

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Judita TURK

**VPLIV SELENA IN SEVANJA UV-B
NA DVE VRSTI AJDE**

Magistrsko delo
(Magistrski študij Ekologija in biodiverziteteta – 2. stopnja)

Ljubljana, 2013

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Judita TURK

**VPLIV SELENA IN SEVANJA UV-B
NA DVE VRSTI AJDE**

Magistrsko delo
(Magistrski študij Ekologija in biodiverziteta – 2. stopnja)

**IMPACT OF SELENIUM AND UV-B RADIATION
ON TWO BUCKWHEAT SPECIES**

M. Sc. Thesis
(Master Study Programmes Ecology and biodiversity)

Ljubljana, 2013

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

Senat Oddelka za biologijo je na predlog Komisije za študij 1. in 2. stopnje 9. marca 2012 odobril temo magistrskega dela z naslovom Vpliv selena in sevanja UV-B na dve vrsti 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: doc. 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:

Podpisana se strinjam z objavo svojega dela na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je delo, ki sem ga oddala v elektronski obliki, identično tiskani verziji.

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Judita Turk

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Du2
DK UDK 581.5:633.12:546.23(043.2)=163.6
KG tatarska ajda/ *F. tataricum*/ hibridna ajda/ *F. hybridum*/ selen/ sevanje UV-B
AV TURK, Judita, diplomirana biologinja (UN)
SA GERM, Mateja (mentorica)
KZ SI-1000 Ljubljana, Večna pot 111
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo
LI 2013
IN VPLIV SELENA IN SEVANJA UV-B NA DVE VRSTI AJDE
TD Magistrsko delo (Magistrski študijski program – 2. stopnja)
OP XI, 53 str., 5 pregl., 29 sl., 6 pril., 45 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI Namen magistrskega dela je bil ugotoviti, kako dodatek selena (Se) in sevanje UV-B vplivata na tatarsko in hibridno ajdo. Na polju Biotehniške fakultete smo gojili obe vrsti ajde in ju izpostavili štirim različnim obravnavanjem glede na količino sevanja UV (naravno ali znižano) ter dodan Se (naravno dostopen ali foliarno dodan kot natrijev selenat). Merili smo vsebnost barvil (klorofila *a* in *b*, karotenoidov in antocianov) in UV absorbirajočih snovi, stopnjo transpiracije, fotokemično učinkovitost fotosistema II (FS II) in dihalni potencial s pomočjo aktivnosti elektronskega transportnega sistema (ETS). Na koncu poskusa smo določili biomaso posameznih rastlinskih delov. Rezultati so pokazali, da je dodani Se ne glede na vrsto ajde znižal vsebnosti klorofila *a* in karotenoidov ter zmanjšal potencialno fotokemično učinkovitost FS II, povečal pa je dejansko fotokemično učinkovitost FS II in stopnjo transpiracije. Sevanje UV-B je zmanjšalo transpiracijo in dihalni potencial ter povečalo potencialno fotokemično učinkovitost FS II in vsebnost antocianov. Dodan Se je imel delen omilitveni učinek na posledice sevanja UV-B, saj je povečal transpiracijo, medtem ko je zmanjšal pridelek. Se in sevanje UV-B kot samostojna dejavnika nista imela vpliva na pridelek ajde. Hibridna ajda je imela večjo fiziološko aktivnost od tatarske, a manjšo biomaso rastlinskih delov, vključno z manjšim pridelkom. Sevanje UV-B je na hibridno ajdo delovalo nekoliko negativno, na tatarsko ajdo pa ni imelo opaznega negativnega vpliva. Preučevani vrsti sta se podobno odzvali na dodan selenat.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Du2
DC UDK 581.5:633.12:546.23(043.2)=163.6
CX Tartary buckwheat/ *F. tataricum*/ hybrid buckwheat/ *F. hybridum*/ selenium/
UV-B radiation
AU TURK, Judita, graduated biologist (University Programme)
AA GERM, Mateja (supervisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Večna pot 111
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Biology
PY 2013
TI IMPACT OF SELENIUM AND UV-B RADIATION ON TWO BUCKWHEAT
SPECIES
DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes)
NO XI, 53 p., 5 tab., 29 fig., 6 ann., 45 ref.
LA sl
AL sl/en
AB The aim of the master thesis was to study the impact of the addition of selenium (Se) and UV-B radiation on Tartary and hybrid buckwheat. At the experimental field of the Biotechnical Faculty we grew both species, that were exposed to four different treatments regarding the quantity of UV radiation (ambient or reduced) and added Se (naturally accessible or foliary treated with Na selenate). We measured the content of pigments (chlorophyll *a* and *b*, carotenoids, anthocyanins) and UV absorbing compounds, transpiration rate, photochemical efficiency of PS II as well as respiratory potential (electron transport system (ETS) activity). At the end of experiment we determined the biomass of different plant parts. The results have shown that irrespective of the buckwheat species the added Se lowered the content of chlorophyll *a* and carotenoids and reduced the potential quantum yield of PS II, while it increased the effective quantum yield of PS II and transpiration rate. UV-B radiation reduced the transpiration rate and respiratory potential, while it increased the potential quantum yield of PS II and the content of anthocyanins. The added Se alleviated the damage caused by UV-B radiation since it increased transpiration rate while it reduced the yield. Se and UV-B radiation as independent factors exerted no impact on buckwheat yield. Hybrid buckwheat had a higher physiological activity than the Tartary buckwheat yet a smaller biomass of plant parts, including reduced yield. UV-B radiation had a partly negative impact on hybrid buckwheat while it had no noticeable negative impact on Tartary buckwheat. The species studied reacted similarly to the added selenate.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	II
KEY WORDS DOCUMENTATION	III
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	VIII
KAZALO PRILOG	X
SLOVARČEK	XI
1 UVOD	1
1.1 NAMEN NALOGE	1
1.2 DELOVNE HIPOTEZE	1
2 PREGLED OBJAV	2
2.1 SEVANJE UV-B	2
2.1.1 Sevanje UV in ozonska plast	2
2.1.2 Oksidativni stres in antioksidanti	2
2.2 SELEN	3
2.2.1 Esencialen element za ljudi in živali	3
2.2.2 Vpliv selena na rastline	4
2.3 AJDA	4
2.3.1 Opis rastline in vrste ajde	4
2.3.2 Pomen ajde v prehrani	5
2.3.3 Vpliv selena in sevanja UV-B na ajdo	6
3 MATERIAL IN METODE	7
3.1 PRIPRAVA IN POTEK POSKUSA	7
3.2 MERITVE	9
3.3 LABORATORIJSKE ANALIZE	9
3.3.1 Klorofili in karotenoidi	10
3.3.2 Antocijani	10
3.3.3 UV absorbirajoče snovi	11
3.3.4 Aktivnost elektronskega transportnega sistema (ETS)	11
3.4 MERITVE NA TERENU	12
3.4.1 Transpiracija	12
3.4.2 Fotokemična učinkovitost fotosistema II	13
3.4 STATISTIČNA OBDELAVA	13

4 REZULTATI	14
4.1 BIOKEMIJSKE IN FIZIOLOŠKE ZNAČILNOSTI RASTLIN PRED FOLIARNIM GNOJENJEM S SELENATOM	14
4.1.1 Vpliv sevanja UV-B na lastnosti obeh vrst ajde	15
4.1.2 Vpliv obravnavanj na lastnosti obeh vrst ajde	15
4.1.3 Interakcija med sevanjem UV-B in vrsto ajde	16
4.1.4 Homogenost rezultatov obravnavanj	17
4.2 BIOKEMIJSKE IN FIZIOLOŠKE ZNAČILNOSTI RASTLIN 1 TEDEN PO FOLIARNEM GNOJENJU S SELENATOM	18
4.2.1 Vpliv selenata na lastnosti obeh vrst ajde	18
4.2.2 Vpliv sevanja UV-B na lastnosti obeh vrst ajde	20
4.2.3 Vpliv obravnavanj na lastnosti obeh vrst ajde	20
4.2.4 Interakcija med sevanjem UV-B in vrsto ajde	21
4.2.5 Homogenost rezultatov obravnavanj	22
4.3 BIOKEMIJSKE IN FIZIOLOŠKE ZNAČILNOSTI RASTLIN 3 TEDNE PO FOLIARNEM GNOJENJU S SELENATOM	24
4.3.1 Vpliv selenata na lastnosti obeh vrst ajde	24
4.3.2 Vpliv sevanja UV-B na lastnosti obeh vrst ajde	26
4.3.3 Vpliv obravnavanj na lastnosti obeh vrst ajde	26
4.3.4 Interakcija med selenatom in sevanjem UV-B	28
4.3.5 Interakcija med sevanjem UV-B in vrsto ajde	29
4.3.6 Homogenost rezultatov obravnavanj	30
4.4 BIOMASA RASTLINSKIH DELOV OBEH VRST AJDE PO FOLIARNEM GNOJENJU S SELENATOM	32
4.4.1 Biomasa rastlinskih delov obeh vrst ajde po foliarnem gnojenju s selenatom – 1. merjenje	32
4.4.2 Biomasa rastlinskih delov obeh vrst ajde po foliarnem gnojenju s selenatom – 2. merjenje	33
4.5 SVETLOBNI SPEKTRI NA PROSTEM IN POD STREŠNIKI	37
5 RAZPRAVA	38
5.1 VPLIV DEJAVNIKOV NA BIOKEMIJSKE IN FIZIOLOŠKE LASTNOSTI RASTLIN OBEH VRST AJDE	38
5.1.1 Vpliv selenata na lastnosti rastlin obeh vrst ajde	38
5.1.2 Vpliv sevanja UV-B na lastnosti rastlin obeh vrst ajde	38
5.1.3 Vpliv obravnavanj na lastnosti obeh vrst ajde	39
5.1.4 Interakcije dejavnikov	40

5.2 VPLIV DEJAVNIKOV NA BIOMASO RASTLINSKIH DELOV OBEH	
VRST AJDE	42
5.2.1 Vpliv selenata na biomaso rastlinskih delov obeh vrst ajde	42
5.2.2 Vpliv sevanja UV-B na biomaso rastlinskih delov obeh vrst ajde	42
5.2.3 Vpliv obravnavanj na biomaso rastlinskih delov obeh vrst ajde	42
5.2.4 Interakcije dejavnikov	43
6 SKLEPI	45
7 POVZETEK	47
8 VIRI	49
ZAHVALA	
PRILOGE	

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: P-vrednosti za rezultate biokemijskih in fizioloških meritev pred foliarnim gnojenjem s selenatom pri obeh vrstah ajde	14
Preglednica 2: P-vrednosti za rezultate biokemijskih in fizioloških meritev 1 teden po foliarnem gnojenju s selenatom pri obeh vrstah ajde	18
Preglednica 3: P-vrednosti za rezultate biokemijskih in fizioloških meritev 3 tedne po foliarnem gnojenju s selenatom pri obeh vrstah ajde	24
Preglednica 4: P-vrednosti za rezultate 1. merjenja biomase rastlinskih delov obeh vrst ajde po foliarnem gnojenju s selenatom	32
Preglednica 5: P-vrednosti za rezultate 2. merjenja biomase rastlinskih delov obeh vrst ajde po foliarnem gnojenju s selenatom	33

KAZALO SLIK

Slika 1: Tlorisni prikaz razporeditve parcel na njivi, oznake parcel in obravnavanja	8
Slika 2: Potencialna fotokemična učinkovitost FS II in transpiracija glede na količino sevanja UV-B pri obeh vrstah ajde	15
Slika 3: Vsebnost karotenoidov in aktivnost ETS glede na vrsto ajde	16
Slika 4: Interakcija med vrstama ajde in količino sevanja UV-B pri merjeni vsebnosti antocianov	16
Slika 5: Transpiracija pri obeh vrstah ajde glede na dve različni obravnavanji	17
Slika 6: Vsebnost klorofila <i>a</i> in karotenoidov glede na dodan selenat pri obeh vrstah ajde	19
Slika 7: Dejanska fotokemična učinkovitost FS II in transpiracija glede na dodan selenat pri obeh vrstah ajde	19
Slika 8: Vsebnost antocianov glede na količino sevanja UV-B pri obeh vrstah ajde	20
Slika 9: Vsebnost UV-B in UV-A absorbirajočih snovi glede na vrsto ajde	20
Slika 10: Vsebnost antocianov in stopnja transpiracije glede na vrsto ajde	21
Slika 11: Interakcija med vrstama ajde in količino sevanja UV-B pri merjeni vsebnosti antocianov	21
Slika 12: Vsebnost antocianov pri obeh vrstah ajde glede na štiri različna obravnavanja	22
Slika 13: Transpiracija pri obeh vrstah ajde glede na štiri različna obravnavanja	23
Slika 14: Potencialna in dejanska fotokemična učinkovitost FS II glede na dodan selenat pri obeh vrstah ajde	25
Slika 15: Stopnja transpiracije glede na dodan selenat pri obeh vrstah ajde	25
Slika 16: Aktivnost ETS glede na količino sevanja UV-B pri obeh vrstah ajde	26
Slika 17: Vsebnost klorofila <i>a</i> , klorofila <i>b</i> in karotenoidov glede na vrsto ajde	27
Slika 18: Dejanska fotokemična učinkovitost FS II in transpiracija glede na vrsto ajde	28
Slika 19: Interakcija med dodanim selenatom in količino sevanja UV-B pri aktivnosti ETS obeh vrst ajde	28
Slika 20: Interakcija med vrsto ajde in količino sevanja UV-B pri merjeni vsebnosti antocianov	29
Slika 21: Interakcija med vrsto ajde in količino sevanja UV-B pri potencialni fotokemični učinkovitosti FS II	29

Slika 22: Potencialna in dejanska fotokemična učinkovitost FS II pri obeh vrstah ajde glede na štiri različna obravnavanja	30
Slika 23: Transpiracija pri obeh vrstah ajde glede na štiri različna obravnavanja	31
Slika 24: Interakcija med količino sevanja UV-B in dodanim selenatom pri biomasi semen obeh vrst ajde	32
Slika 25: Biomasa semen, stebel in korenin glede na vrsto ajde	34
Slika 26: Interakcija med količino sevanja UV-B in vrsto ajde pri biomasi semen	35
Slika 27: Biomasa semen obeh vrst ajde glede na štiri različna obravnavanja	36
Slika 28: Biomasa korenin obeh vrst ajde glede na štiri različna obravnavanja	36
Slika 29: Delež svetlobe, ki prehaja skozi UV+ in UV- strešnike, glede na sevalne razmere na prostem	37

KAZALO PRILOG

Priloga A: Povprečne vrednosti biokemijskih in fizioloških značilnosti rastlin obeh vrst ajde pred foliarnim gnojenjem s selenatom (1. sklop meritev)

Priloga B: Povprečne vrednosti biokemijskih in fizioloških značilnosti rastlin obeh vrst ajde 1 teden po foliarnem gnojenju s selenatom (2. sklop meritev)

Priloga C: Povprečne vrednosti biokemijskih in fizioloških značilnosti rastlin obeh vrst ajde 3 tedne po foliarnem gnojenju s selenatom (3. sklop meritev)

Priloga D: Povprečne vrednosti biomase rastlinskih delov obeh vrst ajde po foliarnem gnojenju s selenatom (1. merjenje)

Priloga E: Povprečne vrednosti biomase rastlinskih delov obeh vrst ajde po foliarnem gnojenju s selenatom (2. merjenje)

Priloga F: Fotografija eksperimentalnega polja (J. Turk)

SLOVARČEK

Ant	antociani
c_a, c_b	koncentracija klorofila <i>a</i> oz. <i>b</i>
E	ekstinkcija
ETS	elektronski transportni sistem
F	stabilno stanje fluorescence
F_0, F_m, F_v	minimalna, maksimalna in variabilna fluorescenca temotno adaptiranega vzorca
F_m'	maksimalna fluorescenca osvetljenega vzorca
FS II	fotosistem II
F_v/F_m	potencialna fotokemična učinkovitost fotosistema II
$\Delta F/F_m'$	dejanska fotokemična učinkovitost fotosistema II
H	hibridna ajda
Kar	karotenoidi
Kl <i>a</i> , Kl <i>b</i>	klorofil <i>a</i> , klorofil <i>b</i>
NADH	nikotinamid adenin dinukleotid
NADPH	nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
PDV	priporočen dnevni vnos
Se	selen
Se+	dodan selen (natrijev selenat)
Se-	brez dodatka selena (natrijevega selenata)
sm	suha masa
T	tatarska ajda
UV	ultravijolično
UV+	naravno sevanje UV-B
UV-	zmanjšano sevanje UV-B
UV abs	UV absorbirajoče snovi

1 UVOD

V večih predelih Evrope, tako kot v Sloveniji, primanjkuje selena (Se) v hrani za ljudi in v krmi zaradi pomanjkanja rastlinam dostopnega Se v tleh. Vsebnost Se se v ajdi lahko zelo spreminja v odvisnosti od razmer v okolju in načina pridelave. Možna je tudi dodatna obogatitev ajde s selenom. Se je v nizkih koncentracijah nujno potreben za živali in ljudi, saj ima pomembno antioksidativno vlogo, pri visokih koncentracijah pa deluje strupeno. Novejše raziskave so pokazale, da dodatek Se v nizkih koncentracijah pripomore k boljšemu stanju in večjemu pridelku rastlin.

Raziskave vpliva sevanja UV-B so že pokazale nekatere negativne učinke na rastline. Nekatere raziskave pa nakazujejo, da ima Se omilitveni učinek na rastline, ki so izpostavljene oksidativnemu stresu, ki je posledica UV-B sevanja. UV-B sevanje sproži povečano izgradnjo flavonoidov, ki imajo antioksidativno vlogo.

Ajda je rastlina, ki lahko zaradi velike vsebnosti antioksidantov uspeva tudi v razmerah, ki sicer ne ustrezajo drugim razširjenim poljščinam. Raziskovalci menijo, da bi ob hitrih spremembah podnebja, predvsem povečevanju količine sevanja UV-B, lahko postala alternativna poljščina, saj je pomemben vir antioksidantov v prehrani človeka.

1.1 NAMEN NALOGE

Glavni namen magistrske naloge je ugotoviti, kako dodatek selena (v raztopini natrijevega selenata) in sevanje UV-B ter kombinacija obeh dejavnikov vplivajo na izbrane biokemijske in fiziološke lastnosti tatarske (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) in hibridne ajde (*Fagopyrum hybridum*) ter vpliv na njun pridelek.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

Postavili smo naslednje hipoteze:

1. Dodan selenat bo vplival na biokemijske in fiziološke lastnosti obeh vrst ajde.
2. Dodan selenat bo imel pozitiven vpliv na pridelek obeh vrst ajde.
3. Sevanje UV-B bo imelo negativen vpliv na izbrane biokemijske in fiziološke lastnosti ter pridelek obeh vrst ajde.
4. Pričakujemo interakcijo dodanega selenata in sevanja UV-B pri obeh vrstah ajde.
5. Selenat bo omilil negativne posledice sevanja pri obeh vrstah ajde.
6. Preučevani vrsti ajde se bosta razlikovali v odzivu na dodan selenat in sevanje UV-B.

2 PREGLED OBJAV

2.1 SEVANJE UV-B

2.1.1 Sevanje UV in ozonska plast

Približno 7 % energije sončnega obsevanja predstavlja UV sevanje (200–400 nm), medtem ko je največji del energije sonca (92 %) v pasu vidne (400–750 nm) in infrardeče svetlobe (750–24000 nm). UV sevanje delimo na tri dele, in sicer sevanje UV-C (200–315 nm), ki se v celoti absorbira v stratosferi, ter sevanje UV-B (280–315 nm) in sevanje UV-A (315–400 nm), ki deloma dosežeta površje Zemlje. UV sevanje, ki pride na površje, je torej v območju 280–400 nm valovne dolžine (ARSO, 2005).

