29.7.13	8	eksponentna faza	kvarčno	54	15437	0.0031	
4	29.7.13	8	eksp. f. + menjava gojišča	kvarčno	52	12220	0.0024	
4	29.7.13	8	eksp. f. + menjava gojišča	kvarčno	62	15826	0.0031	
4	29.7.13	8	eksp. f. + menjava gojišča	kvarčno	59	14993	0.003	
4	29.7.13	8	eksponentna faza, velike k.	navadno	63	16072	0.0031	
4	29.7.13	8	eksponentna faza, velike k.	navadno	61	16852	0.0032	
4	29.7.13	8	eksponentna faza, velike k.	navadno	62	17619	0.0035	

**Primerjava rasti med kristalizirkami pokritimi s steklom in parafilmom**

5	12.08.13	1	pokrito s steklom	kvarčno	8			
5	12.08.13	1	pokrito s steklom	kvarčno	8			
5	12.08.13	1	pokrito s steklom	kvarčno	8			
5	12.08.13	1	pokrito s parafilmom	kvarčno	8			
5	12.08.13	1	pokrito s parafilmom	kvarčno	8			
5	12.08.13	1	pokrito s parafilmom	kvarčno	8			
5	19.08.13	8	pokrito s steklom	kvarčno	113		0.0055	
5	19.08.13	8	pokrito s steklom	kvarčno	110		0.0057	
5	19.08.13	8	pokrito s steklom	kvarčno	120		0.0059	
5	19.08.13	8	pokrito s parafilmom	kvarčno	25		0.0009	
5	19.08.13	8	pokrito s parafilmom	kvarčno	25		0.001	
5	19.08.13	8	pokrito s parafilmom	kvarčno	26		0.0011	

**Primerjava rasti glede na okoliške gostote, kristalizirke zaprte z nedvignjenimi petrijevskami**

6	26.08.13	1	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	10			
6	26.08.13	1	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	10			

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice rezultatov vseh poskusov

zap. št.	datum	dan	obravnavanje	vrsta stekla kristalizirke	št. členkov	površina (pixel)	suha masa [g]	pH
6	26.08.13	1	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	10			
6	26.08.13	1	okoli brez rastlin	kvarčno	10			
6	26.08.13	1	okoli brez rastlin	kvarčno	10			
6	26.08.13	1	okoli brez rastlin	kvarčno	10			
6	02.09.13	8	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	59		0.003	6.36
6	02.09.13	8	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	61		0.0022	6.21
6	02.09.13	8	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	64		0.0025	6.24
6	02.09.13	8	okoli brez rastlin	kvarčno	92		0.0044	6.65
6	02.09.13	8	okoli brez rastlin	kvarčno	84		0.004	6.64
6	02.09.13	8	okoli brez rastlin	kvarčno	82		0.0039	6.65

**Primerjava rasti glede na okoliške gostote, kristalizirke zaprte z naluknjanim parafilmom**

7	02.09.13	1	okoli brez rastlin	kvarčno	9	1508		5.6
7	02.09.13	1	okoli brez rastlin	kvarčno	9	1547		5.6
7	02.09.13	1	okoli brez rastlin	kvarčno	9	1559		5.6
7	02.09.13	1	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	9	1577		5.6
7	02.09.13	1	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	9	1562		5.6
7	02.09.13	1	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	9	1486		5.6
7	09.09.13	8	okoli brez rastlin	kvarčno	78	12400	0.004	6.85
7	09.09.13	8	okoli brez rastlin	kvarčno	79	13399	0.0039	6.89
7	09.09.13	8	okoli brez rastlin	kvarčno	84	13522	0.004	6.85
7	09.09.13	8	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	73	11075	0.0037	6.68
7	09.09.13	8	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	73	10947	0.0031	6.7
7	09.09.13	8	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	74	11269	0.0036	6.7

