

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ŠTUDIJ EKOLOGIJE IN BIODIVERZITETE

Janja TURK

**VPLIV RAZLIČNIH OBLIK SELENA IN JODA NA
RAST IN RAZVOJ NAVADNE AJDE**

MAGISTRSKO DELO
Magistrski študij – 2. stopnja

Ljubljana, 2015

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ŠTUDIJ EKOLOGIJE IN BIODIVERZITETE

Janja TURK

**VPLIV RAZLIČNIH OBLIK SELENA IN JODA NA RAST IN RAZVOJ
NAVADNE AJDE**

MAGISTRSKO DELO
Magistrski študij – 2. stopnja

**THE EFFECT OF DIFFERENT SPECIES OF SELENIUM AND IODINE
ON GROWTH AND DEVELOPMENT OF COMMON BUCKWHEAT**

M. SC. THESIS
(Master Study Programmes)

Ljubljana, 2015

Magistrsko delo je zaključek magistrskega študija 2. bolonjske stopnje Ekologija in biodiverziteta na Oddelku za biologijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Delo je bilo opravljeno v prostorih Biotehniške fakultete Oddelka za agronomijo in Katedre za ekologijo in varstvo okolja Oddelka za biologijo ter na poskusnem polju Oddelka za agronomijo.

Senat oddelka za biologijo je na predlog Komisije za študij 1. in 2. stopnje 21. 2. 2014 odobril temo magistrskega dela z naslovom Vpliv različnih oblik selena in joda na rast in razvoj navadne ajde. Za mentorico magistrskega dela je imenoval doc. dr. Matejo Germ in za recenzenta prof. dr. Ivana Krefta.

Komisija za oceno in zagovor:

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

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

Član: akad. prof. dr. Ivan KREFT
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora: 8. 5. 2015

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

Janja TURK

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Du2
- DK 581.5:633.12:546.23(043.2)=163.6
- KG navadna ajda/ *F. esculentum*/ selen/ jod
- AV TURK, Janja, diplomirana biologinja (UN)
- SA GERM, Mateja (mentorica)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Študij ekologije in biodiverzitete
- LI 2015
- IN VPLIV RAZLIČNIH OBLIK SELENA IN JODA NA RAST IN RAZVOJ NAVADNE AJDE
- TD Magistrsko delo (Univerzitetni študij – 2. stopnja Ekologija in biodiverziteta)
- OP X, 63 str., 25 sl., 10 pril., 71 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI V magistrskem delu smo preučevali vpliv različnih oblik selena (Se) (selenit, selenat s koncentracijo 10 mg Se/L) in joda (I) (jodid, jodat s koncentracijo 1000 mg I/L) ter njihovih kombinacij (selenit+jodid, selenit+jodat, selenat+jodid, selenat+jodat) na izbrane biokemijske in fiziološke lastnosti kalic, odraslih rastlin in semen ter na rast in pridelek navadne ajde. Kalice smo vzgajali v laboratoriju, v kontroliranih razmerah iz semen, ki smo jih posamezno obravnavali s kontrolno raztopino in z različnimi raztopinami Se in I ter njunima kombinacijama. Odrasle rastline smo vzgajali iz neobravnavanih semen na poskusnem polju in jih tik pred cvetenjem foliarno škropili z enakimi raztopinami, kot smo obravnavali semena. Merili smo vsebnost klorofila *a* in *b*, karotenoidov ter antocianov in aktivnost ETS pri kalicah, odraslih rastlinah in semenih. Pri kalicah in odraslih rastlinah smo merili še fotokemično učinkovitost fotosistema II. Ugotovili smo, da so različne oblike Se in I ter njune kombinacije različno vplivale ali pa vpliva posameznih obravnavanj na merjene parametre pri kalicah, odraslih rastlinah in semenih ni bilo. Posamezna obravnavanja niso delovala stresno na rastline.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Du2
- DC 581.5:633.12:546.23(043.2)=163.6
- CX common buckwheat/ *F. esculentum*/ selenium/ iodine
- AU TURK, Janja
- AA GERM, Mateja (supervisor)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Ecology and biodiversity studies
- PY 2015
- TI THE EFFECT OF DIFFERENT SPECIES OF SELENIUM AND IODINE ON GROWTH AND DEVELOPMENT OF COMMON BUCKWHEAT
- DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes – Ecology and Biodiversity)
- NO X, 63 p., 25 fig., 10 ann., 71 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB The effect of different species of selenium (Se) (selenite, selenate in concentration 10 mg Se/L) and iodine (I) (iodide, iodate in concentration 1000 mg I/L) and their combinations (selenite+iodide, selenite+iodate, selenate+iodide, selenate+iodate) on selected biochemical and physiological properties of sprouts, adult plants and seeds of common buckwheat were studied. We also studied the effect of Se and I on growth and yield. Sprouts were grown in laboratory in controlled conditions from seeds, which were treated with a control solution and different solutions of Se and I and their combinations, respectively. Adult plants were grown from non treated seeds on experimental field, which were just before flowering foliarly sprayed with the same solutions as we treated seeds. We measured content of chlorophyll *a* and *b*, carotenoides and antocyanins and ETS activity in sprouts, adult plants and seeds. We also measured photochemical efficiency of photosystem II in sprouts and adult plants. The effects of different forms of selenium and their combinations were different, or there were no effects of different treatments on measured parameters. The used treatments did not unduce stress for plants.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA.....	III
KEY WORDS DOCUMENTATION.....	IV
KAZALO VSEBINE.....	V
KAZALO SLIK	VIII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI.....	X
1 UVOD.....	1
1.1 NAMEN NALOGE	1
1.2 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV.....	3
2.1 SELEN.....	3
2.1.1 Kemijske in biološke lastnosti selena	3
2.1.2 Selen v tleh, vodi in zraku	4
2.1.3 Esencialnost in strupenost selena.....	4
2.1.4 Selen v rastlinah	5
2.1.5 Vpliv selena na ljudi in živali	7
2.2 JOD.....	8
2.2.1 Fizikalne, kemijske in biološke lastnosti joda	8
2.2.2 Jod v okolju.....	9
2.2.3 Jod v rastlinah	10
2.2.4 Jod v ljudeh in živalih	12
2.3 SELEN IN JOD	13
3 MATERIAL IN METODE	14
3.1 IZVEDBA POSKUSA	14
3.2 MERITVE	17
3.2.1 Biokemijske in fiziološke meritve	17
3.2.1.1 Klorofili in karotenoidi	17
3.2.1.2 Antociani.....	18

3.2.1.3	Aktivnost elektronskega transportnega sistema	18
3.2.1.4	Fotokemična učinkovitost	19
3.2.2	Rastna analiza	20
3.3	STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV	21
4	REZULTATI	22
4.1	KALICE AJDE.....	22
4.1.1	Vsebnost barvil.....	22
4.1.1.1	Vsebnost klorofila <i>a</i> na enoto suhe mase.....	22
4.1.1.2	Vsebnost klorofila <i>b</i> na enoto suhe mase.....	23
4.1.1.3	Vsebnost karotenoidov na enoto suhe mase.....	24
4.1.1.4	Vsebnost antocianov na enoto suhe mase	25
4.1.2	Aktivnost elektronskega transportnega sistema (ETS)	26
4.1.3	Fotokemična učinkovitost.....	27
4.1.4	Rastna analiza	28
4.2	ODRASLE RASTLINE AJDE.....	29
4.2.1	Vsebnost barvil.....	29
4.2.1.1	Vsebnost klorofila <i>a</i> na enoto suhe mase.....	29
4.2.1.2	Vsebnost klorofila <i>b</i> na enoto suhe mase.....	30
4.2.1.3	Vsebnost karotenoidov na enoto suhe mase.....	31
4.2.1.4	Vsebnost antocianov na enoto suhe mase	32
4.2.2	Aktivnost elektronskega transportnega sistema (ETS)	33
4.2.3	Fotokemična učinkovitost.....	34
4.2.3.1	Potencialna fotokemična učinkovitost fotosistema II	34
4.2.3.2	Dejanska fotokemična učinkovitost fotosistema II	35
4.2.4	Rastna analiza	36
4.3	SEMENA AJDE.....	38
4.3.1	Vsebnost barvil.....	38

4.3.1.1	Vsebnost klorofila <i>a</i> na enoto suhe mase	38
4.3.1.2	Vsebnost klorofila <i>b</i> na enoto suhe mase	39
4.3.1.3	Vsebnost karotenoidov na enoto suhe mase.....	40
4.3.1.4	Vsebnost antocianov na enoto suhe mase	41
4.3.2	Aktivnost elektronskega transportnega sistema (ETS)	42
4.3.3	Suha masa semen	43
5	RAZPRAVA	44
5.1	VSEBNOSTI BARVIL	44
5.2	AKTIVNOST ELEKTRONSKEGA TRANSPORTNEGA SISTEMA	46
5.3	FOTOKEMIČNA UČINKOVITOST FOTOSISTEMA II	47
5.4	RASTNA ANALIZA IN MASA SEMEN	48
5.5	NAJPOMEMBNEJŠI IZSLEDKI	50
6	SKLEPI	52
7	POVZETEK	54
8	VIRI.....	56

ZAHVALA

PRILOGE

KAZALO SLIK

Slika 1: Kalice navadne ajde, katerih semena so bila obravnavana z jodidom. Kalice so stare 16 dni.....	15
Slika 2: Poskusno polje z navadno ajdo.	16
Slika 3: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost klorofila <i>a</i> na enoto suhe mase pri kalicah ajde.	22
Slika 4: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost klorofila <i>b</i> na enoto suhe mase pri kalicah ajde.	23
Slika 5: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost karotenoidov na enoto suhe mase pri kalicah ajde.	24
Slika 6: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost antocianov na enoto suhe mase pri kalicah ajde.	25
Slika 7: Vpliv različnih oblik Se in I na aktivnost ETS pri kalicah ajde.....	26
Slika 8: Vpliv različnih oblik Se in I na potencialno fotokemično učinkovitost pri kalicah ajde.	27
Slika 9: Vpliv različnih oblik Se in I na maso ene kalice.	28
Slika 10: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost korofila <i>a</i> na enoto suhe mase pri odraslih rastlinah ajde.	29
Slika 11: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost korofila <i>b</i> na enoto suhe mase pri odraslih rastlinah ajde.	30
Slika 12: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost karotenoidov na enoto suhe mase pri odraslih rastlinah ajde.....	31
Slika 13: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost antocianov na enoto suhe mase pri odraslih rastlinah ajde.	32
Slika 14: Vpliv različnih oblik Se in I na aktivnost ETS pri odraslih rastlinah ajde.	33
Slika 15: Vpliv različnih oblik Se in I na potencialno fotokemično učinkovitost pri odraslih rastlinah ajde.	34
Slika 16: Vpliv različnih oblik Se in I na dejansko fotokemično učinkovitost pri odraslih rastlinah ajde.	35

Slika 17: Vpliv različnih oblik Se in I na višino nadzemnega dela odraslih rastlinah ajde.	36
Slika 18: Vpliv različnih oblik Se in I na suho maso nadzemnega dela odraslih rastlinah ajde.	36
Slika 19: Vpliv različnih oblik Se in I na suho maso korenin odraslih rastlinah ajde.	37
Slika 20: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost klorofila <i>a</i> na enoto suhe mase pri semenih ajde.	38
Slika 21: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost klorofila <i>b</i> na enoto suhe mase pri semenih ajde.	39
Slika 22: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost karotenoidov na enoto suhe mase pri semenih ajde.	40
Slika 23: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost antocianov na enoto suhe mase pri semenih ajde.	41
Slika 24: Vpliv različnih oblik Se in I na aktivnost ETS na enoto suhe mase pri semenih ajde.	42
Slika 25: Vpliv različnih oblik Se in I na suho maso semen ajde.	43

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

ant	antociani
CH ₃ I	metil jodid
DMSe	dimetil selenid
DMDSe	dimetil diselenid
ETS	elektronski transportni sistem
F _m	maksimalna fluorescenca klorofila <i>a</i> v FS II temotno adaptiranega lista
F _{ms}	maksimalna fluorescenca osvetljenega vzorca
FS	fotosistem
F _s	minimalna fluorescenca osvetljenega vzorca
F _v	variabilna fluorescenca temotno adaptiranega lista
GSH-Px	glutation peroksidaza
HCl	klorovodikova kislina
HI	vodikov jodid
I	jod
I ₂	elementarni jod
I ⁻	jodid
IO ₃ ⁻	jodat
KI	kalijev jodid
KIO ₃	kalijev jodat
kl <i>a</i> , kl <i>b</i>	klorofil <i>a</i> , klorofil <i>b</i>
MSeC	metilselenocistein
Na ₂ SeO ₃	natrijev selenit
Na ₂ SeO ₄	natrijev elenat
SE	standardna napaka
Se	selen
Se ²⁻	selenid
SeO ₃ ²⁻	selenit
SeO ₄ ²⁻	selenat
SeCys	selenocistein
SeMet	selenometionin
SSe ₂ O ₃ ²⁻	tioselenat

1 UVOD

Jod (I) in selen (Se) sta esencialna elementa za ljudi in živali, potrebna za normalno delovanje ščitnice. Njuna esencialnost za rastline še ni bila dokazana. Vpliv Se in I na rastline je le delno znan, skorajda pa ni podatkov o možni interakciji med obema elementoma. Ugotovljeno je bilo, da oba elementa pozitivno vplivata na rastline v zmernih koncentracijah, medtem ko lahko visoke koncentracije obeh elementov delujejo strupeno. Se lahko v zmernih koncentracijah poveča strpnost rastlin na UV stres, upočasnjuje procese staranja, pospešuje rast rastlin (Germ in Stibilj, 2007) in uravnava vodni status rastlin v obdobju suše (Kuznetsov in sod., 2003). Vpliv I na rastline je poleg koncentracije odvisen tudi od njegove kemijske oblike in sicer naj bi rastline prenesle višje koncentracije jodata (IO_3^-) kot jodida (I) (Pauwels, 1961).

Slovenija velja za državo s pomanjkanjem I, zato se je leta 1999 povečalo jodiranje soli s KI (kalijev jodid). Vendar priporočeno postopno manjšanje odstotka soli v hrani manjša ta prehranski vir I. Za njegovim pomanjkanjem naj bi trpelo kar 30 % svetovne populacije (Blasco in sod., 2011a, 2011b). Znano je tudi, da je v Sloveniji v tleh malo Se, zato ga je v rastlinah manj, kot bi bilo potrebno za zagotovitev priporočene vrednosti v hrani rastlinskega izvora. Povprečno 2/3 celotne človeške populacije na svetu trpi zaradi bolezni in zdravstvenih težav, ki so povezane z nezadostnim vnosom Se in I s hrano v telo. Glavni razlog za takšno stanje je v večini nizka vsebnost mobilnih oblik I in Se v tleh. Z biofortifikacijo užitnih rastlin s Se in I bi lahko povečali njun prenos v prehransko verigo (Smoleń in sod., 2014).

1.1 NAMEN NALOGE

Namen magistrske naloge je ugotoviti ali različne oblike Se (selenit (SeO_3^{2-}), selenat (SeO_4^{2-})) in I (I, IO_3^-) posamezno ali v interakciji vplivajo na izbrane fiziološke in biokemijske lastnosti kalic, odraslih rastlin in semen ter na rast kalic in odraslih rastlin navadne ajde (*Fagopyrum esculentum*). Želimo ugotoviti tudi vpliv različnih oblik Se in I ter njihovih kombinacij na pridelek.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

Postavili smo naslednji hipotezi:

- različne kemijske oblike Se in I ter njune kombinacije bodo različno vplivale na izbrane biokemijske in fiziološke lastnosti ter na rast kalic in odraslih rastlin navadne ajde;
- različne kemijske oblike Se in I ter njune kombinacije bodo različno vplivale na izbrane biokemijske in fiziološke lastnosti semen ter na pridelek navadne ajde.

2 PREGLED OBJAV

2.1 SELEN

2.1.1 Kemijske in biološke lastnosti selena

Se se nahaja v šesti skupini periodnega sistema med žveplom (S) in telurjem (Te). Spada med metaloide, ker ima lastnosti kovin in nekovin (Kopsell in Kopsell, 2001). Nekatere njegove kemijske lastnosti (atomska masa, ionizacijski potencial, vezavna energija, elektronegativnost) so podobne kot pri S (Tinggi, 2003). Naravne Se spojine so analogi in derivati naravnih S spojin in pri asimilaciji anorganskih Se spojin sodelujejo isti encimi kot pri asimilaciji anorganskih S spojin, tako da Se in S med seboj tekmujeta za vstop v celico (Läuchli, 1993; Terry in sod., 2000).

Se nastopa v organskih in anorganskih spojinah v različnih oksidacijskih stanjih: - 2 (Se^{2-} , selenid), 0 (elementarni Se), +2 ($\text{SSe}_2\text{O}_3^{2-}$, tioselenat), + 4 (SeO_3^{2-}), + 6 (SeO_4^{2-}). Oblika Se je odvisna od redoks razmer in pH. Tako je selenat prevladujoča oblika Se v aerobnih, nevtralnih do alkalnih okoljih, selenid in elementarni Se pa prevladujeta v anaerobnih okoljih (Läuchli, 1993). V naravi je Se vezan v obliki hlapnih (dimetil selenid (DMSe), dimetil diselenid (DMDSe)) in nehlapnih organskih spojin (selenometionin (SeMet), selenocistein (SeCys) idr.) (Terry in sod., 2000; Žnidarčič, 2011).

Se je bil spoznan za esencialno sestavino številnih selenoproteinov, med katerimi so najpomembnejši antioksidanti, glutation peroksidaze (GSH-Px), ki varujejo DNK ter druge celične komponente pred poškodbami s kisikovimi radikali (Patrick, 2004). Biokemični in fiziološki učinek Se je odvisen od njegove oblike in koncentracije v organizmu. Najmanj biorazpoložljiv je elementarni Se, medtem ko SeMet in SeO_3^{2-} veljata za biološko aktivni obliki Se. SeO_4^{2-} ima nižjo biološko aktivnost in sposobnost absorpcije v primerjavi s SeO_3^{2-} . Pomembna je prisotnost Se v obliki -SeH v različnih selenoencimih, saj le-ti pozitivno učinkujejo na človekov imunski in kardiovaskularni sistem (Sutorović in sod., 2005).

Se ima tri ravni biološke aktivnosti (Germ in sod., 2007b):

- 1) koncentracija v sledovih, ki je potrebna za normalno rast in razvoj;
- 2) zmerna koncentracija zagotavlja homeostazo;
- 3) povišana koncentracija lahko povzroči strupene učinke.

2.1.2 Selen v tleh, vodi in zraku

Se je element v sledovih, ki je široko razširjen po zemeljski obli in na razpolago rastlinam vsaj v majhnih količinah. Veliko ga je prisotnega v sulfidnih mineralih (Kabata-Pendias in Pendias, 2001). Porazdelitev Se v tleh je zelo neenakomerna in odvisna od narave in izvora tal, klimatskih razmer in posegov človeka v okolje (Germ in sod., 2007b; Žnidarčič, 2011). V tleh se nahaja v anorganski obliki kot SeO_3^{2-} oz. SeO_4^{2-} in tudi v organskih oblikah. SeO_4^{2-} ni adsorbiran na delce tal in se zlahka izluži, medtem ko se SeO_3^{2-} hitro adsorbira in ni občutljiv na luženje ter tako predstavlja dolgo trajajoč vir Se za rastline (Nowak in sod., 2004). V centralni Evropi znaša koncentracija Se v tleh manj kot 1,0 mg Se/kg, na Finskem 0,04 – 0,07 mg Se/kg in na Norveškem cca 0,25 mg Se/kg (Germ in sod., 2007b).

Se je v površinskih vodah malo. V pitni vodi se Se nahaja običajno v koncentraciji pod 1 $\mu\text{g/L}$, medtem ko je koncentracija Se v morski vodi še 10-krat manjša (Reilly, 2006). V atmosferi se nahaja predvsem kot elementarni Se, vezan na prašne delce, ter je lahko naravnega ali antropogenega izvora (sežig fosilnih goriv). Koncentracija Se v atmosferi znaša le nekaj ng/m^3 (Barceloux, 1999).

2.1.3 Esencialnost in strupenost selena

Se je esencialen mikroelement za ljudi, živali in mikroorganizme, ker deluje kot antioksidant (Tinggi, 2003). Za rastline pa njegova esencialnost še ni bila dokazana. Kljub temu ima Se določeno biološko vlogo, saj imajo vsi organizmi, vključno z višjimi rastlinami, prisoten Se-cisteil-tRNA, ki dekodira triplet nukleotidov UGA, s katerim se SeCys vgrajuje v proteine (Brown and Shrift, 1981; Läuchli, 1993).

Se ima med vsemi elementi najožji rang strupenosti, saj je le ta samo 5-10x višji od njegove esencialne koncentracije (Fordyce, 2013). V sledovih je potreben za normalno rast in razvoj, povišane koncentracije pa lahko povzročijo strupene učinke in zastrupitev pri ljudeh in živalih, ker lahko deluje kot prooksidant (Hartikainen in sod., 2000; Nowak in sod., 2004) ter zaradi vključevanja Se na vezavno mesto S v aminokislinah, kar povzroči spremembe v 3D strukturi proteinov in moti delovanje encimov (Läuchli, 1993; Terry in sod., 2000; Amweg in sod., 2003). Slednji mehanizem prav tako povzroča strupenost pri visoki akumulaciji Se v rastlinskih tkivih (Germ in Stibilj, 2007).

2.1.4 Selen v rastlinah

Esencialnost Se za višje rastline se še raziskuje. Znano je, da je v visokih koncentracijah za rastline škodljiv, pri nizkih koncentracijah pa ima pozitivne učinke in sicer lahko poveča strpnost rastlin na UV stres, upočasni staranje, pospešuje rast rastlin (Hartikainen in sod., 2000; Xue in sod., 2001) ter ima sposobnost uravnavanja vodnega statusa rastlin v obdobju suše tako, da poveča kapaciteto privzema vode v koreninskem sistemu (Kuznetsov in sod., 2003). Proces staranja se delno upočasni zaradi povečane antioksidacije, ki je posledica povečane aktivnosti GSH-Px (Hartikainen in sod., 2000).

Rastline Se privzamejo iz tal v obliki SeO_3^{2-} oz. SeO_4^{2-} in v manjšem obsegu v organski obliki ter ga lahko kopičijo v svojih tkivih (Ellis in Salt, 2003; Germ in sod., 2007b). V rastlinah se lahko nahaja v obliki elementarnega Se, SeO_3^{2-} , SeO_4^{2-} ali v organski obliki (Nowak in sod., 2004). Rastline privzemajo SeO_4^{2-} prednostno (Läuchli, 1993). Le-ta tekmuje z S za privzem, ker se oba aniona transportirata s pomočjo sulfatnega prenašalca skozi celično membrano korenin (Terry in sod., 2000). SeO_3^{2-} se naj bi transportiral s fosfatnimi prenašalci ali pa vstopa pasivno v rastlinske celice (Hawrylak-Nowak, 2013). Rastline privzamejo organske oblike Se, kot je SeMet, z aktivnim transportom in lahko absorbirajo Se tudi v plinasti obliki skozi površino lista, vendar v manjšem obsegu kot ga privzemajo iz tal (Terry in sod., 2000).