Plast ozona v stratosferi zadrži precejšen del UV sevanja, kar omogoča življenje na Zemlji. Po podatkih UNEP-a (2010) se ozonska plast v zadnjih desetletjih precej tanjša. Povprečne vrednosti količine ozona, merjene v obdobju 2006–2009, so sicer ostale nespremenjene glede na desetletje poprej, so pa za 2,5–3,5 % manjše v primerjavi z obdobjem 1964–1980. Količina UV sevanja na površini pa ni odvisna samo od debeline ozonske plasti, temveč tudi od klimatskih sprememb in kakovosti zraka v troposferi. Rezultati meritev za obdobje 1979–2008 kažejo na znatno povečano količino UV sevanja v primerjavi z obdobjem pred letom 1979. Obstajajo predvidevanja, da bi se ozonska plast v prihodnjih desetletjih sicer lahko obnovila, vendar le ob dosledni skrbi za naravo in upoštevanju protokolov.

2.1.2 Oksidativni stres in antioksidanti

Ena izmed posledic povišanega sevanja UV-B na organizme je nastanek prostih radikalov v celicah. Do nastanka prostih kisikovih in dušikovih radikalov sicer pride že v procesu oksidativnega metabolizma – dihanja. Škodljivi zunanji vplivi, kot so prevelika izpostavljenost sevanju UV-B, cigaretni dim, uživanje alkohola, določeni pesticidi, onesnažila in zdravila, itn. pa še dodatno povečajo kopičenje teh snovi. Antioksidanti so snovi, ki celice očistijo prostih radikalov. Zdrav organizem lahko vzdržuje ravnovesje med prostimi radikali in antioksidanti, medtem ko porušenje ravnovesja privede do pojava oksidativnega stresa (Machlin in Bendich, 1987; Institute of medicine..., 2000).

Oksidativni stres pri organizmih povzroči uničenje celičnih struktur, vključno z lipidi, membranami, proteini in nukleinskimi kislinami – DNK (Valko in sod., 2007; Fang in sod., 2002). Oksidativni stres je pri človeku pomemben povzročitelj številnih kroničnih bolezni, kot so rak, srčno-žilna obolenja, vnetja, Alzheimerjeva in Parkinsonova bolezen idr. Telo samo proizvaja številne antioksidante, ki čistijo celice škodljivih snovi, obstajajo pa tudi antioksidanti, ki jih samo telo ne proizvaja in jih mora dobiti z ustrežno prehrano. Esencialni nutrienti z antioksidativno funkcijo, ki lahko celice neposredno očistijo prostih radikalov, so vitamin E, vitamin C in β -karoten. Poleg njih pa so za človeka in živali esencialni tudi mnogi mikroelementi, ki so gradniki antioksidativnih encimov. Med njimi je tak element tudi selen, gradnik encima glutation peroksidaze, ki vstopa v procese odstranjevanja škodljivih snovi iz celic (Machlin in Bendich, 1987; Institute of medicine..., 2000).

2.2 SELEN

2.2.1 Esencialen element za ljudi in živali

Selen (Se) je za človeka in živali esencialen nutrient z antioksidativno vlogo. Pomanjkanje selena lahko povzroči resne zdravstvene težave, medtem ko je v visokih koncentracijah selen tudi strupen (Tinggi, 2003). Poleg tega, da uživanje s selenom bogate hrane zadosti osnovne potrebe po tem nutrientu, pa ima selen tudi dokazano vlogo pri preprečevanju določenih vrst raka: raka prostate, pljučnega in raka debelega črevesja (Ellis in Salt, 2003). Priporočen dnevni vnos (PDV) za odraslega človeka je 55 μg selena (Institute of medicine..., 2000). Živila, ki vsebujejo največ selena, so brazilski oreščki (en sam orešek že zadosti dnevno potrebo po selenu), morska hrana (školjke, ribe, raki, kozice), jetra, svinjina, sončnična semena in žita – med njimi štejejo tudi ajdo, čeprav ajda ni žito. V 100 g polnozrnatih ajdovih moka je približno 5,7 μg selena, kar je 10 % PDV (HealthAliciousNess, 2013).

Vsebnost selena v tleh se v veliki meri odraža kot preskrbljenost s selenom v človeški populaciji (Tinggi, 2003). V Sloveniji je zemlja revna s selenom (Pirc in Šajn, 1997), zato tudi hrana, ki jo pridelamo doma, ne vsebuje velikih količin selena. Primerna rešitev je obogatitev kulturnih rastlin s selenom, saj obstajajo mnogi dokazi, da rastline akumulirajo selen, in sicer v organski obliki, ki je primerna za človeka (Germ in Stibilj, 2007; Germ in sod., 2007).

2.2.2 Vpliv selena na rastline

Poleg tega, da je selen esencialen za ljudi in živali, pa obstajajo raziskave, ki so pokazale pozitivne učinke selena tudi na rastlinah, čeprav esencialnost selena za rastline ni dokazana. Selen je v številnih primerih omilil negativne učinke sevanja UV-B: zmanjšal padec biomase rastlin in povečal njihovo fiziološko aktivnost (Breznik in sod., 2005a; Breznik in sod., 2005b; Germ in sod., 2005; Yao in sod., 2011), upočasnil staranje in povečal vsebnost antioksidantov in aktivnost antioksidantskih encimov (Xue in sod., 2001; Yao in sod., 2011) ter pomagal rastlinam pri premagovanju sušnega stresa (Kuznetsov in sod., 2003; Yao in sod., 2012). So pa tudi primeri, kjer dodan selen ni imel bistvene vloge pri vitalnosti, biomasi in drugih lastnostih rastlin (Breznik in sod., 2004), oziroma je nanje deloval celo nekoliko negativno (Valkama in sod., 2003).

2.3 AJDA

2.3.1 Opis rastline in vrste ajde

Ajda je dvokaličnica in spada v družino dresnovk (Polygonaceae). Ima plitve korenine in sočno steblo kiselkastega okusa, ki lahko zraste tudi dober meter v višino, kar lahko privede do poleganja rastlin. Listi so srčasto puščičasti, približno enako dolgi kot široki, cvetovi v sestavljenih socvetjih, njena semena pa triroba in različnih oblik. Ajda ni žito, vendar je zaradi podobnega načina pridelave in uporabe velikokrat obravnavana kot eno izmed njih. Pridelava ajde je bila v preteklih stoletjih zelo razširjena, potem pa so jo začele nadomeščati druge bolj rodovitne poljščine, kot sta koruza in pšenica. V sedanjih časih ajda ponovno pridobiva na veljavi zaradi svoje velike biološke vrednosti in ker jo je možno gojiti na ekološki način (Kreft, 1995).

Pri nas poznamo dve vrsti ajde: navadno (*Fagopyrum esculentum* Moench) in tatarsko ajdo (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) (Kreft, 1995). Gojeni obliki navadne in tatarske ajde izvirata iz visokih pokrajin jugozahodne Kitajske: vzhodnega Tibeta, Junana in Sečuana (Ohnishi, 2002, 2003). Od tam se je ajda razširila skoraj po vsem svetu, v Sloveniji pa je bila prvič omenjena leta 1426. Vrsti sta si podobni, a vseeno obstaja nekaj morfoloških razlik. Rastline tatarske ajde so bolj izrazito zelene, listi so pogosto širši kot daljši, seme ima bolj zaokrožene robove, hrapavo površino in bolj grenak okus. Zaradi teh lastnosti je tatarska ajda pogosto imenovana kot zelena ali grenka ajda (Kreft, 1995).

Medvrstno križanje pri ajdi je zelo pogosto, njegov namen pa je pridobiti vrsto ajde, s čim bolj popolnimi lastnostmi, to je z največjim pridelkom, brez osipanja semena, z možnostjo samooprašitve ter strpnostjo na stres. S križanjem tatarske ajde (*F. tataricum*) in *F. giganteum* so razvili novo vrsto ajde – hibridno ajdo (*F. hybridum*). Naredili so selekcijo in odbrali močnejše in uspešnejše potomce F10 generacije, ki so imeli vse glavne dobre lastnosti prednikov, vključno z velikim pridelkom. Nova vrsta ajde, *F. hybridum*, naj bi tako imela dober potencial, da postane pomembna vrsta za pridelovanje (Fesenko I.N. in Fesenko N.N., 2010). Ker je vrsta nova, še ni objavljenih raziskav o njenih odzivih na zunanje dejavnike, kot so sevanje UV-B in obravnavanje s selenom.

2.3.2 Pomen ajde v prehrani

Ajda ima veliko biološko vrednost, saj njeno zrnje vsebuje kakovostne beljakovine, prevladujočo linearno obliko škroba, ki je primerna za sladkorne bolnike, veliko vlaknin, olje bogato z nenasičenimi maščobnimi kislinami, vitamine B1, B2 in B6 ter rutin (Kreft, 1995; Fabjan in sod., 2003). Rutin je flavonoid in spada v skupino UV absorbirajočih snovi, to so sekundarni metaboliti rastlin, ki ščitijo rastline pred UV sevanjem, poškodbami DNK in živalskim objedanjem. Ajda je tekom evolucije razvila številne prilagoditve na povečano sevanje UV-B, saj izvira iz območij Azije z velikimi nadmorskimi višinami, kjer je količina UV sevanja povišana. Izgradnja rutina in drugih antioksidantov je bila torej pomembna evolucijska pridobitev teh rastlin (Kreft in sod., 2003).

Tatarska ajda je imela pri nas dolgo status plevela med navadno ajdo, novejša raziskava pa kažejo na to, da ima tatarska ajda večjo vsebnost antioksidantov in zato še večji antioksidativni potencial kot navadna ajda. Tatarska ajda vsebuje znatno več rutina, v njenih otrobih pa so zaznali tudi sledove drugih antioksidantov (kvercitrina in kvercetina), ki jih navadna ajda nima (Fabjan in sod., 2003; Lukšič, 2013).

Ajda je edina poljščina, ki vsebuje omembe vredne količine rutina in drugih flavonoidov (Kreft in sod., 2003), zato ima velik potencial, da postane priznано živilo, ki bi obogatilo prehrano ljudi z antioksidanti (Kreft in sod., 2006). Poleg flavonoidov pa ajda vsebuje tudi pomembne količine selena. V številnih poskusih s foliarnim gnojenjem ajde z raztopino natrijevega selenata se je izkazalo, da se ob dodatku selena znatno poveča vsebnost selena v rastlini, še najbolj v ajdovem zrnju (Stibilj in sod., 2004; Smrkolj in sod., 2005; Vogrinčič, 2008).

2.3.3 Vpliv selena in sevanja UV-B na ajdo

Hkratno obravnavanje ajde z dodanim selenom in (povečanim) sevanjem UV-B je predmet številnih raziskav na Biotehniški fakulteti. Breznik in sod. (2004) poročajo o precejšnji občutljivosti tatarske ajde na povišano sevanje UV-B, saj je zmanjšalo biomaso nadzemnih in podzemnih delov ter zmanjšalo pridelek, medtem ko selen ni imel značilnega vpliva na morfološke lastnosti rastlin. Leto kasneje so Breznik in sod. (2005a) objavili, da je selen omilil padec dejanske fotokemične učinkovitosti pri tatarski ajdi, ki ga je povzročilo povečano sevanje UV-B, hkrati pa je povečal biomaso nadzemnih delov in vitalnost rastlin navadne ajde (pri tatarski ajdi se je pokazala podobna težnja, vendar rezultati niso bili statistično značilni). Prav tako so pri navadni ajdi (Breznik in sod., 2005b) opazili možen omilitveni učinek selena na padec biomase rastlin in zmanjšan pridelek, ki ju je povzročilo povečano sevanje UV-B. Dodan selen je znižal dihalni potencial navadne ajde pri naravnem in povečanem sevanju UV-B, medtem ko ga je pri zmanjšanem sevanju povečal (Germ, 2006).

3 MATERIAL IN METODE

V sledečem poglavju so opisani priprava in potek poskusa, meritve, ki smo jih opravili, ter metode in formule, ki smo jih uporabili za izračun končnih rezultatov.

3.1 PRIPRAVA IN POTEK POSKUSA

Za preučevani rastlinski vrsti smo izbrali dve vrsti ajde, in sicer tatarsko ajdo (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) in hibridno ajdo (*Fagopyrum hybridum*). Preučevana dejavnika sta bila dodatek selenata in sevanje UV-B. Oznake tekom celega poskusa so bile sledeče: tatarska ajda (T), hibridna ajda (H), dodan selenat (Se+), brez dodatka selenata (Se-), naravno sevanje UV-B (UV+) in znižano sevanje UV-B (UV-). Obravnavanje Se- UV+ je v našem poskusu predstavljalo naravne razmere. Vseh kombinacij dejavnikov in obeh vrst je bilo skupno osem:

T Se+ UV+	H Se+ UV+
T Se+ UV-	H Se+ UV-
T Se- UV+ (kontrola)	H Se- UV+ (kontrola)
T Se- UV-	H Se- UV-

Da bi čim bolj omejili vpliv ostalih naravno prisotnih dejavnikov, ki so bili na njihvi neenakomerno prisotni (navlaženost zemlje, osončenost,...), smo ajdo sejali po ponovitvah po parcelah.

Na njihvi Oddelka za agronomijo smo 18. junija 2012 začeli s poskusom. Njivo smo ročno prekopali in jo po dolžini razdelili na 16 enako velikih enot (1,5 m x 1 m). Vsako enoto smo po širini razdelili še na polovico in tako dobili 32 enako velikih parcel (0,75 m x 1 m). Vsako izmed osmih obravnavanj se je tako ponovilo v štirih ponovitvah. Ajdo smo sejali tako, da smo v vsaki parceli naredili po 12 luknjic, tako da je bilo med njimi vsaj 20 cm razmika. V vsako luknjico smo dali po 3 semena izbrane vrste ajde. Vsako parcelo smo vnaprej označili s tablico, na kateri je bila oznaka obravnavanja. Ob robu celotne njihve smo posejali navadno ajdo (*Fagopyrum esculentum* Moench), s čimer smo želeli preprečiti vpliv robnih dejavnikov na preučevani vrsti.

T Se- UV- L16	H Se- UV- D16
T Se- UV+ L15	H Se- UV+ D15
T Se+ UV- L14	H Se+ UV- D14
T Se+ UV+ L13	H Se+ UV+ D13
H Se+ UV- L12	T Se+ UV- D12
H Se+ UV+ L11	T Se+ UV+ D11
H Se- UV- L10	T Se- UV- D10
H Se- UV+ L9	T Se- UV+ D9
T Se+ UV- L8	H Se+ UV- D8
T Se+ UV+ L7	H Se+ UV+ D7
T Se- UV- L6	H Se- UV- D6
T Se- UV+ L5	H Se- UV+ D5
H Se- UV- L4	T Se- UV- D4
H Se- UV+ L3	T Se- UV+ D3
H Se+ UV- L2	T Se+ UV- D2
H Se+ UV+ L1	T Se+ UV+ D1

Legenda:

	T Se+ UV+
	T Se+ UV-
	T Se- UV+
	T Se- UV-
	H Se+ UV+
	H Se+ UV-
	H Se- UV+
	H Se- UV-
	navadna ajda

Slika 1: Tlorisni prikaz razporeditve parcel na njivi, oznake parcel in obravnavanja

Parcele z enakim obravnavanjem so označene z enakim odtenkom. Parcele s tatarsko ajdo so v vijolični barvi, medtem ko so parcele s hibridno ajdo zelene. Parcele smo označili glede na levo (L) in desno (D) stran, gledano od vznožja njive, zraven pa smo jim dodali ustrezno zaporedno številko.

27. junija 2012 smo postavili lesen okvir s plastičnimi strešniki. Za zmanjšanje količine UV sevanja (v območju 280–400 nm) smo priskrbeli strešnike z UV filtrom, ki prepušča približno 90 % vidnega in približno 10 % UV dela spektra (Quinn XT strešniki). V ostalih strešnikih pa filtra ni bilo, zato so oba dela spektra – vidnega in UV

– prepuščali za približno 90 % (Quinn cast UVT strešniki). Ob straneh okvirja smo napeli mrežo proti toči, s katero smo zaobjeli tudi navadno ajdo. Ko so bile rastline še pred fazo cvetenja (začetek avgusta), smo polovico rastlin s foliarnim gnojenjem izpostavili dodanemu selenu. Škropili smo jih z raztopino natrijevega selenata (10 mg Se/L).

3.2 MERITVE

Meritve smo opravljali trikrat, in sicer prvič še pred gnojenjem s selenatom (25.–27. 7. 2012) ter dvakrat po njem (6.–9. 8. in 20.–24. 8. 2012). V posameznem sklopu meritev smo z vsake parcele vzeli po 3 vitalne, prve popolnoma razvite liste z različnih rastlin; za vsako obravnavanje smo imeli skupno 12 vzorcev. Liste smo oprali pod tekočo vodo in nato še sprali z destilirano vodo. Iz vsakega lista smo naluknjali več vzorcev znane površine, enega stehali in posušili, ostale pa uporabili za biokemijske analize. Merili smo vsebnost UV-B in UV-A absorbirajočih snovi, klorofilov *a* in *b*, karotenoidov in antocianov ter opravili meritve aktivnosti elektronskega transportnega sistema (ETS). Fiziološke meritve smo opravili na njihovi na rastočih rastlinah, merili pa smo transpiracijo ter fotokemično učinkovitost fotosistema II (potencialno – F_v/F_m in dejansko – $\Delta F/F_m'$). S prenosnim spektrometrom (Jaz Modular Optical Sensing Suite, Ocean Optics, Inc., Dunedin, Florida, ZDA) smo izmerili spektre na prostem ter pod obema tipoma strešnikov za preizkus, kolikšen del svetlobnega spektra je dejansko prišel skozi streho do preučevanih rastlin.

Na koncu poskusa, ko so rastline že razvile semena, smo dvakrat v razmiku dveh tednov pobirali rastline za določitev biomase (4.–6. 9. in 17.–20. 9. 2012). Z vsake parcele smo vzeli po 2 celi rastlini, ju oprali ter stehali korenine, stebela, liste in semena ter dali sušiti in nato še enkrat stehali suho biomaso posameznih rastlinskih delov.

3.3 LABORATORIJSKE ANALIZE

Za določanje vsebnosti posameznih barvil in za določanje aktivnosti elektronskega transportnega sistema smo uporabili metode in formule, navedene v naslednjih odstavkih. Od vsakega vzorca, ki smo ga merili, smo dodatno vzeli vzorec znane površine, ga stehali, posušili in nato izmerili njegovo suho maso.

3.3.1 Klorofili in karotenoidi

Vsebnost fotosinteznih barvil smo določali po metodi, ki sta jo opisala Lichtenthaler in Buschmann (2001a, 2001b). Vzorce z znano površino in maso smo strli v terilnici, jih ekstrahirali v 10 mL 100 % acetona, prelili v centrifugirke in dali v centrifugo (2K15, Sigma, Osterode, Nemčija) na 4000 rpm, 4 °C, 4 min. Odčitali smo prostornine ekstraktov ter z VIS spektrofotometrom (Lambda 12, Perkin-Elmer, Norwalk, CT, ZDA) izmerili ekstinkcije pri treh valovnih dolžinah: 470 nm, 645 nm in 662 nm. Vsebnost barvil smo izračunali po formulah:

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

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

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

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

Za izračun vsebnosti barvil na enoto površine [mg/cm²] smo vzeli iste formule, le da smo suho maso vzorca (sm) v formulah zamenjali s površino vzorca (P), ki smo jo izračunali po spodnji formuli. Premer vzorca ($2r$) je bil 0,7 cm.

$$P [cm^2] = \pi * r^2 \dots(4)$$

3.3.2 Antociani

Vsebnost antocianov v vzorcih smo določali po metodi, ki sta jo opisala Khare in Guruprasad (1993). Vzorce z znano površino in maso smo strli v terilnici, jih ekstrahirali v 10 mL medija (metanol : HCl (37 %) = 99:1). Centrifugirali smo 4 min na 4000 rpm, 4 °C, odčitali prostornine ekstraktov ter vzorce za 24 ur shranili v temi na 3–5 °C. Z VIS spektrofotometrom smo nato izmerili ekstinkcije pri 530 nm valovne dolžine.