**Primerjava rasti glede na okoliške gostote, kristalizirke zaprte z dvignjenimi petrijevkami**

8	09.09.13	1	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	9	1291		5.53
8	09.09.13	1	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	9	1378		5.53
8	09.09.13	1	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	9	1379		5.53
8	09.09.13	1	okoli brez rastlin	kvarčno	9	1418		5.53

se nadaljuje



nadaljevanje preglednice rezultatov vseh poskusov

zap. št.	datum	dan	obravnavanje	vrsta stekla kristalizirke	št. členkov	površina (pixel)	suha masa [g]	pH
8	09.09.13	1	okoli brez rastlin	kvarčno	9	1538		5.53
8	09.09.13	1	okoli brez rastlin	kvarčno	9	1408		5.53
8	16.09.13	8	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	54	8688	0.0026	6.64
8	16.09.13	8	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	61	9652	0.0024	6.65
8	16.09.13	8	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	61	8240	0.0028	6.53
8	16.09.13	8	okoli brez rastlin	kvarčno	58	8396	0.0032	6.69
8	16.09.13	8	okoli brez rastlin	kvarčno	64	10182	0.0033	6.84
8	16.09.13	8	okoli brez rastlin	kvarčno	69	9924	0.0032	6.66

**Primerjava rasti glede na okoliške gostote, kristalizirke zaprte z dvignjenimi petrijevki**

9	16.09.13	1	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	9	1321		5.53
9	16.09.13	1	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	9	1326		5.53
9	16.09.13	1	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	9	1313		5.53
9	16.09.13	1	okoli brez rastlin	kvarčno	9	1392		5.53
9	16.09.13	1	okoli brez rastlin	kvarčno	9	1333		5.53
9	16.09.13	1	okoli brez rastlin	kvarčno	9	1283		5.53
9	23.09.13	8	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	64	10196	0.0028	6.45
9	23.09.13	8	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	66	10035	0.0028	6.63
9	23.09.13	8	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	64	8832	0.0028	6.38
9	23.09.13	8	okoli brez rastlin	kvarčno	72	11349	0.0034	6.81
9	23.09.13	8	okoli brez rastlin	kvarčno	73	12488	0.0036	6.62
9	23.09.13	8	okoli brez rastlin	kvarčno	78	11376	0.0031	6.62

**Primerjava rasti med navadnimi in kvarčnimi kristalizirkami ob visoki gostoti okoliških rastlin**

10	23.09.13	1	okoli visoka gostota rastlin	navadno	9	1511		5.52
10	23.09.13	1	okoli visoka gostota rastlin	navadno	9	1545		5.52
10	23.09.13	1	okoli visoka gostota rastlin	navadno	9	1322		5.52
10	23.09.13	1	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	9	1309		5.52
10	23.09.13	1	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	9	1462		5.52
10	23.09.13	1	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	9	1334		5.52

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice rezultatov vseh poskusov

zap. št.	datum	dan	obravnavanje	vrsta stekla kristalizirke	št. členkov	površina (pixel)	suha masa [g]	pH
10	30.09.13	8	okoli visoka gostota rastlin	navadno	57	8384	0.0026	6.45
10	30.09.13	8	okoli visoka gostota rastlin	navadno	66	9898	0.0031	6.58
10	30.09.13	8	okoli visoka gostota rastlin	navadno	61	8601	0.0023	6.36
10	30.09.13	8	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	56	7976	0.0026	6.65
10	30.09.13	8	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	74	11210	0.0033	6.57
10	30.09.13	8	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	60	8029	0.0021	6.42