Na zmožnost privzema Se vplivajo: kemijska oblika in koncentracija Se, dejavniki tal kot so pH, slanost in vsebnost CaCO_3 , istovetnost in koncentracija ionov, s katerimi tekmuje Se za privzem in sposobnost rastline za privzem in metabolizem Se (Kopsell in Kopsell, 2007).

Prenos Se iz korenin v nadzemni del rastline je odvisna od oblike Se. Rastline raje privzemajo SeO_4^{2-} , ki se veliko lažje prenese iz korenin in nalaga v poganjkih kot SeO_3^{2-} ali organski Se. Razlog, da se tako malo SeO_3^{2-} transportira v nadzemni del rastline je verjetno ta, da se hitro pretvori v organske oblike Se, ki se zadržujejo v koreninah (Terry in sod., 2000). Po privzemu skozi korenine se Se lahko nalaga v koreninah zaradi intenzivne biosinteze fitohelatinov – proteinov, odgovornih za detoksifikacijo težkih kovin in metaloidov, vključujoč Se (Smoleń in sod., 2014).

Razporeditev in kopičenje Se v različnih delih rastline je odvisno od rastlinske vrste, njene faze razvoja in fiziološkega stanja, od oblike in koncentracije Se, ki se nahaja v koreninah ter od narave in koncentracije drugih snovi, zlasti sulfatov, ki s Se tekmujejo za privzem (Terry in sod., 2000). Aktivno rastoča tkiva običajno vsebujejo večje količine Se. Prav tako večje količine Se rastline običajno nalagajo v poganjkih in listih kot pa v koreninah (Smrkolj in sod., 2006; Kopsell in Kopsell, 2007; Germ in sod., 2007b). Semena so običajno zmerni viri Se, vendar so pri številnih raziskavah, ki so preučevale semena žit in stročnic, ugotovili, da so tudi semena sposobna kopičiti večje količine Se (Germ in Stibilj, 2007).

Rastlinske vrste in sorte imajo različno sposobnost absorpcije Se iz tal in njegovega kopičenja v tkivih. Na podlagi teh sposobnosti ločimo (Ellis in Salt, 2003; Terry in sod. 2010):

- Se neakumulirajoče rastline, ki vsebujejo manj kot 25 mg Se/kg suhe snovi in je Se prisoten pretežno v obliki aminokislina SeMet (v tej skupini je večina rastlin);
- Se akumulirajoče ali ti. primarne indikatorske rastline, ki rastejo izključno na tleh, bogatih s Se in lahko absorbirajo tudi do 4000 mg Se/kg suhe snovi (nekatero vrste iz rodov *Astragalus*, *Stanleya*, *Morinda*, *Neptunia*, *Oonopsis*, *Xylorhiza*). V njih je Se prisoten večinoma v obliki prostih aminokislina, kot so metilselenocistein, selenocistationin, lahko pa tudi selenocistin in selenohomocistein.
- Se sekundarno akumulirajoče ali indikatorske rastline, ki dobro uspevajo na tleh, bogatih s Se, rastejo pa tudi, če je Se manj in akumulirajo do 1000 mg Se/kg suhe snovi (rastline iz rodu *Aster*, *Atriplex*, *Castilleja*, *Comandra*, *Grayia*, *Grindelia*, *Gutierrezia*, *Machaeranthera* in hitro rastoči vrsti indijska ogrščica (*Brassica juncea*) ter navadna ogrščica (*Brassica napus*)).

Rastline so sposobne kopičenja visokih koncentracij Se iz območij, ki so s Se onesnažena, kar se uporablja v fitoremediacijske namene (Kopsell in Kopsell, 2007). Večina žit in krmnih rastlin vsebuje manj kot 25 mg Se/kg na suho maso in niso zmožne kopičiti več kot 100 mg Se/kg suhe mase, čeprav rastejo na tleh, bogatih s Se (Terry in sod., 2000). Če rastejo na tleh, ki niso bogata s Se, običajno vsebujejo le 0,01 – 1,0 mg Se/kg suhe mase (Läuchli, 1993; Terry in sod., 2000).

Rastline, ki so izpostavljene povečanim koncentracijam Se, imajo lahko fiziološke motnje, ki se kažejo kot venenje, sušenje in bledenje listov, zmanjšana sinteza proteinov (Terry in sod., 2000; Kopsell in Kopsell, 2007), črne pike na listih, pri velikih koncentracijah pa se lahko pokažejo tudi rdečkaste pike na koreninah (Kopsell in Kopsell, 2007). Poleg teh motenj se strupene koncentracije Se kažejo predvsem v slabši rasti in razvoju ter predčasnem odmiranju rastlin. Starost rastlin in prisotnost sulfatnih ionov vplivajo na raven Se, ki je strupena za rastline. Pri neakumulirajočih rastlinah, pšenici in koruzi, so bile mlajše rastline bolj občutljive na višje koncentracije Se in zaviranje rasti je bilo večje kot pri starejših rastlinah. Mejne koncentracije Se so pri neakumulirajočih rastlinah odvisne tudi od oblike Se, ki ga rastlina kopiči (Terry in sod., 2000). SeO_4^{2-} in SeO_3^{2-} sta najpogostejši strupeni obliki Se za rastline, saj ju te hitro absorbirajo in pretvorijo v organske Se spojine (Brown and Shrift, 1981). Se lahko povzroči kloroze verjetno zaradi negativnega vpliva na proizvodnjo porfobilinogen sintaze, encima, ki je potreben za biosintezo klorofila. Poleg tega SeO_4^{2-} in SeO_3^{2-} motita *in vivo* redukcijo nitrata v listih. Pri poskusu na špinači so ugotovili, da SeO_4^{2-} lahko ovira proizvodnjo glutationa (Terry in sod., 2000). Rastline se pred visokimi koncentracijami Se branijo z ohranjanjem koncentracije SeCys in SeMet v celicah, s povečanjem tvorbe nebeljakovinskih seleno aminokislin, z izključitvijo SeCys iz beljakovin, z akumulacijo SeO_4^{2-} v vakuoli (Läuchli, 1993; Terry in sod., 2000) ali s pretvorbo Se v hlapne spojine, med katerimi prevladuje DMSe (Terry in sod., 2000; Žnidarčič, 2011).

2.1.5 Vpliv selena na ljudi in živali

Se ima preventivno vlogo pri razvoju arterioskleroze, specifičnih vrst raka, artritisa in spremembah imunskega sistema. Zato je na območjih z višjo koncentracijo Se v tleh umrljivost zaradi raka in srčnih obolenj manjša (Shamberger, 1981). Učinkovitost Se proti

različnim obolenjem je odvisna od njegove kemijske oblike. Najlažje se asimilira v obliki SeMet (Patrick, 2004). Ena najbolj učinkovitih Se spojin, ki zavirajo nastanek raka, je metilselenocistein (MSeC), ki so ga našli v nekaterih vrstah iz nekaterih rodov križnic (*Brassica*) in lukovk (*Allium*), ter vrstah iz rodu *Astragalus* (Ellis in Salt, 2003). Poleg tega je Se pomemben za normalno delovanje ščitnice kot sestavni del družine encimov jodotironin dejodinaz, ki sodelujejo pri aktivaciji ali deaktivaciji ščitničnih hormonov (Patrick, 2004; Smoleń in sod., 2014).

Na številnih območjih po svetu vsebnost Se v populacijah ljudi odseva status Se v tleh (Tinggi, 2003). Preskrbljenost ljudi s Se je v večini evropskih držav manjša od priporočljivega dnevnega vnosa Se, zato v zadnjem času narašča zanimanje za rastline s povečano količino naravno prisotnega Se (Žnidarčič, 2011). Gojenje rastlin, obogatenih s Se, tako predstavlja učinkovit način dodajanja Se ljudem in izboljšanju zdravja. Vsebnost Se v rastlinah se lahko poveča na različne načine; z dodajanjem Se v prst, namakanjem semen v raztopini Se pred setvijo, hidroponičnim in aeroponičnim gnojenjem v hranljivi raztopini, ki vsebuje Se in s foliarnim škropljenjem rastlin z raztopino Se (Germ in Stibilj, 2007; Germ in sod., 2007b).

2.2 JOD

2.2.1 Fizikalne, kemijske in biološke lastnosti joda

I se nahaja v sedmi skupini periodnega sistema. Elemente te skupine imenujemo halogeni in so nekovine. I ima atomsko število 53 in je najmanj reaktiven halogen. V elementarnem stanju je dvoatomna molekula (I_2). I je v vodi zelo slabo topen. Pri sobni temperaturi je modro črna, bleščeča se trdna snov, ki pri segrevanju sublimira v vijoličen plin z dražljivim vonjem (Brenčič in Lazarini, 1995).

Znanstveniki predpostavljajo, da ima I antioksidativno funkcijo v jodid-koncentrirajočih celicah pri vseh živih bitjih (od primitivnih morskih alg do sesalcev). V teh celicah deluje I kot oddajnik elektronov v prisotnosti H_2O_2 in peroksida, preostanek joda pa brez težav jodira tiroksin in histidin ali katere druge specifične lipide ter na ta način nevtralizira svojo lastno

oksidacijsko kapaciteto. Slednja hipoteza je bila tudi eksperimentalno potrjena pri nekaterih algah (Ilin in Nersesyan, 2013).

2.2.2 Jod v okolju

I je prisoten v morski vodi, biosferi, atmosferi in tudi v mineralih, ki vsebujejo žveplo. Kemijska oblika I je zelo nestabilna. V litosferi se nahaja izključno v sledovih in s preperevanjem matične kamnine prehaja v tla. Koncentracija I v tleh je različna na različnih območjih in se giblje od <0,1 do 150 mg/kg (Fuge, 2005). Vsebnost in obnašanje I v tleh je odvisno od količine I v atmosferi in sestave tal. I je lahko v tleh močno adsorbiran na različne komponente tal, zato se ga zelo malo nahaja v vodotopni obliki. Z I so zelo bogati organski sedimenti in sicer je organska snov tista, ki vpliva na zadrževanje I v tleh poleg železovih in aluminijevih oksidov (Whitehead, 1984; Fuge, 2005), pH-ja, Eh-ja, teksture tal ter vsebnosti glin v tleh (Zia in sod., 2014). V tleh se I nahaja v anorganskih oblikah in sicer kot IO_3^- , I^- oz. I_2 . Pri tipični pH in Eh vrednosti v tleh prevladuje I^- , medtem ko je IO_3^- prisoten v bolj oksidirajočih razmerah (Mackowiak in sod., 2005). Iz tal se I lahko sprošča v plinasti obliki kot CH_3I (Fuge, 2005).

Morska voda je daleč največji rezervoar I s povprečno koncentracijo 60 μg joda/L. V njej se I nahaja tako v anorganski (I^- , IO_3^-) kot tudi v organski obliki (npr. metil jodid (CH_3I)). Morski organizmi imajo pomembno vlogo pri pretvorbi I v različne kemijske oblike in v končni fazi pri njegovem prenosu iz oceanov in morij v atmosfero. I se sprošča iz oceanov v plinasti obliki in sicer kot CH_3I , elementarni jod (I_2) (Fuge, 2005; Leblanc in sod., 2006) in verjetno še v kakšni drugi neorganski spojini, kot npr. HI (vodikov jodid) (Fuge, 2005).

V atmosferi se I nahaja večinoma v obliki plina, nekaj pa ga je tudi v aerosolih. Na kopno se I iz atmosfere prenese z mokro in s suho depozicijo in posledično so tla, ki so bližje obalnemu območju, bolj bogata z I kot tla v notranjosti celin. Na splošno je I^- najpogostejša oblika I v dežju, druga najpogostejša oblika je IO_3^- , nekaj pa se ga nahaja tudi v organski obliki (Fuge, 2005).

2.2.3 Jod v rastlinah

Mnoge študije so pokazale, da ima I spodbujajoč vpliv na rastline ni pa še dokazano, da bi bil za njih esencialen (Lehr in sod., 1958; Zhu in sod., 2003; Smoleń in sod., 2011; Kato in sod., 2013). Od koncentracije in oblike I je odvisno ali bo imel pozitivne ali negativne učinke (Borst Pauwels, 1961; Lehr in sod., 1958; Blasco in sod., 2011a). Učinek I na rastline je odvisen tudi od vrste rastline (Borst Pauwels, 1961). Pri podobnih koncentracijah je I bolj fitotoksičen kot IO_3^- (Mackowiak in sod., 2005; Kato in sod., 2013). Na splošno naj bi imel IO_3^- bolj ugoden učinek na rast rastlin kot I, še posebej v začetni fazi razvoja. I lahko vzpodbudi nitrifikacijo v tleh in ima tako neposreden učinek na rast rastlin (Borst Pauwels, 1961). Dodatek I lahko vzpodbudi vegetativen razvoj številnih vrst rastlin in poveča donos pridelka. Vendar je potrebno biti pri njegovi uporabi pazljiv, kajti I lahko v celicah oksidira v I_2 , le-ta pa inhibira fotosintezne procese in posledično vpliva na zmanjšanje biomase in produkcijo pridelka (Blasco in sod., 2011a, 2011c). Številne raziskave so pokazale, da nizke koncentracije I (0,02-0,2 mg/kg) v rastnih okoljih, neodvisno od njegove oblike, koristijo številnim vrstam rastlin, še posebej halofitom (Borst Pauwels, 1961; Zhu in sod., 2003; Dai in sod., 2006).

Previsoke koncentracije I se na začetku kažejo v obliki obrobnih kloroz, večinoma pri starejših listih, ki vodijo v nekrozo. Pri mlajših listih se presežek I kaže v obliki temno zelene pigmentacije, v ekstremnih primerih pa lahko pride tudi do smrti cele rastline (Kabata-Pendias in Pendias, 2001; Strzetelski in sod., 2010). Najbolj učinkovit mehanizem detoksifikacije I v rastlinah je njegov prenos v liste, kjer se I metilira in nato v obliki CH_3I izpareva v atmosfero (Smoleń in sod., 2014).

Privzem I iz tal v rastline je odvisen od razpoložljivosti I v tleh. Le-ta pa je v največji meri odvisen od adsorpcijsko-desorpcijskih procesov v tleh (Zia in sod., 2014). Na prenos in kopičenje joda v rastlini vplivata koncentracija in kemijska oblika I v okolju (Blasco in sod., 2012) ter vrsta rastline. Listnata zelenjava ima večjo absorpcijsko kapaciteto kot plodovna zelenjava (Weng in sod., 2013). Rastline I privzamejo skozi koreninski sistem in sicer preferenčno privzemajo I (Fuge, 2005; Smoleń in sod., 2011). Zelo malo se ga prenese iz korenin v nadzemne dele rastline. Privzem I preko korenin predstavlja majhen delež celotne

vsebnosti I v rastlini. Glavno pot privzema I v rastlino naj bi predstavljala absorpcija I iz atmosfere (Fuge, 2005).

Razporeditev I v različnih rastlinskih organih kaže težnjo zmanjševanja koncentracije I od korenin, listov, stebela do plodov (Weng in sod., 2013). Poleg tega je koncentracija I v mlajših listih večja kot v starejših (Zia in sod., 2014). Prenos I iz vegetativnih organov v semena zahteva aktivni floemski transportni sistem za I. Poskus na rastlinah riža je pokazal, da se je I kopičil v koreninah, steblih in listih ter, da je bila koncentracija I v zrnih zelo majhna, kar nakazuje na nizek floemski transport I (Blasco in sod., 2012; Zhu in sod., 2003). Pri listnati zelenjavi je kopičenje I v užitnih delih rastline močno odvisno od ksilemskega transporta. Zato so rastline, katerih užiten del predstavljajo listi, bolj učinkovit medij za biofortifikacijo z I (Zhu in sod., 2004; Blasco in sod., 2012).

Prevladujoča kemijska oblika I v rastlinah naj bi bila Γ (Muramatsu in sod., 1983) in sicer naj bi na splošno organizmi prednostno privzemali Γ (Fuge, 2005). Kato in sod. (2013) so pri poskusu na rižu (*Oryza sativa*), ječmenu in soji ugotovili, da je bil IO_3^- pretvorjen v Γ v prisotnosti korenin. Vendar Blasco in sod. (2011a), ki so delali poskus na vrtni solati (*Lactuca sativa*) poročajo, da imajo visoke koncentracije Γ (80 μM) fitotoksičen vpliv na fiziološke lastnosti rastlin. Rastline, ki so bile obravnavane z IO_3^- , pa so imele povečano biomaso, povišano stopnjo fotosinteze, stomatalno prevodnost in transpiracijo v primerjavi s kontrolnimi rastlinami. Prav tako so Blasco in sod. (2011b) preučevali vpliv I na oksidativni metabolizem pri rastlinah vrtno solate in ugotovili, da IO_3^- ni imel fitotoksičnega vpliva na rastline, ker pri njegovi uporabi ni bilo znaka o lipidni peroksidaciji ali zmanjšanju biomase. Leyva in sod. (2011) tudi potrjujejo, da I dodan v obliki IO_3^- , izboljša antioksidacijski odziv pri rastlinah vrtno solate in ima pozitiven učinek na biomaso rastlin.

Blasco in sod. (2012) so ugotovili, da imajo različne oblike joda različen vpliv na koncentracijo hranil pri vrtni solati. Slednje sta ugotovila tudi Smoleň in Sady (2012) pri poskusu na špinači. Dodatek 80 μM Γ je značilno zmanjšal koncentracijo dušika (N), fosforja (P) in kalija (K) pod optimalno mejo. Medtem ko je dodatek IO_3^- ohranil optimalno raven večine hranil in celo vplival na izboljšanje vsebnosti nekaterih pomembnih hranil, kot sta magnezij (Mg) in železo (Fe) (Blasco in sod., 2012). Smoleň in sod. (2011), ki so prav tako

delali poskus na vrtni solati so ugotovili, da je v primerjavi s kontrolo foliarna uporaba KIO_3^- v koncentraciji 2 kg I ha^{-1} značilno izboljšala kopičenje I v rastlini, hkrati pa je bila znižana raven N. Značilno povišanje absolutne vsebnosti N je bilo opazno pri rastlinah, ki so rastle na tleh, gnojenih z $2,0 \text{ kg I ha}^{-1}$ v obliki KI. V primerjavi s kontrolo sta tako foliarna uporaba I kot tudi gnojenje tal z I, prispevala k višji vsebnosti K, Mg, Ca, Mn in Cd ter hkrati k zmanjšanju ravni P, Cu in Zn v vrtni solati. Ugotovili so tudi, da imajo različne koncentracije, oblike in načini uporabe I različne vplive na vsebnost S, Na, B, Fe, Mo, Al in Pb v rastlinah vrtno solate. Vpliv I na privzem makro- in mikroelementov, težkih kovin ter elementov v sledovih pri rastlinah je odvisen od številnih dejavnikov, med katerimi so najpomembnejši koncentracija, kemijska oblika in uporaba I, tip obdelave in genotipske razlike v sposobnosti rastlin za privzem mineralov iz tal (Smoleń in Sady, 2012).

2.2.4 Jod v ljudeh in živalih

I je esencialen mikroelement za ljudi in živali (Zhu in sod., 2002; Blasco in sod., 2011a, 2011b, 2011c), ki se koncentrira v žlezi ščitnici in je sestavni del ščitničnih hormonov (Fuge, 2005; Kato in sod., 2013) (tiroksina/tetrajodotironina (T4) in tri-jodotironina (T3)), ki pomagajo pri uravnavanju stopnje metabolizma, termoregulacije, rasti in razvoja večine organov, izgradnje proteinov ter pri ohranitvi centralnega živčnega sistema (Hurrel, 1997; Weng in sod., 2013). Na proizvodnjo ščitničnih hormonov pa lahko vpliva tudi pomanjkanje drugih hranil, npr. Se (Hurrel, 1997), ki je sestavni del treh jodotironin dejodinaz (D1, D2, D3) (Hartikainen in sod., 2000; Smoleń in sod., 2014). Pomanjkanje I je povezano s številnimi motnjami kot so golšavost, reproduktivni neuspeh, mentalna zaostalost in poškodbe možganov (Blasco in sod., 2011a, 2011c, 2012). Te motnje so ene izmed pogostejših zdravstvenih problemov pri ljudeh. Ocenjeno je bilo, da okrog 225 milijonov ljudi na svetu, trenutno trpi za pomanjkanjem I oz. golšavostjo. Število ljudi, ki lahko utrpi pomanjkanje I, pa je ocenjeno na 1 bilijon (Zhu in sod., 2002). Glavni vzrok za motnje zaradi pomanjkanje I na številnih območjih je njegova geokemija in biodostopnost v tleh (Fuge, 2005).

Pri ljudeh in živalih 80 % I prvotno izvira iz užitne rastlinske hrane in njegova biodostopnost v takšni hrani lahko doseže 99 %. I, ki ga dobimo s hrano, se lažje uporabi v primerjavi z jodirano soljo ali jodovimi tabletami. Koncentracijo I v hrani bi lahko povečali z uporabo I v

biofortifikacijskih programih (Blasco in sod., 2011a, 2012). K preventivi za nastanek golšavosti pa prispeva tudi koncentracija Se v okolju (Zhu in sod., 2003).

2.3 SELEN IN JOD

I in Se nista esencialni hranili za rastline, sta pa nujno potrebna za normalno delovanje ljudi in živali. Prehrana številnih populacij ljudi po svetu vsebuje nezadostne količine teh dveh elementov. Njun prenos v prehransko verigo bi lahko povečali z biofortifikacijo kmetijskih rastlin s tema elementoma, vendar slabo poznavanje medsebojnega učinkovanja I in Se na rast in metabolizem rastlin omejuje razvoj primerne metode, ki bi to omogočala (Smoleń, 2014).