Vsebnost antocianov smo izračunali po formuli:

$$\begin{aligned} Ant [rel./g\ sm] &= E_{530} * V/sm \\ Ant [rel./cm^2] &= E_{530} * V/P \end{aligned} \quad \dots(5)$$

E_{530} – ekstinkcija pri valovni dolžini 530 nm

V – prostornina ekstrakta [mL]

sm – suha masa vzorca [g]

P – površina vzorca [cm²]

3.3.3 UV absorbirajoče snovi

Vsebnost UV-B in UV-A absorbirajočih snovi smo določali po metodi, ki jo je opisal Caldwell (1968). V terilnici strte vzorce z znano površino in maso smo ekstrahirali v 10 mL ekstrakcijskega medija (metanol : destilirana voda : HCl (37 %) = 79:20:1) ter 20 min inkubirali. Centrifugirali smo 10 min na 4000 rpm, 10 °C ter nato odčitali prostornine ekstraktov. Z UV/VIS spektrofotometrom smo izmerili ekstinkcije pri valovnih dolžinah 280–400 nm. Vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi smo izračunali kot integral ekstinkcijskih vrednosti pri 280–320 nm, UV-A pa kot integral ekstinkcijskih vrednosti pri 320–400 nm.

$$\begin{aligned} UV\ abs [rel./g\ sm] &= I / V / sm \\ UV\ abs [rel./cm^2] &= I / V / P \end{aligned} \quad \dots(6)$$

I – integral ekstinkcijskih vrednosti (seštevek vseh vrednosti v določenem intervalu)

V – prostornina ekstrakta [mL]

sm – suha masa vzorca [g]

P – površina vzorca [cm²]

3.3.4 Aktivnost elektronskega transportnega sistema (ETS)

Aktivnost ETS, ki je merilo za dihalni potencial, smo merili po metodi, ki jo je opisal Packard (1971) in modificirali po metodi, ki sta jo opisala Kenner in Ahmed (1975). Vzorce znane površine in mase smo homogenizirali v terilnici v homogenizacijskem pufri, jih zlili v plastične epruvete ter dali na led. Premešali smo jih z ultrazvočnim homogenizatorjem (40 W, 4710, Cole-Parmer, Vernon Hills, IL, ZDA), prelili v centrifugirke in centrifugirali 4 min na 10000 rpm, 0 °C. Supernatant vsakega vzorca

smo zlili v stekleno epruveto. Iz enega vzorca smo naredili po tri ponovitve, tako da smo dali v vsako od treh epruvet po 0,5 mL supernatanta ter dodali 1,5 mL substratne raztopine in 0,5 mL INT (2-*p*-jodo-fenil 3-*p*-nitrofenil 5-fenil tetrazolijev klorid). Pripravili smo tudi slepe vzorce (substratna raztopina in INT, brez rastlinskega homogenata). Med inkubacijo se je INT namesto kisika reducirjal do formazana. Epruvete smo premešali in jih 40 min inkubirali pri 20 °C. V digestoriju smo v vse vzorce (tudi v slepe) dodali po 0,5 mL zaključne raztopine in takoj nato v slepe vzorce dodali še 0,5 mL rastlinskega supernatanta. Pri 490 nm smo nastalemu rdeče obarvanemu formazanu izmerili ekstinkcije in po formuli izračunali aktivnost ETS, izraženo kot količino porabljenega kisika na suho maso v časovni enoti.

$$ETS [\mu L (O_2)/mg\ sm/h] = +(35,997 * E_{490}) / sm / 1,42 / 1000 \quad \dots(7)$$

E_{490} – ekstinkcija pri valovni dolžini 490 nm
 sm – suha masa vzorca [g]

Priprava spojin za 10 vzorcev (vse spojine razen zaključne morajo biti na ledu):

- Fosfatni pufer: 95 mL pufra 1 (3,5814 g NaH_2PO_4 v 100 mL vode) + 5 mL pufra 2 (1,3609 g KH_2PO_4 v 100 mL vode); pH = 8,04
- Homogenizacijski pufer: 40 mL fosfatnega pufra + 0,00036 g $MgSO_4$ + 0,06 g PVP + 0,08 mL TRITON X-100
- Substratna raztopina: 60 mL fosfatnega pufra + 0,0072 g NADH + 0,1146 g NADPH + 0,12 mL TRITON X-100
- INT: 20 mL deionizirane vode + 0,04 g INT
- Zaključna raztopina (v digestoriju): 20 mL raztopine (H_3PO_4 : HCHO = 1:1)

3.4 MERITVE NA TERENU

Na njivi smo na vitalnih rastlinah izmerili transpiracijo in fotokemično učinkovitost fotosistema II.

3.4.1 Transpiracija

Pri merjenju transpiracije gre za zaznavanje povečanja relativne zračne vlažnosti v kiveti zaradi vodnih par, ki izhajajo iz lista. Transpiracijo smo merili s porometrom (LI-1600, Li-Cor, Lincoln, Nebraska, ZDA) ob jasnem sončnem dnevu. V merilni kiveti porometra se ohranja konstantna relativna vlažnost na račun vpihavanja suhega zraka.

Naprava s pomočjo znane mase vpihanega zraka izračuna transpiracijo. Transpiracija je izražena kot masa sproščene vode na enoto listne površine na enoto časa: $\text{mmol H}_2\text{O/m}^2\text{s}$ (Trošt Sedej, 2005). Kiveto smo namestili na list tako, da je bil senzor na spodnji povrhnjici in odčitali vrednost na zaslonu. Na vsaki parceli smo opravili meritev na treh različnih rastlinah.

3.4.2 Fotokemična učinkovitost fotosistema II

Fotokemično učinkovitost fotosistema II smo merili z napravo PAM 2100 Chlorophyll Fluorometer, Heinz Walz GmbH, Nemčija. Najprej smo namestili po tri plastične ščipalke za temotno adaptacijo na liste ajde znotraj ene parcele in jih pustili 20 min. Po potrebnem času adaptacije smo list osvetlili s saturacijskim pulzom bele svetlobe ($> 8000 \text{ mmol/m}^2\text{s}$, 0,8 s) in na napravi odčitali potencialno fotokemično učinkovitost FS II, ki jo izražamo s parametrom F_v/F_m ($\frac{F_v}{F_m} = \frac{F_m - F_0}{F_m}$). F_v je variabilna fluorescenca, F_m maksimalna in F_0 minimalna fluorescenca temotno adaptiranega vzorca. Teoretični maksimum potencialne fotokemične učinkovitosti FS II je 0,83 (Schreiber in sod., 1994). Dejansko fotokemično učinkovitost FS II, izraženo kot $\Delta F/F_m'$, smo merili s kovinsko ščipalko, ki omogoča osvetlitev pod kotom 60° . Oceno dejanske fotokemične učinkovitosti smo dobili z merjenjem efektivnega količinskega doprinosa pri FS II, ki ga izražamo kot $\frac{F_m' - F}{F_m'} = \frac{\Delta F}{F_m'}$, pri čemer je F_m' maksimalna fluorescenca osvetljenega vzorca, F pa stabilno stanje fluorescence (Schreiber in sod., 1996). Vrednost dejanske fotokemične učinkovitosti smo na napravi odčitali po sprožitvi saturacijskega pulza bele svetlobe ($9000 \text{ mmol/m}^2\text{s}$, 0,8 s). To meritev smo opravili na petih rastlinah na posamezni parceli.

3.4 STATISTIČNA OBDELAVA

Podatke smo obdelali v računalniškem programu Microsoft Excel ter jih statistično ovrednotili s programom Statgraphics, verzija 4 in verzija 16. Vnašali smo jih v obliki matrik. Najprej smo preverili, če razporeditev podatkov ustreza normalni porazdelitvi, nato pa smo opravili večfaktorsko analizo variance (ANOVA) za vsako serijo podatkov. Izračunali smo P-vrednosti za posamezne dejavnike, za interakcijo med dejavniki in za celotna obravnavanja (* označuje statistično značilen rezultat, $P \leq 0,05$). Za rezultate z značilnimi razlikami smo narisali grafe.

4 REZULTATI

Rezultati meritev so razdeljeni na posamezne sklope, ki ustrezajo časovnemu zaporedju opravljanja meritev.

4.1 BIOKEMIJSKE IN FIZIOLOŠKE ZNAČILNOSTI RASTLIN PRED FOLIARNIM GNOJENJEM S SELENATOM

Prvi sklop meritev je bil opravljen pred foliarnim gnojenjem s selenatom. Vzorci so se tako med seboj razlikovali le glede na količino sevanja UV-B in glede na vrsto ajde. S statistično obdelavo dobljenih rezultatov smo za vsak merjeni parameter izračunali P-vrednost glede na oba dejavnika, interakcijo dejavnikov oz. celotna obravnavanja. Vrednosti so napisane v preglednici 1. P-vrednosti nam pokažejo, pri katerem parametru se rezultati značilno razlikujejo glede na določen dejavnik, interakcijo dejavnikov ali celotna obravnavanja.

Preglednica 1: P-vrednosti za rezultate biokemijskih in fizioloških meritev pred foliarnim gnojenjem s selenatom pri obeh vrstah ajde

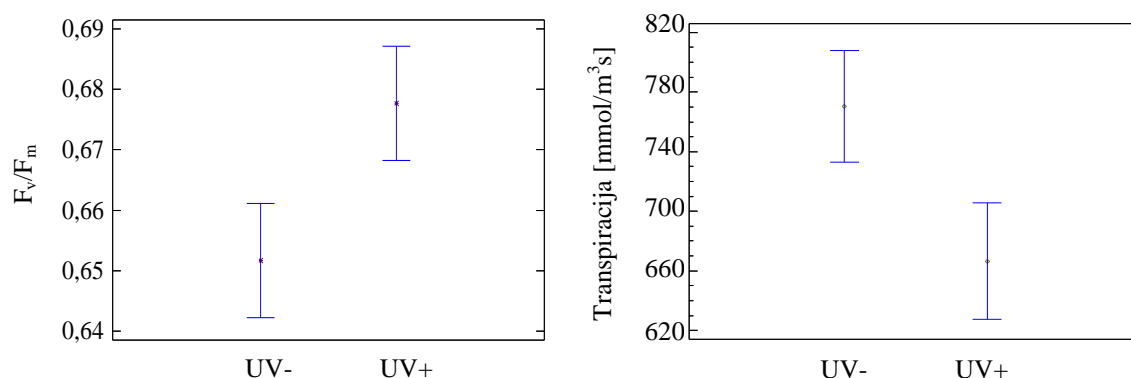
Merjeni parameter	Dejavnika		Interakcija	Homogenost	
	UV	Vrsta	dejavnikov	rezultatov	obravnavanj
Klorofil <i>a</i>	0,5336	0,0703	0,6060	0,2819	H
Klorofil <i>b</i>	0,4592	0,1066	0,8372	0,3936	H
Karotenoidi	0,7852	0,0311*	0,4997	0,1700	H
Antociani	0,9829	0,2803	0,0396*	0,1632	ne H
UV-B abs. snovi	0,5358	0,5253	0,6458	0,8368	H
UV-A abs. snovi	0,5191	0,8214	0,8037	0,9229	H
ETS	0,5166	0,0466*	0,1891	0,2589	H
F_v/F_m	0,0081*	0,5591	0,5071	0,1117	ne H
$\Delta F/F_m'$	0,0933	0,1267	0,8274	0,8829	H
Transpiracija	0,0086*	0,2313	0,9408	0,0338*	ne H

Rastline so bile izpostavljene dvema različnima obravnavanjema – naravnemu sevanju in za 90 % znižanem sevanju UV-B. Opravljena je bila večfaktorska ANOVA. Statistično značilne vrednosti so napisane krepko in označene z * ($P \leq 0,05$). 'H' označuje homogenost rezultatov obravnavanj, 'ne H' pa nehomogenost oz. odstopanja med rezultati.

V nadaljevanju se bomo osredotočili na parametre s statistično značilno razliko med dejavniki.

4.1.1 Vpliv sevanja UV-B na lastnosti obeh vrst ajde

Značilna razlika med znižanim in naravnim sevanjem UV-B se je pokazala pri potencialni fotokemični učinkovitosti fotosistema II ter transpiraciji. Potencialna fotokemična učinkovitost FS II (F_v/F_m) je bila značilno višja pri rastlinah, ki so uspevale v razmerah naravnega sevanja UV-B ($P = 0,0081$). Transpiracija pa je bila značilno višja pri rastlinah z znižano količino sevanja UV-B ($P = 0,0086$). Na sliki 2 so prikazane povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja.



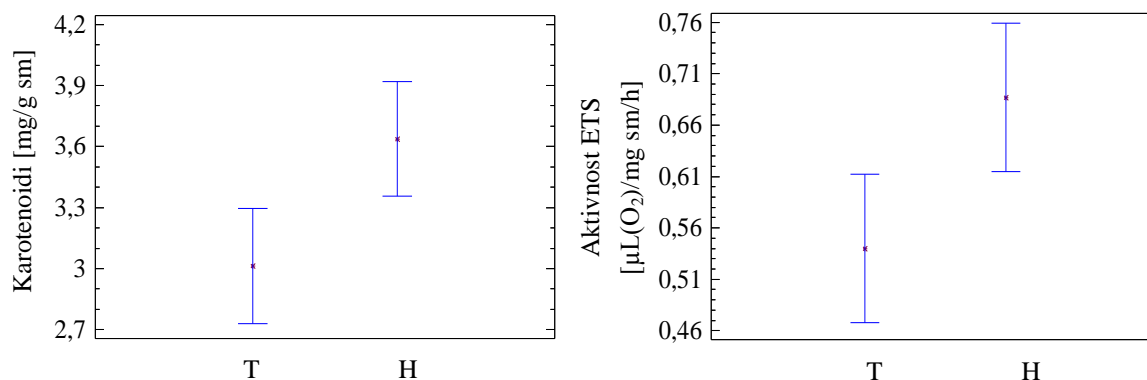
Slika 2: Potencialna fotokemična učinkovitost FS II (levo) in transpiracija (desno) glede na količino sevanja UV-B pri obeh vrstah ajde

Povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja, $n = 24$, $P = 0,0081$ (F_v/F_m), $P = 0,0086$ (transpiracija). Za 90 % znižano sevanje (UV-), naravno sevanje (UV+).

4.1.2 Vpliv obravnavanj na lastnosti obeh vrst ajde

Glede na vrsto ajde so se značilne razlike pokazale pri vsebnosti karotenoidov in pri aktivnosti elektronskega transportnega sistema (ETS). Vsebnost karotenoidov je bila značilno višja pri hibridni kot pri tatarski ajdi ($P = 0,0311$). Prav tako je bila tudi aktivnost ETS večja pri hibridu ($P = 0,0466$).

Slika 3 prikazuje povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja za vsebnost karotenoidov in aktivnost ETS pri vsaki vrsti ajde.

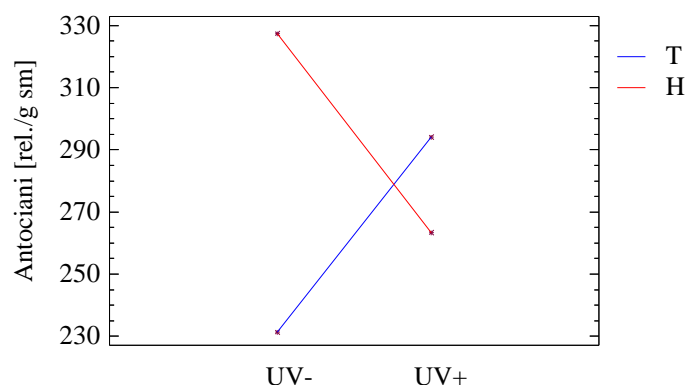


Slika 3: Vsebnost karotenoidov (levo) in aktivnost ETS (desno) glede na vrsto ajde

Povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja, $n = 24$, $P = 0,0311$ (karotenoidi), $P = 0,0466$ (ETS). Tatarska ajda (T), hibridna ajda (H).

4.1.3 Interakcija med sevanjem UV-B in vrsto ajde

Interakcija obeh spremljanih dejavnikov se je izkazala za značilno le pri vsebnosti antocianov ($P = 0,0396$). Rastline tatarske ajde so vsebovale več antocianov pri naravno prisotnem sevanju UV-B kot pri znižanem, medtem ko je naravno sevanje UV-B pri rastlinah hibridne ajde znižalo njihovo vsebnost. Slika 4 prikazuje opisano interakcijo.

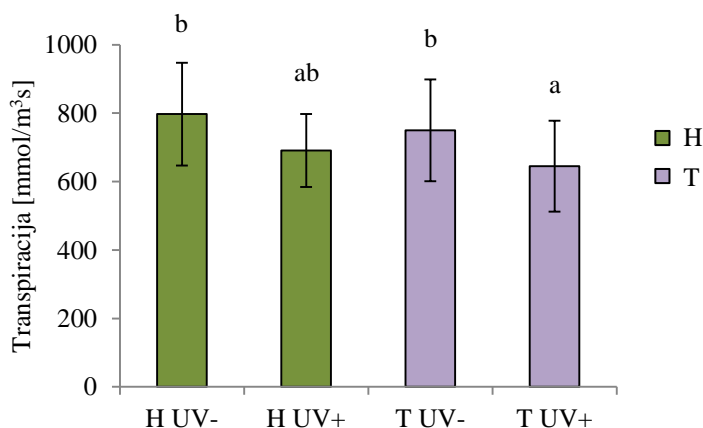


Slika 4: Interakcija med vrstama ajde in količino sevanja UV-B pri merjeni vsebnosti antocianov

Povprečne vrednosti, $n = 12$, P -vrednost interakcije je 0,0396. Tatarska ajda (T), hibridna ajda (H), za 90 % znižano sevanje (UV-), naravno sevanje (UV+).

4.1.4 Homogenost rezultatov obravnavanj

Značilna razlika in nehomogenost med rezultati obravnavanj sta se pokazali zgoj pri transpiraciji ($P = 0,0338$), in sicer so imele rastline tatarske ajde z naravnim sevanjem UV-B (T UV+) značilno nižjo transpiracijo od rastlin tatarske in hibridne ajde z znižanim sevanjem UV-B (T UV- in H UV-). Na sliki 5 so prikazane povprečne vrednosti s pripadajočimi standardnimi deviacijami.



Slika 5: Transpiracija pri obeh vrstah ajde glede na dve različni obravnavanji

Povprečne vrednosti \pm SD, $n = 12$. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji ($P \leq 0,05$). Hibridna ajda (H), tatarska ajda (T), za 90 % znižano sevanje (UV-), naravno sevanje (UV+).

4.2 BIOKEMIJSKE IN FIZIOLOŠKE ZNAČILNOSTI RASTLIN 1 TEDEN PO FOLIARNEM GNOJENJU S SELENATOM

Drugi sklop meritev smo opravili en teden po foliarnem nanosu raztopine natrijevega selenata, in sicer še v začetku cvetenja. Razmere vzorcev so tokrat določali trije dejavniki: dostopno sevanje UV-B, dodan selenat in vrsta ajde. Tudi tokrat smo opravili statistično obdelavo in izračunali P-vrednosti, ki so napisane v preglednici 2.