**Primerjava rasti med navadnimi in kvarčnimi kristalizirkami ob visoki gostoti okoliških rastlin**

11	21.10.13	1	okoli visoka gostota rastlin	navadno	9	990		5.55
11	21.10.13	1	okoli visoka gostota rastlin	navadno	9	609		5.55
11	21.10.13	1	okoli visoka gostota rastlin	navadno	9	975		5.55
11	21.10.13	1	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	9	892		5.55
11	21.10.13	1	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	9	742		5.55
11	21.10.13	1	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	9	964		5.55
11	28.10.13	8	okoli visoka gostota rastlin	navadno	74	6741	0.0036	6.78
11	28.10.13	8	okoli visoka gostota rastlin	navadno	72	5255	0.0037	7.02
11	28.10.13	8	okoli visoka gostota rastlin	navadno	81	5906	0.0037	6.79
11	28.10.13	8	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	74	5521	0.0026	7.03
11	28.10.13	8	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	79	5870	0.0035	6.82
11	28.10.13	8	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	74	6105	0.0032	6.82

**Primerjava rasti med kvarčnimi in navadnimi kristalizirkami ovitimi z alu folijo glede na različno gostoto okoliških rastlin**

12	28.10.13	1	okoli visoka gostota rastlin	navadno, ovito z alu folijo	9			5.46
12	28.10.13	1	okoli visoka gostota rastlin	navadno, ovito z alu folijo	9			5.46
12	28.10.13	1	okoli visoka gostota rastlin	navadno, ovito z alu folijo	9			5.46
12	28.10.13	1	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	9			5.46
12	28.10.13	1	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	9			5.46
12	28.10.13	1	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	9			5.46
12	04.11.13	8	okoli visoka gostota rastlin	navadno, ovito z alu folijo	/		/	/
12	04.11.13	8	okoli visoka gostota rastlin	navadno, ovito z alu folijo	74		0.0041	7.16

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice rezultatov vseh poskusov

zap. št.	datum	dan	obravnavanje	vrsta stekla kristalizirke	št. členkov	površina (pixel)	suha masa [g]	pH
12	04.11.13	8	okoli visoka gostota rastlin	navadno, ovito z alu folijo	87		0.0046	6.95
12	04.11.13	8	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	72		0.0035	6.7
12	04.11.13	8	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	54		0.0027	6.88
12	04.11.13	8	okoli visoka gostota rastlin	kvarčno	69		0.0031	6.57

**Primerjava rasti med kvarčnimi, navadnimi in navadnimi kristalizirkami ovitimi z aluminijasto folijo glede na različno gostoto okoliških rastlin**

13	10.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1101		5.6
13	10.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1147		5.6
13	10.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1084		5.6
13	10.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1180		5.6
13	10.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1160		5.6
13	10.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1045		5.6
13	10.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	9	1110		5.6
13	10.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	9	1207		5.6
13	10.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	9	1130		5.6
13	10.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	9	1103		5.6
13	10.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	9	1081		5.6
13	10.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	9	1224		5.6
13	10.11.13	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1269		5.6
13	10.11.13	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1118		5.6
13	10.11.13	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1176		5.6
13	10.11.13	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1047		5.6
13	10.11.13	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1124		5.6
13	10.11.13	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1168		5.6
13	18.11.13	8	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	63	8738	0.0034	6.79
13	18.11.13	8	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	66	9694	0.004	6.83
13	18.11.13	8	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	65	8098	0.0031	6.74
13	18.11.13	8	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	65	8348	0.0032	6.65
13	18.11.13	8	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	66	8319	0.0032	6.68
13	18.11.13	8	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	54	7188	0.0025	6.6
13	18.11.13	8	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	67	9455	0.0033	6.79