Raziskovalci poročajo, da Se in I med sabo sodelujeta. Se je prisoten v peroksidazah in jodotironin dejodinazah, katere oksidirajo jodide. Jodotironin dejodinaze pa proizvajajo jodide iz jodotironinov (Ilin in Nersesyan, 2013). Ščitnična-peroksidaza je pomemben encim seleno-glutation, ki uporablja jodid za prenos elektronov do kisika pri H_2O_2 (Venturi in sod., 2000).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 IZVEDBA POSKUSA

Poskusne rastline so predstavljale kalice in odrasle rastline navadne ajde (*Fagopyrum esculentum* Moench). Ajda je dvokaličnica, ki spada v družino dresnovk (*Polygonaceae*). Je enoletnica, ki se razmnožuje s plodovi, ki jim pravimo tudi semena. Ima plitve, žilave korenine in sočno, žilavo, rdečkasto obarvano steblo, ki je kiselkastega okusa. Steblo zraste v skromnih razmerah le 20-30 cm, v hribovitem svetu navadno do 70 cm in v nižinskih predelih v ugodnih razmerah do 120 ali celo do 150 cm. Listi ajde so srčasto puščičasti, tako dolgi kot široki, ali pa nekoliko daljši. Cvetovi so v sestavljenih socvetjih. Semena navadne ajde so triroba, običajno dolga od 4 do 7 mm (Kreft, 1995).

Kalice smo vzgajali v laboratoriju Biotehniške fakultete Oddelka za agronomijo iz semen navadne ajde, sorte Darja, ki so bila namočena v osem različnih raztopin z različnimi koncentracijami in oblikami Se in I ter v kontrolno raztopino, ki jo je predstavljala voda. 800 semen za posamezno obravnavanje smo najprej namočili za 4 ure v posamezno raztopino. Nato smo jih dali posamezno za vsako obravnavanje kaliti na plastični podstavek, na navlaženo papirnato brisačo. Navlaževanje papirnate brisače je potekalo z vodovodno vodo, ki smo jo dodajali enkrat dnevno, ves čas trajanja poskusa. Kontrolno raztopino je predstavljala destilirana voda (dH₂O), ostale raztopine pa so poleg dH₂O vsebovale posamezno dodan SeO₃²⁻ oz. SeO₄²⁻ s koncentracijo 10 mg Se/L, I⁻ oz. IO₃⁻ s koncentracijo 1000 mg I/L in kombinacije Se in I (SeO₃²⁻ + I⁻, SeO₃²⁻ + IO₃⁻, SeO₄²⁻ + I⁻, SeO₄²⁻ + IO₃⁻). Se je bil v dH₂O dodan v obliki natrijevega selenita (Na₂SeO₃) oz. natrijevega selenata (Na₂SeO₄), I pa v obliki natrijevega jodida (NaI) oz. natrijevega jodata (NaIO₃). Raztopine Se in I smo dobili pri prof. dr. Vekoslavi Stibilj z Inštituta Jožef Stefan, Odsek za znanosti o okolju. Semena so bila 7. 3. 2014 namočena v kontrolno raztopino in v raztopine s posamezno dodanim SeO₃²⁻, I⁻, IO₃⁻, SeO₃²⁻ + I⁻, oz. SeO₃²⁻ + IO₃⁻. Po 10 dneh smo opravili laboratorijske analize. 19. 3. 2014 smo kalice pobrali in opravili rastno analizo ter namočili semena v posamezne raztopine s SeO₄²⁻, I⁻, IO₃⁻, SeO₄²⁻ + I⁻, SeO₄²⁻ + IO₃⁻ ter v kontrolno raztopino. 2. 4. 2014 smo začeli z laboratorijskimi analizami na kalicah. Po 2 dneh smo te kalice pobrali in

opravili rastno analizo. Kalice so rastle v rastni komori, pri konstantni temperaturi 22°C, 16-urni osvetlitvi in RZV cca 70-80 %.



Slika 1: Kalice navadne ajde, katerih semena so bila obravnavana z jodidom. Kalice so stare 16 dni. Foto: prof. dr. Nina Kacjan Maršič.

Odrasle rastline smo vzgojili iz neobravnavanih semen navadne ajde, sorte Darja, na poskusnem polju Biotehniške fakultete Oddelka za agronomijo. Semena smo posejali, 14. 7. 2014, na pripravljeno njivo, pokrito s črno polietilensko zastirko. Vanjo smo na 25 cm naredili tri zareze, dolžine cca 50 cm za pripravo setvenih vrstic. V posamezno zarezo smo posejali 20 – 25 semen cca 2 cm globoko in z medsebojnim razmikom cca 2 cm. Te tri vrste so predstavljale posamezno parcelo, na kateri smo odrasle rastline foliarno škropili z enakimi raztopinami Se in I kot smo jih uporabili za namakanje semen pri poskusu s kalicami. Razmik med posameznimi parcelami je bil cca 10 cm. Parcel je bilo 27 (9 obravnavanj X 3 ponovitve). Vsako parcelo smo označili s tablico, na kateri je bila oznaka obravnavanja. Rastline smo foliarno škropili tik pred cvetenjem, 11. 8. 2014.



Slika 2: Poskusno polje z navadno ajdo. Foto: Janja Turk.

V laboratoriju smo na listih kalic in odraslih rastlin merili vsebnost klorofila (kl) *a* in *b*, karotenoidov (kar) in antocianov (ant) ter aktivnost elektronskega transportnega sistema (ETS). Iste meritve smo opravili tudi na semenih ajde. Za posamezno meritev smo vzeli po 4 vzorce iz posameznega obravnavanja. Fotokemično učinkovitost smo pri kalicah merili v laboratoriju na 8 kalicah iz posameznega obravnavanja. Pri odraslih rastlinah smo fotokemično učinkovitost merili na prostem in sicer na 3 rastlinah za posamezno obravnavanje iz 1. in 2. ponovitve ter na 4 rastlinah za posamezno obravnavanje iz 3. ponovitve. Na kalicah, katerih semena so bila obravnavana s Se (IV), Se(VI), Se(IV)+I(-1), Se(IV)+I(V), Se(VI)+I(-1) in s Se(VI)+I(V) smo vse meritve opravili enkrat, na kalicah, katerih semena so bila obravnavana s kontrolno raztopino, I(-1) in z I(V) pa dvakrat, z izjemo merjenja fotokemične učinkovitosti, ki smo jo izmerili enkrat pri vseh obravnavanjih. Na

odraslih rastlinah smo vse meritve opravili dvakrat in sicer 2 tedna po škropljenju in 3 tedne po škropljenju z različnimi raztopinami Se in I.

3.2 MERITVE

3.2.1 Biokemijske in fiziološke meritve

Biokemijske in fiziološke meritve smo izvajali v laboratoriju na Katedri za ekologijo in varstvo okolja. Vzorce rastlin smo nabirali v jutranjem času. Pri kalicah smo analize naredili na kličnem listu, pri odraslih rastlinah pa na prvem vitalnem popolnoma razvitem listu v posameznem obravnavanju. Da so vzorci ostali čim bolj sveži do pričetka laboratorijskih analiz, smo jih dali na brisačo, ki smo jo omočili z destilirano vodo in vse skupaj zavili v alufolijo. Iz kličnih listov oz. pravih listov smo z luknjačem naluknjali več vzorcev znane površine, jih stehali in posušili v sušilniku pri temperaturi 105°C, 24 ur, ostale pa samo stehali in uporabili za merjenje vsebnosti kl *a* in *b*, kar, ant ter merjenje aktivnosti ETS. Na kličnih listih pri kalicah in pravih listih pri odraslih rastlinah smo izmerili še fotokemično učinkovitost FS (fotosistema) II.

3.2.1.1 Klorofili in karotenoidi

Vsebnost kl *a* in *b* ter kar smo določali spektrofotometrično po metodi Lichtenthaler in Buschmann (2001a, 2001b). Rastlinsko tkivo z znano suho maso in površino smo strli v terilnici, ekstrahirali v 5 mL 100 % acetona, prelili v centrifugirke za klorofil in dali centrifugirat na 4000 rpm, pri 4°C, 4 min. Po centrifugiranju smo odčitali prostornine ekstraktov in izmerili ekstinkcije z VIS spektrofotometrom pri valovnih dolžinah 470, 645 in 662 nm. Vsebnosti klorofilov in karotenoidov smo izračunali na suho maso po naslednjih formulah:

$$Kl\ a\ (mg/g\ sm) = c_a * V / sm / 1000 = (11,24 * E_{662} - 2,04 * E_{645}) * V / sm / 1000 \quad \dots (1)$$

$$Kl\ b\ (mg/g\ sm) = c_b * V / sm / 1000 = (20,13 * E_{645} - 4,19 * E_{662}) * V / sm / 1000 \quad \dots (2)$$

$$Kar\ (mg/g\ sm) = (1000 * E_{470} - 1,9 * c_a - 63,14 * c_b) * V / sm / 214 / 1000 \quad \dots (3)$$

c_a, c_b – koncentracija klorofila *a*, oz. klorofila *b* (mg/L)

V – prostornina ekstrakta (mL)

sm – suha masa vzorca (g)

E – ekstinkcija pri določeni valovni dolžini

Vsebnosti barvil smo izračunali tudi na površino vzorca, pri čemer smo suho maso vzorca (sm) zamenjali s površino vzorca (P), ki smo jo izračunali po spodnji formuli.

$$P \text{ (cm}^2\text{)} = \pi * r^2 \quad \dots (4)$$

3.2.1.2 Antociani

Vsebnost ant v vzorcih smo določali po Khareju in Guruprasadu (1993). Vzorce z znano površino in maso smo strli v terilnici in ekstrahirali v 5 mL ekstrakcijskega medija (metanol : HCl (37 %) = 99:1). Nato smo vzorce centrifugirali na 4000 rpm, pri 4°C, 4 min in po končanem centrifugiranju odčitali prostornine ekstraktov ter jih za 24 ur shranili v temo pri 3-5°C. Ekstinkcije smo izmerili pri valovni dolžini 530 nm z VIS spektrofotometrom. Vsebnost antocianov (*Ant*) smo izračunali po spodnji formuli in jo izrazili v relativnih enotah na suho maso in površino vzorca.

$$Ant \text{ (relativna enota)} = E_{530} * V * sm^{-1} ; E_{530} * V * P^{-1} \quad \dots (5)$$

E_{530} – ekstinkcija pri valovni dolžini 530 nm

V – prostornina ekstrakta (mL)

sm – suha masa (g) oz. P – površina vzorca (cm⁻²)

3.2.1.3 Aktivnost elektronskega transportnega sistema

Aktivnost ETS smo merili po metodi, ki jo je razvil Packard (1971) in sta jo modificirala Kenner in Ahmed (1975). Vzorce znane površine in mase smo homogenizirali v terilnici v homogenizacijskem pufru (0,1 M fosfatni pufer, MgSO₄, polivinil pirolidon, Triton-X-100) in jih zlili v plastične epruvete na ledu ter jih 20 s homogenizirali z ultrazvočnim

homogenizatorjem, da smo razbili celične in mitohondrijske membrane. Nato smo vzorce prelili v centrifugirke in jih centrifugirali 4 min na 10000 rpm pri 0°C. Po centrifugiranju smo supernatant vsakega vzorca razdelili na tri podvzorce po 0,5 mL, katerim smo dodali 1,5 mL substratne raztopine (0,1 M fosfatni pufer, NADH, NADPH, Triton-X-100) in 0,5 mL jodo-nitro-tetrazolium klorida (INT). Pripravili smo tudi slepe vzorce, ki so vsebovali 1,5 mL substratne raztopine in 0,5 mL INT. Vzorce smo premešali in jih inkubirali 40 min pri 20°C. Po končani inkubaciji smo vsem vzorcem v digestoriju dodali 0,5 mL stop raztopine (formaldehid (H₃PO₄):fosforna kislina (HCHO) = 1:1) in nato v slepe vzorce dodali še 0,5 mL rastlinskega supernatanta ter vse vzorce premešali. Absorpcijo nastalega formazana smo merili pri 490 nm. Po spodnji formuli smo izračunali aktivnost ETS, izraženo kot količino porabljenega kisika na suho maso v časovni enoti.

$$\text{ETS } (\mu\text{L } (\text{O}_2)/\text{g } (\text{DM})/\text{h}) = + (35,997 * E_{490}) / \text{sm} / 1,42 / 1000 \quad \dots (6)$$

E_{490} – ekstinkcija pri valovni dolžini 490 nm

sm – suha masa vzorca (g)

3.2.1.4 Fotokemična učinkovitost

Fotokemično učinkovitost rastline določimo s pomočjo klorofilne fluorescence kl *a* v FS II. Merili smo jo s pomočjo fluorometra (PAM 2100 Chlorophyll Fluorometer, Heinz Walz GmbH, Nemčija) med 10:00 h in 15:00 h pri okoliški temperaturi. Pri kalicah smo merili samo potencialno fotokemično učinkovitost, ki se meri na zatemnjenih listih, pri odraslih rastlinah pa tudi dejansko fotokemično učinkovitost, ki jo merimo na osvetljenih listih.

Pri kalicah smo pri posameznem obravnavanju izbrali po osem kalic, na katere smo pred merjenjem potencialne fotokemične učinkovitosti pritrdili na klične liste ščipalke za temotno adaptacijo. Po 10-20 minutah adaptacije smo list osvetlili s saturacijskim pulzom bele svetlobe (> 8000 mmol/m²/s, 0,8 s) in na napravi odčitali potencialno fotokemično učinkovitost, ki jo izražamo s parametrom Fv/Fm (Schreiber in sod., 1998).

Pri odraslih rastlinah smo iz prvih dveh parcel izbrali po tri rastline, iz zadnje parcele pa štiri rastline, tako da smo za posamezno obravnavanje opravili deset meritev. Liste smo označili z barvnim trakom, zato da smo potencialno in dejansko fotokemično učinkovitost merili na istih listih. Dejansko fotokemično učinkovitost FS II smo merili pri danih svetlobnih razmerah. Na list smo pritrdili ščipalko, tako da je bil list osvetljen pod kotom 60° in ga osvetlili s saturacijskim pulzom bele svetlobe ($9000 \text{ mmol/m}^2/\text{s}$, 0,8 s) ter na napravi odčitali dejansko fotokemično učinkovitost, ki jo izražamo s parametrom $Y \left(\frac{F_{ms} - F_s}{F_{ms}} \right)$. F_s predstavlja minimalno fluorescenco osvetljenega vzorca, F_{ms} pa maksimalno fluorescenco osvetljenega vzorca (Schreiber in sod., 1998).

3.2.2 Rastna analiza

Kalice iz posameznega obravnavanja smo po končanih laboratorijskih meritvah porezali tik nad koreninskim sistemom, jih prešteli in stehtali njihovo biomaso.

Ob polni zrelosti plodov navadne ajde, smo iz posameznega obravnavanja izpulili po štiri rastline (po eno rastlino iz 1. in 2. ponovitve ter po dve rastlini iz 3. ponovitve), izmerili višino nadzemnega dela, odstranili zemljo s korenin in jih shranili v jutaste vreče, ki so vsebovale listek z napisanim obravnavanjem. Vse ostale rastline iz posameznega obravnavanja smo porezali na višini, kjer so se nahajali prvi plodovi in jih prav tako shranili v jutaste vreče z označenim obravnavanjem na listku. Jutaste vreče s 4 celimi rastlinami in jutaste vreče z ostalimi rastlinami s plodovi iz posameznega obravnavanja, smo dali sušiti v sušilnico na temperaturo 40°C . Po približno 4 dneh je bil rastlinski material suh. Stehtali smo suho maso nadzemnega dela rastline in korenin pri štirih rastlinah iz posameznega obravnavanja ter suho maso semen pri teh štirih rastlin, ki smo jo združili s suho maso semen pri ostalih rastlinah iz posameznega obravnavanja. Da smo dobili samo semena, brez večjih nečistoč (delci listov, stebel), smo pri posameznih celih rastlinah semena pobrali s stebela z roko in jih nato presejali skozi sito, ostale rastline z delom stebela, na katerem so se nahajala semena, pa smo najprej v jutasti vrečki stepili, da so se semena osipala, nato smo odstranili večje rastlinske dele in na fino očistili semena še s pomočjo sita. Semena smo shranili v papirnate vrečke za nadaljnje analize.

3.3 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

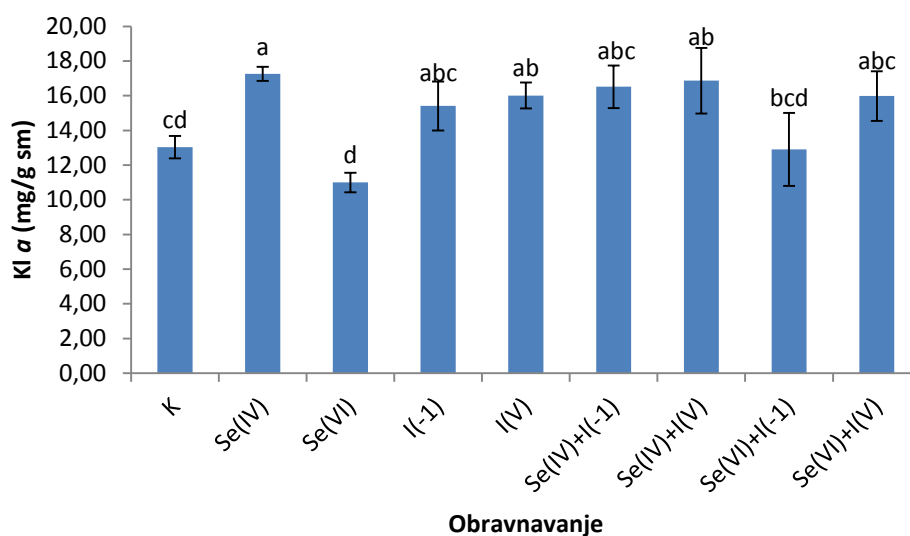
Dobljene rezultate smo uredili v računalniškem programu Microsoft Excel in izračunali povprečne vrednosti posameznih parametrov. Z računalniškim programom Statgraphics Plus 4.0 smo izračunali standardno napako (SE) in ugotavljali ali obstajajo statistično značilne razlike med posameznimi obravnavanji pri posameznem parametru z enosmernim ANOVA testom, 95 % LSD-metoda. Statistično analizo izmerjenih parametrov smo naredili posebej za kalice ajde, odrasle rastline ajde (posebej smo statistično analizirali rezultate znotraj 1. in 2. meritve) in semena ajde.

4 REZULTATI

4.1 KALICE AJDE

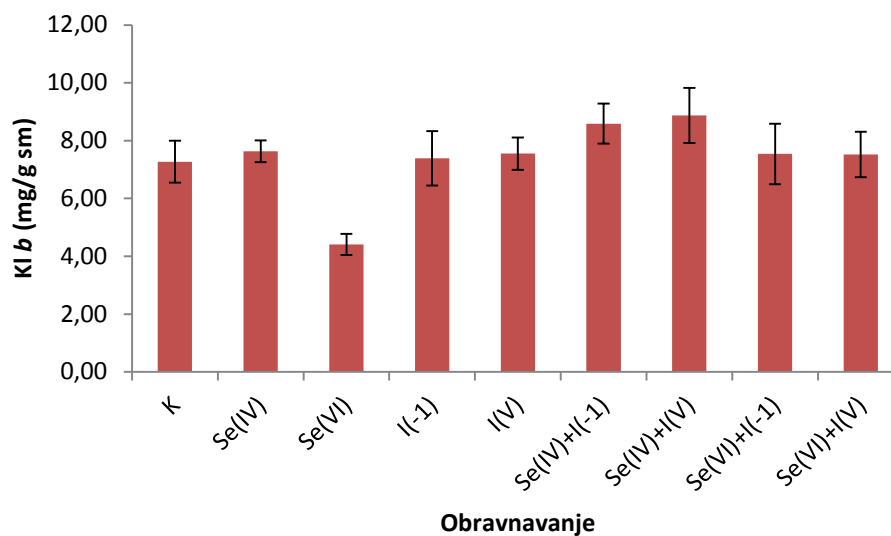
4.1.1 Vsebnost barvil

4.1.1.1 Vsebnost klorofila *a* na enoto suhe mase



Slika 3: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost klorofila *a* na enoto suhe mase pri kalicah ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 4-8$. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji ($P \leq 0,05$).

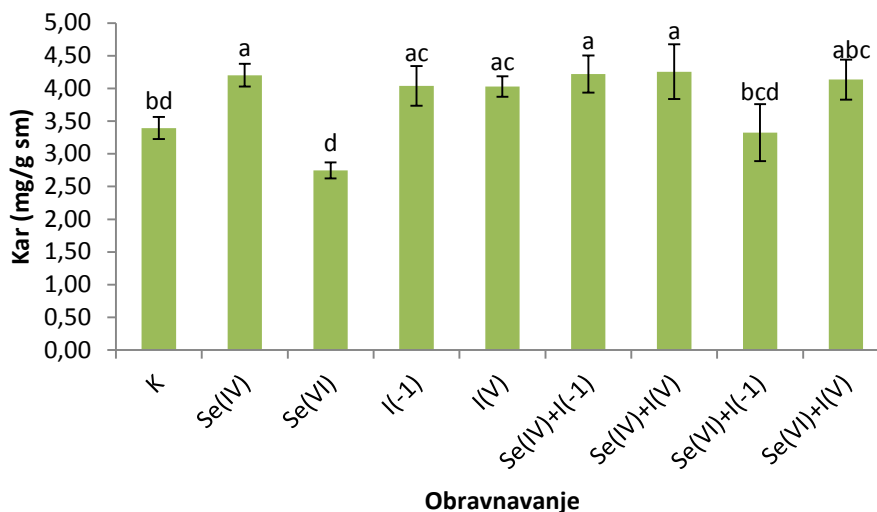
Vsebnost kl *a* pri kontrolnih kalicah je bila nižja in statistično značilno različna od vsebnosti kl *a* pri kalicah, katerih semena so bila obravnavana s Se(IV), I(V) in Se(IV)+I(V). Najvišja koncentracija kl *a* je bila prisotna pri kalicah, katerih semena so bila obravnavana s Se(IV) in se statistično značilno razlikuje od koncentracije kl *a* pri kontrolnih kalicah in kalicah, katerih semena so bila obravnavana s Se(VI) in Se(VI)+I(-1). Najnižja koncentracija kl *a* pa je bila prisotna pri kalicah, katerih semena so bila obravnavana s Se(VI) in se statistično značilno razlikuje od koncentracije kl *a* pri kalicah, katerih semena so bila obravnavana s Se(IV), I(-1), I(V), Se(IV)+I(-1), Se(IV)+I(V) in s Se(VI)+I(V). Rezultati so podobni tudi na površino lista, graf, ki prikazuje vsebnost kl *a* na površino lista je v prilogi A.

4.1.1.2 Vsebnost klorofila *b* na enoto suhe mase

Slika 4: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost klorofila *b* na enoto suhe mase pri kalicah ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 4-8$. Stolpci niso označeni s črkami, ker med posameznimi obravnavanji ni statistično značilnih razlik ($P > 0,05$).

Vsebnosti kl *b* na enoto suhe mase se med posameznimi obravnavanji statistično značilno ne razlikujejo. Koncentracija kl *b* pada glede na način obravnavanja po naslednjem vrstnem redu: Se(IV)+I(V), Se(IV)+I(-1), Se(IV), I(V), Se(VI)+I(-1), Se(VI)+I(V), I(-1), K in Se(VI). Rezultati so podobni tudi na površino lista, graf, ki prikazuje vsebnost kl *b* na površino lista je v prilogi B.