Preglednica 2: P-vrednosti za rezultate biokemijskih in fizioloških meritev 1 teden po foliarnem gnojenju s selenatom pri obeh vrstah ajde

Merjeni parameter	Dejavniki			Interakcije dejavnikov			Homogenost rezultatov obravnavanj	
	Se	UV	Vrsta	Se:UV	Se:vrsta	UV:vrsta		
Klorofil <i>a</i>	0,0293*	0,2943	0,3908	0,8870	0,6799	0,6281	0,3124	ne H
Klorofil <i>b</i>	0,7830	0,9930	0,9218	0,3005	0,6261	0,5769	0,8161	H
Karotenoidi	0,0058*	0,5964	0,3672	0,7003	0,9320	0,5419	0,1684	ne H
Antociani	0,6690	0,0399*	0,0133*	0,9324	0,9662	0,0483*	0,0221*	ne H
UV-B abs. snovi	0,2559	0,1101	0,0172*	0,3221	0,7394	0,1302	0,1891	ne H
UV-A abs. snovi	0,2433	0,1189	0,0010*	0,7014	0,5997	0,1999	0,0617	ne H
ETS	0,2493	0,2614	0,7035	0,8807	0,3468	0,3288	0,8930	H
F_v/F_m	0,3228	0,0914	0,3855	0,9541	0,6923	0,8736	0,1536	ne H
$\Delta F/F_m'$	0,0411*	0,4742	0,6908	0,2449	0,1356	0,4074	0,2349	ne H
Transpiracija	0,0015*	0,1231	0,0011*	0,7636	0,2682	0,9102	0,0020*	ne H

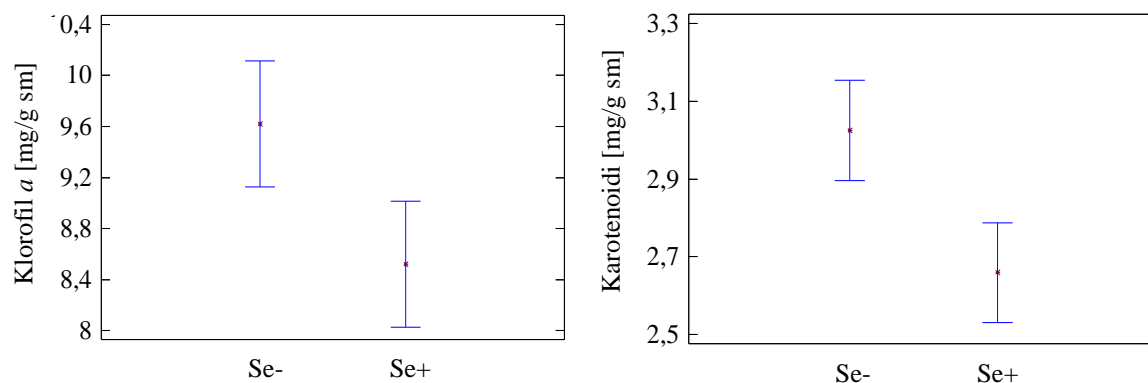
Rastline so bile izpostavljene štirim različnim obravnavanjem – naravnemu sevanju brez dodanega selenata, naravnemu sevanju in dodanemu selenatu, znižanemu sevanju (za 90 %) brez dodanega selenata ter znižanemu sevanju (za 90 %) in dodanemu selenatu. Opravljena je bila večfaktorska ANOVA. Statistično značilne vrednosti so napisane krepko in označene z * ($P \leq 0,05$). 'H' označuje homogenost rezultatov obravnavanj, 'ne H' pa nehomogenost oz. odstopanja med rezultati.

S slikami so na naslednjih straneh predstavljeni rezultati z značilnimi razlikami.

4.2.1 Vpliv selenata na lastnosti obeh vrst ajde

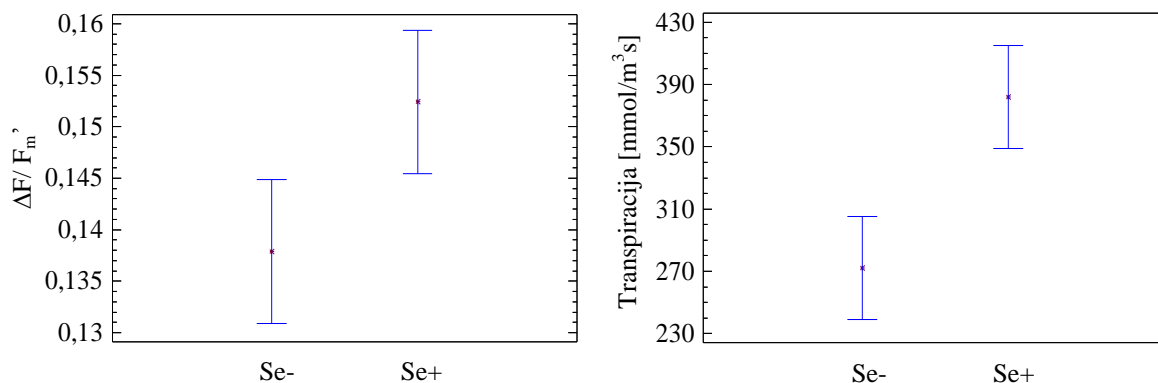
Značilna razlika med dodanim (Se+) in naravno dostopnim selenatom (Se-) se je pokazala pri vsebnostih klorofila *a*, karotenoidov, dejanski fotokemični učinkovitosti FS II in transpiraciji.

Vsebnosti klorofila *a* in karotenoidov so bile značilno višje pri rastlinah, ki so uspevale v razmerah brez dodanega selenata ($P = 0,0293$ za klorofil *a*; $P = 0,0058$ za karotenoide). Slika 6 prikazuje povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja.



Slika 6: Vsebnost klorofila *a* (levo) in karotenoidov (desno) glede na dodan selenat pri obeh vrstah ajde. Povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja, $n = 48$, $P = 0,0293$ (klorofil *a*), $P = 0,0058$ (karotenoide). Brez dodanega selenata (Se-), z dodanim selenatom (Se+).

Dejanska fotokemična učinkovitost FS II ($\Delta F/F_m'$) je bila značilno višja pri rastlinah z dodanim selenatom ($P = 0,0411$), prav tako je bila pri rastlinah z dodatkom selenata značilno višja tudi transpiracija ($P = 0,0015$). Na sliki 7 so prikazane povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja.

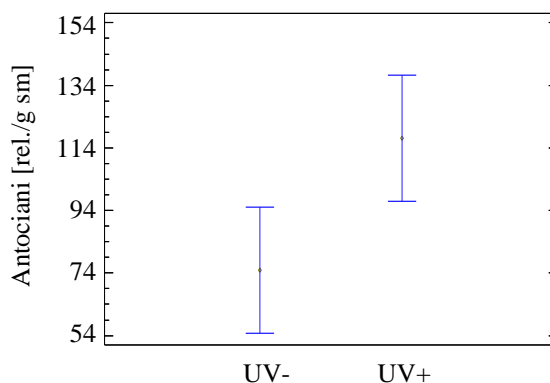


Slika 7: Dejanska fotokemična učinkovitost FS II (levo) in transpiracija (desno) glede na dodan selenat pri obeh vrstah ajde

Povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja, $n = 80$ in $P = 0,0411$ ($\Delta F/F_m'$), $n = 48$ in $P = 0,0015$ (transpiracija). Brez dodanega selenata (Se-), z dodanim selenatom (Se+).

4.2.2 Vpliv sevanja UV-B na lastnosti obeh vrst ajde

Razlika med naravnim in znižanim sevanjem UV-B je bila značilna le pri vsebnosti antocianov ($P = 0,0399$). Rastline, ki so uspevale v razmerah znižanega sevanja UV-B, so imele značilno nižjo vsebnost antocianov od tistih, ki so uspevale v razmerah naravno dostopnega sevanja. Slika 8 prikazuje povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja.

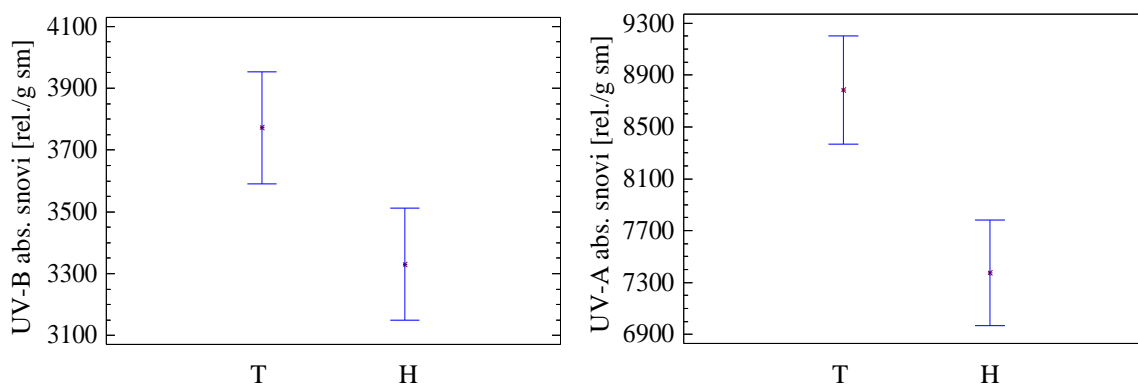


Slika 8: Vsebnost antocianov glede na količino sevanja UV-B pri obeh vrstah ajde

Povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja, $n = 48$, $P = 0,0399$. Za 90 % znižano sevanje (UV-), naravno sevanje (UV+).

4.2.3 Vpliv obravnavanj na lastnosti obeh vrst ajde

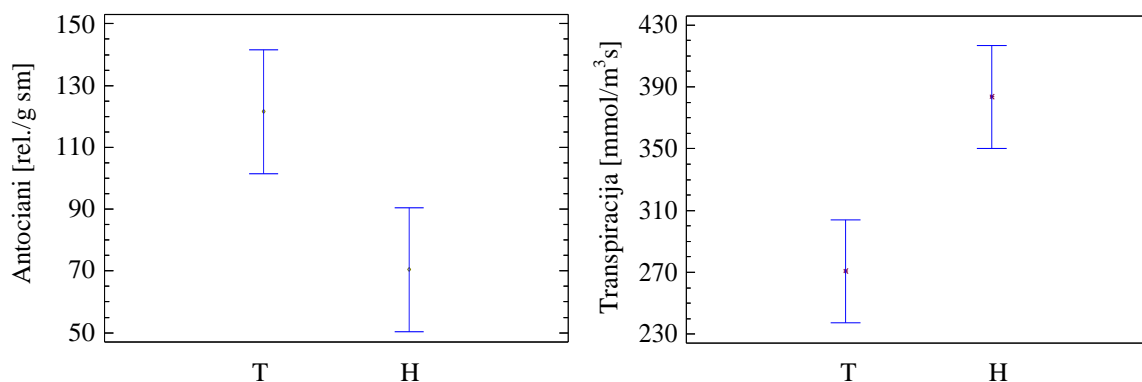
Glede na vrsto ajde so se rezultati značilno razlikovali pri vsebnosti UV-B in UV-A absorbirajočih snovi, antocianov ter pri transpiraciji. Vsebnost UV-B in UV-A absorbirajočih snovi je bila značilno višja pri tatarski ajdi kot pri hibridni ($P = 0,0172$ za UV-B; $P = 0,0010$ za UV-A), kar je vidno na sliki 9. Prikazane so povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja.



Slika 9: Vsebnost UV-B (levo) in UV-A (desno) absorbirajočih snovi glede na vrsto ajde

Povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja, $n = 48$, $P = 0,0172$ (UV-B abs. snovi), $P = 0,0010$ (UV-A abs. snovi). Tatarska ajda (T), hibridna ajda (H).

Vrednosti antocianov so bile značilno višje pri tatarski ajdi ($P = 0,0133$), medtem ko je bila transpiracija značilno višja pri hibridni ajdi ($P = 0,0011$). Na sliki 10 so povprečne vrednosti antocianov in transpiracije s 95 % intervalom zaupanja.

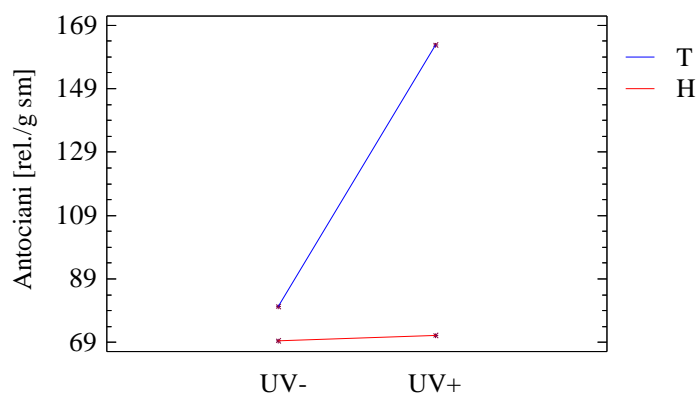


Slika 10: Vsebnost antocianov (levo) in stopnja transpiracije (desno) glede na vrsto ajde

Povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja, $n = 48$, $P = 0,0133$ (antociani), $P = 0,0011$ (transpiracija). Tatarska ajda (T), hibridna ajda (H).

4.2.4 Interakcija med sevanjem UV-B in vrsto ajde

Od vseh možnih medsebojnih interakcij med dejavniki se je za statistično značilno izkazala le interakcija sevanja UV-B in vrste, in sicer pri vsebnosti antocianov ($P = 0,0483$). Rastline tatarske ajde so vsebovale značilno več antocianov pri naravno prisotnem sevanju UV-B kot pri znižanem, medtem ko pri hibridni ajdi ni bilo bistvene razlike pri vsebnosti antocianov glede na količino sevanja UV-B. Opisano interakcijo prikazuje slika 11.



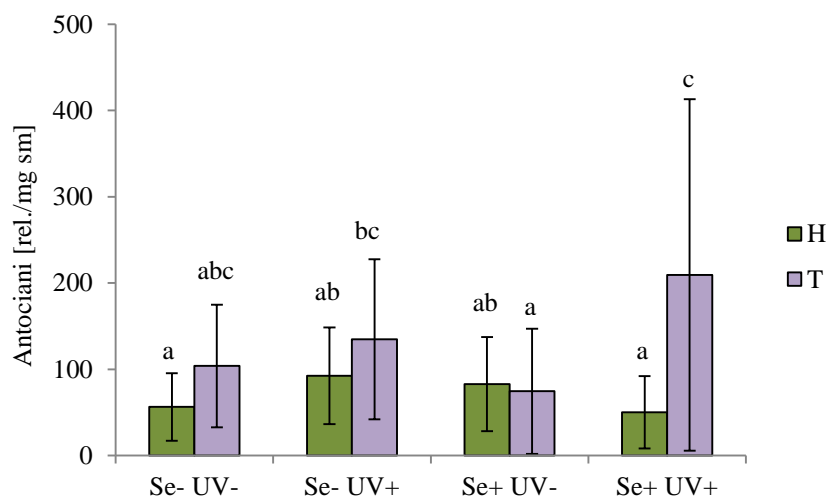
Slika 11: Interakcija med vrstama ajde in količino sevanja UV-B pri merjeni vsebnosti antocianov

Povprečne vrednosti, $n = 24$, P-vrednost interakcije je 0,0483. Tatarska ajda (T), hibridna ajda (H), za 90 % znižano sevanje (UV-), naravno sevanje (UV+).

4.2.5 Homogenost rezultatov obravnavanj

Pri veliki večini merjenih parametrov so rezultati obravnavanj tvorili nehomogene skupine, kar je razvidno iz preglednice 2, homogeni so bili le rezultati vsebnosti klorofila *b* in aktivnosti ETS. Značilne razlike in hkrati nehomogenost pa so bile le pri antocianinih ($P = 0,0221$) in transpiraciji ($P = 0,0020$).

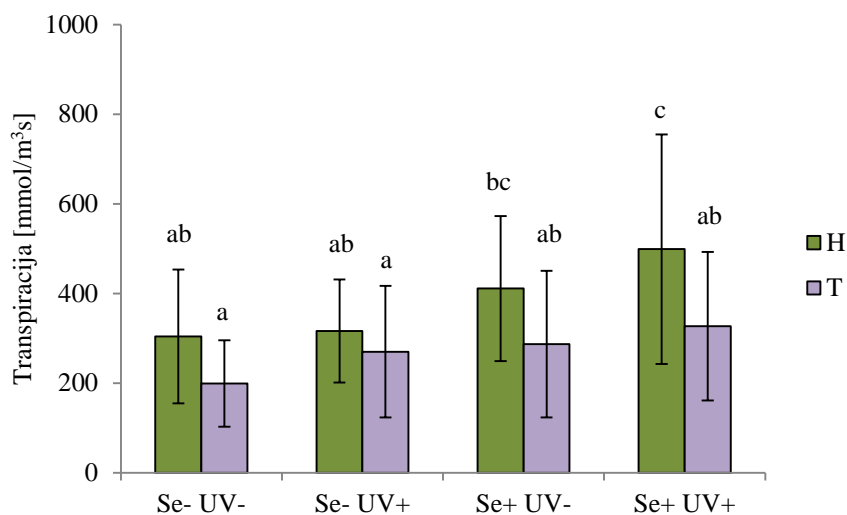
Slika 12 prikazuje povprečne vrednosti (\pm standardne deviacije) količine antocianov v rastlinah. Največje količine antocianov so imele rastline tatarske ajde, ki so bile gnojene s selenatom in so prejele naravno obliko sevanja UV-B (T Se+ UV+). Standardna deviacija je zelo visoka zaradi velikih razlik v osončenosti posameznih rastlin.



Slika 12: Vsebnost antocianov pri obeh vrstah ajde glede na štiri različna obravnavanja

Povprečne vrednosti \pm SD, $n = 12$. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji ($P \leq 0,05$). Hibridna ajda (H), tatarska ajda (T), za 90 % znižano sevanje brez dodanega selenata (Se- UV-), naravno sevanje brez dodanega selenata (Se- UV+), za 90 % znižano sevanje z dodanim selenatom (Se+ UV-), naravno sevanje z dodanim selenatom (Se+ UV+).

Značilno najvišjo transpiracijo so imele rastline hibridne ajde z dodanim selenatom in naravno količino sevanja UV-B (H Se+ UV+). V splošnem so imele rastline hibrida pri vseh obravnavanjih nekoliko višjo transpiracijo od tatarske ajde. Na sliki 13 so prikazane povprečne vrednosti (\pm standardne deviacije) transpiracije rastlin.



Slika 13: Transpiracija pri obeh vrstah ajde glede na štiri različna obravnavanja

Povprečne vrednosti \pm SD, n = 12. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji ($P \leq 0,05$). Hibridna ajda (H), tatarska ajda (T), za 90 % znižano sevanje brez dodanega selenata (Se- UV-), naravno sevanje brez dodanega selenata (Se- UV+), za 90 % znižano sevanje z dodanim selenatom (Se+ UV-), naravno sevanje z dodanim selenatom (Se+ UV+).

4.3 BIOKEMIJSKE IN FIZIOLOŠKE ZNAČILNOSTI RASTLIN 3 TEDNE PO FOLIARNEM GNOJENJU S SELENATOM

Tretji sklop meritev smo opravili tri tedne po gnojenju s selenatom. Ajda je bila v fazi cvetenja. Enako kot pri drugem sklopu so tudi tokrat rastne razmere določali trije dejavniki, in sicer količina sevanja UV-B, dodan ali naravno prisoten selenat ter vrsta ajde. Opravili smo statistično obdelavo in izračunali P-vrednosti, ki so napisane v preglednici 3.