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice rezultatov vseh poskusov

zap. št.	datum	dan	obravnavanje	vrsta stekla kristalizirke	št. členkov	površina (pixel)	suha masa [g]	pH
13	18.11.13	8	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	66	8495	0.0033	6.76
13	18.11.13	8	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	71	10464	0.0036	6.78
13	18.11.13	8	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	71	11128	0.0048	6.91
13	18.11.13	8	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	61	7248	0.0029	6.65
13	18.11.13	8	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	74	10941	0.0036	6.77
13	18.11.13	8	okoli brez rastlin	navadno	58	6293	0.0026	6.7
13	18.11.13	8	okoli brez rastlin	navadno	70	9269	0.0033	6.7
13	18.11.13	8	okoli brez rastlin	navadno	75	10319	0.0037	6.81
13	18.11.13	8	okoli brez rastlin	navadno	71	9480	0.0035	6.79
13	18.11.13	8	okoli brez rastlin	navadno	75	10001	0.0036	6.82
13	18.11.13	8	okoli brez rastlin	navadno	68	8934	0.0037	6.77

**Primerjava rasti med kvarčnimi, navadnimi in navadnimi kristalizirkami ovitimi z aluminijasto folijo glede na različno gostoto okoliških rastlin**

14	18.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1524		5.6
14	18.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1570		5.6
14	18.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1562		5.6
14	18.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1412		5.6
14	18.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1434		5.6
14	18.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1558		5.6
14	18.11.13	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1612		5.6
14	18.11.13	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1351		5.6
14	18.11.13	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1306		5.6
14	18.11.13	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1536		5.6
14	18.11.13	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1520		5.6
14	18.11.13	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1684		5.6
14	18.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	9	1514		5.6
14	18.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	9	1542		5.6
14	18.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	9	1463		5.6
14	18.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	9	1460		5.6
14	18.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	9	1553		5.6
14	18.11.13	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	9	1504		5.6

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice rezultatov vseh poskusov

zap. št.	datum	dan	obravnavanje	vrsta stekla kristalizirke	št. členkov	površina (pixel)	suha masa [g]	pH
14	29.11.13	12	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	183	41004	0.0085	6.87
14	29.11.13	12	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	259	31321	0.0117	6.97
14	29.11.13	12	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	201	36353	0.0093	6.93
14	29.11.13	12	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	225	41232	0.0108	7.12
14	29.11.13	12	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	284	41128	0.0127	7.3
14	29.11.13	12	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	248	40243	0.0106	7.02
14	29.11.13	12	okoli brez rastlin	navadno	296	52639	0.0151	7.33
14	29.11.13	12	okoli brez rastlin	navadno	292	44090	0.0132	7.37
14	29.11.13	12	okoli brez rastlin	navadno	258	39831	0.0133	7.42
14	29.11.13	12	okoli brez rastlin	navadno	264	39086	0.0126	7.76
14	29.11.13	12	okoli brez rastlin	navadno	310	51182	0.0152	7.45
14	29.11.13	12	okoli brez rastlin	navadno	276	51908	0.0135	7.23
14	29.11.13	12	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	244	44081	0.0118	7.13
14	29.11.13	12	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	268	42348	0.0119	7.14
14	29.11.13	12	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	233	40172	0.0126	7.25
14	29.11.13	12	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	226	39975	0.0113	7.07
14	29.11.13	12	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	250	45024	0.0112	7.08
14	29.11.13	12	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito z alu folijo	251	39879	0.0117	7.53

**Primerjava rasti med kvarčnimi, navadnimi in navadnimi kristalizirkami ovitimi s črno bombažno tkanino glede na različno gostoto okoliških rastlin**

15	02.12.13	1	okoli brez rastlin	navadno	9	2051		5.37
15	02.12.13	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1815		5.37
15	02.12.13	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1703		5.37
15	02.12.13	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1763		5.37
15	02.12.13	1	okoli brez rastlin	navadno	9	2037		5.37
15	02.12.13	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1839		5.37
15	02.12.13	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	9	1952		5.37
15	02.12.13	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	9	1965		5.37
15	02.12.13	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	9	1950		5.37
15	02.12.13	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	9	2023		5.37
15	02.12.13	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	9	1931		5.37