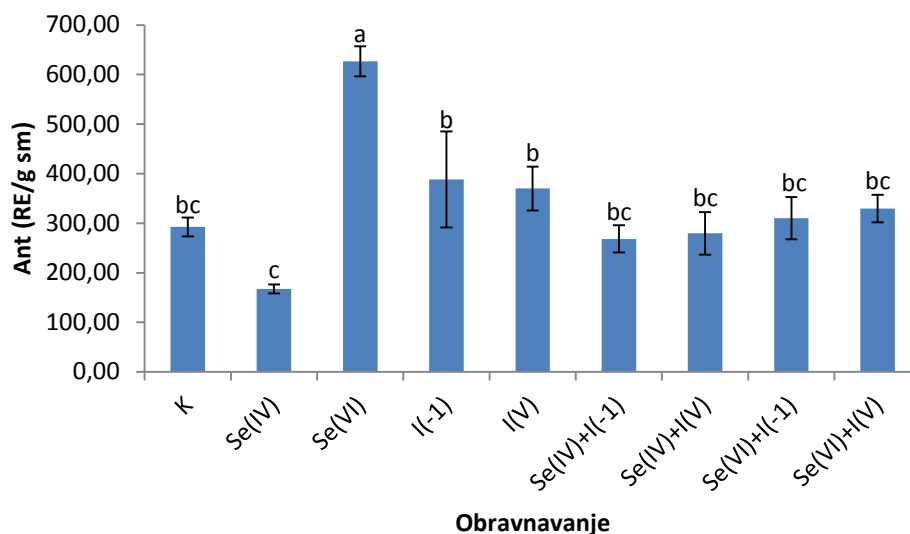
4.1.1.3 Vsebnost karotenoidov na enoto suhe mase



Slika 5: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost karotenoidov na enoto suhe mase pri kalicah ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 4-8$. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji ($P \leq 0,05$).

Vsebnost karotenoidov pri kontrolnih kalicah se statistično značilno razlikuje od vsebnosti karotenoidov pri kalicah, katerih semena so bila obravnavana s Se(IV), I(-1), I(V), Se(IV)+I(-1) in s Se(IV)+I(V). Najnižja koncentracija karotenoidov je bila prisotna pri kalicah, katerih semena so bila obravnavana s Se(VI) in se statistično značilno razlikuje od koncentracije karotenoidov pri kalicah, katerih semena so bila obravnavana s Se(IV), I(-1), I(V), Se(IV)+I(-1), Se(IV)+I(V) in s Se(VI)+I(V). Najvišja koncentracija karotenoidov je bila prisotna pri Se(IV)+I(V) in se statistično značilno razlikuje od koncentracije karotenoidov pri kontrolnih kalicah in kalicah, katerih semena so bila obravnavana s Se(VI) in Se(VI)+I(-1). Rezultati so podobni tudi na površino lista, graf, ki prikazuje vsebnost karotenoidov na površino lista je v prilogi C.

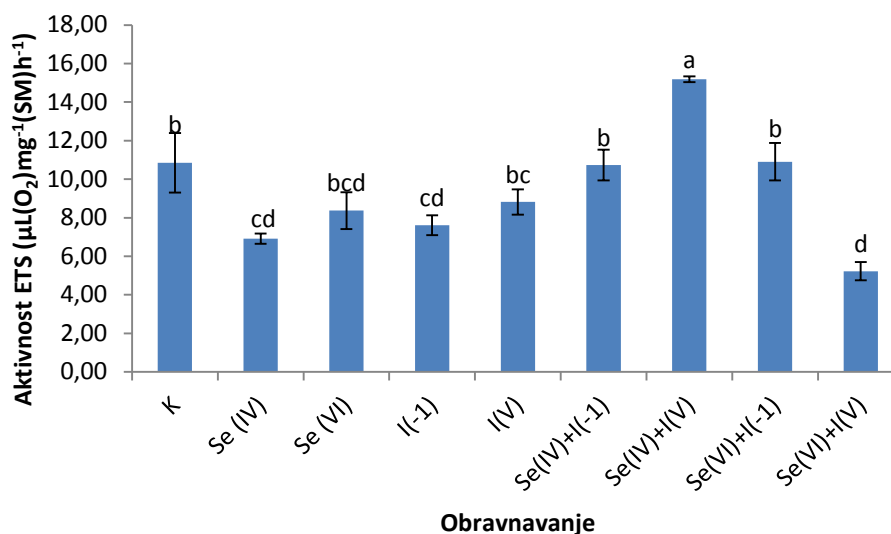
4.1.1.4 Vsebnost antocianov na enoto suhe mase



Slika 6: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost antocianov na enoto suhe mase pri kalichah ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 4-8$. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji ($P \leq 0,05$).

Vsebnost antocianov pri kontrolnih kalichah se statistično značilno razlikuje le od vsebnosti antocianov pri kalichah, katerih semena so bila obravnavana s Se(VI). Pri slednjem obravnavanju je bila izmerjena najvišja koncentracija antocianov pri kalichah, ki je statistično značilno različna od koncentracije antocianov pri kalichah, katerih semena so bila obravnavana z ostalimi posameznimi obravnavanji in kontrolo. Najnižja koncentracija antocianov je bila prisotna pri kalichah, katerih semena so bila obravnavana s Se(IV) in se statistično značilno razlikuje od koncentracije antocianov pri kalichah, katerih semena so bila obravnavana s Se(VI), I(-1) in z I(V). Rezultati so enaki tudi na površino lista, graf, ki prikazuje vsebnost antocianov na površino lista je v prilogi D.

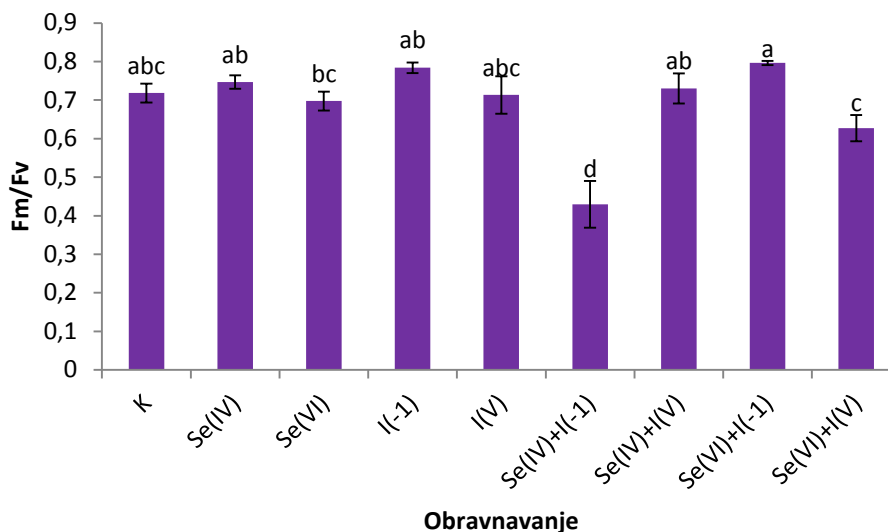
4.1.2 Aktivnost elektronskega transportnega sistema (ETS)



Slika 7: Vpliv različnih oblik Se in I na aktivnost ETS pri kalih ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 4-8$. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji ($P \leq 0,05$).

Aktivnost ETS pri kontrolnih kalih se statistično značilno razlikuje od aktivnosti ETS pri kalih, katerih semena so bila obravnavana s Se(IV), I(-1), Se(IV)+I(V) in s Se(VI)+I(V). Najvišja aktivnost ETS je bila prisotna pri kalih, katerih semena so bila obravnavana s Se(IV)+I(V) in se tudi statistično značilno razlikuje od aktivnosti ETS pri kalih, katerih semena so bila obravnavana z ostalimi posameznimi obravnavanji in kontrolo. Najnižja aktivnost ETS je bila prisotna pri kalih, katerih semena so bila obravnavana s Se(VI)+I(V) in se statistično značilno razlikuje od kontrolnih kalic in kalic, katerih semena so bila obravnavana z I(V), Se(IV)+I(-1), Se(IV)+I(V) in s Se(VI)+I(-1).

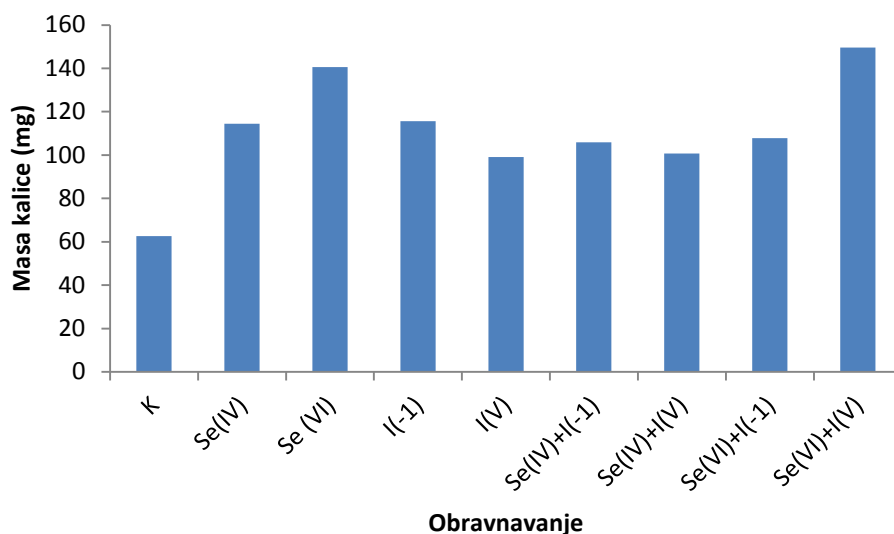
4.1.3 Fotokemična učinkovitost



Slika 8: Vpliv različnih oblik Se in I na potencialno fotokemično učinkovitost pri kalicah ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 8$. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji ($P \leq 0,05$).

Potencialna fotokemična učinkovitost fotosistema II je bila najnižja pri kalicah, katerih semena so bila obravnavana s Se(IV)+I(-1) in se statistično značilno razlikuje od potencialne fotokemične učinkovitosti pri kontrolnih kalicah in kalicah, katerih semena so bila obravnavana z ostalimi posameznimi obravnavanji. Najvišja vrednost potencialne fotokemične učinkovitosti je bila prisotna pri kalicah, katerih semena so bila obravnavana s Se(VI)+I(-1) in se statistično značilno razlikuje od vrednosti potencialne fotokemične učinkovitosti pri kalicah, katerih semena so bila obravnavana s Se(VI), Se(IV)+I(-1) in s Se(VI)+I(V). Od vrednosti potencialne fotokemične učinkovitosti pri kontrolnih kalicah je bila statistično značilno nižja vrednost potencialne fotokemične učinkovitosti prisotna le pri kalicah, katerih semena so bila obravnavana s Se(IV)+I(-1).

4.1.4 Rastna analiza



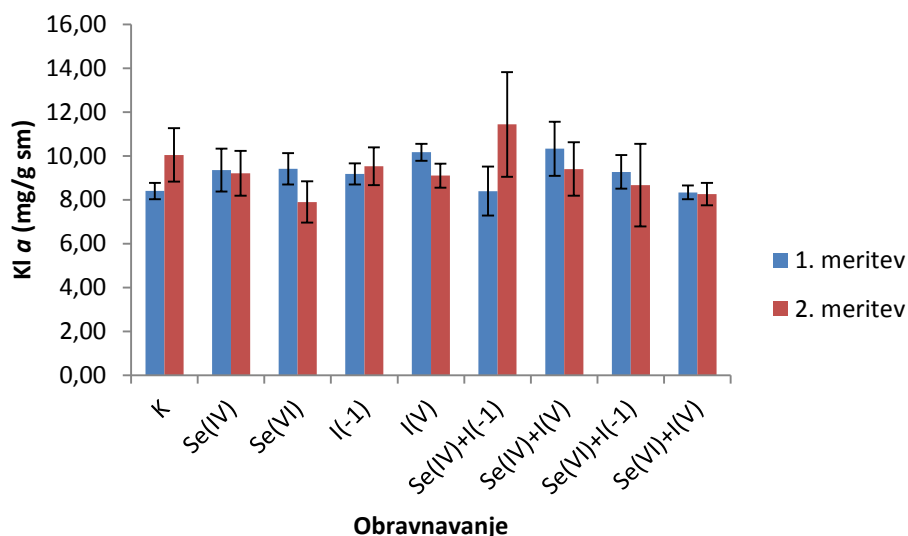
Slika 9: Vpliv različnih oblik Se in I na maso ene kalice. Slika prikazuje izračunane vrednosti za posamezno obravnavanje. Pri kontroli, I(-1) in I(V) so prikazane povprečne vrednosti iz dveh ponovitev, pri ostalih obravnavanjih pa so prikazane vrednosti iz ene ponovitve.

Masa kalice pada glede na način obravnavanja po naslednjem vrstnem redu: Se(VI)+I(V), Se(VI), I(-1), Se(IV), Se(VI)+I(-1), Se(IV)+I(-1), Se(IV)+I(V), I(V) in K. V prilogi E je graf, ki prikazuje število vseh kalic, ki so vzklile iz semen, ki so bila obravnavana z različnimi oblikami Se in I. V prilogi F pa je graf, ki prikazuje maso vseh kalic za posamezno obravnavanje.

4.2 ODRASLE RASTLINE AJDE

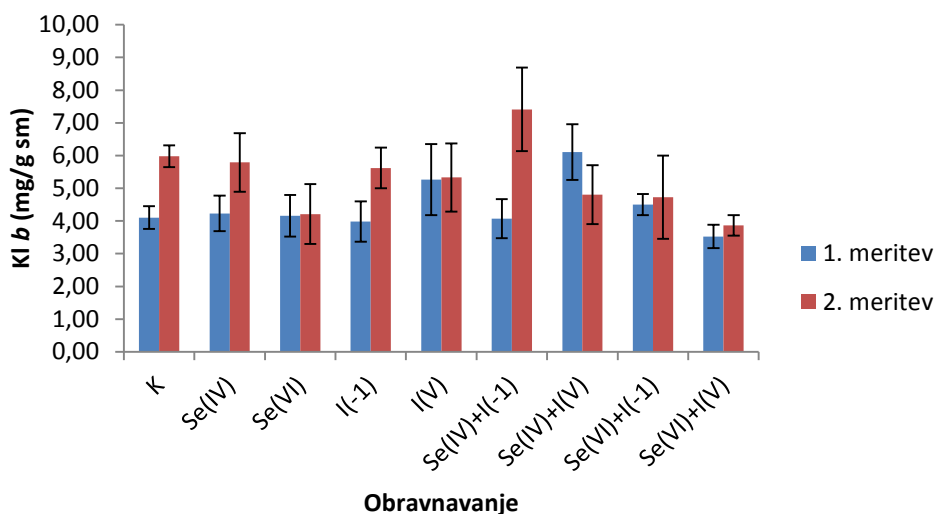
4.2.1 Vsebnost barvil

4.2.1.1 Vsebnost klorofila *a* na enoto suhe mase



Slika 10: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost klorofila *a* na enoto suhe mase pri odraslih rastlinah ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 4$. Stolpci niso označeni s črkami, ker ni statistično značilnih razlik med posameznimi obravnavanji, posebej pri 1. in 2. meritvi ($P > 0,05$).

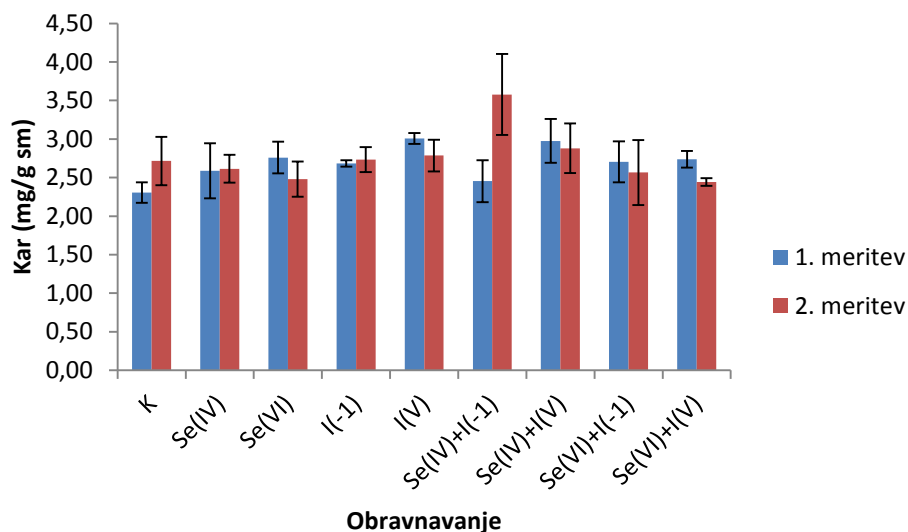
Vsebnosti klorofila *a* se pri prvi meritvi na odraslih rastlinah ajde, ki so bile obravnavane z različnimi oblikami Se in I, statistično značilno ne razlikujejo od kontrolnih rastlin. Prav tako ni prišlo do statistično značilnih razlik v vsebnosti klorofila *a* med posameznimi obravnavanji pri drugi meritvi. Rezultati so podobni tudi na površino lista, graf, ki prikazuje vsebnost klorofila *a* na površino lista je v prilogi G.

4.2.1.2 Vsebnost klorofila *b* na enoto suhe mase

Slika 11: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost klorofila *b* na enoto suhe mase pri odraslih rastlinah ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 4$. Stolpci niso označeni s črkami, ker ni statistično značilnih razlik med posameznimi obravnavanji, posebej pri 1. in 2. meritvi ($P > 0,05$).

Vsebnost klorofila *b* pri kontrolnih rastlinah se statistično značilno ne razlikuje od vsebnosti klorofila *b* pri rastlinah, ki so bile obravnavane z različnima oblikama Se in I ter njunima kombinacijama tako pri 1. meritvi kot tudi pri 2. meritvi. Rezultati so podobni tudi na površino lista tako pri 1. kot tudi pri 2. meritvi, s to razliko, da so pri 2. meritvi prisotne statistično značilne razlike med posameznimi obravnavanji. Graf, ki prikazuje vsebnost klorofila *b* na površino lista je v prilogi H.

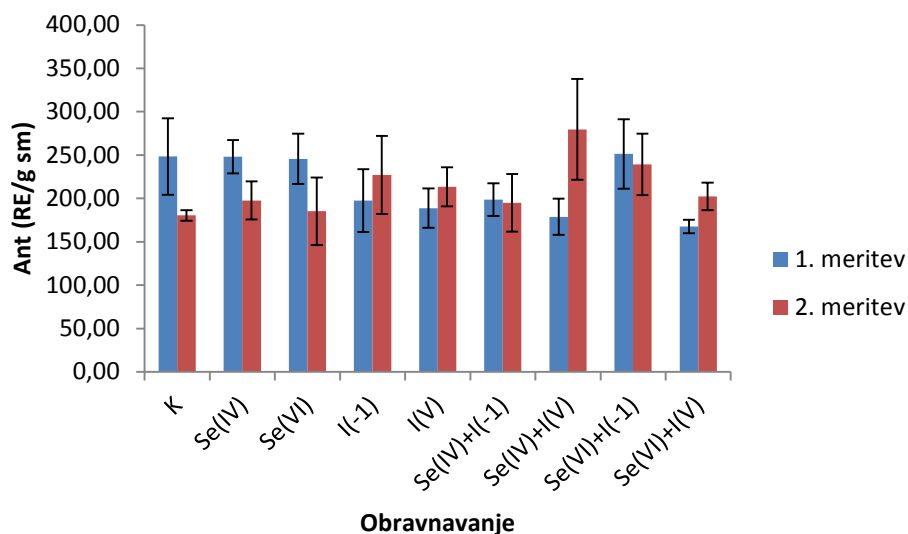
4.2.1.3 Vsebnost karotenoidov na enoto suhe mase



Slika 12: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost karotenoidov na enoto suhe mase pri odraslih rastlinah ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 4$. Stolpci niso označeni s črkami, ker ni statistično značilnih razlik med posameznimi obravnavanji, posebej pri 1. in 2. meritvi ($P > 0,05$).

Vsebnost karotenoidov pri kontrolnih rastlinah se statistično značilno ne razlikuje od vsebnosti karotenoidov pri rastlinah, ki so bile obravnavane z različnima oblikama Se in I ter njunima kombinacijama tako pri 1. meritvi kot tudi pri 2. meritvi. Rezultati so podobni tudi na površino lista tako pri 1. kot tudi pri 2. meritvi, s to razliko, da so pri 1. in 2. meritvi posebej prisotne statistično značilne razlike med posameznimi obravnavanji. Graf, ki prikazuje vsebnost karotenoidov na površino lista je v prilogi I.

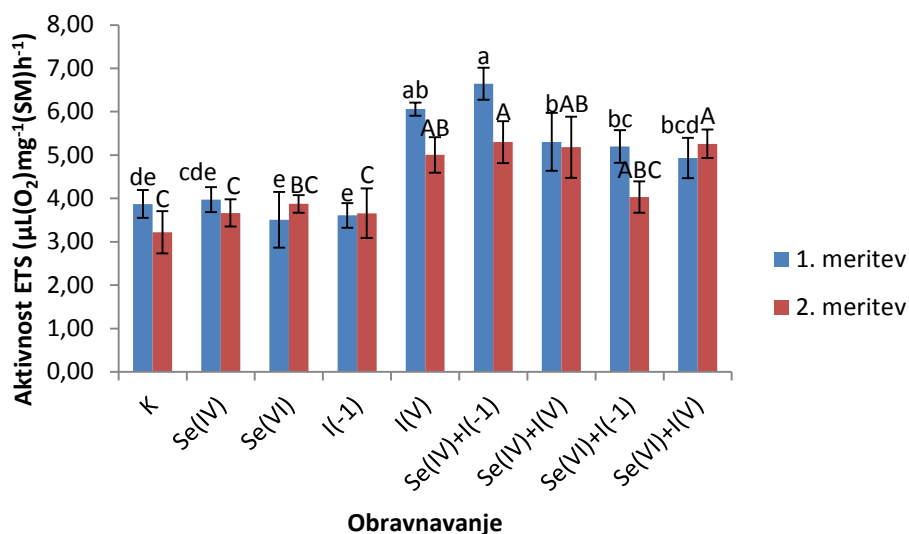
4.2.1.4 Vsebnost antocianov na enoto suhe mase



Slika 13: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost antocianov na enoto suhe mase pri odraslih rastlinah ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 4$. Stolpci niso označeni s črkami, ker ni statistično značilnih razlik med posameznimi obravnavanji, posebej pri 1. in 2. meritvi ($P > 0,05$).