Preglednica 3: P-vrednosti za rezultate biokemijskih in fizioloških meritev 3 tedne po foliarnem gnojenju s selenatom pri obeh vrstah ajde

Merjeni parameter	Dejavniki			Interakcije dejavnikov			Homogenost rezultatov obravnavanj	
	Se	UV	Vrsta	Se:UV	Se:vrsta	UV:vrsta		
Klorofil <i>a</i>	0,8423	0,3256	0,0014*	0,3341	0,4066	0,8045	0,0544	ne H
Klorofil <i>b</i>	0,7946	0,5436	0,0142*	0,1047	0,0780	0,0920	0,0625	ne H
Karotenoidi	0,9968	0,2921	0,0024*	0,4674	0,7737	0,5238	0,1118	ne H
Antociani	0,0904	0,3344	0,2535	0,2992	0,9088	0,0133*	0,0682	ne H
UV-B abs. snovi	0,9438	0,5157	0,2337	0,5867	0,6630	0,5815	0,9373	H
UV-A abs. snovi	0,9151	0,5280	0,9485	0,6211	0,5995	0,6090	0,9908	H
ETS	0,4138	0,0091*	0,0609	0,0021*	0,8518	0,6936	0,0940	ne H
F_v/F_m	0,0180*	0,1595	0,6778	0,2400	0,1239	0,0401*	0,0405*	ne H
$\Delta F/F_m'$	0,0135*	0,1753	0,0013*	0,3956	0,6158	0,9688	0,0297*	ne H
Transpiracija	0,0049*	0,9457	0,0155*	0,0616	0,7771	0,6348	0,0095*	ne H

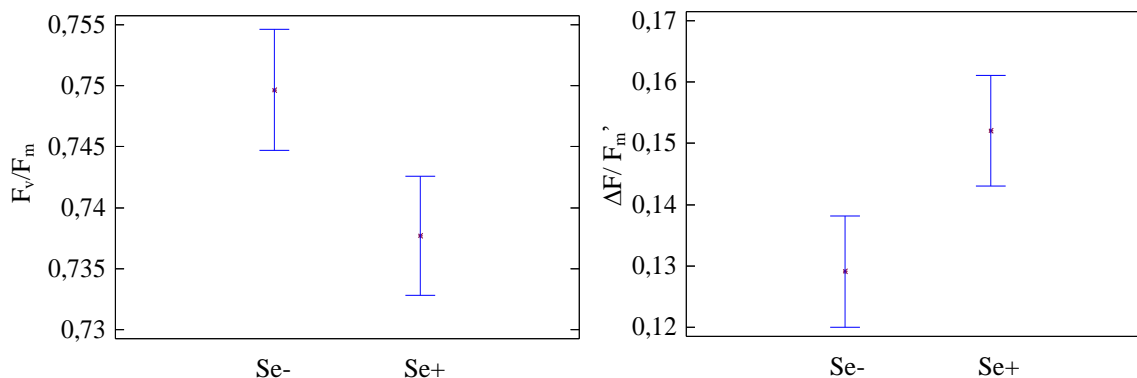
Rastline so bile izpostavljene štirim različnim obravnavanjem – naravnemu sevanju brez dodanega selenata, naravnemu sevanju in dodanemu selenatu, znižanemu sevanju (za 90 %) brez dodanega selenata ter znižanemu sevanju (za 90 %) in dodanemu selenatu. Opravljena je bila večfaktorska ANOVA. Statistično značilne vrednosti so napisane krepko in označene z * ($P \leq 0,05$). 'H' označuje homogenost rezultatov obravnavanj, 'ne H' pa nehomogenost oz. odstopanja med rezultati.

Rezultati z značilnimi razlikami so podrobneje predstavljeni s slikami.

4.3.1 Vpliv selenata na lastnosti obeh vrst ajde

Glede na dodan (Se+) ali naravno prisoten selenat (Se-) so se razlikovali rezultati treh parametrov: potencialne fotokemične učinkovitosti FS II, dejanske fotokemične učinkovitosti FS II ter transpiracije.

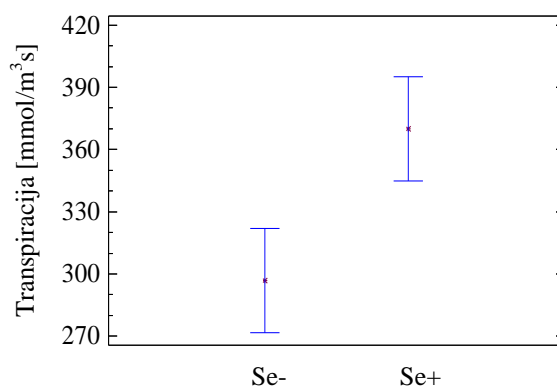
Potencialna fotokemična učinkovitost FS II je bila značilno višja pri rastlinah brez dodanega selenata ($P = 0,0180$), medtem ko je bila dejanska fotokemična učinkovitost FS II značilno višja pri rastlinah z dodanim selenatom ($P = 0,0135$). Slika 14 prikazuje povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja.



Slika 14: Potencialna (levo) in dejanska (desno) fotokemična učinkovitost FS II glede na dodan selenat pri obeh vrstah ajde

Povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja, $n = 48$ in $P = 0,0180$ (F_v/F_m), $n = 80$ in $P = 0,0135$ ($\Delta F/F_m'$). Brez dodanega selenata (Se-), z dodanim selenatom (Se+).

Transpiracija je bila značilno višja pri rastlinah z dodanim selenatom ($P = 0,0049$). Na sliki 15 so povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja.

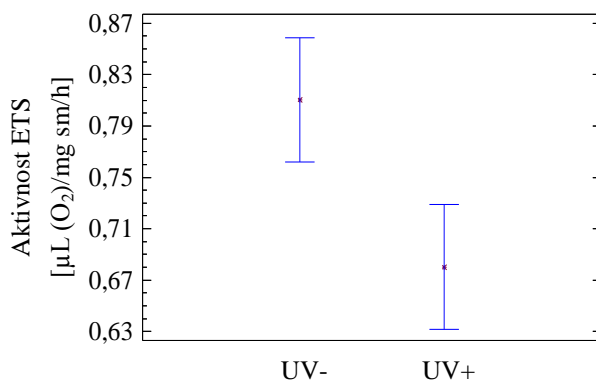


Slika 15: Stopnja transpiracije glede na dodan selenat pri obeh vrstah ajde

Povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja, $n = 48$, $P = 0,0049$. Brez dodanega selenata (Se-), z dodanim selenatom (Se+).

4.3.2 Vpliv sevanja UV-B na lastnosti obeh vrst ajde

Količina sevanja UV-B je bila značilno različna samo pri aktivnosti ETS. Značilno višjo aktivnost so imele rastline, ki so uspevale v razmerah znižanega sevanja ($P = 0,0091$). Slika 16 prikazuje povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja.



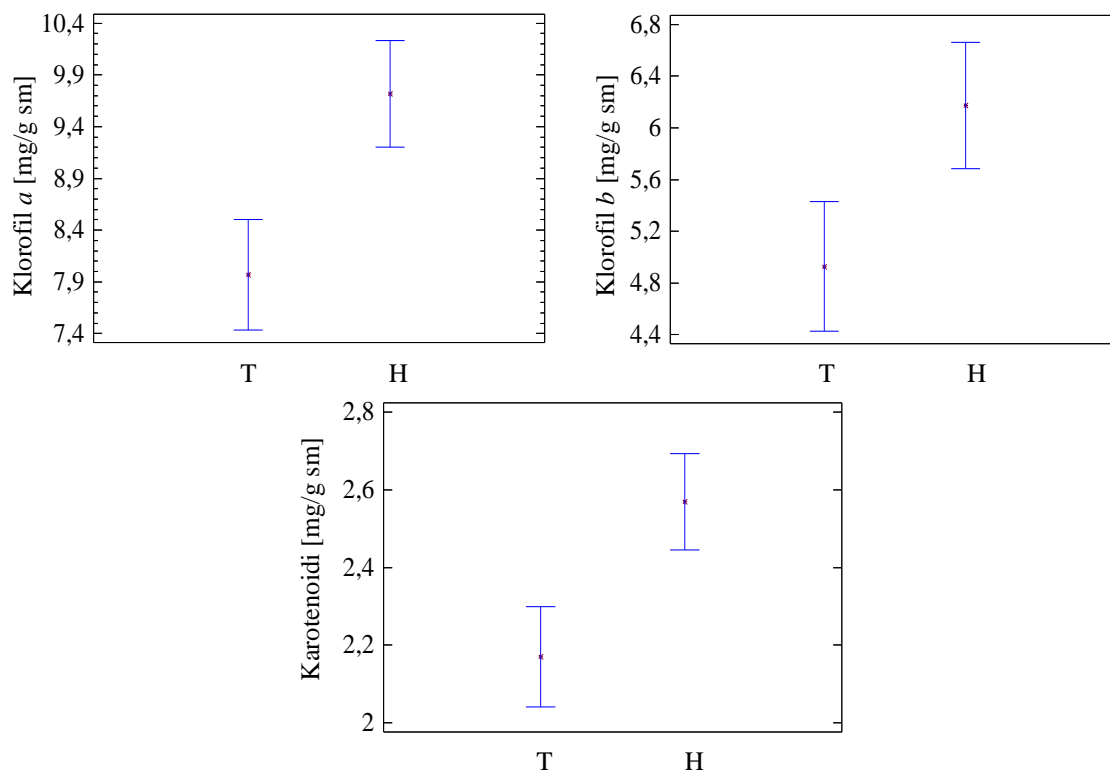
Slika 16: Aktivnost ETS glede na količino sevanja UV-B pri obeh vrstah ajde

Povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja, $n = 48$, $P = 0,0091$. Za 90 % znižano sevanje (UV-), naravno sevanje (UV+).

4.3.3 Vpliv obravnavanj na lastnosti obeh vrst ajde

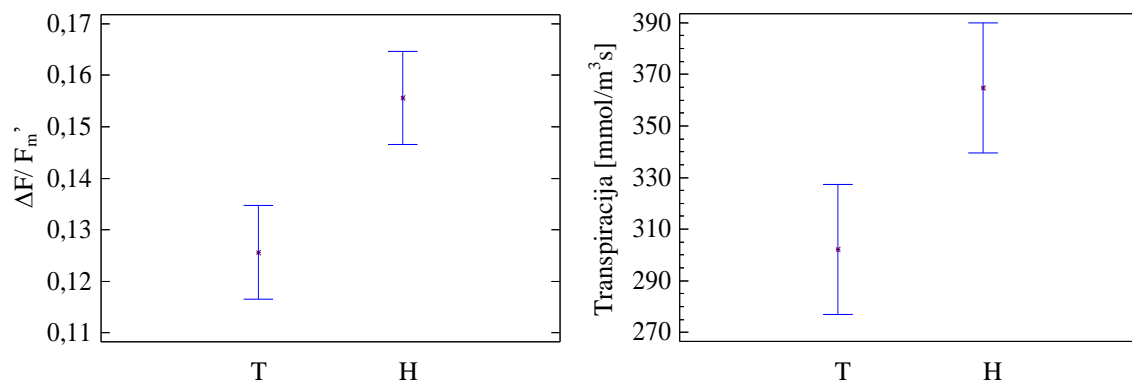
Glede na vrsto ajde so bile značilne razlike pri vsebnosti klorofila *a* in *b*, karotenoidov ter pri dejanski fotokemični učinkovitosti FS II in transpiraciji.

Vsebnost vseh treh omenjenih skupin barvil je bila višja pri hibridni ajdi kot pri tatarski ($P = 0,0014$ za klorofil *a*; $P = 0,0142$ za klorofil *b*; $P = 0,0024$ za karotenoide). Na sliki 17 so prikazane povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja.



Slika 17: Vsebnost klorofila *a* (levo), klorofila *b* (desno) in karotenoidov (spodaj) glede na vrsto ajde. Povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja, $n = 48$, $P = 0,0014$ (klorofil *a*), $P = 0,0142$ (klorofil *b*), $P = 0,0024$ (karotenoide). Tatarska ajda (T), hibridna ajda (H).

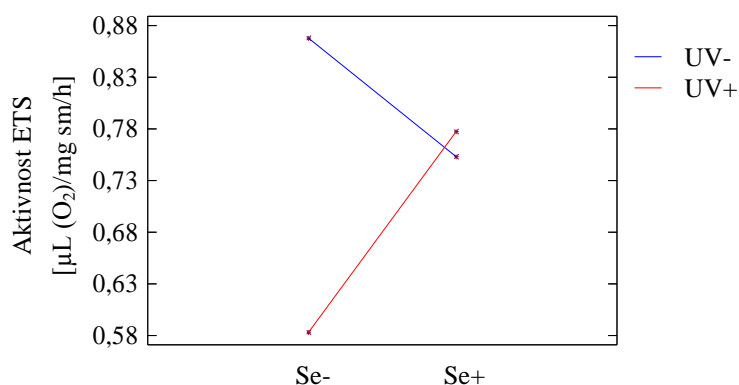
Dejanska fotokemična učinkovitost FS II in transpiracija sta bili značilno višji pri hibridni ajdi ($P = 0,0013$ za $\Delta F/F_m'$; $P = 0,0155$ za transpiracijo). Povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja prikazuje slika 18.



Slika 18: Dejanska fotokemična učinkovitost FS II (levo) in transpiracija (desno) glede na vrsto ajde. Povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja, $n = 80$ in $P = 0,0013$ ($\Delta F/F_m'$), $n = 48$ in $P = 0,0142$ (transpiracija). Tatarska ajda (T), hibridna ajda (H).

4.3.4 Interakcija med selenatom in sevanjem UV-B

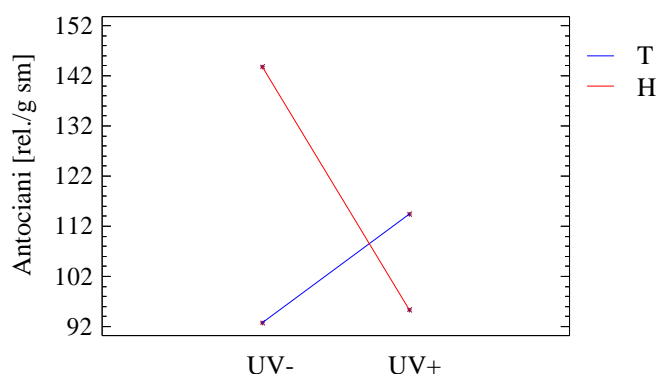
Interakcija selenata in sevanja UV-B je bila značilna zgolj pri aktivnosti ETS ($P = 0,0021$), kar prikazuje slika 19. Rastline, ki so rastle v razmerah znižanega sevanja UV-B in dodanim selenatom, so imele nižjo aktivnost ETS od tistih z naravno prisotnim selenatom. Rastlinam, ki so bile izpostavljene naravnemu sevanju UV-B, pa je dodan selenat zvišal aktivnost ETS v primerjavi s tistimi, ki jim selenata nismo dodali.



Slika 19: Interakcija med dodanim selenatom in količino sevanja UV-B pri aktivnosti ETS obeh vrst ajde. Povprečne vrednosti, $n = 24$, P -vrednost interakcije je 0,0021. Za 90 % znižano sevanje (UV-), naravno sevanje (UV+), brez dodanega selenata (Se-), z dodanim selenatom (Se+).

4.3.5 Interakcija med sevanjem UV-B in vrsto ajde

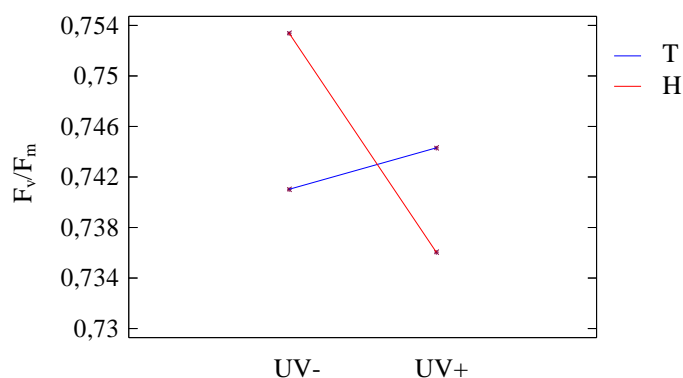
Značilnost interakcije sevanja UV-B in vrste ajde se je izkazala pri vsebnosti antocianov ($P = 0,0133$) in potencialni fotokemični učinkovitosti FS II ($P = 0,0401$). Rastline tatarske ajde so imele značilno višjo vsebnost antocianov, če so bile izpostavljene naravnemu sevanju UV-B kot če je bilo sevanje znižano. Ravno obratno velja za hibridno ajdo, saj je bila pri naravnem sevanju UV-B manjša vsebnost teh barvil kot pri znižanem sevanju. Interakcijo prikazuje slika 20.



Slika 20: Interakcija med vrsto ajde in količino sevanja UV-B pri merjeni vsebnosti antocianov

Povprečne vrednosti, $n = 24$, P-vrednost interakcije je 0,0133. Tatarska ajda (T), hibridna ajda (H), za 90 % znižano sevanje (UV-), naravno sevanje (UV+).

Potencialna fotokemična učinkovitost je bila pri tatarski ajdi višja pri rastlinah, ki so uspevale v razmerah naravnega sevanja UV-B, medtem ko je naravno sevanje UV-B precej znižalo fotokemično učinkovitost pri hibridni ajdi. Opisana interakcija je prikazana na sliki 21.



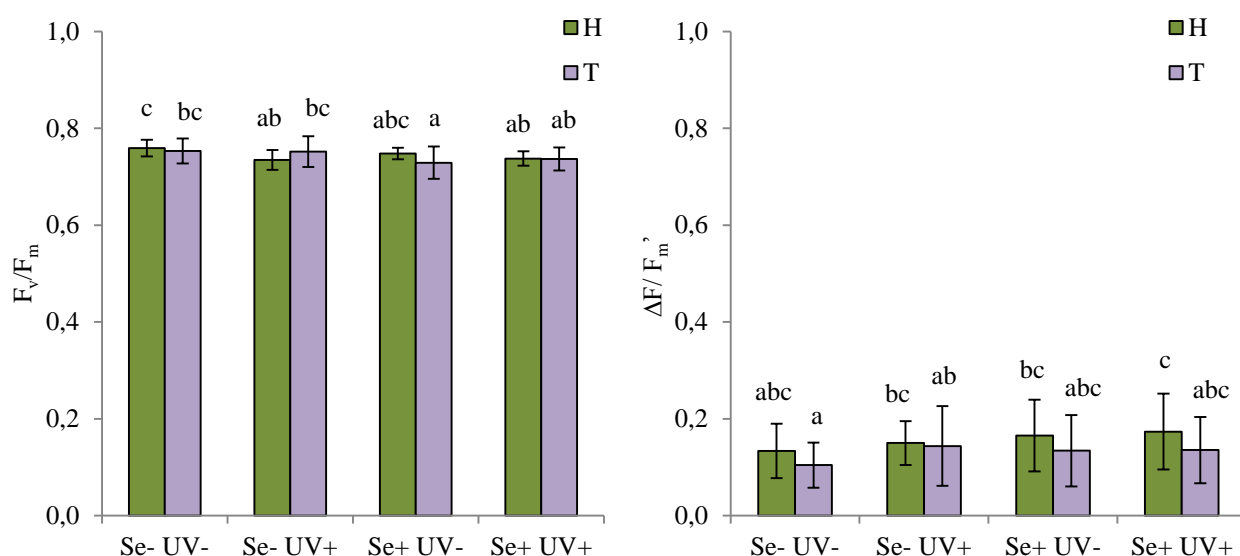
Slika 21: Interakcija med vrsto ajde in količino sevanja UV-B pri potencialni fotokemični učinkovitosti FS II

Povprečne vrednosti, $n = 24$, P-vrednost interakcije je 0,0401. Tatarska ajda (T), hibridna ajda (H), za 90 % znižano sevanje (UV-), naravno sevanje (UV+).

4.3.6 Homogenost rezultatov obravnavanj

Značilno nehomogeni rezultati obravnavanj so bili zgolj pri fizioloških parametrih: potencialni ($P = 0,0405$) in dejanski fotokemični učinkovitosti FS II ($P = 0,0297$) ter transpiraciji ($P = 0,0095$).