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice rezultatov vseh poskusov

zap. št.	datum	dan	obravnavanje	vrsta stekla kristalizirke	št. členkov	površina (pixel)	suha masa [g]	pH
15	02.12.13	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	9	1864		5.37
15	02.12.13	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1769		5.37
15	02.12.13	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1664		5.37
15	02.12.13	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1706		5.37
15	02.12.13	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1739		5.37
15	02.12.13	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1974		5.37
15	02.12.13	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1497		5.37
15	13.12.13	12	okoli brez rastlin	navadno	358	52929	0.0166	7.69
15	13.12.13	12	okoli brez rastlin	navadno	359	53420	0.0168	7.57
15	13.12.13	12	okoli brez rastlin	navadno	329	56315	0.0167	7.57
15	13.12.13	12	okoli brez rastlin	navadno	324	48898	0.0151	7.55
15	13.12.13	12	okoli brez rastlin	navadno	328	50731	0.0161	7.55
15	13.12.13	12	okoli brez rastlin	navadno	294	49411	0.0145	7.46
15	13.12.13	12	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	251	43195	0.0108	7
15	13.12.13	12	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	250	41746	0.0106	6.99
15	13.12.13	12	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	215	35541	0.0093	7.25
15	13.12.13	12	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	253	43825	0.0113	7.04
15	13.12.13	12	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	216	39413	0.01	6.96
15	13.12.13	12	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	256	43706	0.0116	7.15
15	13.12.13	12	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	296	49292	0.0145	7.37
15	13.12.13	12	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	237	41185	0.0104	7.08
15	13.12.13	12	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	277	49063	0.0131	7.23
15	13.12.13	12	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	228	40042	0.0105	7.07
15	13.12.13	12	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	347	55077	0.0172	7.47
15	13.12.13	12	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	233	40318	0.0098	7.29

**Primerjava rasti med kvarčnimi, navadnimi in navadnimi kristalizirkami ovitimi s črno bombažno tkanino glede na različno gostoto okoliških rastlin**

16	06.01.2014	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1515		5.53
16	06.01.2014	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1558		5.53
16	06.01.2014	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1808		5.53
16	06.01.2014	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1660		5.53

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice rezultatov vseh poskusov

zap. št.	datum	dan	obravnavanje	vrsta stekla kristalizirke	št. členkov	površina (pixel)	suha masa [g]	pH
16	06.01.2014	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1406		5.53
16	06.01.2014	1	okoli brez rastlin	navadno	9	1489		5.53
16	06.01.2014	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1590		5.53
16	06.01.2014	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1557		5.53
16	06.01.2014	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1537		5.53
16	06.01.2014	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1464		5.53
16	06.01.2014	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1688		5.53
16	06.01.2014	1	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	9	1686		5.53
16	06.01.2014	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	9	1598		5.53
16	06.01.2014	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	9	1765		5.53
16	06.01.2014	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	9	1522		5.53
16	06.01.2014	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	9	1408		5.53
16	06.01.2014	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	9	1735		5.53
16	06.01.2014	1	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	9	1370		5.53
16	15.01.2014	10	okoli brez rastlin	navadno	135	23905	0.0072	6.86
16	15.01.2014	10	okoli brez rastlin	navadno	118	22729	0.0074	6.84
16	15.01.2014	10	okoli brez rastlin	navadno	135	23859	0.008	6.94
16	15.01.2014	10	okoli brez rastlin	navadno	127	22615	0.0079	6.89
16	15.01.2014	10	okoli brez rastlin	navadno	113	19547	0.0068	6.8
16	15.01.2014	10	okoli brez rastlin	navadno	121	19075	0.0067	6.87
16	15.01.2014	10	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	108	17670	0.0049	6.59
16	15.01.2014	10	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	113	18599	0.006	6.69
16	15.01.2014	10	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	115	19957	0.0064	6.78
16	15.01.2014	10	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	112	18072	0.0053	6.71
16	15.01.2014	10	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	114	18525	0.006	6.7
16	15.01.2014	10	okoli visoka gostote rastlin	kvarčno	106	18986	0.0056	6.66
16	15.01.2014	10	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	91	15168	0.0039	6.52
16	15.01.2014	10	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	101	17108	0.0046	6.6
16	15.01.2014	10	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	96	17297	0.0047	6.64
16	15.01.2014	10	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	81	12906	0.0035	6.45
16	15.01.2014	10	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	99	17124	0.0047	6.62