Vsebnosti antocianov pri odraslih rastlinah ajde se statistično značilno ne razlikujejo med posameznimi obravnavanji tako pri 1. kot tudi pri 2. meritvi. Pri 1. meritvi pada vsebnost antocianov pri rastlinah ajde, glede na obravnavanje po naslednjem vrstnem redu: Se(VI)+I(-1), K, Se(IV), Se(VI), Se(IV)+I(-1), I(-1), I(V), Se(IV)+I(V) in Se(VI)+I(V). Pri 2. meritvi pa po naslednjem vrstnem redu: Se(IV)+I(V), Se(VI)+I(-1), I(-1), I(V), Se(VI)+I(V), Se(IV), Se(IV)+I(-1), Se(VI) in K. Rezultati so podobni tudi na površino lista, graf, ki prikazuje vsebnost antocianov na površino lista je v prilogi J.

4.2.2 Aktivnost elektronskega transportnega sistema (ETS)

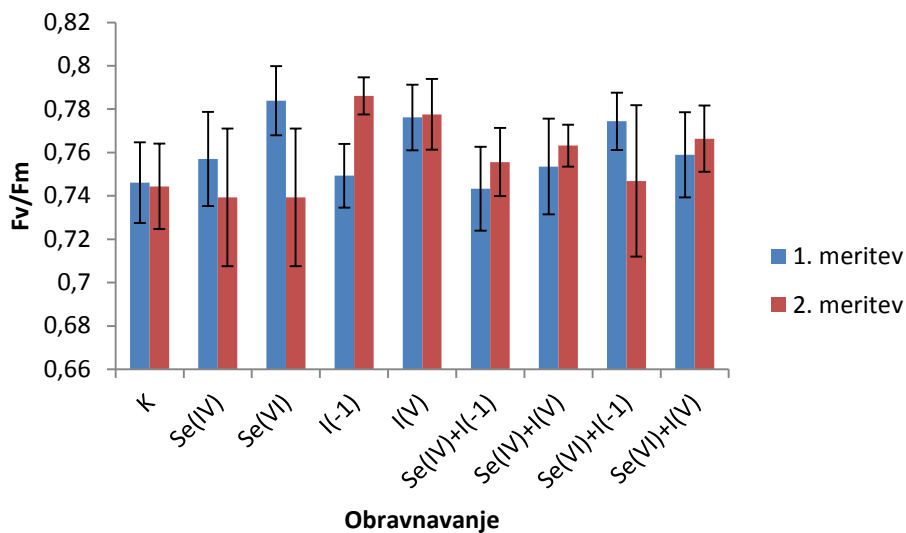


Slika 14: Vpliv različnih oblik Se in I na aktivnost ETS pri odraslih rastlinah ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 4$. Različne male tiskane črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji pri 1. meritvi, pri 2. meritvi pa označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji različne velike tiskane črke ($P \leq 0,05$).

Pri kontrolnih rastlinah je bila aktivnost ETS pri 1. meritvi nižja in statistično značilno različna od aktivnosti ETS pri rastlinah obravnavanih z I(V), Se(IV)+I(-1), Se(IV)+I(V) in s Se(VI)+I(-1). Najvišja aktivnost ETS je bila izmerjena pri rastlinah, obravnavanih s Se(IV)+I(-1). Slednje obravnavanje je tudi statistično značilno različno od vseh ostalih obravnavanj razen obravnavanja z I(V). Pri 2. meritvi je bila aktivnost ETS višja in statistično značilno različna od aktivnosti ETS pri kontrolnih rastlinah, pri rastlinah obravnavanih z I(V), Se(IV)+I(-1), Se(IV)+I(V) in s Se(VI)+I(V). Izmerjena aktivnosti ETS je bila podobna pri 1. in 2. meritvi pri posameznih obravnavanjih.

4.2.3 Fotokemična učinkovitost

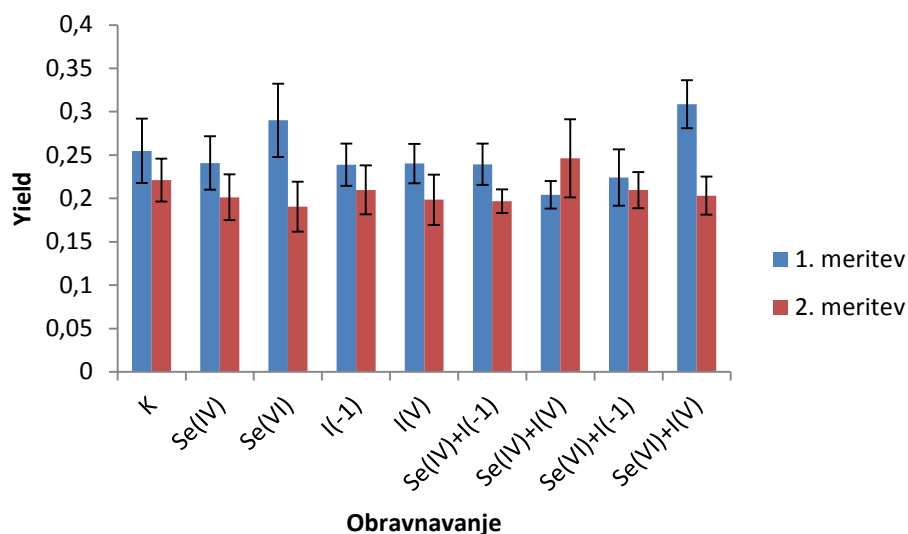
4.2.3.1 Potencialna fotokemična učinkovitost fotosistema II



Slika 15: Vpliv različnih oblik Se in I na potencialno fotokemično učinkovitost pri odraslih rastlinah ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 10$. Stolpci niso označeni s črkami, ker ni statistično značilnih razlik med posameznimi obravnavanji, posebej pri 1. in 2. meritvi ($P > 0,05$).

Pri 1. in 2. meritvi ni bilo statistično značilnih razlik v vrednostih potencialne fotokemične učinkovitosti pri rastlinah ajde glede na način obravnavanja. Izmerjene potencialne fotokemične učinkovitosti so bile podobne pri 1. in 2. meritvi ter so se gibale med 0,7 in 0,8.

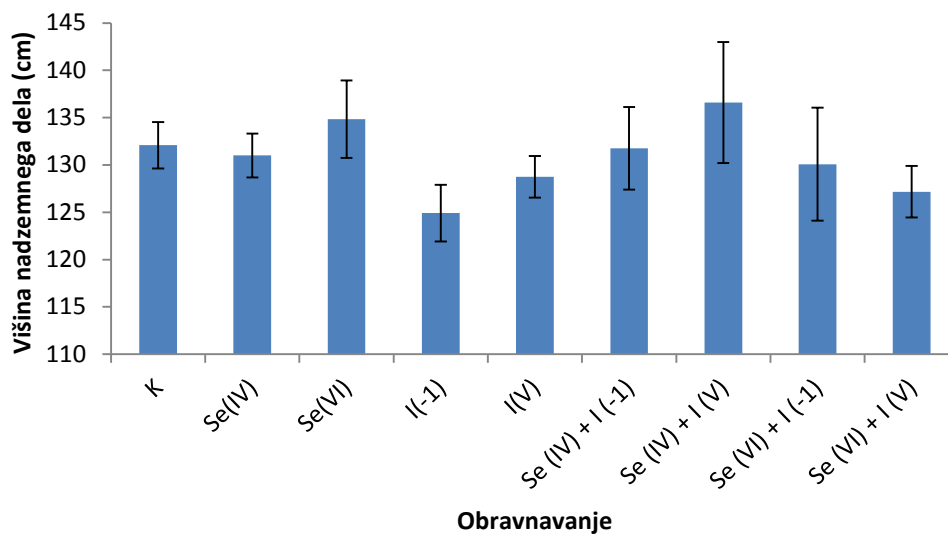
4.2.3.2 Dejanska fotokemična učinkovitost fotosistema II



Slika 16: Vpliv različnih oblik Se in I na dejansko fotokemično učinkovitost pri odraslih rastlinah ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 10$. Stolpci niso označeni s črkami, ker ni statistično značilnih razlik med posameznimi obravnavanji, posebej pri 1. in 2. meritvi ($P > 0,05$).

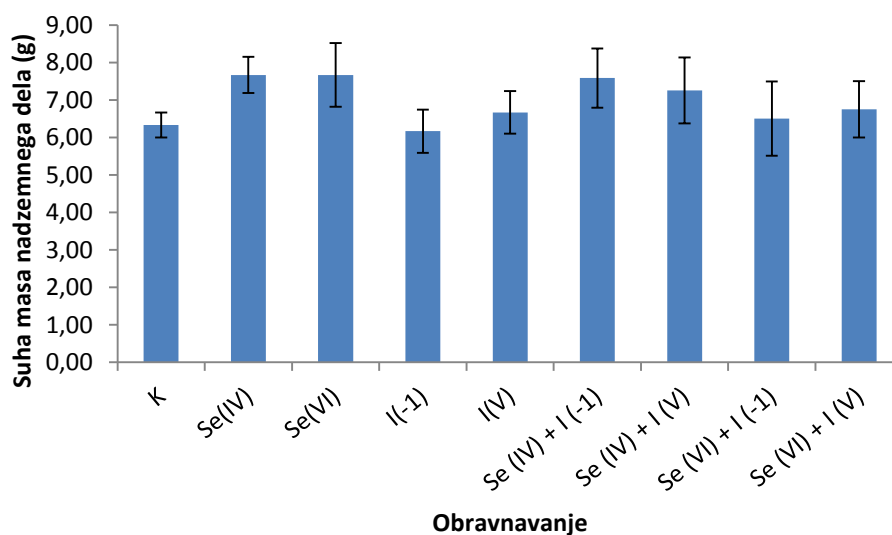
Med posameznimi obravnavanji ni statistično značilnih razlik v vrednostih dejanske fotokemične učinkovitosti pri rastlinah ajde tako pri 1. kot tudi pri 2. meritvi. Pri 1. meritvi so se vrednosti dejanske fotokemične učinkovitosti gibale med 0,2 in 0,3, pri 2. meritvi pa med 0,2 in 0,25.

4.2.4 Rastna analiza



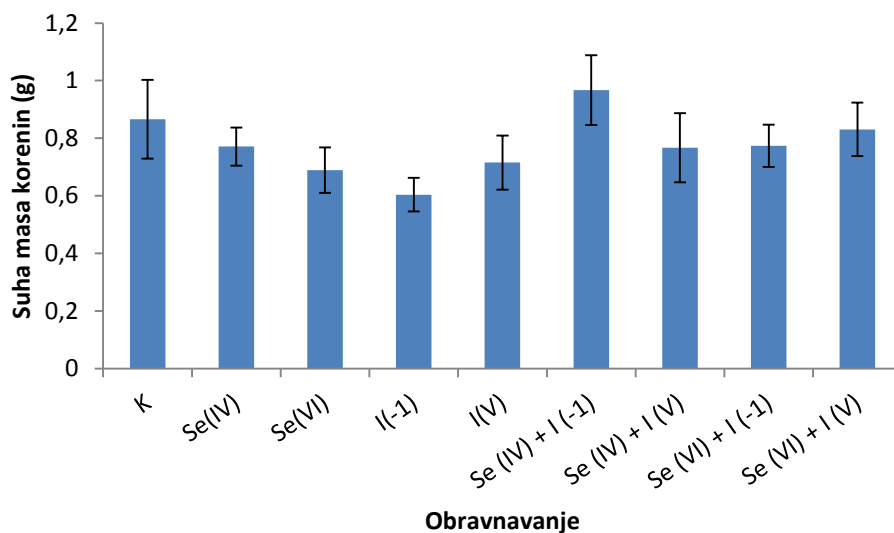
Slika 17: Vpliv različnih oblik Se in I na višino nadzemnega dela odraslih rastlinah ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 4$. Stolpci niso označeni s črkami, ker ni statistično značilnih razlik med posameznimi obravnavanji ($P > 0,05$).

Višina nadzemnega dela rastlin ajde je bila pri kontrolnih rastlinah in rastlinah, ki so bile obravnavane z različnimi oblikami Se in I ter njunimi kombinacijami podobna in se je gibala med 120 in 140 cm. Statistično značilnih razlik med posameznimi obravnavanji ni.



Slika 18: Vpliv različnih oblik Se in I na suho maso nadzemnega dela odraslih rastlinah ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 4$. Stolpci niso označeni s črkami, ker ni statistično značilnih razlik med posameznimi obravnavanji ($P > 0,05$).

Suha masa nadzemnega dela rastlin ajde se statistično značilno ne razlikuje med posameznimi obravnavanji. Vrednosti so med različnimi obravnavanji podobne in se gibljejo med 6 in 8 g.



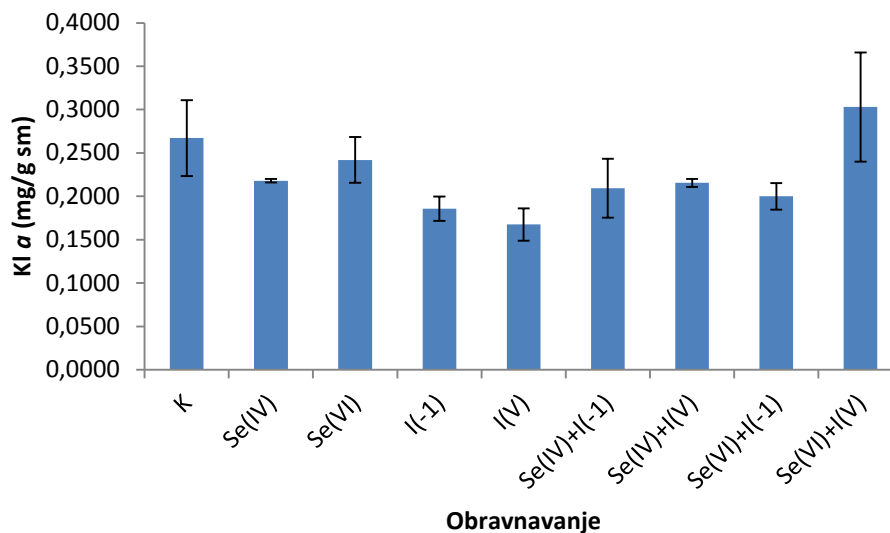
Slika 19: Vpliv različnih oblik Se in I na suho maso korenin odraslih rastlinah ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 4$. Stolpci niso označeni s črkami, ker ni statistično značilnih razlik med posameznimi obravnavanji ($P > 0,05$).

Suha masa korenin rastlin ajde se statistično značilno ne razlikuje med posameznimi obravnavanji. Vrednosti se gibljejo med 0,6 in 1,0 g.

4.3 SEMENA AJDE

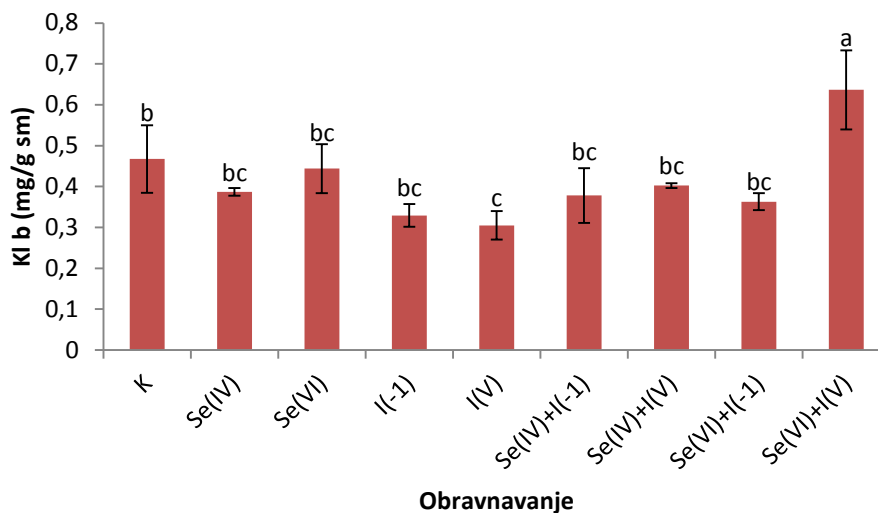
4.3.1 Vsebnost barvil

4.3.1.1 Vsebnost klorofila *a* na enoto suhe mase



Slika 20: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost klorofila *a* na enoto suhe mase pri semenih ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 4$. Stolpci niso označeni s črkami, ker ni statistično značilnih razlik med posameznimi obravnavanji ($P > 0,05$).

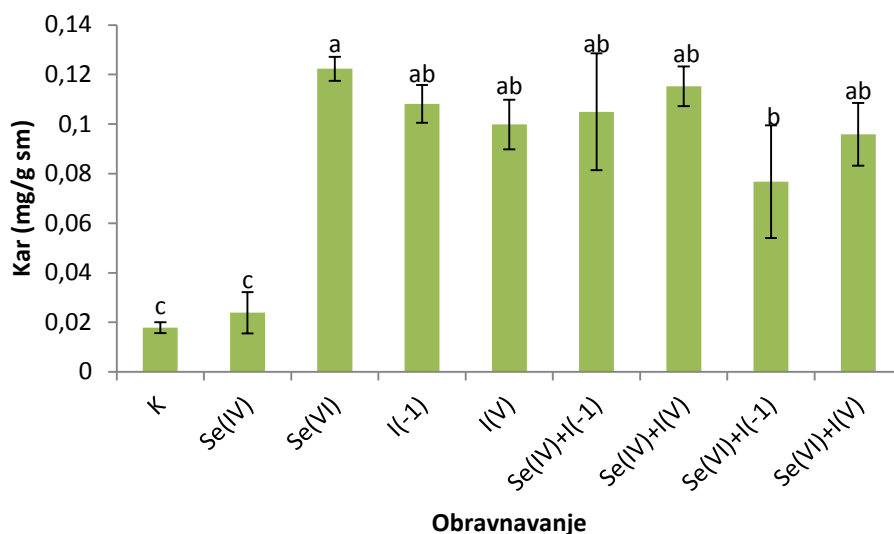
Vsebnosti klorofila *a* pri semenih ajde se statistično značilno ne razlikujejo med posameznimi obravnavanji. Koncentracija klorofila *a* pri semenih pada glede na obravnavanje po naslednjem vrstnem redu: Se(VI)+I(V), K, Se(VI), Se(IV), Se(IV)+I(V), Se(IV)+I(-1), Se(VI)+I(-1), I(-1) in I(V).

4.3.1.2 Vsebnost klorofila *b* na enoto suhe mase

Slika 21: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost klorofila *b* na enoto suhe mase pri semenih ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 4$. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji ($P \leq 0,05$).

Vsebnost klorofila *b* je bila najvišja in statistično značilno različna od ostalih obravnavanj pri semenih ajde, katerih rastline so bile obravnavane s Se(VI)+I(V). Najnižja koncentracija klorofila *b* je bila prisotna pri semenih, katerih rastline so bile obravnavane z I(V) in se statistično značilno razlikuje od koncentracije klorofila *b* pri kontrolnih semenih in semenih, katerih rastline so bile obravnavane s Se(VI)+I(V). Vsebnost klorofila *b* pri kontrolnih semenih se statistično značilno razlikuje od vsebnosti klorofila *b* pri semenih, katerih rastline so bile obravnavane z I(V) in s Se(VI)+I(V).

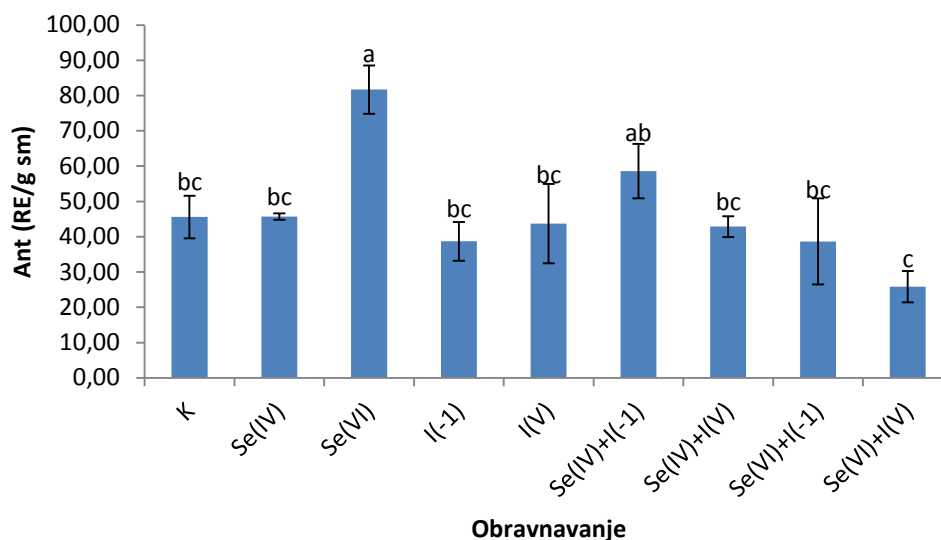
4.3.1.3 Vsebnost karotenoidov na enoto suhe mase



Slika 22: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost karotenoidov na enoto suhe mase pri semenih ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 4$. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji ($P \leq 0,05$).

Vsebnost karotenoidov je bila najnižja pri kontrolnih semenih in semenih, katerih rastline so bile obravnavane s Se(IV) ter statistično značilno različna od vsebnosti karotenoidov pri semenih, katerih rastline so bile foliaro škropljene z ostalimi posameznimi obravnavanji. Najvišja koncentracija karotenoidov je bila prisotna v semenih, katerih rastline so bile obravnavane s Se(VI) in statistično značilno različna od kontrolnih semen ter semen, katerih rastline so bile obravnavane s Se(IV) oz. Se(VI)+I(-1).

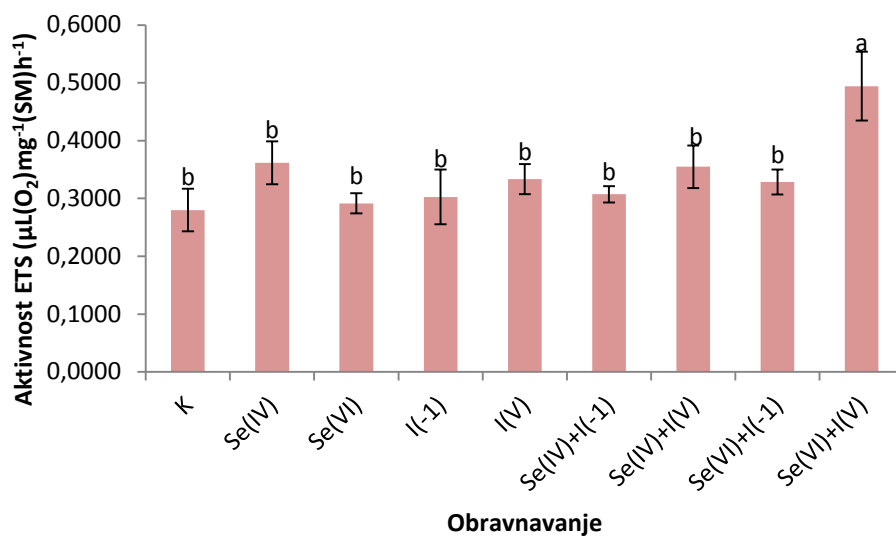
4.3.1.4 Vsebnost antocianov na enoto suhe mase



Slika 23: Vpliv različnih oblik Se in I na vsebnost antocianov na enoto suhe mase pri semenih ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 4$. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji ($P \leq 0,05$).