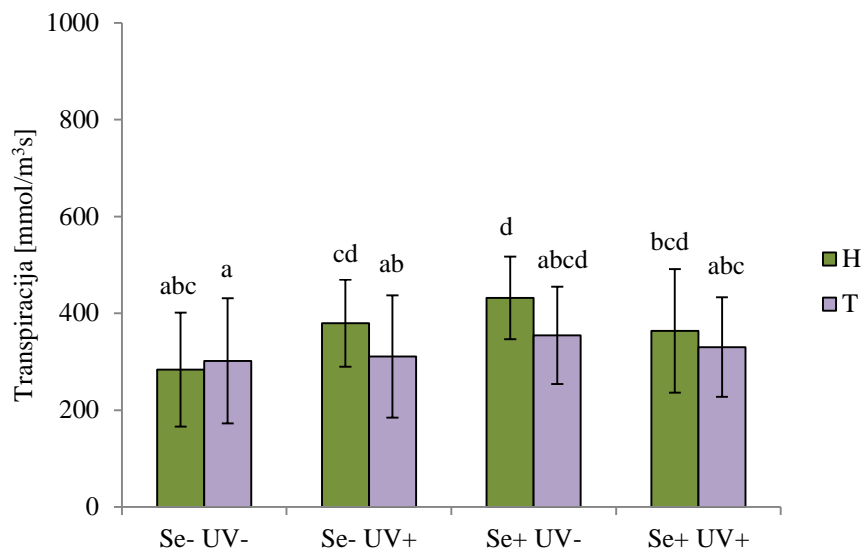
Slika 22 prikazuje značilno nehomogenost rezultatov obravnavanj pri fotokemični učinkovitosti FS II. Prikazane so povprečne vrednosti s pripadajočimi standardnimi deviacijami.



Slika 22: Potencialna (levo) in dejanska (desno) fotokemična učinkovitost FS II pri obeh vrstah ajde glede na štiri različna obravnavanja

Povprečne vrednosti \pm SD, $n = 12$ ($n = 20$ pri $\Delta F/F_m'$). Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji ($P \leq 0,05$). Hibridna ajda (H), tatarska ajda (T), za 90 % znižano sevanje brez dodanega selenata (Se- UV-), naravno sevanje brez dodanega selenata (Se- UV+), za 90 % znižano sevanje z dodanim selenatom (Se+ UV-), naravno sevanje z dodanim selenatom (Se+ UV+).

Slika 23 prikazuje značilno nehomogenost rezultatov obravnavanj pri transpiraciji. Prikazane so povprečne vrednosti s pripadajočimi standardnimi deviacijami.



Slika 23: Transpiracija pri obeh vrstah ajde glede na štiri različna obravnavanja

Povprečne vrednosti \pm SD, $n = 12$. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji ($P \leq 0,05$). Hibridna ajda (H), tatarska ajda (T), za 90 % znižano sevanje brez dodanega selenata (Se- UV-), naravno sevanje brez dodanega selenata (Se- UV+), za 90 % znižano sevanje z dodanim selenatom (Se+ UV-), naravno sevanje z dodanim selenatom (Se+ UV+).

4.4 BIOMASA RASTLINSKIH DELOV OBEH VRST AJDE PO FOLIARNEM GNOJENJU S SELENATOM

Biomasa preučevanih rastlin smo ob koncu poskusa tehtali dvakrat v razmiku dveh tednov. Izračunali smo povprečje biomase določenega rastlinskega dela na eno rastlino.

4.4.1 Biomasa rastlinskih delov obeh vrst ajde po foliarnem gnojenju s selenatom – 1. merjenje

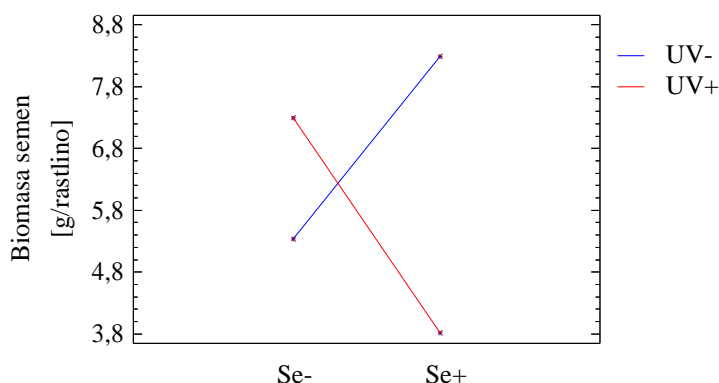
Preglednica 4: P-vrednosti za rezultate 1. merjenja biomase rastlinskih delov obeh vrst ajde po foliarnem gnojenju s selenatom

Biomasa	Dejavniki			Interakcije dejavnikov			Homogenost rezultatov obravnavanj	
	Se	UV	Vrsta	Se:UV	Se:vrsta	UV:vrsta		
Semena	0,8642	0,4153	0,1810	0,0411*	0,4312	0,4357	0,3691	H
Stebila	0,7962	0,6929	0,9426	0,0676	0,9858	0,2591	0,6748	H
Listi	0,2470	0,2873	0,8702	0,1230	0,3769	0,0752	0,3346	ne H

Rastline so bile izpostavljene štirim različnim obravnavanjem – naravnemu sevanju brez dodanega selenata, naravnemu sevanju in dodanemu selenatu, znižanemu sevanju (za 90 %) brez dodanega selenata ter znižanemu sevanju (za 90 %) in dodanemu selenatu. Opravljena je bila večfaktorska ANOVA. Statistično značilne vrednosti so napisane krepko in označene z * ($P \leq 0,05$). 'H' označuje homogenost rezultatov obravnavanj, 'ne H' pa nehomogenost oz. odstopanja med rezultati.

Korenine smo fiksirali v alkoholu, da bi zagotovili material za nadaljnje možne raziskave, zato tu ni podatka o biomasi korenin.

Značilna razlika se je pokazala zgolj pri interakciji med dodanim selenatom in sevanjem UV-B, in sicer v biomasi semen ($P = 0,0411$). Pridelek je bil največji pri rastlinah, ki so imele dodan selenat in so hkrati prejele znižano obliko sevanja UV-B. Dodan selenat je rastlinam, izpostavljenim sevanju UV-B, še dodatno znižal biomaso semen.



Slika 24: Interakcija med količino sevanja UV-B in dodanim selenatom pri biomasi semen obeh vrst ajde. Povprečne vrednosti, $n = 16$, P-vrednost interakcije je 0,0411. Za 90 % znižano sevanje (UV-), naravno sevanje (UV+), brez dodanega selenata (Se-), z dodanim selenatom (Se+).

Ostali dejavniki, interakcije med njimi in celotna obravnavanja glede na izračunane P-vrednosti niso imeli značilnega vpliva na biomaso posameznih delov preučevanih rastlin.

4.4.2 Biomasa rastlinskih delov obeh vrst ajde po foliarnem gnojenju s selenatom – 2. merjenje

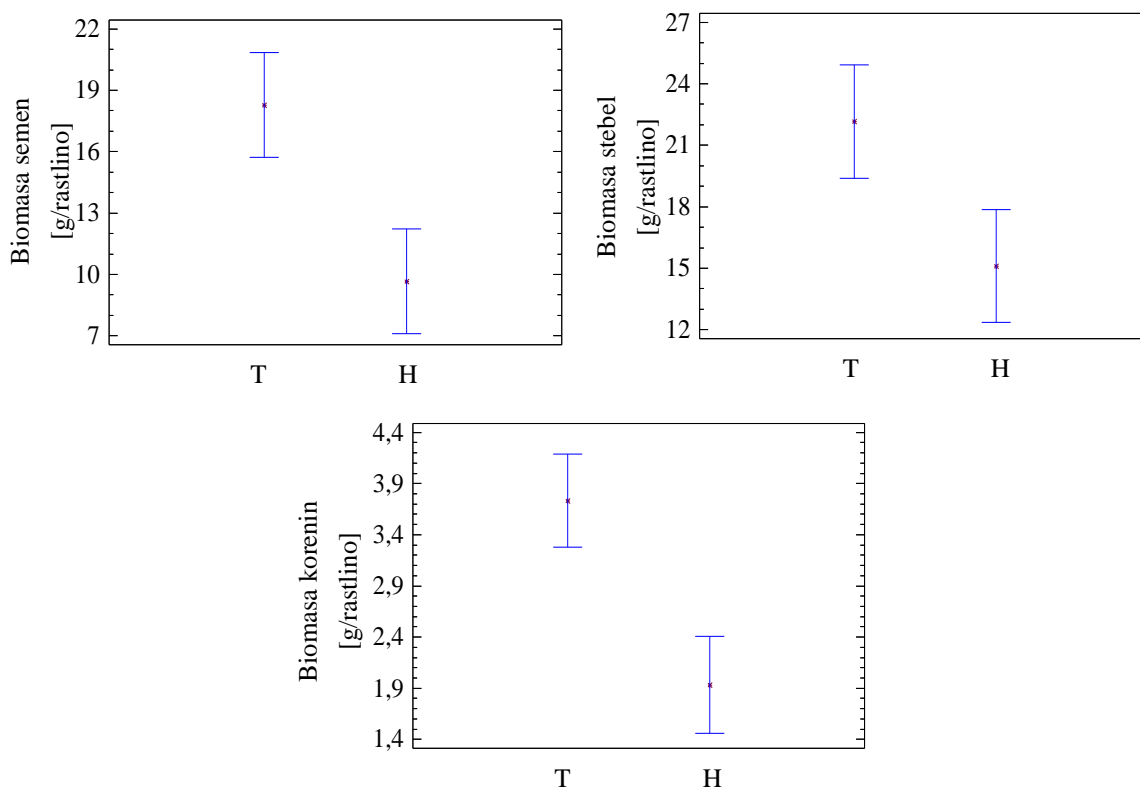
Preglednica 5: P-vrednosti za rezultate 2. merjenja biomase rastlinskih delov obeh vrst ajde po foliarnem gnojenju s selenatom

Biomasa	Dejavniki			Interakcije dejavnikov			Homogenost rezultatov obravnavanj	
	Se	UV	Vrsta	Se:UV	Se:vrsta	UV:vrsta		
Semena	0,4965	0,1275	0,0014*	0,8641	0,1904	0,0401*	0,0121*	ne H
Stebila	0,3378	0,9079	0,0132*	0,9500	0,6002	0,4257	0,1899	ne H
Listi	0,2690	0,9296	0,0814	0,9565	0,1923	0,7219	0,4194	H
Korenine	0,6167	0,8381	0,0003*	0,9997	0,5118	0,4210	0,0305*	ne H

Rastline so bile izpostavljene štirim različnim obravnavanjem – naravnemu sevanju brez dodanega selenata, naravnemu sevanju in dodanemu selenatu, znižanemu sevanju (za 90 %) brez dodanega selenata ter znižanemu sevanju (za 90 %) in dodanemu selenatu. Opravljena je bila večfaktorska ANOVA. Statistično značilne vrednosti so napisane krepko in označene z * ($P \leq 0,05$). 'H' označuje homogenost rezultatov obravnavanj, 'ne H' pa nehomogenost oz. odstopanja med rezultati.

Na biomaso pri drugem merjenju so imeli značilen vpliv: vrsta rastline, interakcija med vrsto in količino sevanja UV-B ter tudi celotna obravnavanja.

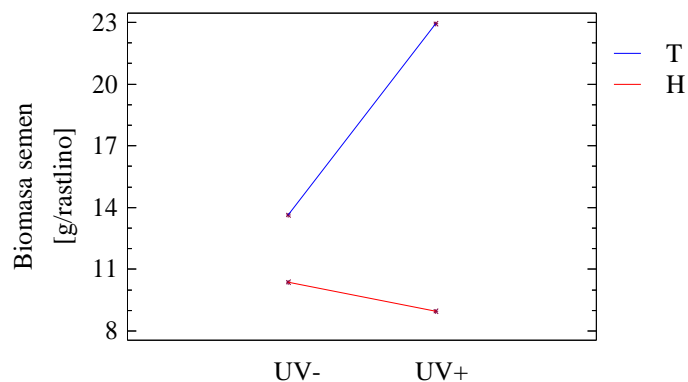
Vrsta ajde je značilno vplivala na biomaso vseh delov rastlin, razen na biomaso listov. Kot prikazuje slika 25, so imele rastline tatarske ajde značilno večjo biomaso semen, stebel in korenin od rastlin hibridne ajde. Prikazane so povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja.



Slika 25: Biomasa semen (levo), stebel (desno) in korenin (spodaj) glede na vrsto ajde

Povprečne vrednosti s 95 % intervalom zaupanja, $n = 32$, $P = 0,0014$ (semena), $P = 0,0132$ (stebela), $P = 0,003$ (korenine). Tatarska ajda (T), hibridna ajda (H).

Interakcija sevanja UV-B in vrste ajde je značilno vplivala na biomaso semen ($P = 0,0401$), kar prikazuje slika 26. Pri tatarski ajdi so imele večji pridelek rastline, ki so prejele naravno sevanje UV-B, medtem ko je sevanje UV-B pri rastlinah hibridne ajde nekoliko znižalo biomaso semen.

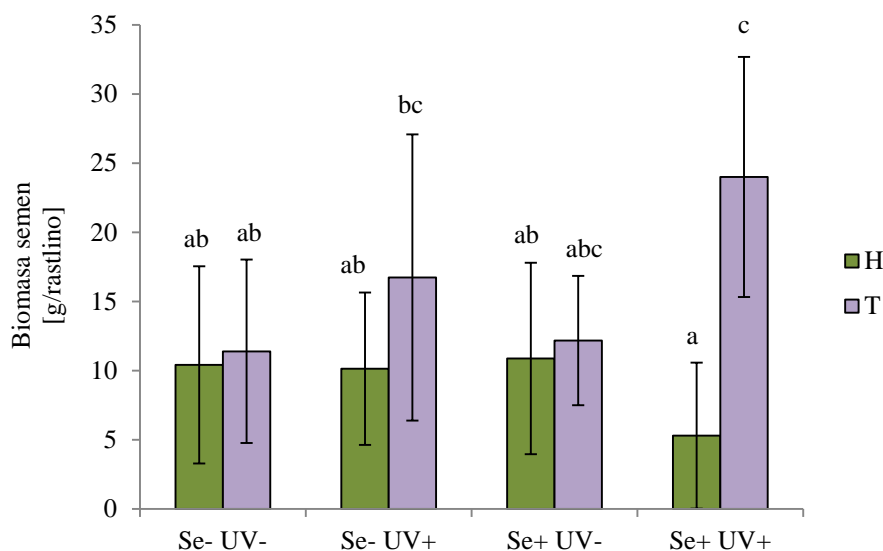


Slika 26: Interakcija med količino sevanja UV-B in vrsto ajde pri biomasii semen

Povprečne vrednosti, $n = 16$, P -vrednost interakcije je 0,0401. Tatarska ajda (T), hibridna ajda (H), za 90 % znižano sevanje (UV-), naravno sevanje (UV+).

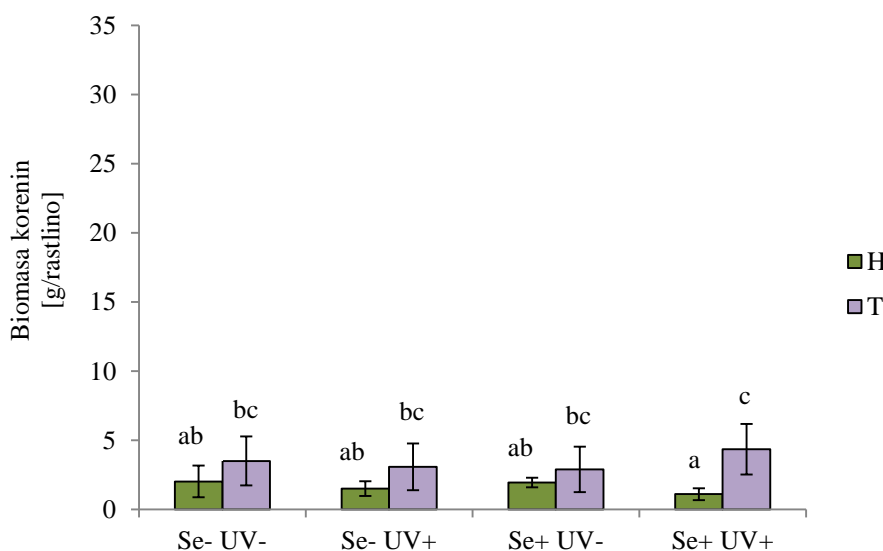
Značilna nehomogenost rezultatov obravnavanj se je pokazala pri biomasii semen in korenin. Največja in najbolj očitna razlika v uspevanju obeh vrst ajde je bila pri dodanem selenatu in naravnem sevanju UV-B (Se+ UV+). V teh razmerah so imele rastline tatarske ajde največjo biomaso semen in korenin, medtem ko je hibridna ajda v takih okoliščinah najslabše uspevala.

Omenjeno razliko skupaj z vsemi ostalimi obravnavanji prikazujeta sliki 27 in 28. Prikazane so povprečne vrednosti s standardnimi deviacijami.



Slika 27: Biomasa semen obeh vrst ajde glede na štiri različna obravnavanja

Povprečne vrednosti \pm SD, n = 8. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji ($P \leq 0,05$). Hibridna ajda (H), tatarska ajda (T), za 90 % znižano sevanje brez dodanega selenata (Se- UV-), naravno sevanje brez dodanega selenata (Se- UV+), za 90 % znižano sevanje z dodanim selenatom (Se+ UV-), naravno sevanje z dodanim selenatom (Se+ UV+).

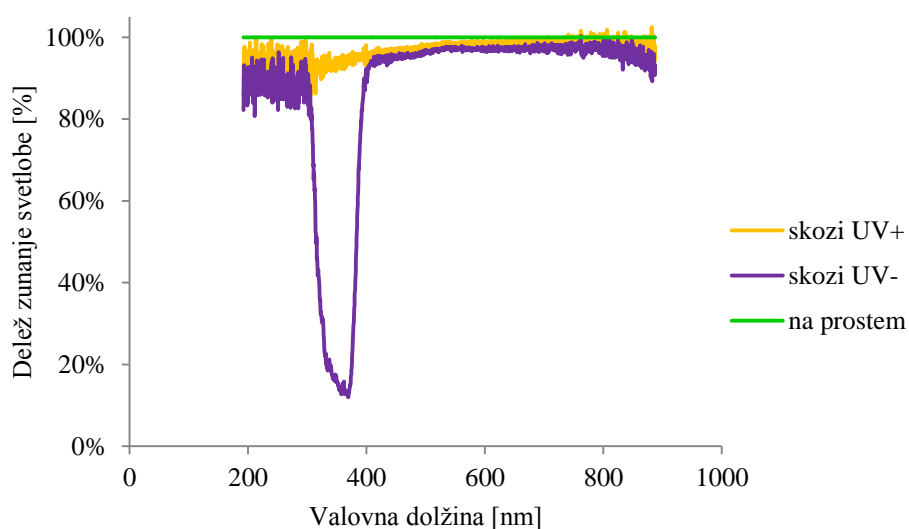


Slika 28: Biomasa korenin obeh vrst ajde glede na štiri različna obravnavanja

Povprečne vrednosti \pm SD, n = 8. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko med obravnavanji ($P \leq 0,05$). Hibridna ajda (H), tatarska ajda (T), za 90 % znižano sevanje brez dodanega selenata (Se- UV-), naravno sevanje brez dodanega selenata (Se- UV+), za 90 % znižano sevanje z dodanim selenatom (Se+ UV-), naravno sevanje z dodanim selenatom (Se+ UV+).

4.5 SVETLOBNI SPEKTRI NA PROSTEM IN POD STREŠNIKI

S spektrometrom smo izmerili svetlobne spektre na prostem in pod obema vrstama strešnikov, nato pa izračunali, kolikšen del svetlobe gre skozi posamezen tip strešnikov. Z UV+ so na sliki 29 označeni Quinn cast UVT strešniki, z UV- pa Quinn XT strešniki z UV filtrom. UV filter v UV- strešnikih je dejansko znižal ultravijolični del spektra (280–400 nm) na približno 10 %, medtem ko so UV+ strešniki večji del UV spektra, okrog 90 %, prepuščali skozi. Vidni del svetlobe (400–750 nm) sta oba tipa strešnikov prepuščala približno enako, okrog 90 %.