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice rezultatov vseh poskusov

zap. št.	datum	dan	obravnavanje	vrsta stekla kristalizirke	št. členkov	površina (pixel)	suha masa [g]	pH
16	15.01.2014	10	okoli visoka gostote rastlin	navadno, ovito s črno tk.	89	15095	0.0043	6.75
<b>Primerjava rasti med kvarčnimi in navadnimi kristalizirkami glede na pomanjkanje kalcija v gojišču okoliških rastlin (stresni dejavnik)</b>								
17	20.01.2014	1	okoli vsa hranila	navadno	9	4643	0.0004	
17	20.01.2014	1	okoli vsa hranila	navadno	9	4386	0.0004	
17	20.01.2014	1	okoli vsa hranila	navadno	9	4541	0.0004	
17	20.01.2014	1	okoli vsa hranila	navadno	9	4390	0.0004	
17	20.01.2014	1	okoli vsa hranila	navadno	9	3902	0.0004	
17	20.01.2014	1	okoli vsa hranila	navadno	9	4200	0.0004	
17	20.01.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	4162	0.0004	
17	20.01.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	4417	0.0004	
17	20.01.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	4117	0.0004	
17	20.01.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	4277	0.0004	
17	20.01.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	4091	0.0004	
17	20.01.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	4392	0.0004	
17	20.01.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	4565	0.0004	
17	20.01.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	4207	0.0004	
17	20.01.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	4114	0.0004	
17	20.01.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	4339	0.0004	
17	20.01.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	4402	0.0004	
17	20.01.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	4359	0.0004	
17	29.01.2014	10	okoli vsa hranila	navadno	136	55484	0.0063	6.51
17	29.01.2014	10	okoli vsa hranila	navadno	122	49843	0.0067	6.71
17	29.01.2014	10	okoli vsa hranila	navadno	125	57960	0.0066	6.69
17	29.01.2014	10	okoli vsa hranila	navadno	127	51446	0.0057	6.51
17	29.01.2014	10	okoli vsa hranila	navadno	119	49587	0.0058	6.6
17	29.01.2014	10	okoli vsa hranila	navadno	118	45665	0.0052	6.43
17	29.01.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	132	49021	0.0058	6.6
17	29.01.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	134	56698	0.007	6.52
17	29.01.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	147	62011	0.0078	6.78
17	29.01.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	130	51789	0.006	6.56

se nadaljuje



nadaljevanje preglednice rezultatov vseh poskusov

zap. št.	datum	dan	obravnavanje	vrsta stekla kristalizirke	št. členkov	površina (pixel)	suha masa [g]	pH
17	29.01.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	131	61400	0.0068	6.62
17	29.01.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	129	54671	0.0067	6.52
17	29.01.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	128	50642	0.0055	6.43
17	29.01.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	115	46060	0.0056	6.42
17	29.01.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	127	52510	0.0058	6.47
17	29.01.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	130	56464	0.0061	6.51
17	29.01.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	118	46905	0.0051	6.45
17	29.01.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	127	55231	0.0061	6.52

**Primerjava rasti med kvarčnimi in navadnimi kristalizirkami glede na pomanjkanje kalcija v gojišču okoliških rastlin (stresni dejavnik)**