Najvišja vsebnost antocianov je bila prisotna pri semenih, katerih rastline so bile obravnavane s Se(VI) in statistično značilno različna od vsebnosti antocianov pri semenih, katerih rastline so bile obravnavane z ostalimi posameznimi obravnavanji, razen pri semenih, katerih rastline so bile obravnavane s Se(IV)+I(-1). Najnižja vsebnost antocianov je bila prisotna pri semenih, katerih rastline so bile obravnavane s Se(VI)+I(V) in se statistično značilno razlikuje od vsebnosti antocianov pri semenih, katerih rastline so bile obravnavane s Se(VI) ter Se(IV)+I(-1). Od vsebnosti antocianov pri kontrolnih semenih se statistično značilno razlikuje le vsebnost antocianov pri semenih, katerih rastline so bile obravnavane s Se(VI).

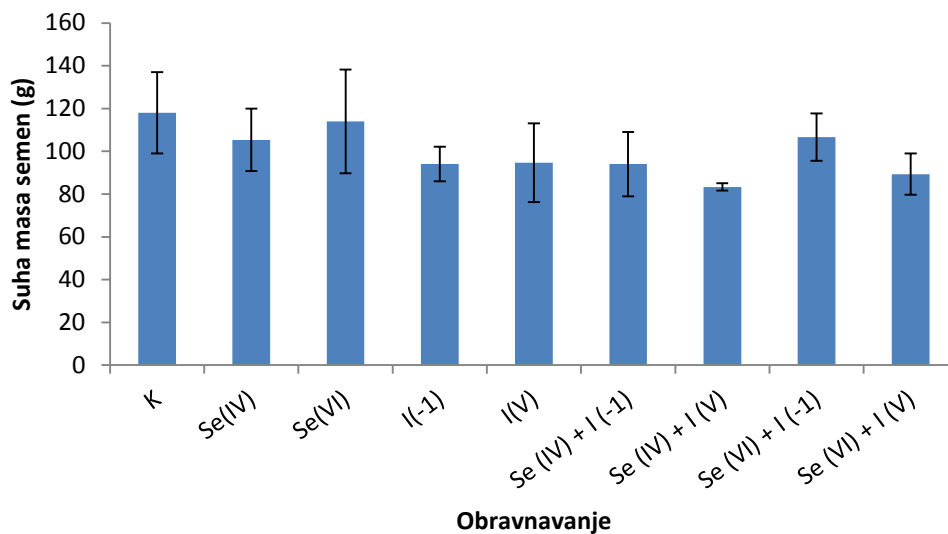
4.3.2 Aktivnost elektronskega transportnega sistema (ETS)



Slika 24: Vpliv različnih oblik Se in I na aktivnost ETS na enoto suhe mase pri semenih ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 4$. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji ($P \leq 0,05$).

Aktivnost ETS je bila najvišja pri semenih, katerih rastline so bile obravnavane s Se(VI)+I(V) in statistično značilno različna od aktivnosti ETS pri semenih, katerih rastline so bile foliarno škropljene z ostalimi posameznimi obravnavanji. Pri slednjih ni bilo statistično značilnih razlik v aktivnosti ETS v semenih.

4.3.3 Suha masa semen



Slika 25: Vpliv različnih oblik Se in I na suho maso semen ajde. Povprečne vrednosti \pm SE, $n = 3$. Stolpci niso označeni s črkami, ker ni statistično značilnih razlik med posameznimi obravnavanji ($P > 0,05$).

Suha masa semena se statistično značilno ne razlikuje med posameznimi obravnavanji. Suha masa semena pada glede na posamezno obravnavanje po naslednjem vrstnem redu: K, Se(VI), Se(VI)+I(-1), Se(IV), I(V), I(-1), Se(IV)+I(-1), Se(VI)+I(V) in Se(IV)+I(V).

5 RAZPRAVA

5.1 VSEBNOSTI BARVIL

Različne oblike Se in I ter njune kombinacije so imele različen vpliv na vsebnost kl *a* in *b*, karotenoidov ter antocianov na enoto suhe mase pri kalicah, odraslih rastlinah in semenih ajde. Kalice, katerih semena so bila posamezno obravnavana s Se(IV), I(V) in s Se(IV)+I(V) so imele višjo vsebnost kl *a* v primerjavi s kontrolnimi kalicami. Nobeno obravnavanje z različnimi oblikami Se in I ter njunima kombinacijama ni vplivalo na koncentracijo kl *a* pri odraslih rastlinah in semenih. Na koncentracijo kl *b* pri kalicah in odraslih rastlinah ni vplivalo nobeno obravnavanje. Vsebnost kl *b* je bila v primerjavi s kontrolnimi semeni višja pri semenih, katerih odrasle rastline so bile obravnavane s Se(VI)+I(V) in nižja pri semenih, katerih odrasle rastline so bile obravnavane z I(V). Pri odraslih rastlinah ni na koncentracijo karotenoidov in antocianov vplivalo nobeno obravnavanje. Kalice, katerih semena so bila obravnavana s Se(IV), I(-1), I(V), Se(IV)+I(-1) in Se(IV)+I(V), so imele višjo vsebnost karotenoidov v primerjavi s kontrolnimi kalicami. V primerjavi s kontrolnimi semeni ni bila vsebnost karotenoidov višja le pri semenih, katerih odrasle rastline so bile obravnavane s Se(IV). Višja vsebnost antocianov v primerjavi s kontrolnimi kalicami in s kontrolnimi semeni je bila prisotna pri kalicah in semenih, obravnavanih s Se(VI).

Mechora in sod. (2011), ki so delali poskus na rdečem zelju, so prvo skupino rastlin (vsako rastlino posebej) pognojili s 33 ml vodne raztopine, ki je vsebovala Na₂SeO₄ s koncentracijo 2 µg Se(VI)/L, 2 meseca vsak drugi dan. Drugo skupino rastlin rdečega zelja pa so pognojili samo dvakrat v 2 mesecih z 0,5 mg Se/L in ugotovili, da dodatek Se(VI) ni vplival na vsebnost kl *a* in *b* ter antocianov pri rastlinah rdečega zelja v 1. in 2. skupini. Foliarno škropljenje navadne in tatarske ajde z dH₂O, ki je vsebovala Se(VI) v koncentraciji 1 g Se(VI)/m³, večinoma ni vplivalo na vsebnost klorofilov pri obeh vrstah ajde (Breznik in sod. 2005). Tudi foliarno škropljenje redkvice z raztopino I(-1)/I(V) v obliki KI oz. KIO₃ z 0,2 % koncentracijo čistega elementa, ni vplivalo na vsebnost fotosinteznih barvil (Strzetelski in sod., 2010). Pri našem poskusu smo odrasle rastline ajde obravnavali z bistveno višjo

koncentracijo Se(VI) in nižjo koncentracijo I(-1)/I(V), ki tudi niso vplivala na vsebnost omenjenih barvil. Pri poskusu na vrtni solati, kjer so rastline rastle v hranilnih raztopinah z dodanim Se(IV)/Se(VI) v obliki Na_2SeO_3 oz. Na_2SeO_4 in v koncentracijah 2-30 μM Se(IV) oz. 2-60 μM Se(VI) je prišlo do dvojnega učinka Se na raven fotosinteznih barvil, odvisnega od oblike Se in njegove koncentracije. Pri koncentraciji $> 15 \mu\text{M}$ Se(IV) in 20 μM Se(VI) je prišlo do znižanja vsebnosti fotosinteznih barvil, medtem ko koncentracije 2-10 μM Se niso imele vpliva na vsebnost fotosinteznih barvil pri rastlinah solate (Hawrylak-Nowak, 2013). Xue in sod. (2001) so ugotovili, da je obravnavanje rastlin solate s Se(VI) v obliki H_2SO_4 in s koncentracijama 0,1 ter 1,0 mg Se/kg tal, vplivalo na povišanje vsebnosti klorofilov pri mladih rastlinah solate. Pri starejših rastlinah solate pa je na povišanje vsebnosti klorofilov vplivala le višja koncentracija dodatka Se(VI). Pri podobno obravnavanih rastlinah ljuljke je dodatek Se(VI) v koncentraciji ≥ 10 mg/kg vplival na zmanjšanje vsebnosti klorofilov pri mlajših rastlinah ljuljke, medtem ko je pri starejših rastlinah ljuljke vplival na povišanje vsebnosti klorofilov. Koncentracije < 10 mg/kg dodatka Se(VI) niso imele vpliva na vsebnost klorofilov pri rastlinah ljuljke (Hartikainen in sod., 2000). Koncentracije dodatka Se(VI) ≥ 4 ppm so vplivale na zmanjšanje vsebnosti klorofila pri kalicah ječmena. Se(VI) je bil dodan v hranilno raztopino v obliki Na_2SeO_4 v koncentracijah 2, 4, 8, 16 Se(VI) ppm (Akbulut in Cakir, 2010). Pri našem poskusu na kalicah ajde uporabljena koncentracija dodatka Se(VI) ni imela vpliva na vsebnost klorofila. Pri rastlinah koruze, ki so bile podobno obravnavane kot kalice ječmena je tudi prišlo do zmanjšanja vsebnosti klorofila pri koncentracijah Se(VI) $> 5 \mu\text{M}$. Koncentracije 5-50 μM Se(VI) niso imele vpliva na vsebnost antocianov, medtem ko je pri koncentraciji 100 μM Se(VI) prišlo do zvišanja vsebnosti antocianov pri rastlinah koruze (Hawrylak-Nowak, 2008). Tudi pri našem poskusu je pri kalicah prišlo do povišane vsebnosti antocianov pri obravnavanju s Se(VI) v primerjavi s kontrolnimi kalicami.

Nekateri raziskovalci predpostavljajo, da Se vpliva na povišanje vsebnosti klorofila s spreminjanjem njegove biosintezne poti. Po drugi strani pa lahko Se povzroči klorozo na listih, verjetno preko negativnega vpliva na proizvodnjo porfobilinogen sintaze – encima potrebnega za biosintezo klorofila. Zmanjšana vsebnost klorofila pri rastlinah je pokazatelj rasti rastline v stresnih razmerah in nekateri stresni dejavniki tudi pospešijo izgradnjo antocianov. V mnogih primerih lahko antociani zagotovijo antioksidacijsko aktivnost ob stresnih razmerah (Hawrylak-Nowak, 2008). Glede na to, da pri našem poskusu v

večini ni bilo negativnega vpliva posameznega obravnavanja z različnimi oblikami Se in I ter njunima kombinacijama na vsebnost fotosinteznih barvil in antocianov tako pri kalicah kot tudi odraslih rastlinah ter semenih ajde lahko predpostavljamo, da rastline niso bile v stresu.

5.2 AKTIVNOST ELEKTRONSKEGA TRANSPORTNEGA SISTEMA

Kalice, katerih semena so bila obravnavana s Se(IV)+I(V) , so imele višjo aktivnost ETS v primerjavi s kontrolnimi kalicami. Nižjo aktivnosti ETS v primerjavi s kontrolnimi kalicami pa so imele kalice, katerih semena so bila obravnavana s Se(IV) , I(-1) in Se(VI)+I(V) . Slednja obravnavanja so lahko učinkovala negativno na kalice, zaradi česar je prišlo do zmanjšanja aktivnosti ETS. Prekomeren stres lahko povzroči zmanjšanje vitalnosti tkiva in s tem tudi dihalnega potenciala, kot so ugotovili Ožbolt in sod. (2008) pri odraslih rastlinah navadne ajde, ki so zrastle iz semen, obravnavanih z 20 mg Se(IV)/L .

Smrkolj in sod. (2006) poročajo, da so imele mlade rastline graha, obravnavane s Se(VI) (rastline so bile 1x/2x foliarno škropljene v času cvetenja z vodno raztopino, ki je vsebovala 10 mg Se(VI)/L v obliki Na_2SeO_4 , nato so semena, pridobljena iz teh rastlin posadili in analizirali rastline, ki so zrastle iz teh semen), višji dihalni potencial od ne obravnavanih rastlin, medtem ko pri cvetočih rastlinah graha ni bilo razlike v aktivnosti ETS med obravnavanimi in neobravnavanimi rastlinami. Ravno tako ni prišlo do razlik v aktivnosti ETS med s Se(VI) obravnavanimi in ne obravnavanimi rastlinami navadne ajde pri našem poskusu in poskusu, ki so ga izvedli Ožbolt in sod. (2008). Pri sledenju so semena navadne ajde obravnavali s 5, 10 ali 20 mg Se(VI)/L . Tudi pri drugih raziskavah (Breznik in sod., 2005; Mechora in sod., 2011) so prišli do podobnih ugotovitev. Nasprotno je dodatek Se(VI) vplival na povišanje aktivnosti ETS pri krompirju (rastline so bile foliarno škropljene z raztopino, ki je vsebovala 10 mg Se/L v obliki Na_2SeO_4) (Germ in sod., 2007a) in navadni ajdi (sorta Siva; rastline so bile podobno obravnavane kot pri krompirju, vendar z bistveno nižjo koncentracijo $\text{Se(VI)} = 1 \text{ g Se/m}^3$) (Tadina in sod., 2007). Pri našem poskusu so na povišano aktivnost ETS pri odraslih rastlinah v primerjavi s kontrolnimi rastlinami vplivala obravnavanja z I(V) , Se(IV)+I(-1) in Se(IV)+I(V) pri 1. in 2. meritvi. Pri 1. meritvi so imele višjo aktivnost ETS v primerjavi s kontrolnimi rastlinami še rastline obravnavane s Se(VI)+I(-1) , pri 2. meritvi pa rastline obravnavane s Se(VI)+(V) . Slednje obravnavanje je vplivalo tudi

na višjo aktivnost ETS pri semenih v primerjavi s kontrolnimi semeni.

Povišana aktivnost ETS je lahko posledica: (i) povišane potrebe po energiji, ko je organizem v stresu (Packard, 1985; Mazej in Gaberščik, 1999), (ii) povišane potrebe po energiji, ki je potrebna za asimilacijo in prenos elementov kot je Se (Germ in sod., 2007c), (iii) povišane aktivnosti glutation peroksidaze v mitohondrijih (Smrkolj, 2006) kot je bilo ugotovljeno pri poskusu na rastlinah vrtno solate (Xue in sod., 2001) in ljujke (Hartikainen, 2000).

Aktivnost ETS pri kalichah je bila v povprečju dvakrat višja od aktivnosti ETS pri odraslih rastlinah ajde in več kot 16-krat višja od aktivnosti ETS pri semenih ajde ne glede na način obravnavanja. Razlog za takšne rezultate je lahko ta, da zahtevajo rastline v času intenzivne rasti več energije za rast in razvoj (Smrkolj, 2006). Mazej in Gaberščik (1999), ki sta delali raziskavo na makrofutih poročata, da je višja aktivnost ETS pri mladih listih tudi posledica višjega razmerja med metabolno aktivnimi in metabolno neaktivnimi tkivi.

5.3 FOTOKEMIČNA UČINKOVITOST FOTOSISTEMA II

Izmerjena potencialna fotokemična učinkovitost za posamezno obravnavanje pri kalichah ajde se je gibala okrog 0,7. Obravnavanje s Se(IV)+I(-1) je vplivalo na znižanje potencialne fotokemične učinkovitosti pri kalichah. Pri odraslih rastlinah ni bilo vpliva posameznega obravnavanja na potencialno in dejansko fotokemično učinkovitost. Vrednosti potencialne fotokemične učinkovitosti so se gibale med 0,7 in 0,8 tako pri 1. kot tudi pri 2. meritvi, kar je blizu teoretičnega maksimuma (0,83) in pomeni, da različne oblike Se in I ter njune kombinacije niso povzročile poškodb fotosinteznega aparata (Tadina in sod., 2007). Vrednosti dejanske fotokemične učinkovitosti so bile bistveno nižje od vrednosti potencialne fotokemične učinkovitosti glede na posamezno obravnavanje in so se gibale med 0,2 in 0,3. Kljub temu, da je bila dejanska fotokemična učinkovitost bistveno nižja od potencialne fotokemične učinkovitosti pa vrednosti potencialne fotokemične učinkovitosti, ki so bile blizu teoretičnemu maksimumu, bolj kažejo na reverzibilno inaktivacijo reakcijskega centra, kot na poškodbo reakcijskega centra (Germ in sod., 2007c).

Foliarno škropljenje s Se(VI) (1 g Se/m^3) ni vplivalo na potencialno fotokemično učinkovitost pri rastlinah navadne (Breznik in sod., 2005; Tadina in sod. 2007) in tatarske ajde (Breznik in sod., 2005). Prav tako ni na potencialno in dejansko fotokemično učinkovitost vplival dodatek Se(VI) pri rdečem zelju (Mechora in sod., 2011) in radiču (rastline so bile foliarno škropljene z vodno raztopino, ki je vsebovala 1 mg Se/L v obliki Na_2SeO_4) (Germ in sod., 2007c). Dodatek Se(VI) je vplival na povišano dejansko fotokemično učinkovitost pri navadni ajdi (Breznik in sod., 2005). Tudi pri našem poskusu večinoma ni bilo vpliva različnih oblik Se in I ter njunih kombinacij na potencialno fotokemično učinkovitost pri kalicah in odraslih rastlinah ajde ter na dejansko fotokemično učinkovitost pri odraslih rastlinah, kar nakazuje na to, da rastline niso bile v stresu.

5.4 RASTNA ANALIZA IN MASA SEMEN

Masa ene kalice je bila statistično neznačilno najnižja pri kontrolnih kalicah. Statistično neznačilno najvišja pa je bila masa ene kalice pri obravnavanju s Se(VI)+I(V). Tudi pri višini in suhi masi nadzemnega dela ter suhi masi korenin odraslih rastlin ajde ni bilo statistično značilnih razlik med posameznimi obravnavanji pri posameznem parametru. Odrasle rastline so dosegle višino med 120 in 140 cm ne glede na način obravnavanja, kar pomeni, da so rastle v ugodnih razmerah kot poroča Kreft (1995). Prav tako ni bilo statistično značilnih razlik med posameznimi obravnavanji pri suhi masi semen.

Kalice ječmena, obravnavane s Se(VI) v koncentracijah 2, 8 in 16 ppm Se, so bile nižje od kontrolnih kalic (Akbulut in Cakir, 2010). Podobno kot pri našem poskusu foliarno škropljenje s Se(VI) ni imelo vpliva na višino in suho maso nadzemnega dela ter na suho maso korenin in semen pri dveh sortah navadne ajde (Tadina in sod., 2007). Nasprotno je foliarno škropljenje z 10 mg Se(VI)/L vplivalo na zmanjšanje mase gomoljev krompirja (Germ in sod., 2007a). Xue in sod. (2001) so pri poskusu na vrtni solati ugotovili, da je vpliv dodatka Se(VI) odvisen od njegove koncentracije in starosti rastline: pri nizki koncentraciji ($0,1 \text{ mg/kg}$) dodatka Se je le-ta vplival spodbujajoče na rast starejših rastlin, pri višji koncentraciji ($1,0 \text{ mg/kg}$) dodatka Se pa je prišlo do strupenih učinkov Se neodvisno od starosti rastline. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi Hartikainen in sod. (2000) pri poskusu

na rastlinah ljujke in Hawrylak-Nowak (2008) pri poskusu na rastlinah koruze in sicer je dodatek Se(VI) v višjih koncentracijah učinkoval negativno, pri nižjih koncentracijah pa je vzpodbujal rast rastlin. Se ima tako dvojno naravo: pri nizkih koncentracijah deluje kot antioksidant in spodbuja rast, pri visokih koncentracijah pa deluje kot pro-oksidant, kar vpliva na motnje metabolizma in drastično izgubo donosa rastlin (Hartikainen in sod., 2000). Povečana rast rastlin, obravnavanih s Se, je lahko posledica povišanega kopičenja škroba v kloroplastih (Pennanen in sod., 2002) in zmanjšane lipidne peroksidacije (Xue in sod., 2001).

Kritična raven Se, nad katero pride do bistvenega zmanjšanja suhe mase donosa, je različna za različne vrste kulturnih rastlin. Rang strupenosti Se v povezavi z 10 % zmanjšanjem absolutne suhe mase je pri neakumulirajočih rastlinah od 2 mg/kg pri rižu do 330 mg/kg pri beli detelji (Akbulut in Cakir, 2010).

Podobno kot v naši raziskavi foliarno škropljenje z I(-1) oz. I(V) ni vplivalo na suho maso listov in korenin pri redkvici (Strzetelski in sod., 2010). Prav tako ni dodatek I(-1) oz. I(V) (I dodan kot gnojilo v tla pred sejanjem špinače v obliki KI oz. KIO_3 in v koncentraciji 1 mg I/dm³ tal ali pa je bil I dodan v času gojenja špinače v obliki raztopine s koncentracijo 1,1 mg I/dm³ tal (Dai in sod., 2006); I dodan v tla v obliki KI oz. KIO_3 in v koncentracijah 0,05, 1,0, 2,0 mg I/kg tal (Smoleń in Sady, 2012)) vplival na biomaso špinače (Dai in sod., 2006; Smoleń in Sady, 2012) oz. je prišlo pri dodatku I(-1) v hranilno raztopino v koncentraciji $\geq 10 \mu\text{M}$ do zmanjšanja biomase špinače (Zhu in sod., 2003). Pri poskusu na vrtni solati dodatek I(-1) v hranilno raztopino v obliki KI in v koncentracijah 20 oz. 40 μM I ni imel vpliva na suho maso poganjkov rastlin solate oz. je pri koncentraciji 80 μM I prišlo do zmanjšanja biomase. Nasprotno je bila biomasa solate povišana pri vseh preučevanih koncentracijah (20, 40 in 80 μM I) dodatka IO_3^- v hranilno raztopino v obliki KIO_3 (Blasco in sod., 2011a; 2011b; 2011c; 2012). Nobena od oblik I pa ni imela vpliva na maso korenin solate (Blasco in sod.; 2011c). Borst-Pauwels (1961) navaja, da so vsebnost I v tleh (koncentracija I), njegova kemijska oblika kot tudi medvrstne razlike odziva rastlin na I, zelo pomembne pri vplivu (pozitivnem ali negativnem) I na rast rastlin. Fitotoksičen učinek I(-1) je posledica prekomernega skladiščenja tega elementa v rastlinskih tkivih ali znotrajcelične oksidacije I(-1) v I_2 , ki lahko zavira fotosintezne procese (Blasco in sod., 2011c).