Slika 29: Delež svetlobe, ki prehaja skozi UV+ in UV- strešnike, glede na sevalne razmere na prostem

5 RAZPRAVA

Svetlobni spektri, ki smo jih merili na prostem ter pod UV+ in UV- strešniki, so dali zelene rezultate. UV filter v Quinn XT strešnikih je znižal ultravijolični del spektra na zgolj 10 % glede na okoliško sevanje, medtem ko pod Quinn cast UVT strešniki ni prišlo do bistvenega znižanja. Oba tipa strešnikov sta prepuščala okrog 90 % vidne svetlobe, saj smo želeli, da bi bile ostale sevalne razmere pod strešniki čim bolj podobne okoliškimi.

5.1 VPLIV DEJAVNIKOV NA BIOKEMIJSKE IN FIZIOLOŠKE LASTNOSTI RASTLIN OBEH VRST AJDE

5.1.1 Vpliv selenata na lastnosti rastlin obeh vrst ajde

Dodatek selenata je značilno vplival na nekatere biokemijske in fiziološke lastnosti ajde, merjene v 2. in 3. sklopu, medtem ko pred 1. meritvami Se še nismo dodali. Dodan Se je značilno znižal vsebnost klorofila *a* in karotenoidov, a značilno zvišal dejansko fotokemično učinkovitost FS II in transpiracijo. Gnojenje s Se je povzročilo majhno znižanje potencialne fotokemične učinkovitosti FS II.

Kot navajajo Breznik in sodelavci (2005a), je tudi pri njihovi raziskavi dodan selenat znižal vrednosti klorofila *a* in povečal dejansko fotokemično učinkovitost FS II pri tatarski ajdi. Večja dejanska fotokemična učinkovitost namreč za rastlino pomeni večjo sposobnost za pridobivanje energije, kar je pomemben pozitiven učinek Se tudi v našem primeru. To trditev okrepi tudi dejstvo, da je dodan Se povečal transpiracijo, kar nakazuje na večjo fotosintezno aktivnost gnojnih rastlin. Padec potencialne fotokemične učinkovitosti FS II pri gnojnih rastlinah v našem poskusu (samo za dve stotinki) je bil značilen le pri 3. meritvah, ko je bila fotokemična učinkovitost od vseh meritev najvišja, še vedno pa so bile povprečne vrednosti nad 0,73. Vrednosti so bile blizu teoretičnemu maksimumu, ki je 0,83 (Schreiber in sod., 1994), zato lahko predvidevamo, da gnojene rastline niso bile v stresu.

5.1.2 Vpliv sevanja UV-B na lastnosti rastlin obeh vrst ajde

Naravno sevanje UV-B je značilno povečalo vsebnost antocianov (2. meritve), zvišalo potencialno fotokemično učinkovitost FS II, a zmanjšalo transpiracijo (1. meritve) in znižalo dihalni potencial (3. meritve) v primerjavi z za 90 % znižanim sevanjem UV-B.

Antociani so barvila v vakuolah rastlinske celice, ki absorbirajo kvante visoke energije in s tem zaščitijo kloroplaste pred morebitnimi poškodbami zaradi močne svetlobe (Gould, 2004). To pojasnjuje, zakaj naši rezultati kažejo na povečano vsebnost antocianov v razmerah naravnega sevanja.

Potencialna fotokemična učinkovitost je bila nekoliko višja (za približno 2 stotinki) v razmerah naravnega sevanja UV-B le pri 1. merjenju, kjer pa so bile na splošno vrednosti tega parametra precej nizke – pri vseh obravnavanjih manj kot 0,7. Poleg tega smo pri 1. meritvah zabeležili tudi značilno nižjo transpiracijo pri naravnem sevanju kot pri znižanem, vendar so bile vrednosti transpiracije ravno v tem sklopu meritev precej višje od vseh kasnejših meritev. Oba parametra skupaj lahko nakazujeta na to, da je naravno sevanje UV-B povzročilo morebitne neugodne razmere za rastline v začetni fazi rasti.

Pri tretjih meritvah smo zabeležili najvišji dihalni potencial glede na ostale meritve, kar bi lahko bila posledica povečanih potreb po energiji za gradnjo strukturnih komponent rastlin (Smrkolj in sod., 2006), ki so bile takrat ravno v fazi reprodukcije. Pokazale pa so se razlike glede na sevanje UV-B, saj je sevanje zmanjšalo dihalni potencial rastlin. Predvidevali bi, da povečana količina sevanja pomeni stresne razmere za rastline. Na stres se rastline odzovejo s povečanim dihanjem, da si zagotovijo večje količine energije, tako kot se je to pokazalo pri poskusu z amfibijskimi rastlinami, kjer je povečan odmerek sevanja UV-B povečal dihalni potencial (Germ in Gaberščik, 2003). Dihalni potencial je bil v našem primeru značilno nižji pri naravnem sevanju UV-B kot pri znižanem. Podobne rezultate so dobili tudi Breznik in sodelavci (2005a) za navadno in tatarsko ajdo, kjer je povečana količina sevanja UV-B značilno znižala dihalni potencial v primerjavi s kontrolo. Prav tako je bilo tudi pri bučah – tiste, ki so rasle pod naravnim sevanjem UV-B, so imele nižji dihalni potencial, kot tiste, ki so rasle v razmerah znižanega sevanja (Germ in sod., 2005). Vrednosti ETS so bile tekom celotnega poskusa ne glede na obravnavanje zelo nizke, nižje od 1.

5.1.3 Vpliv obravnavanj na lastnosti obeh vrst ajde

Vrsti ajde sta se med seboj značilno razlikovali v številnih biokemijskih in fizioloških parametrih. Hibridna ajda je imela večjo vsebnost klorofila *a* in *b* ter karotenoidov kot tatarska ajda, medtem ko je imela tatarska ajda več antocianov ter UV-B in UV-A absorbirajočih snovi. Pri hibridni ajdi so bile višje vrednosti dihalnega potenciala, transpiracije in dejanske fotokemične učinkovitosti FS II.

Tatarska ajda je na sevanje UV-B odgovorila s povečano izgradnjo antioksidantov (antocianov ter UV-A in UV-B absorbirajočih snovi), saj te snovi pomagajo ščititi celice pred oksidacijskim stresom (Kreft in sod., 2003). Breznik in sod. (2005a) so pri povišanem sevanju UV-B pri tatarski in navadni ajdi zabeležili značilen porast UV absorbirajočih snovi, s pomočjo katerih se rastline zavarujejo pred stresom zaradi premočnega sevanja UV-B. Pri hibridni ajdi lahko iz surovih podatkov (Prilogi B in C) opazimo, da sevanje UV-B pri 2. in 3. meritvah ni povzročilo bistvenega porasta teh snovi, medtem ko je pri tatarski ajdi vidno vsaj nekoliko povečanje. Rastline hibridne ajde so nakopičile več klorofila *a* in *b* ter karotenoidov od tatarske ajde, višje pa so bile tudi vrednosti fizioloških parametrov, kar lahko nakazuje na visoko stopnjo fotosinteze. O hibridni ajdi je znanega še zelo malo, saj je to šele pred kratkim vzgojen križanec in o njem še ni objavljenih raziskav.

5.1.4 Interakcije dejavnikov

Interakcija med Se in sevanjem UV-B je bila značilna le pri aktivnosti ETS, torej pri dihalnem potencialu. Pri naravnem sevanju UV-B je dodan Se povečal dihalni potencial, pri zmanjšanem sevanju pa ga je dodatek Se znižal. Naši rezultati so ravno v nasprotju s tistimi, ki jih navaja Germ (2006) v svojem članku o navadni ajdi. V njenem primeru je dodan Se pri naravnem sevanju zmanjšal dihalni potencial navadne ajde, pri znižanem sevanju pa ga je povečal. Razlaga je bila, da interakcija obeh dejavnikov predstavlja prevelik stres za rastlino, zato se ji zniža dihalni potencial. Stres povzroči povečano potrebo po energiji in zato se v rastlini lahko poveča dihalni potencial, če stres ni premočan (Germ in Gaberščik, 2003). Podobno kot v našem poskusu pa so zasledili Germ in sod. (2005) pri bučah. Čeprav interakcija med dodanim Se in sevanjem UV-B ni bila značilna, pa je bila opazna težnja, da je dodan Se nekoliko povečal dihalni potencial buč pod naravnim sevanjem in ga znižal tistim pod znižanim sevanjem UV-B. Smrkočlj in sod. (2006) navajajo, da je povečanje dihalnega potenciala lahko posledica povečane aktivnosti encima glutation peroksidaze v mitohondrijih, ki jo povzroči dodan selen, saj je esencialni gradnik tega encima. Povzamemo lahko, da hkratna prisotnost sevanja UV-B in selena vodi do povečane aktivnosti antioksidativnih encimov (zato je višja aktivnost ETS), s čimer se rastlina zaščiti pred morebitnim oksidativnim stresom. Dodan selenat je v našem primeru torej pomagal rastlinam pri zaščiti pred škodljivimi učinki sevanja UV-B.

Interakcija med vrsto ajde in sevanjem UV-B je bila značilna pri vsebnosti antocianov. Pri rastlinah tatarske ajde je bila znatno višja vsebnost antocianov pri naravnem sevanju

UV-B kot pri znižanem. Pri hibridni ajdi pa so bile vrednosti antocianov nižje pri naravnem sevanju kot pri znižanem. Omenjena interakcija je bila značilna tudi pri potencialni fotokemični učinkovitosti FS II. Medtem ko pri tatarski ajdi količina sevanja UV-B ni imela bistvenega vpliva na potencialno fotokemično učinkovitost FS II, pa je bila le-ta pri rastlinah hibridne ajde nižja pri naravnem sevanju UV-B kot pri znižanem. Iz navedenega lahko sklepamo, da sevanje UV-B predstavlja rahlo negativen vpliv na hibridno ajdo, saj ji je nekoliko znižalo potencialno fotokemično učinkovitost FS II, kljub temu pa so bile vrednosti še vedno tako visoke (nad 0,73), da ne moremo govoriti o stresnih razmerah. Tatarska ajda pa je z izgradnjo antocianov očitno dosegla odpornost na naravno količino sevanja UV-B, saj sevanje ni imelo večjega vpliva na potencialno fotokemično učinkovitost FS II. Ker rastline hibridne ajde niso povečale nalaganja antocianov v celicah v razmerah z večjim sevanjem UV-B, jim je sevanje predstavljalo večji stres in večje možnosti okvar – fotoinhibicija in fotooksidacija zaradi močne svetlobe (Gould, 2004) – kot rastlinam tatarske ajde, ki so bolj zaščitile svoj fotosintezni aparat s kopičenjem teh snovi.

Na sliki 12, ki prikazuje vsebnost antocianov glede na obravnavanja, lahko opazimo velike standardne deviacije, še posebej pri zadnjem stolpcu. Zaradi velikih razlik v osončenosti rastlin na polju je prišlo tudi do velikih razlik v vsebnosti antocianov že znotraj ene parcele, še večja pa je bila razlika med parcelami. Količina antocianov je namreč močno občutljiv parameter, saj lahko že majhna odstopanja med osvetlitvijo privedejo do zelo velikih razlik pri vsebnosti teh barvil.

Če primerjamo naravne razmere, ki jih je predstavljalo obravnavanje Se- UV+, z obravnavanjem Se+ UV+, lahko ugotovimo, ali je imel dodatek Se kakšen omilitveni učinek na morebitne negativne posledice sevanja UV-B. Izkazala se je statistično značilna razlika med tema dvema obravnavanjema pri transpiraciji. Dodatek Se je pri hibridni ajdi značilno dvignil vrednost transpiracije, pri tatarski ajdi pa jo je zvišal le malo (ne značilno). Dodan Se je pri naravnih sevalnih razmerah malce dvignil tudi vrednosti dejanske fotokemične učinkovitosti FS II pri obeh vrstah, vendar ta rezultat ni bil statistično značilen. Iz obojega skupaj lahko sklepamo na morebiten omilitveni učinek Se na posledice sevanja, saj povišana transpiracija in nekoliko povečana fotokemična učinkovitost FS II pričujeta o povečani fotosintezni aktivnosti, kar nakazuje na ugodne razmere za rastlino. Obstajajo številni primeri omilitvenih učinkov Se na posledice sevanja UV-B, med drugim je pri tatarski in navadni ajdi (Breznik in sod., 2005a) dodan Se omilil padeč dejanske fotokemične učinkovitosti FS II, ki ga je

povzročilo povečano sevanje UV-B. Zaščitni učinek Se je zelo pomemben, saj poveča možnost izrabe svetlobe in s tem omogoči rastlinam, da jo izkoristijo za pridobivanje energije. Dodan selenat je v razmerah naravnega sevanja tudi povišal dihalni potencial ajde, kar lahko razložimo s tem, da je s povečano aktivnostjo antioksidativnih encimov omogočil rastlinam zaščito pred oksidativnim stresom.

5.2 VPLIV DEJAVNIKOV NA BIOMASO RASTLINSKIH DELOV OBEH VRST AJDE

5.2.1 Vpliv selenata na biomaso rastlinskih delov obeh vrst ajde

Selenat kot glavni dejavnik ni bil odločilen za razlike med biomasami posameznih rastlinskih delov, je bil pa pomemben dodatni dejavnik skupaj s sevanjem UV-B oziroma z vrsto ajde, kot je opisano med interakcijami dejavnikov.

Tudi Breznik in sod. (2004) niso zaznali značilnega vpliva Se na biomaso rastlinskih delov tatarske ajde, čeprav je dodan Se nekoliko znižal biomaso korenin pri naravnem sevanju UV-B.

5.2.2 Vpliv sevanja UV-B na biomaso rastlinskih delov obeh vrst ajde

Količina sevanja UV-B ni značilno vplivala na biomaso katerega koli rastlinskega dela ajde. Ta dejavnik pa je imel velik pomen za razlike med rastlinami v kombinaciji z drugimi dejavniki.

Povečano sevanje UV-B je povzročilo zmanjšanje biomase nadzemnih delov pri tatarski ajdi (Breznik in sod., 2004) in pri navadni ajdi (Breznik in sod., 2005b) v primerjavi z naravnim sevanjem. V našem primeru nismo imeli razmer s povišanim sevanjem, ampak zgolj z zmanjšanim in naravnim. Slednje očitno na rastline ni delovalo tako negativno, da bi se jim zmanjšala biomasa katerega koli rastlinskega dela. Prav tako ni imela količina sevanja UV-B nobenega značilnega vpliva na biomaso jagode in ječmena (Valkama in sod., 2003).

5.2.3 Vpliv obravnavanj na biomaso rastlinskih delov obeh vrst ajde

Pri drugem merjenju biomase se je pokazala značilna razlika v suhih masah med tatarsko in hibridno ajdo. Biomasa semen, stebel in korenin tatarske ajde je bila značilno višja od rastlinskih delov hibridne ajde, ne glede na razmere, v katerih so rasle. Rastline

tatarske ajde so torej imele večji pridelek od hibridne ajde. Iz biokemijskih in fizioloških lastnosti hibridne ajde smo sklepali, da je imela ta vrsta najbrž večjo fotosintezno aktivnost od tatarske ajde, hkrati pa smo ugotovili, da ji naravno sevanje v majhni meri škodi. Očitno ji razmere v primerjavi s tatarsko ajdo niso tako ustrezale, da bi izgradila tolikšno biomaso, kot so jo rastline tatarske ajde.

5.2.4 Interakcije dejavnikov

Značilna je bila interakcija med dodanim Se in sevanjem UV-B pri prvem merjenju biomase, in sicer pri biomasi semen. Rastline, ki niso bile gnojene s selenatom, so imele večji pridelek, če so rasle v razmerah z naravnim sevanjem UV-B, kot tiste, ki so rasle pod zmanjšanim sevanjem. Obratno velja za gnojene rastline, saj je bil pridelek večji pri rastlinah v razmerah zmanjšane sevanja, kot pri tistih, ki so bile deležne naravne količine sevanja UV-B. Dodatek selenata je torej povečal pridelek rastlinam, ki so rasle v razmerah zmanjšane sevanja, medtem ko ga je znižal tistim, ki so uspevale v naravnih sevalnih razmerah. Breznik in sod. (2005b) so pri navadni ajdi zabeležili, da je dodan Se v razmerah naravnega sevanja nekoliko znižal število semen na rastlino, medtem ko je pri povečanem sevanju UV-B dodan Se bistveno povečal pridelek semen. Enaka ekipa raziskovalcev pa je pri tatarski ajdi opazila težnjo zmanjšanja števila semen ob dodanem Se tako pri naravnem kot pri povečanem sevanju UV-B, čeprav v objavljeni raziskavi razlike niso bile statistično značilne (Breznik in sod., 2004). Že prej smo pisali o povečanem dihalnem potencialu ob hkratni prisotnosti selenata in sevanja UV-B. Iz tega lahko sklepamo, da so rastline energijo porabljale za obrambo pred oksidativnim stresom in manj za gradnjo strukturnih elementov, kar se odraža na nižji biomasi.

Interakcija med vrsto ajde in sevanjem UV-B je bila prav tako značilna pri biomasi semen. Sevanje UV-B ni igralo bistvene vloge pri biomasi semen pri rastlinah hibridne ajde, oziroma je naravno sevanje nekoliko zmanjšalo pridelek v primerjavi z znižanim sevanjem. Pri tatarski ajdi pa je bila povezava ravno obratna – značilno večji pridelek so imele rastline tatarske ajde, ki so rasle v razmerah z naravnim sevanjem UV-B, kot tiste, ki smo jim zmanjšali sevanje. Breznik in sod. (2004) so v poskusu s povišanim sevanjem UV-B prišli do zaključka, da je tatarska ajda precej občutljiva na takšne razmere, saj je povišano sevanje povzročilo zmanjšanje biomase nadzemnih in podzemnih delov rastlin v primerjavi s kontrolnimi rastlinami, ki so rasle v razmerah naravnega sevanja UV-B. Naravno sevanje UV-B je najbrž blizu optimuma za tatarsko

ajdo, saj so imele te rastline v našem poskusu za približno 1,5-krat večji pridelek od rastlin, ki so rasle pod znižanim sevanjem.

Največja razlika v biomasi med obema vrstama ajde je bila pri obravnavanju Se+ UV+, torej pri rastlinah, rastočih v razmerah naravnega sevanja UV-B in gnojnih s selenatom. Pri tem obravnavanju so imele rastline hibridne ajde najmanjšo biomaso semen in korenin, medtem ko so rastline tatarske ajde ravno v teh razmerah najbolje uspevale. Ta kombinacija dejavnikov je bila za hibridno ajdo najbolj neugodna, saj je v vseh ostalih treh obravnavanjih bistveno bolje uspevala. Tatarski ajdi pa so očitno take razmere od vseh najbolj ustrezale, čeprav lahko opazimo, da je bil pridelek tatarske ajde precej velik tudi v naravnih razmerah (Se- UV+).

Če primerjamo obravnavanje Se- UV+, ki je v našem primeru predstavljalo naravne razmere, z obravnavanjem Se+ UV+, ne najdemo nobene značilne razlike v biomasah posameznih rastlinskih delov. Pri obravnavanju Se+ UV+ je pri drugih meritvah opazno rahlo znižanje biomase semen in korenin pri hibridni ajdi ter rahlo zvišanje biomase semen in korenin pri tatarski ajdi, vendar razlike niso statistično značilne. Iz interakcije med Se in sevanjem, ki je bila značilna pri prvih meritvah biomase, pa je razvidno, da je dodan Se značilno znižal biomaso semen pri naravnem sevanju UV-B v primerjavi s kontrolo, kjer Se ni bil dodan. Dodanemu selenatu torej ne moremo pripisati omilitvenih učinkov na posledice sevanja UV-B pri biomasi rastlinskih delov, ampak se izkaže, da je dodan Se celo znižal pridelek pri naravnem sevanju UV-B.