18	03.02.2014	1	okoli vsa hranila	navadno	9	5028	0.0005	5.56
18	03.02.2014	1	okoli vsa hranila	navadno	9	5464	0.0005	5.56
18	03.02.2014	1	okoli vsa hranila	navadno	9	4694	0.0005	5.56
18	03.02.2014	1	okoli vsa hranila	navadno	9	4783	0.0005	5.56
18	03.02.2014	1	okoli vsa hranila	navadno	9	4959	0.0005	5.56
18	03.02.2014	1	okoli vsa hranila	navadno	9	5064	0.0005	5.56
18	03.02.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	5337	0.0005	5.56
18	03.02.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	5124	0.0005	5.56
18	03.02.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	4880	0.0005	5.56
18	03.02.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	4398	0.0005	5.56
18	03.02.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	4610	0.0005	5.56
18	03.02.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	4686	0.0005	5.56
18	03.02.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	4927	0.0005	5.56
18	03.02.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	4672	0.0005	5.56
18	03.02.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	5065	0.0005	5.56
18	03.02.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	4876	0.0005	5.56
18	03.02.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	4894	0.0005	5.56
18	03.02.2014	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	4971	0.0005	5.56
18	12.02.2014	10	okoli vsa hranila	navadno	136	68635	0.0068	6.71
18	12.02.2014	10	okoli vsa hranila	navadno	135	69035	0.0075	6.55
18	12.02.2014	10	okoli vsa hranila	navadno	134	63160	0.0062	6.58

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice rezultatov vseh poskusov

zap. št.	datum	dan	obravnavanje	vrsta stekla kristalizirke	št. členkov	površina (pixel)	suha masa [g]	pH
18	12.02.2014	10	okoli vsa hranila	navadno	130	63961	0.0062	6.54
18	12.02.2014	10	okoli vsa hranila	navadno	141	73948	0.0075	6.6
18	12.02.2014	10	okoli vsa hranila	navadno	132	62689	0.0064	6.54
18	12.02.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	125	62392	0.006	6.55
18	12.02.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	136	64648	0.0066	6.6
18	12.02.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	132	67167	0.0068	6.61
18	12.02.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	128	62984	0.0065	6.52
18	12.02.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	134	66323	0.0063	6.55
18	12.02.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	125	61471	0.006	6.5
18	12.02.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	122	60936	0.0065	6.46
18	12.02.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	108	53740	0.0054	6.44
18	12.02.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	130	68743	0.0068	6.53
18	12.02.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	124	59204	0.0058	6.42
18	12.02.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	112	58678	0.0063	6.56
18	12.02.2014	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	124	65154	0.0068	6.51

**Primerjava rasti med kvarčnimi in navadnimi kristalizirkami glede na pomanjkanje kalcija v gojišču okoliških rastlin (stresni dejavnik)**

19	17.2.14	1	okoli vsa hranila	navadno	9	5047		5.42
19	17.2.14	1	okoli vsa hranila	navadno	9	4902		5.42
19	17.2.14	1	okoli vsa hranila	navadno	9	5179		5.42
19	17.2.14	1	okoli vsa hranila	navadno	9	4649		5.42
19	17.2.14	1	okoli vsa hranila	navadno	9	4479		5.42
19	17.2.14	1	okoli vsa hranila	navadno	9	5458		5.42
19	17.2.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	4968		5.42
19	17.2.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	5010		5.42
19	17.2.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	5013		5.42
19	17.2.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	5502		5.42
19	17.2.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	4729		5.42
19	17.2.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	5336		5.42
19	17.2.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	5092		5.42
19	17.2.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	4674		5.42