Smoleń in sod. (2014) so preučevali vpliv Se(VI)+I(V) na rast vrtno solate in ugotovili, da obravnavanje s Se(VI)+I(V) ni imelo učinka na povprečno maso glav solate. Tudi pri našem poskusu obravnavanje s Se(VI)+I(V) ni imelo učinka na maso kalic, odraslih rastlin in semen ajde. Rastline solate so foliarno škropili s Se(VI)+I(V) in ju dodali v hranilno raztopino, kjer so rastline rastle. Se(VI) je bil dodan v hranilno raztopino v obliki Na_2SeO_4 in v koncentracijah 0,5 ter 1,5 mg Se/dm³, I(V) pa v obliki KIO_3 in koncentraciji 1 mg I/dm³. Rastline so foliarno škropili z istima oblikama Se in I, vendar z drugačnima koncentracijama in sicer z 0,633 mM Se ter z 3,94 mM I. Prav tako so Zhu in sod. (2004) preučevali vpliv Se(VI)+I(V) na maso korenin in poganjkov špinače. Se(VI) in I(V) sta bila dodana v hranilno raztopino v koncentracijah 0, 10, 20 ali 50 μM . Ugotovili so, da je bila pri koncentraciji 20 μM Se(VI) in 10 oz. 50 μM I(V) zmanjšana biomasa korenin ter da je biomasa poganjkov špinače težila k zmanjšanju ob dodatku obeh elementov.

5.5 NAJPOMEMBNEJŠI IZSLEDKI

Vsebnost fotosinteznih barvil in antocianov, aktivnost ETS, fotokemična učinkovitost fotosistema II ter rast in razvoj rastline, so pokazatelji rasti rastline v stresnih razmerah. Pri našem poskusu v večini ni prišlo do negativnih učinkov obravnavanj z različnimi oblikami Se in I ter njunima kombinacijama na merjene parametre tako pri kalicah, odraslih rastlinah kot tudi semenih ajde. Do negativnega vpliva je prišlo le pri:

- vsebnosti kl *b* pri semenih, katerih odrasle rastline so bile obravnavane z I(V) v primerjavi s kontrolnimi semeni;
- aktivnosti ETS, ki je bila nižja pri kalicah, katerih semena so bila posamezno obravnavana s Se(IV), I(-1) in s Se(VI)+I(V) v primerjavi s kontrolnimi kalicami;
- potencialni fotokemični učinkovitosti, ki je bila nižja pri kalicah, katerih semena so bila obravnavana s Se(IV)+I(-1) v primerjavi s kontrolnimi kalicami.

Iz literature je znano, da lahko I(-1) v višjih koncentracijah deluje fitotoksično na rastline, kar je lahko možna razlaga za zmanjšanje aktivnosti ETS pri našem poskusu na kalicah. Fitotoksičen učinek I(-1) je lahko povezan tudi z znižanjem potencialne fotokemične učinkovitosti pri kalicah. Obravnavanje s Se(IV) je tudi vplivalo na zmanjšanje aktivnosti ETS pri kalicah v primerjavi s kontrolo in sicer naj bi bil selenit bolj strupen za rastline od

selenata kot je bilo ugotovljeno pri kalicah rjave gorjušice (LeDuc in sod., 2006). Glede na to, da so imela posamezna obravnavanja s Se(IV), I(-1) in njuna kombinacija negativen učinek na dihalni potencial in slednje obravnavanje na fotokemično učinkovitost pri kalicah, je zanimivo, da so imela pozitiven vpliv na vsebnost fotosinteznih barvil. Tako pri kalicah kot tudi pri odraslih rastlinah ajde je na višjo aktivnost ETS v primerjavi s kontrolnimi kalicami in odraslimi rastlinami vplivalo obravnavanje s Se(IV)+I(V).

6 SKLEPI

Različne kemijske oblike Se in I ter njune kombinacije so različno vplivale na vsebnost barvil pri kalicah in semenih navadne ajde. Pri odraslih rastlinah pa ni bilo vpliva različnih obravnavanj s Se in I na vsebnost barvil tako pri 1. kot tudi pri 2. meritvi. V primerjavi s kontrolnimi kalicami je bila vsebnost kl *a* in karotenoidov višja pri kalicah, katerih semena so bila obravnavana s Se(IV), I(V) in njuno kombinacijo. Na povišanje vsebnosti antocianov je pri kalicah in semenih vplivalo obravnavanje s Se(VI) v primerjavi s kontrolnimi kalicami in semeni. Pri semenih so različna obravnavanja vplivala na povišanje vsebnosti kl *b*, karotenoidov in antocianov. Glede na dobljene rezultate lahko potrdimo postavljeno hipotezo.

Različne kemijske oblike Se in I ter njune kombinacije so različno vplivale na dihalni potencial pri kalicah, odraslih rastlinah in semenih navadne ajde, s čimer lahko potrdimo postavljeno hipotezo. Pri kalicah in odraslih rastlinah je na višjo aktivnost ETS vplivalo obravnavanje s Se(IV)+I(V) v primerjavi s kontrolnimi kalicami oz. odraslimi rastlinami. Pri odraslih rastlinah so imele višjo aktivnost ETS še rastline, ki so bile posamezno obravnavane z I(V), Se(IV)+I(-1), Se(VI)+I(-1) in s Se(VI)+I(V) v primerjavi s kontrolnimi rastlinami. Višjo aktivnost ETS so pri semenih imela semena, katerih odrasle rastline so bile obravnavane s Se(VI)+I(V) v primerjavi s kontrolnimi semeni.

Različna obravnavanja s Se in I v večini niso imela vpliva na potencialno fotokemično učinkovitost tako pri kalicah kot tudi pri odraslih rastlinah navadne ajde, s čimer ne moremo potrditi postavljene hipoteze. Samo obravnavanje s Se(IV)+I(-1) je pri kalicah vplivalo na nižjo potencialno fotokemično učinkovitost v primerjavi s kontrolnimi kalicami. Prav tako ni bilo vpliva različnih obravnavanj s Se in I na dejansko fotokemično učinkovitost pri odraslih rastlinah.

Različna obravnavanja s Se in I tudi niso vplivala na rast kalic in odraslih rastlin navadne ajde ter na maso semen, kar ne potrjuje naše postavljene hipoteze. Pri kalicah so imele kalice, katerih semena so bila obravnavana s posameznimi različnimi oblikami Se in I ter njunima kombinacijama večjo, vendar statistično neznačilno maso ene kalice v primerjavi s kontrolnimi kalicami. Odrasle rastline so dosegle višino med 120 in 140 cm ne glede na način

obravnavanja, kar pomeni, da so rastle v ugodnih razmerah. Suha masa semen je bila statistično neznačilno najvišja pri kontrolnih rastlinah ajde.

Različne kemijske oblike Se in I ter njune kombinacije in uporabljene koncentracije teh dveh elementov večinoma niso delovale negativno na izbrane biokemijske in fiziološke lastnosti ter na rast kalic in odraslih rastlin in v končni fazi na maso semen ajde. Zato tudi ne moremo izpostaviti določene kemijske oblike Se ali I oz. njune kombinacije, ki bi delovale bolj strupeno na naše poskusne rastline.

Odziv kalic, odraslih rastlin in semen na različne oblike Se in I ter njune kombinacije je bil različen in se je razlikoval med posameznimi merjenimi parametri. Tako so pri kalicah različna obravnavanja različno vplivala na vsebnost barvil, dihalni potencial in fotokemično učinkovitost. Pri odraslih rastlinah so podobna obravnavanja pri 1. in 2. meritvi vplivala le na dihalni potencial. Pri semenih pa so različna obravnavanja vplivala na vsebnost barvil in dihalni potencial. Na splošno smo pri naši raziskavi dobili zelo malo razlik med različnimi obravnavanji pri posameznem merjenem parametru tako pri kalicah, odraslih rastlinah kot tudi semenih ajde, na kar je mogoče vplivala nizka koncentracija dodatka Se in I.

7 POVZETEK

Se in I sta esencialna elementa za ljudi in živali, nujno potrebna za normalno delovanje ščitnice. V Sloveniji primanjkuje obeh elementov v tleh, zato je njuna vsebnost v kulturnih rastlinah majhna in posledično je vnos Se in I pri ljudeh s prehrano nezadosten. Eden od načinov, s katerim bi povečali vnos Se in I v prehransko verigo, je obogatitev kulturnih rastlin s tema dvema elementoma. Vpliv Se in I na rastline je le delno znan, skorajda pa ni podatkov o možni interakciji med obema elementoma.

V nalogi nas je zanimalo, kašen vpliv imajo različne oblike Se in I ter njune kombinacije na izbrane biokemijske in fiziološke lastnosti pri kalicah, odraslih rastlinah in semenih navadne ajde. Zanimal nas je tudi vpliv različnih obravnavanj s Se in I ter njunima kombinacijama na rast kalic in odraslih rastlin ter na pridelek ajde. Kalice smo vzgojili iz semen, ki smo jih posamezno namakali v kontrolni raztopini in v različnih raztopinah Se (Se(IV) in Se(VI) s koncentracijo 10 mg/L) in I (I(-1) in I(V) s koncentracijo 1000 mg/L) ter njunima kombinacijama v laboratoriju Biotehniške fakultete Oddelka za agronomijo. Odrasle rastline ajde smo vzgojili na poskusnem polju Biotehniške fakultete Oddelka za agronomijo iz neobravnavanih semen. Tik pred cvetenjem smo rastline foliarno škropili z raztopinami, s katerimi smo obravnavali tudi semena. Tako pri kalicah kot tudi odraslih rastlinah in semenih ajde smo merili vsebnost klorofila *a* in *b*, karotenoidov ter antocianov in aktivnost ETS. Pri kalicah in odraslih rastlinah smo merili še potencialno fotokemično učinkovitost fotosistema II. Dejansko fotokemično učinkovitost fotosistema II smo merili samo pri odraslih rastlinah. Na koncu poskusa na kalicah in odraslih rastlinah, smo opravili še rastno analizo in izmerili količino pridelka.

Rezultati so pokazali raznolik vpliv ali pa vpliva različnih oblik Se in I ter njunih kombinacij na merjene parametre pri kalicah, odraslih rastlinah in semenih ajde nismo ugotovili. Na značilno zvišanje kl *a* so pri kalicah vplivala posamezna obravnavanja s Se(IV), I(V) in Se(IV)+I(V). Poleg teh obravnavanj sta na značilno zvišanje karotenoidov pri kalicah vplivala še obravnavanja z I(-1) in s Se(IV)+I(-1). Na značilno zvišanje antocianov je pri kalicah vplivalo obravnavanje s Se(VI). Pri odraslih rastlinah ni bilo vpliva posameznih obravnavanj na vsebnost barvil. Obravnavanje s Se(VI)+I(V) je vplivalo na značilno zvišanje,

obravnavanje z I(V) pa na značilno znižanje kl *b* pri semenih. Na značilno zvišanje karotenoidov ni pri semenih vplivalo le obravnavanje s Se(IV). Značilno višja vsebnost antocianov je bila pri semenih prisotna pri obravnavanjih s Se(VI) in Se(IV)+I(-1). Aktivnost ETS je bila pri kalicah značilno višja pri obravnavanju s Se(IV)+I(V) in značilno nižja pri posameznih obravnavanjih s Se(IV), I(-1) in Se(VI)+I(V). Na značilno višjo aktivnosti ETS so pri odraslih rastlinah pri 1. in 2. meritvi vplivala posamezna obravnavanja z I(V), Se(IV)+I(-1) in Se(IV)+I(V) ter Se(VI)+I(-1) pri 1. meritvi in Se(VI)+I(V) pri 2. meritvi. Slednje obravnavanje je vplivalo tudi na značilno višjo aktivnost ETS pri semenih. Pri fotokemični učinkovitosti fotosistema II smo ugotovili le značilno negativen vpliv obravnavanja s Se(IV)+I(-1) na potencialno fotokemično učinkovitost pri kalicah. Vpliva različnih obravnavanj s Se in I ter njunima kombinacijama na rast kalic in odraslih rastlin ter na končni pridelek ajde nismo ugotovili.

Glede na to, da večinoma nismo ugotovili negativnih učinkov posameznega obravnavanja s Se in I ter njunima kombinacijama na merjene parametre tako pri kalicah kot tudi odraslih rastlinah in semenih, lahko rečemo, da poskusne rastline niso bile v stresu in da uporabljene koncentracije in oblike Se in I ter njune kombinacije niso učinkovale negativno.

8 VIRI

- Akbulut M., Cakir S. 2010. The effects of Se phytotoxicity on the antioxidant systems of leaf tissues in barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48: 160-166
- Amweg L. E., Stuart L. D., Weston P. D. 2003. Comparative bioavailability of selenium to aquatic organisms after biological treatment of agricultural drainage water. *Aquatic Toxicology*, 63: 13-25
- Barceloux G. D. 1999. Selenium. *Clinical Toxicology*, 37, 2: 145-172
- Blasco B., Ríos J. J., Leyva R., Melgarejo R., Constán-Aguilar C., Sánchez-Rodríguez E., Rubio-Wilhelmi M. M., Romero L., Ruiz M. J. 2011a. Photosynthesis and metabolism of sugars from lettuce plants (*Lactuca sativa* L. var *longifolia*) subjected to biofortification with iodine. *Plant Growth Regulation*, 65: 137-143
- Blasco B., Ríos J. J., Leyva R., Cervilla M. L., Sánchez-Rodríguez E., Rubio-Wilhelmi M. M., Rosales A. M., Ruiz M. J., Romero L. 2011b. Does iodine biofortification affect oxidative metabolism in lettuce plants? *Biological Trace Element Research*, 142: 831-842
- Blasco B., Ríos J. J., Cervilla M. L., Sánchez-Rodríguez E., Rubio-Wilhelmi M. M., Rosales A. M., Romero L., Ruiz M. J. 2011c. Iodine application affects nitrogen-use efficiency of lettuce plants (*Lactuca sativa* L.). *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B – Soil and Plant Science*, 61: 378-383
- Blasco B., Ríos J. J., Sánchez-Rodríguez E., Rubio-Wilhelmi M. M., Leyva R., Romero L., Ruiz M. J. 2012. Study of the interactions between iodine and mineral nutrients in lettuce plants. *Journal of Plant Nutrition*, 35: 1958-1969
- Borst Pauwels H. F. W. G. Iodine as a micronutrient for plants. *Plant and Soil*, 14, 4: 377-392

- Brenčič J., Lazarini F. 1995. Splošna in anorganska kemija. Ljubljana, DZS: 220 str.
- Breznik B., Germ M., Gaberščik A., Kreft I. 2005. Combined effects of elevated UV-B radiation and addition of selenium on common (*Fagopyrum esculentum* Moench) and tartary (*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.) buckwheat. *Photosynthetica*, 43, 4: 583-589
- Brown A. T., Shrift A. 1982. Selenium: toxicity and tolerance in higher plants. *Biological Reviews.*, 57: 59-84
- Dai L. J., Zhu G. Y., Huang Z. Y., Zhang M., Song L. J. 2006. Availability of iodide and iodate to spinach (*Spinacia oleracea* L.) in relation to total iodine in soil solution. *Plant and Soil*, 289: 301-308
- Ellis R. D., Salt E. D. 2003. Plants, selenium and human health. *Current Opinion in Plant Biology*, 6: 273-279
- Fordyce F. M. 2013. Selenium deficiency and toxicity in the environment. *Essentials of Medical Geology*, 375-413
- Fuge R. 2005. Soils and iodine deficiency. *Essentials of Medical Geology*, 417-433
- Germ M., Kreft I., Stibilj V., Urbanc-Berčič O. 2007a. Combined effects of selenium and drought on photosynthesis and mitochondrial respiration in potato. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45: 162-167
- Germ M., Stibilj V., Kreft I. 2007b. Metabolic importance of selenium for plants. *The European Journal of Plant Science and Biotechnology*, 1, 1: 91-97
- Germ M., Stibilj V., Osvald J., Kreft I. 2007c. Effect of selenium foliar application on chicory (*Cichorium intybus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 795-798
- Germ M., Stibilj V. 2007. Selenium and plants. *Acta agriculturae Slovenica*, 89 – 1, 65-71

- Hartikainen H., Xue T., Piironen V. 2000. Selenium as an anti-oxidant and pro-oxidant in ryegrass. *Plant and Soil*, 225: 193-200
- Hawrylak-Nowak B. 2008. Changes in Anthocyanin Content as Indicator of Maize Sensitivity to Selenium. *Journal of Plant Nutrition*, 31: 1232-1242
- Hawrylak-Nowak B. 2013. Comparative effects of selenite and selenate on growth and selenium accumulation in lettuce plants under hydroponic conditions. *Plant Growth Regulation*, 70: 149-157
- Hurrell R. F. 1997. Bioavailability of iodine. *European journal of clinical nutrition*, 51, 1: 9-12
- Ilin A., Nersesyan A. 2013. Toxicology of iodine: A mini review. *Archive of Oncology*, 21, 2: 65-71
- Kabata-Pendias A., Pendias H. 2001. Trace Elements in soils (3rd Edn). Boca Raton, CRC Press: 413 str.
- Kato S., Wachi T., Yoshihira K., Nakagawa T., Ishikawa A., Takagi D., Tezuka A., Yoshida H., Yoshida S., Sekimoto H., Takahashi M. 2013. Rice (*Oryza sativa* L.) roots have iodate reduction activity in response to iodine. *Frontiers in Plant Science*, 4: 1-11
- Kenner A. R., Ahmed I. S. 1975. Measurements of electron transport activities in marine phytoplankton. *Marine Biology*, 33, 2: 119-127
- Khare M., Guruprasad K. N. 1993. UV-B induced anthocyanin synthesis in maize regulated by FMN and inhibitors of FMN photoreactions. *Plant Science*, 91, 1: 1-5
- Kopsell A. D., Kopsell E. D. 2007. Selenium. V: Handbook of plant Nutrition. Barker A. V., Pilbeam D. J. (eds.). Boca Raton, CRC/Taylor & Francis, 515-549

Kuznetsov V. Vas., Kholodova P. V., Kuznetsov V. V., Yagodin A. B. 2003. Selenium Regulates the Water Status of Plants Exposed to Drought. *Doklady Biological Sciences*, 390: 266-268

Kreft I. 1995. Ajda. Ljubljana, ČZD Kmečki glas: 112 str.

Läuchli A. 1993. Selenium in plants – uptake, functions, and environmental toxicity. *Botanica Acta*, 106, 6: 455-468

Leblanc C., Colin C., Cosse A., Delage L., La Barre S., Morin P., Fiévet B., Voiseux C., Ambroise Y., Verhaeghe E., Amouroux D., Donard O., Tessier E., Potin P. 2006. Iodine transfers in the coastal marine environment: the key role of brown algae and of their vanadium-dependent haloperoxidases. *Biochimie*, 88: 1773-1785

LeDuc L. D., AbdelSamie M., Montes-Bayon M., Wu P. C., Reisinger J. S., Terry N. 2006. Overexpressing both ATP sulfurylase and selenocysteine methyltransferase enhances selenium phytoremediation traits in Indian mustard. *Environmental Pollution*, 144: 70-76

Lehr J. J., Wybenga M. J., Rosanow M. 1958. Iodine as a micronutrient for tomatoes. *Plant Physiology*, 33,6: 421-427

Leyva R., Sánchez-Rodríguez E., Ríos J. J., Rubio-Wilhelmi M. M., Romero L., Ruiz M. J., Blasco B. 2011. Beneficial effects of exogenous iodine in lettuce plants subjected to salinity stress. *Plant Science*, 181: 195-202

Lichtenthaler H.K., Buschmann C. 2001a. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterisation by UV-VIS spectroscopy. V: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley&Sons (eds.). Madison, F4.3.1-F4.3.8: 8 str.

Lichtenthaler H.K., Buschmann C. 2001b. Extraction of photosynthetic tissues: Chlorophylls and carotenoids. V: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley&Sons (eds.). Madison, F4.2.1-F4.2.6: 6 str.

- Mackowiak L. C., Grossl R. P., Cook L. K. 2005. Iodine toxicity in a plant-solution system with and without humic acid. *Plant and Soil*, 269: 141-150
- Mazej Z., Gaberščik A. 1999. ETS-Activity as a Measure of Vitality of Different Macrophyte Species. *Phyton Special issue: Plant Physiology*, 39, 3: 181-185
- Mechora Š., Stibilj V., Radešček T., Gaberščik A., Germ M. 2011. Impact of Se (VI) fertilization on Se concentration in different parts of red cabbage plants. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 9, 2: 357-361
- Mechora Š., Stibilj V., Germ M. 2014. Response of duckweed to various concentrations of selenite. *Environmental Science and Pollution Research*, 22: 2416-2422
- Muramatsu Y., Christoffers D., Ohmomo Y. 1983. Influence of chemical forms on iodine uptake by plant. *Journal of Radiation Research*, 24: 326-338
- Nowak J., Kaklewski K., Ligocki M. 2004. Influence of selenium on oxidoreductive enzymes activity in soil and in plants. *Soil Biology & Biochemistry*, 36: 1553-1558
- Ožbolt L., Kreft S., Kreft I., Germ M., Stibilj V. 2008. Distribution of selenium and phenolics in buckwheat plants grown from seeds soaked in Se solution and under different levels of UV-B radiation. *Food Chemistry*, 110: 691-696
- Packard T. T. 1971. The measurement of respiratory electron-transport activity in marine phytoplankton. *Journal of Marine Research*, 29, 3: 235-244
- Packard T. T. 1985. Measurement of electron transport activity of microplankton. V: *Advances in Aquatic Microbiology*. Jannasch H., Williams P. J. le. B. (eds.). Academic Press Harcourt Brace Jovanovich Publishers, London: 207-261

- Patrick L. 2004. Selenium Biochemistry and Cancer: A review of the Literature. *Alternative Medicine Review*, 9, 3: 239-258
- Pennanen A., Xue T., Hartikainen H. 2002. Protective role of selenium in plant subjected to severe UV irradiation stress. *Journal of Applied Botany – Angewandte Botanik*, 76: 66-76
- Reilly C. 2006. *Selenium in Food and Health* (2nd Edn). New York, Springer Science+Business Media, LLC: 206 str.
- Schreiber U., Bilger W., Hormann H., Neubauer C. 1998. Chlorophyll fluorescence as a diagnostic tool: basics and some aspects of practical relevance. V: *Photosynthesis, a Comprehensive Treatise*. Rghavendra S. A. (eds.). University Press, Cambridge, 320-336
- Shamberger J. R. 1981. Selenium in the environment. *Science of The Total Environment*, 17, 1: 59-74
- Smoleń S., Rożek S., Ledwożyw-Smoleń I., Strzetelski P. 2011. Preliminary evaluation of the influence of soil fertilization and foliar nutrition with iodine on the efficiency of iodine biofortification and chemical composition of lettuce. *Journal of Elementology*, 613-622
- Smoleń S., Sady W. 2012. Influence of iodine form and application method on the effectiveness of iodine biofortification, nitrogen metabolism as well as the content of mineral nutrients and heavy metals in spinach plants (*Spinacia oleracea* L.). *Scientia Horticulturae*, 143: 176-183
- Smoleń S., Kowalska I., Sady W. 2014. Assessment of biofortification with iodine and selenium of lettuce cultivated in the NFT hydroponic system. *Scientia Horticulturae*, 166: 9-16
- Smrkolj P., Germ M., Kreft I., Stibilj V. 2006. Respiratory potential and Se compounds in pea (*Pisum sativum* L.) plants grown from Se-enriched seeds. *Journal of Experimental Botany*, 57, 14: 3595-3600

- Strzetelski P., Smoleń S., Rożek S., Sady W. 2010. The effect of diverse iodine fertilization on nitrate accumulation and content of selected compounds in radish plants (*Raphanus sativus* L.). *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 9,2: 65-73
- Sutorović Z., Švarc-Gajić J., Marjanović N., Kravić S. 2005. Development of a chronopotentiometric stripping method for the determination of selenium in mixed diets. *Food Chemistry*, 92: 771-776
- Tadina N., Germ M., Kreft I., Breznik B., Gaberščik A. 2007. Effects of water deficit and selenium on common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.) plants. *Photosynthetica*, 45, 3: 472-476
- Terry N., Zayed M. A., Souza de P. M., Tarun S. A. 2000. Selenium in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51: 401-432
- Tinggi U. 2003. Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: a review. *Toxicology Letters*, 137: 103-110
- Trinidad García Osuna H., Benavides Mendoza A., Rivas Morales C., Morales Rubio E., Verde Star J., Ruvalcaba M. R. 2014. Iodine application increased ascorbic acid content and modified the vascular tissue in *Opuntia ficus-indica* L.. *Pakistan Journal of Botany*, 46, 1: 127-134
- Valdez Barillas J. R., Quinn F. C., Pilon-Smits A. H. E. 2011. Selenium accumulation in plants – phytotechnological applications and ecological implications. *International Journal of Phytoremediation*, 13 (S1): 1-13
- Venturi S., Donati M. F., Venturi M., Venturi A., Grossi L., Guidi A. 2000. Role of iodine in evolution and carcinogenesis of thyroid, breast and stomach. *Advances in Clinical Pathology*, 4,1: 11-17

Weng H., Hong C., Xia T., Bao L., Liu H., Li D. 2013. Iodine biofortification of vegetable plants – an innovative method for iodine supplementation. *Chinese Science Bulletin*, 58, 17: 2066-2072

Whitehead C. D. 1984. The distribution and transformations of iodine in the environment. *Environment International*, 10, 4: 321-339

Xue T., Hartikainen H., Piironen V. 2001. Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. *Plant and Soil*, 237: 55-61

Zhu Y.-G., Huang Y.-Z., Hu Y., Liu Y.-X. 2003. Iodine uptake by spinach (*Spinacia oleracea* L.) plants grown in solution culture: effects of iodine species and solution concentrations. *Environment International*, 29: 33-37

Zhu Y.-G., Huang Y., Hu Y., Liu Y., Christie P. 2004. Interactions between selenium and iodine uptake by spinach (*Spinacia oleracea* L.) in solution culture. *Plant and Soil*, 261: 99-105

Zia H. M., Watts J. M., Gardner A., Chenery R. S. 2014. Iodine status of soils, grain crops, and irrigation waters in Pakistan. *Environmental Earth Sciences*, DOI 10.1007/s12665-014-3952-8: 14 str.

Žnidarčič D. 2011. Selen in njegove zvrsti v okolju. *Acta agriculturae Slovenica*, 97,1: 73-83

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici izr. prof. dr. Mateji Germ za pomoč pri izvedbi poskusa, strokovne nasvete, literaturo ter razumevanje in usmerjanje pri pisanju magistrskega dela. Velika hvala za hitro odzivnost, prijaznost in dostopnost.

Prof. dr. Nini Kacjan Maršič se zahvaljujem za praktično pomoč in strokovne nasvete pri izvedbi poskusa ter za pomoč pri statistični obdelavi podatkov.

Zahvaljujem se prof. dr. Vekoslavi Stibilj za pripravo raztopin selena in joda, ki smo jih uporabili pri poskusu.

Hvala kolegici Marjetki Pirc, mladi raziskovalki Aleksandri Golob in tehničnemu sodelavcu Draganu Abramcu za pomoč pri praktični izvedbi poskusa.

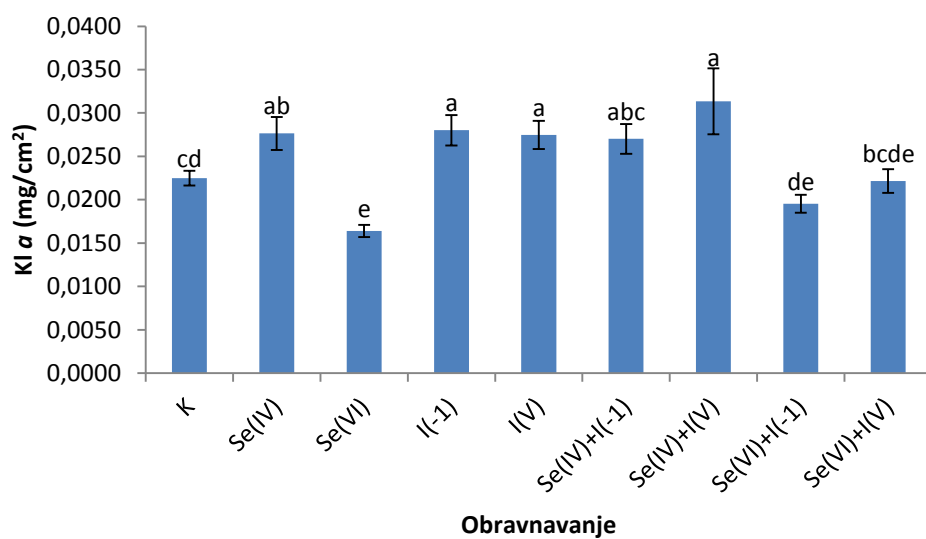
Posebna zahvala gre moji družini za vso podporo, ki sem je bila deležna tekom študija in v času pisanja magistrskega dela. Hvala staršem, ki so mi študij sploh omogočili. Bratu se zahvaljujem za marsikateri koristen nasvet.

Marko hvala, ker si mi potrpežljivo stal ob strani tekom študija in v času pisanja magistrskega dela. Hvala ti tudi za pomoč pri praktični izvedbi poskusa. S tabo je bilo veliko lažje in bolj zabavno. Zahvaljujem se tudi tvojim staršem za podporo.

PRILOGE

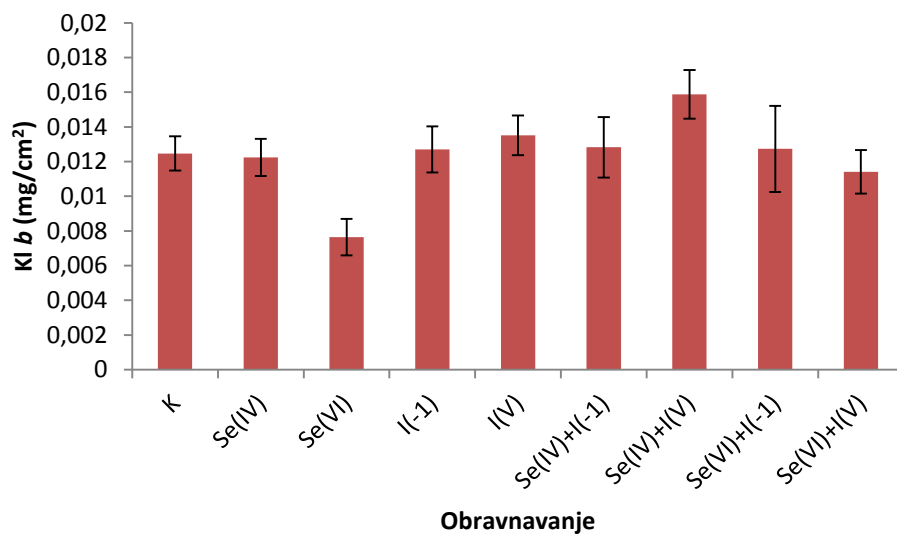
Priloga A: Vsebnost klorofila *a* na enoto površine lista pri kalicah ajde

Povprečne vrednosti klorofila *a* na površino lista \pm SE, $n = 4-8$. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji ($P \leq 0,05$).



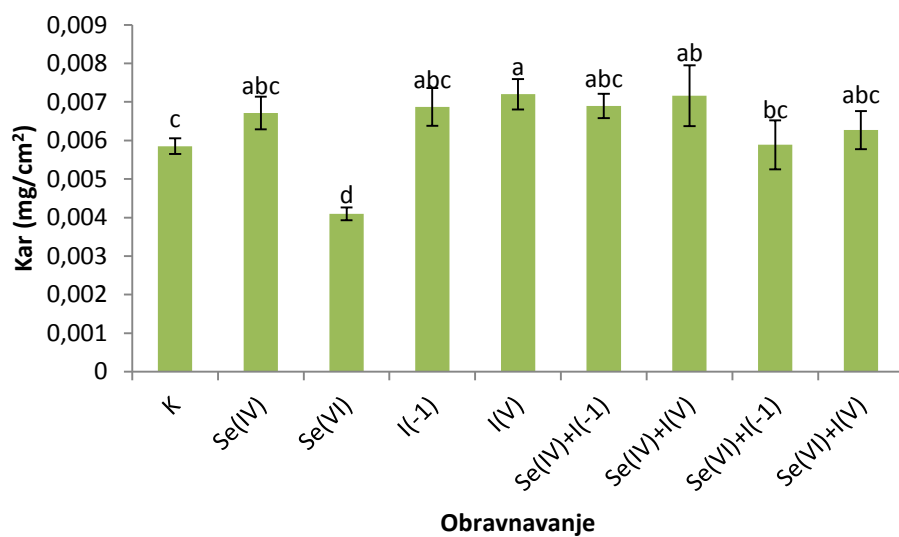
Priloga B: Vsebnost klorofila *b* na enoto površine lista pri kalicah ajde

Povprečne vrednosti klorofila *b* na površino lista \pm SE, $n = 4-8$. Stolpci niso označeni s črkami, ker med posameznimi obravnavanji ni statistično značilnih razlik ($P > 0,05$).



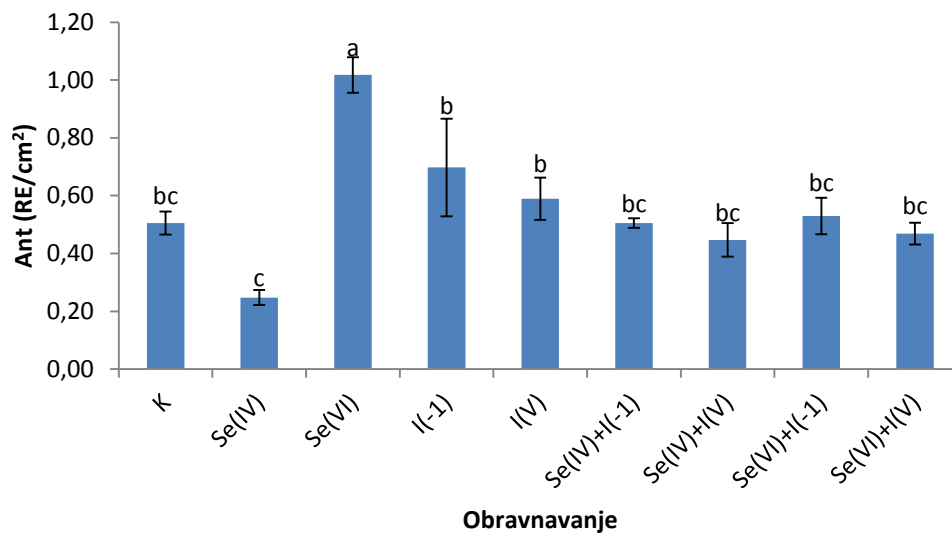
Priloga C: Vsebnost karotenoidov na enoto površine lista pri kalicah ajde

Povprečne vrednosti karotenoidov na površino lista \pm SE, n = 4-8. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji ($P \leq 0,05$).



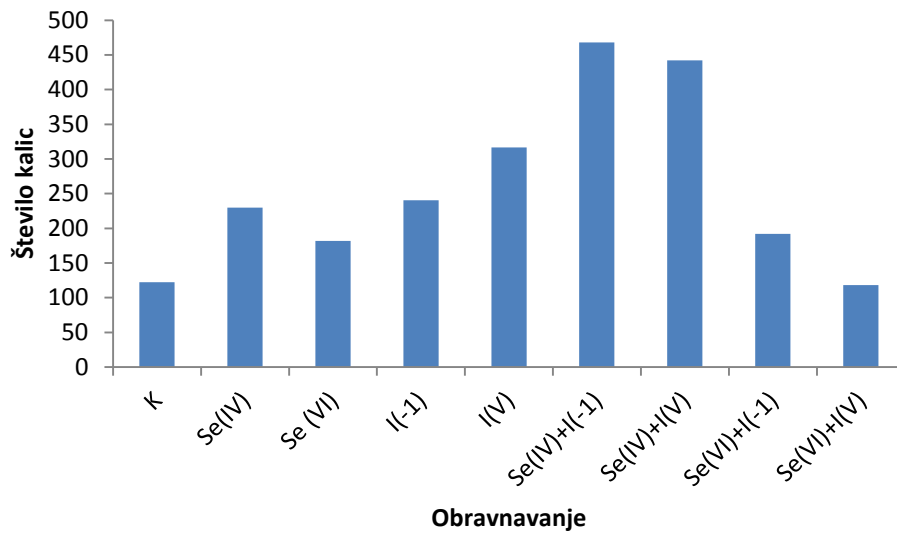
Priloga D: Vsebnost antocianov na enoto površine lista pri kalicah ajde

Povprečne vrednosti antocianov na površino lista \pm SE, $n = 4-8$. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji ($P \leq 0,05$).



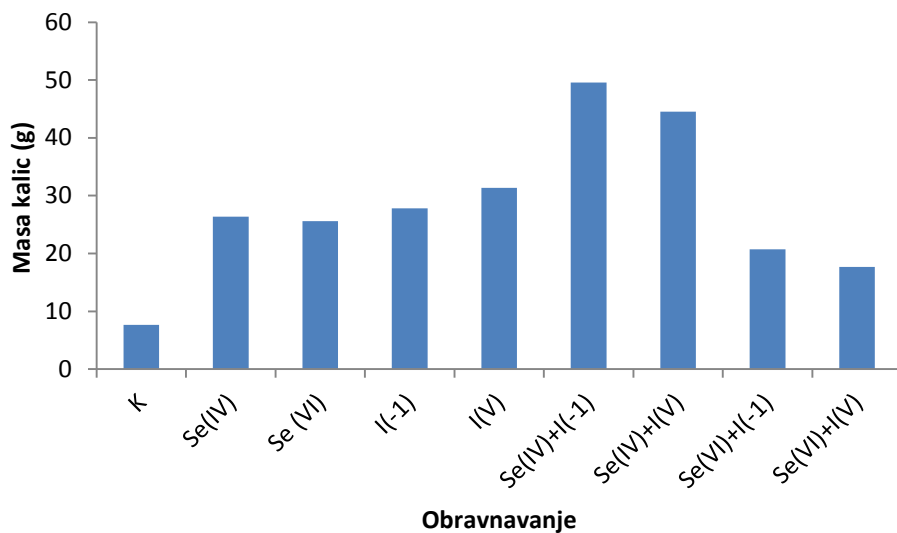
Priloga E: Število kalic

Število vseh kalic, ki je vzklilo iz semen, ki so bila obravnavana z različnimi oblikami Se in I ter kontrolo. Pri K, I(-1) in I(V) so prikazane povprečne vrednosti iz dveh ponovitev, pri ostalih obravnavanjih pa so prikazane vrednosti iz ene ponovitve.



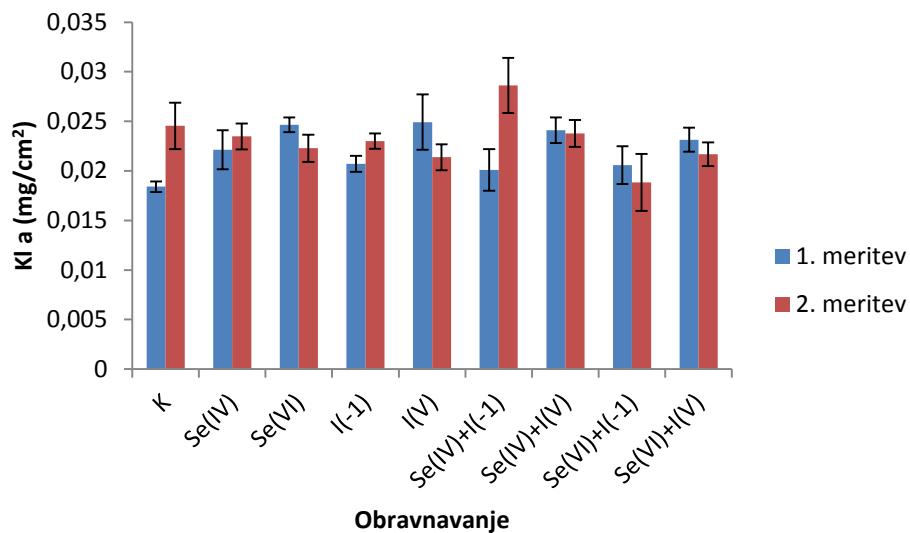
Priloga F: Masa kalic

Masa vseh kalic, ki so vzklila iz semen, ki so bila obravnavan z različnimi oblikami Se in I ter kontrolo. Pri K, I(-1) in I(V) so prikazane povprečne vrednosti iz dveh ponovitev, pri ostalih obravnavanjih pa so prikazane vrednosti iz ene ponovitve.



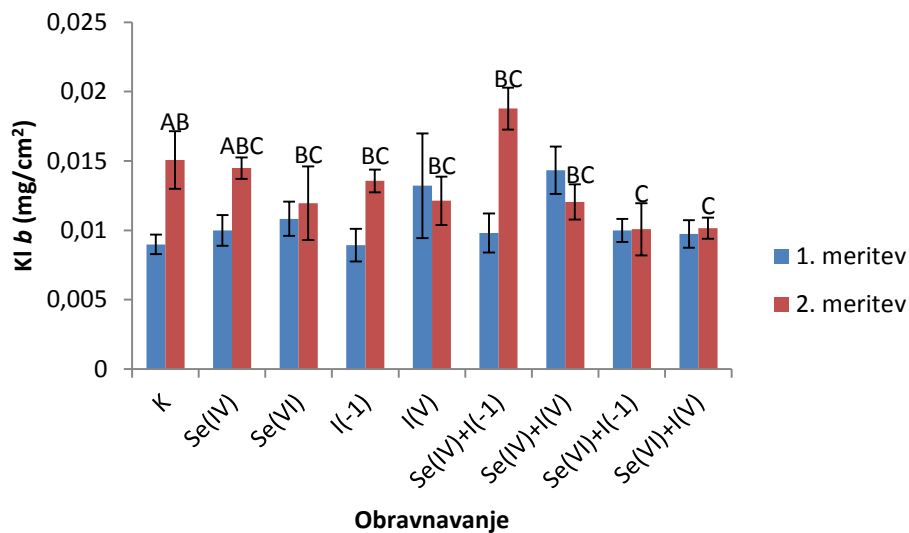
Priloga G: Vsebnost klorofila *a* na enoto površine lista pri odraslih rastlinah ajde

Povprečne vrednosti klorofila *a* na površino lista \pm SE, $n = 4$. Stolpci niso označeni s črkami, ker ni statistično značilnih razlik med posameznimi obravnavanji, posebej pri 1. in 2. meritvi ($P > 0,05$).



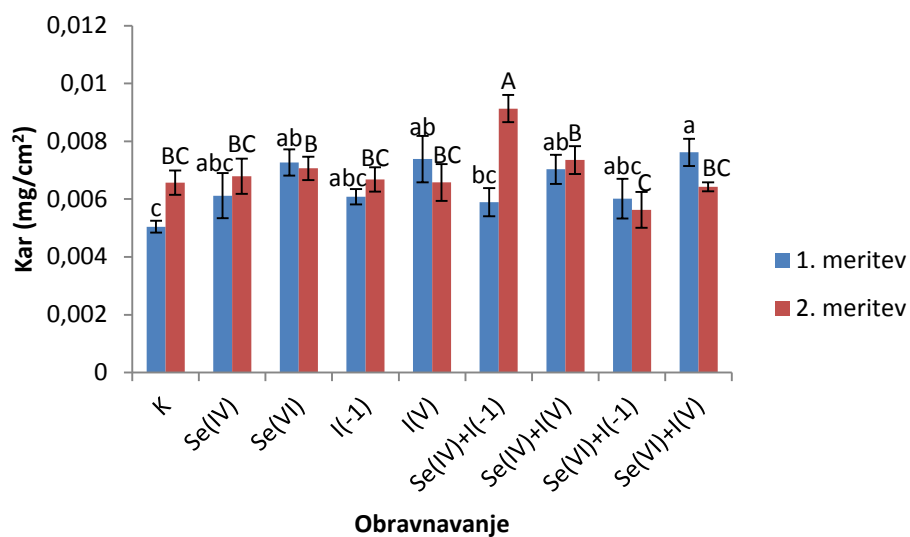
Priloga H: Vsebnost klorofila *b* na enoto površine lista pri odraslih rastlinah ajde

Povprečne vrednosti klorofila *b* na površino lista \pm SE, $n = 4$. Stolpci pri 1. meritvi niso označeni s črkami, ker ni statistično značilnih razlik med posameznimi obravnavanji. Pri 2. meritvi so stolpci, ki so označeni z različnimi črkami statistično značilno različni ($P \leq 0,05$).



Priloga I: Vsebnost karotenoidov na enoto površine lista pri odraslih rastlinah ajde

Povprečne vrednosti karotenoidov na površino lista \pm SE, n = 4. Različne male tiskane črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji pri 1. meritvi. Pri 2. meritvi pa označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji različne velike tiskane črke ($P \leq 0,05$).



Priloga J: Vsebnost antocianov na enoto površine lista pri odraslih rastlinah ajde

Povprečne vrednosti antocianov na površino lista \pm SE, $n = 4$. Stolpci niso označeni s črkami, ker ni statistično značilnih razlik med posameznimi obravnavanji, posebej pri 1. in 2. meritvi ($P > 0,05$).