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice rezultatov vseh poskusov

zap. št.	datum	dan	obravnavanje	vrsta stekla kristalizirke	št. členkov	površina (pixel)	suha masa [g]	pH
19	17.2.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	4884		5.42
19	17.2.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	4644		5.42
19	17.2.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	4962		5.42
19	17.2.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	5582		5.42
19	21.2.14	8	okoli vsa hranila	navadno	74	25593	0.0033	6.58
19	21.2.14	8	okoli vsa hranila	navadno	57	19147	0.0025	6.45
19	21.2.14	8	okoli vsa hranila	navadno	60	31940	0.0026	6.5
19	21.2.14	8	okoli vsa hranila	navadno	81	31940	0.0039	6.61
19	21.2.14	8	okoli vsa hranila	navadno	74	28332	0.0034	6.58
19	21.2.14	8	okoli vsa hranila	navadno	58	20554	0.0028	6.49
19	24.2.14	8	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	76	28572	0.0034	6.66
19	24.2.14	8	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	60	21831	0.0027	6.43
19	24.2.14	8	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	61	22216	0.003	6.51
19	24.2.14	8	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	85	33513	0.004	6.68
19	24.2.14	8	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	57	18560	0.0026	6.53
19	24.2.14	8	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	78	30385	0.0037	6.6
19	24.2.14	8	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	73	27529	0.0035	6.55
19	24.2.14	8	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	68	24637	0.0031	6.55
19	24.2.14	8	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	63	24992	0.0029	6.54
19	24.2.14	8	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	73	28465	0.0033	6.64
19	24.2.14	8	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	73	24719	0.0029	6.52
19	24.2.14	8	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	73	26965	0.0032	6.57

**Primerjava rasti med kvarčnimi in navadnimi kristalizirkami glede na pomanjkanje kalcija v gojišču okoliških rastlin (stresni dejavnik)**

20	10.3.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	4952		5.4
20	10.3.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	5243		5.4
20	10.3.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	5269		5.4
20	10.3.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	5195		5.4
20	10.3.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	4944		5.4
20	10.3.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	9	4707		5.4
20	10.3.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	4823		5.4

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice rezultatov vseh poskusov

zap. št.	datum	dan	obravnavanje	vrsta stekla kristalizirke	št. členkov	površina (pixel)	suha masa [g]	pH
20	10.3.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	5301		5.4
20	10.3.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	5528		5.4
20	10.3.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	4897		5.4
20	10.3.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	4607		5.4
20	10.3.14	1	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	9	4645		5.4
20	10.3.14	1	okoli vsa hranila	navadno	9	4595		5.4
20	10.3.14	1	okoli vsa hranila	navadno	9	5191		5.4
20	10.3.14	1	okoli vsa hranila	navadno	9	5353		5.4
20	10.3.14	1	okoli vsa hranila	navadno	9	5433		5.4
20	10.3.14	1	okoli vsa hranila	navadno	9	4804		5.4
20	10.3.14	1	okoli vsa hranila	navadno	9	5301		5.4
20	19.3.14	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	122	51645	0.0048	6.52
20	19.3.14	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	119	54735	0.0053	6.54
20	19.3.14	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	132	66232	0.0063	6.65
20	19.3.14	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	120	54889	0.005	6.52
20	19.3.14	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	132	65514	0.0064	6.56
20	19.3.14	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	kvarčno	124	61813	0.0061	6.79
20	19.3.14	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	108	52137	0.0047	6.6
20	19.3.14	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	132	64964	0.0063	6.79
20	19.3.14	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	122	62642	0.0061	6.61
20	19.3.14	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	120	61565	0.0062	6.46
20	19.3.14	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	122	58630	0.0061	6.69
20	19.3.14	10	okoli brez Ca <sup>2+</sup>	navadno	109	51106	0.0049	6.54
20	19.3.14	10	okoli vsa hranila	navadno	107	50476	0.0045	6.5
20	19.3.14	10	okoli vsa hranila	navadno	117	52350	0.005	6.55
20	19.3.14	10	okoli vsa hranila	navadno	127	60728	0.0057	6.9
20	19.3.14	10	okoli vsa hranila	navadno	115	54290	0.0049	6.49
20	19.3.14	10	okoli vsa hranila	navadno	98	47456	0.0043	6.32
20	19.3.14	10	okoli vsa hranila	navadno	129	63847	0.0064	6.52