V kar nekaj primerih raziskav se je izkazalo, da dodan Se ni omilil negativnih učinkov sevanja UV-B, ampak jih je celo okrepil. Dodan Se je zmanjšal biomaso korenin tatarske ajde pri naravnem sevanju (Breznik in sod., 2004) ter povečal občutljivost jagode ob povišanem sevanju UV-B (Valkama in sod., 2003). Spet drugi navajajo pozitivne učinke Se na rastline. Sevanje UV-B je znižalo biomaso nadzemnih delov navadne in tatarske ajde samo ob odsotnosti Se, kar lahko nakazuje na potencialno pozitiven učinek dodanega selena (Breznik in sod., 2005a). Pri povišanem sevanju UV-B je dodan selen povečal biomaso pšenice (Yao in sod., 2011) ter biomaso in število semen navadne ajde (Breznik in sod., 2005b). Prav tako je značilno povečal pridelek buč pri naravnem sevanju (Germ in sod., 2005).

6 SKLEPI

Pred začetkom poskusa smo postavili šest delovnih hipotez.

1. Dodan selenat bo vplival na biokemijske in fiziološke lastnosti obeh vrst ajde.

Dodan Se je znižal vsebnost klorofila *a* in karotenoidov v rastlinah ter zmanjšal potencialno fotokemično učinkovitost FS II. Zvišal je vrednosti transpiracije in dejanske fotokemične učinkovitosti FS II.

2. Dodan selenat bo imel pozitiven vpliv na pridelek obeh vrst ajde.

Dodan Se kot samostojen dejavnik ni značilno vplival na pridelek ajde, ne negativno ne pozitivno.

3. Sevanje UV-B bo imelo negativen vpliv na izbrane biokemijske in fiziološke lastnosti ter pridelek obeh vrst ajde.

V primerjavi z znižanim sevanjem je naravno sevanje UV-B povzročilo povečanje potencialne fotokemične učinkovitosti FS II in vsebnosti antocianov ter zmanjšalo transpiracijo in dihalni potencial obeh vrst ajde. Na pridelek ajde pa sevanje UV-B kot samostojen dejavnik ni imelo značilnega vpliva, ne negativnega niti pozitivnega.

4. Pričakujemo interakcijo dodanega selenata in sevanja UV-B pri obeh vrstah ajde.

Interakcija dodanega Se in sevanja UV-B je bila značilna pri dihalnem potencialu (aktivnosti ETS) in biomasi semen obeh vrst ajde. Dodan Se je pri naravnem sevanju UV-B povečal dihalni potencial rastlin, medtem ko ga je pri zmanjšanem sevanju znižal. Obratno je bilo pri biomasi semen, saj je dodan Se pri naravnem sevanju UV-B znižal pridelek, medtem ko ga je zvišal pri zmanjšanem sevanju.

5. Selenat bo omilil negativne posledice sevanja pri obeh vrstah ajde.

V primerjavi s kontrolo, kjer Se nismo dodali (Se- UV+), je dodan Se pri naravnem sevanju značilno povišal vrednosti transpiracije pri hibridni ajdi, pri tatarski pa zgolj nekoliko. Predvidevamo, da je dodan selenat pomagal pri obrambi pred oksidativnim stresom, kar se je odražalo kot povišanje dihalnega potenciala zaradi povečane aktivnosti antioksidacijskih encimov. Negativno pa je Se deloval na pridelek obeh vrst ajde pri naravnem sevanju.

6. Preučevani vrsti ajde se bosta razlikovali v odzivu na dodan selenat in sevanje UV-B.

Zabeležili smo kar nekaj razlik med vrstama ajde. Rastline hibridne ajde so imele v splošnem večjo vsebnost klorofila *a*, klorofila *b* ter karotenoidov, višji dihalni potencial, transpiracijo in dejansko fotokemično učinkovitost FS II. Rastline tatarske ajde pa so imele večjo vsebnost antocianov, UV-B in UV-A absorbirajočih snovi ter večjo biomaso semen, stebel in korenin.

Naravno sevanje UV-B je v primerjavi z zmanjšanim pri hibridni ajdi znižalo vsebnost antocianov, znižalo potencialno fotokemično učinkovitost FS II in zmanjšalo pridelek. Pri tatarski ajdi pa so se vrednosti vseh omenjenih parametrov povečale v razmerah naravnega sevanja UV-B v primerjavi z zmanjšanim.

Se kot samostojen dejavnik ni značilno vplival na razlike med vrstama ajde.

7 POVZETEK

Živimo v času, ko se zaradi tanjšanja ozonske plasti povečuje količina sevanja UV-B na površju Zemlje. Prekomerno nastajanje prostih radikalov, ki jih le-to povzroča, in pomanjkanje antioksidantov lahko vodita do oksidativnega stresa v organizmih, ta pa povzroča številna obolenja. Človeško in živalsko telo samo proizvaja številne antioksidante, ki čistijo celice prostih radikalov, obstajajo pa tudi esencialne snovi, ki jih pridobimo s prehrano – eden izmed njih je tudi selen (Se), gradnik encima glutation peroksidaze z antioksidacijsko vlogo v celicah. Slovenija je območje s pomanjkanjem Se v tleh in posledično tudi pomanjkanjem Se v kulturnih rastlinah, zato je primerna alternativa dodajanje Se rastlinam, ki ga v procesu presnove vgradijo v svojo biomaso v organski obliki. Ajda je rastlina, ki lahko vsebuje znatne količine Se, hkrati pa se ji ob dodatku selena njegova vsebnost še poveča, sploh v zrnju. Poleg tega ima ajda visoko biološko vrednost, saj vsebuje tudi velike količine rutina, ki je antioksidant, kakovostne beljakovine, vlaknine, nenasičene maščobne kisline ter vitamine B1, B2 in B6.

V nalogi nas je zanimalo, kakšen vpliv imata sevanje UV-B in Se na tatarsko in hibridno ajdo. Na polju Biotehniške fakultete smo po parcelah posejali obe vrsti ajde, okrog pa smo naredili živo ograjo iz navadne ajde, da bi se izognili robnemu vplivu. Za uravnavanje količine sevanja UV-B smo postavili lesen okvir s plastičnimi strešniki. Nad parcelami, ki smo jim želeli zmanjšati količino sevanja, so bili strešniki z UV filtrom, ki je zmanjšal sevanje UV-B za 90 %, nad ostalimi parcelami pa so bili strešniki brez UV filtra. Polovico rastlin smo foliarno gnojili z raztopino natrijevega selenata (10 mg Se/L), ostala polovica je ostala negnojena. Meritve smo opravili trikrat v nekajtedenskih razmikih. Merili smo vsebnost klorofila *a*, klorofila *b*, karotenoidov, antocianov ter UV-A in UV-B absorbirajočih snovi. Poleg tega smo merili tudi transpiracijo, fotokemično učinkovitost FS II in dihalni potencial s pomočjo meritev aktivnosti ETS. Ob koncu poskusa smo dvakrat v razmiku dveh tednov stekali suho biomaso rastlin.

Rezultati so pokazali značilno vlogo Se pri povišanju dejanske fotokemične učinkovitosti FS II in transpiracije ter znižanju vsebnosti klorofila *a* in karotenoidov in zmanjšanju potencialne fotokemične učinkovitosti FS II. Rezultati kažejo na večjo fotosintezno aktivnost, medtem ko na biomaso gnojenje ni imelo vpliva, zaradi česar lahko dodanemu Se pripišemo pozitivne učinke na preučevane rastline.

Sevanje UV-B je imelo nekaj negativnih učinkov na ajdo, saj je zmanjšalo transpiracijo rastlin in njihov dihalni potencial, povečalo pa je vrednosti potencialne fotokemične učinkovitosti FS II in antocianov. S kopičenjem antocianov rastline zavarujejo svoj fotosintezni aparat pred poškodbami zaradi premočne svetlobe, zmanjšane fiziološke lastnosti rastlin pa pričajo o morebitnem škodljivem učinku sevanja. Na biomaso rastlin samo sevanje ni imelo značilnega vpliva.

Zanimalo nas je tudi, ali ima dodan Se kakšne omilitvene učinke na morebitne negativne učinke sevanja UV-B in izkazalo se je, da je dodan Se pri obeh vrstah ajde povečal transpiracijo v primerjavi s kontrolo, kjer Se nismo dodali. Povečane vrednosti ETS ob dodatku Se pa lahko pričajo o tem, da je Se omogočil rastlinam obrambo pred škodljivim sevanjem UV-B. Obstajajo namreč navedbe, da se dihalni potencial poviša zaradi povečane aktivnosti encima glutation peroksidaze v mitohondrijih celic, ki vstopa v antioksidacijske procese. Poleg tega pa je dodan Se ob naravnem sevanju UV-B zmanjšal pridelek rastlin v primerjavi s kontrolo, kar je negativna posledica hkratne prisotnosti obeh preučevanih dejavnikov.

Razlike med vrstama ajde so bile predvsem v odzivu na sevanje UV-B, saj se je izkazalo, da je tatarska ajda že dobro prilagojena na naravne sevalne razmere (to dokazujejo povečane vsebnosti antocianov in UV absorbirajočih snovi), medtem ko je sevanje UV-B povzročilo nekatere negativne posledice pri hibridni ajdi: zmanjšalo je potencialno fotokemično učinkovitost FS II in pridelek hibridne ajde. Hibridna ajda je imela v primerjavi s tatarsko značilno več klorofila *a*, *b* in karotenoidov ter značilno višji dihalni potencial, transpiracijo in dejansko fotokemično učinkovitost. Rastline tatarske ajde pa so imele značilno višjo biomaso semen, stebel in korenin, kar nakazuje, da je dane razmere tatarska ajda bolje izkoristila za reprodukcijo od hibridne. Dodan Se kot glavni dejavnik ni značilno vplival na razlike med obema vrstama ajde.

8 VIRI

- ARSO (Agencija Republike Slovenije za okolje) – Urad za meteorologijo, 2005.
Bertalanč R. Energija sončnega obsevanja. Meteorološke meritve.
http://www.arso.gov.si/vreme/poro%C4%8Dila%20in%20projekti/dr%C5%BEavna%20slu%C5%BEba/Energija_soncnega_obsevanja.pdf (14. okt. 2013)
- Caldwell M.M. 1968. Solar UV radiation as an ecological factor for alpine plants. *Ecological Monographs*, 38: 243–268
- Breznik B., Germ M., Gaberščik A., Kreft I. 2004. The combined effects of elevated UV-B radiation and selenium on Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) habitus. *Fagopyrum*, 21: 59–64
- Breznik B., Germ M., Gaberščik A., Kreft I. 2005a. Combined effects of elevated UV-B radiation and the addition of selenium on common and tartary buckwheat. *Photosynthetica*, 43: 583–589
- Breznik B., Gaberščik A., Germ M., Kreft I. 2005b. The combined effects of enhanced UV-B radiation and selenium on common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) habitus. *Fagopyrum*, 22: 83–87
- Ellis D.R., Salt D.E. 2003. Plants, selenium and human health. *Current Opinion in Plant Biology*, 6: 273–279
- Fabjan N., Rode J., Košir I.J., Wang Z., Zhang Z., Kreft I. 2003. Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) as a source of dietary rutin and quercitrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 6452–6455
- Fang Y.-Z., Yang S. Wu G. 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18, 10: 872–879
- Fesenko I.N., Fesenko N.N. 2010. *Fagopyrum hybridum*: a process of the new buckwheat crop development. V: *Current Advances in Buckwheat Research. Proceedings of the 11th International Symposium on Buckwheat*. Orel, Rusija: 308–313

- Germ M., Gaberščik A. 2003. Dihalni potencial – kazalnik stresa pri rastlinah. Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Kmetijstvo, 81, 2: 335–339
- Germ M., Kreft I., Osvald J. 2005. Influence of UV-B exclusion and selenium treatment on photochemical efficiency of photosystem II, yield and respiratory potential in pumpkins (*Cucurbita pepo* L.). Plant Physiology and Biochemistry, 43: 445–448
- Germ M. 2006. The effect of UV-B radiation and selenium on respiratory potential in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*). Fagopyrum, 23: 91–93
- Germ M., Stibilj V. 2007. Selenium and plants. Acta agriculturae Slovenica, 89, 1: 65–71
- Germ M., Stibilj V., Kreft I. 2007. Metabolic importance of selenium for plants. The European Journal of Plant Science and Biotechnology, 1, 1: 91–97
- Gould K.S. 2004. Nature's swiss army knife: the diverse protective roles of anthocyanins in leaves. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 5: 314–320
- HealthAliciousNess. Top 10 Foods Highest in Selenium
<http://www.healthaliciousness.com/articles/foods-high-in-selenium.php>
(7. okt. 2013)
- Institute of medicine, food and nutrition board. 2000. Dietary reference intakes: vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. National academy press, Washington, DC: 529 str.
- Kenner R. A., Ahmed S.I. 1975. Measurements of electron transport activities in marine phytoplankton. Marine Biology, 33:119–127
- Khare M., Guruprasad K.N. 1993. UV-B induced anthocyanin synthesis in maize regulated by FMN and inhibitors of FMN photoreactions. Plant Science, 91: 1–5
- Kreft I. 1995. Ajda. Ljubljana, ČZD Kmečki glas: 112 str.

- Kreft I., Fabjan N., Germ M. 2003. Rutin in buckwheat - Protection of plants and its importance for the production of functional food. *Fagopyrum*, 20: 7–11
- Kreft I., Fabjan N., Yasumoto K. 2006. Rutin content in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) food materials and products. *Food Chemistry*, 98, 3: 508–512
- Kuznetsov V.V., Kholodova V.P., Kuznetsov V.I., Yagodin B.A. 2003. Selenium regulates the water status of plants exposed to drought. *Doklady Biological Sciences*, 390: 266–268
- Lichtenthaler H.K., Buschmann C. 2001a. Extraction of photosynthetic tissues: chlorophylls and carotenoids. V: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Wrolstad, R.E., Acree, T.E., Decker, E.A. (eds.). John Wiley & Sons Inc., New York: F. 4.2.1–4.2.6
- Lichtenthaler H.K., Buschmann C. 2001b. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterisation by UV-VIS. V: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Wrolstad, R.E., Acree, T.E., Decker, E.A. (eds.). John Wiley & Sons Inc., New York: F. 4.2.1–4.2.6
- Lukšič L. 2013. Antioksidativni potencial otrobov pire, navadne in tatarske ajde. *Acta agriculturae Slovenica*, 101, 1: 117–124
- Machlin L.J., Bendich A. 1987. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 1, 6: 441–445
- Ohnishi O. 2002. Wild buckwheat species in the border area of Sichuan, Yunnan and Tibet and allozyme diversity of wild Tartary buckwheat in this area. *Fagopyrum*, 19: 3–9
- Ohnishi O. 2003. Buckwheat in the Himalayan hills. V: *Ethnobotany of Buckwheat*. Kreft I., Chang K.J., Choi Y.S., Park C.H. (eds.). Jinsol Publishing Co., Seoul: 21–33
- Packard T.T. 1971. The measurement of respiratory electron-transport activity in marine phytoplankton. *Journal of Marine Research*, 29, 3: 235–244

- Pirc S., Šajn R. 1997. Vloga geologije v ugotavljanju kemične obremenitve okolja. Projekt Evropskega leta varstva narave 1995: Kemizacija okolja in življenja - do katere meje. Ljubljana, Slovensko ekološko društvo: 165–185
- Schreiber U., Bilger W., Neubauer C. 1994. Chlorophyll fluorescence as a nonintrusive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. V: Ecophysiology of Photosynthesis. Schulze E.D., Caldwell M.M. (eds.). Springer, New York: 49–70
- Schreiber U., Kühl M., Klimant I., Reising H. 1996. Measurement of chlorophyll fluorescence within leaves using modified PAM fluorometer with a fiber-optic microprobe. *Photosynthesis Research*, 47: 103–109
- Smrkolj P., Stibilj V., Kreft I., Germ M. 2005. Selenium species in buckwheat cultivated with foliar addition of Se(VI) and various levels of UV-B radiation. *Food Chemistry*, 96: 675–681
- 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
- Stibilj V., Kreft I., Smrkolj P., Osvald J. 2004. Enhanced selenium content in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) and pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds by foliar fertilisation. *European Food Research Technology*, 219: 142–144
- Tinggi U. 2003. Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: a review. *Toxicology Letters* 137: 103–110
- Trošt Sedej T. 2005. Ekologija rastlin: priročnik za vaje: 81 str.
- UNEP (United Nations Environment Programme), Ozone secretariat. Report of the 2010 Assessment of the Scientific Assessment Panel
http://ozone.unep.org/Assessment_Panels/SAP/Scientific_Assessment_2010/index.shtml (14. okt. 2013)

- Valkama E., Kivimäenpää M., Hartikainen H., Wulff A. 2003. The combined effects of enhanced UV-B radiation and selenium on growth, chlorophyll fluorescence and ultrastructure in strawberry (*Fragaria x ananassa*) and barley (*Hordeum vulgare*) treated in the field. *Agricultural and Forest Meteorology*, 120: 267–278
- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Telser J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39, 1: 44–84
- Vogrinčič M. 2008. Porazdelitev selena v navadni ajdi (*Fagopyrum esculentum* Moench). Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 39 str.
- Xue T., Hartikainen H., Piironen V. 2001. Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. *Plant and Soil*, 237, 1: 55–61
- Yao X., Chu J., He X., Ba C. 2011. Protective role of selenium in wheat seedlings subjected to enhanced UV-B radiation. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58, 2: 283–289
- Yao X., Chu J., Liang L, Geng W., Li J., Hou G. 2012. Selenium improves recovery of wheat seedlings at rewatering after drought stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 59, 6: 701–707

ZAHVALA

V prvi vrsti se zahvaljujem Stvarniku, ki je poskrbel, da smo kljub številnim zapletom uspešno opravili poskus in ga pripeljali h koncu. Hvala, da je hkrati z ajdo raslo tudi naše medsebojno razumevanje, ki je ključ do pravega uspeha.

Iskrena hvala mladi raziskovalki Sandri Golob za uspešno in prijetno sodelovanje pri najinem skupnem projektu. Hvala, da si držala vajeti organizacije poskusa in si me brez pomislekov vpeljala v praktično delo te magistrske naloge, tudi ko je bilo treba kakšno stvar večkrat razložiti.

Zahvala naj gre celotni komisiji, saj tako prijateljski in korekten odnos do študentov dandanes res ni samoumeven. Hvala vsem za hitro odzivnost, ki je velikokrat preseгла mojo hitrost pisanja. Hvala mentorici doc. dr. Mateji Germ za vse pozitivne besede, vso pomoč ter pristno veselje ob mojih osebnih dosežkih, ki so zaznamovali obdobje nastajanja tega dela. Hvala akad. prof. dr. Ivanu Kreftu za prijetno sodelovanje, za pripravljenost odstopiti svojega koščka pod soncem (v tem primeru polja za sejanje ajde) in zabavno statistično obdelavo rezultatov. Hvala predsednici komisije prof. dr. Alenki Gaberščik in pa prof. dr. Katarini Košmelj za pomoč pri statističnem ovrednotenju rezultatov.

Iskrena hvala tehniškemu sodelavcu Draganu Abramcu, ker je s svojim humorjem skrajšal včasih dolgotrajne dele te naloge in brez pomisleka priskočil na pomoč vedno, ko smo ga potrebovali.

Hvala mojim staršem ter sestri in bratoma, ki so tekom celega študija verjeli vame in me spodbujali, ko sem to potrebovala. Hvala, ker vem, da imam ob sebi vedno en šopek ljudi, na katere se lahko zanesem.

Posebna zahvala velja mojemu možu Gorazdu za nesebično pomoč pri izvedbi poskusa, za podporo in spodbudo pri pisanju tega dela in za to, da me s pozitivnim pristopom uči, da stvari večinoma niso tako slabe, kot se morda zdi na prvi pogled. S tabo je postalo duhamorno trganje listkov in semen z rastlin pravzaprav kar zabavno! Zahvaljujem se tudi najinemu kmalu rojenemu otročku, ki me je s svojimi nežnimi brcami vztrajno priganjal, da sem še pred njegovim prihodom končala s pisanjem tega zaključnega dela.

PRILOGE

Priloga A

Povprečne vrednosti biokemijskih in fizioloških značilnosti rastlin obeh vrst ajde pred foliarnim gnojenjem s selenatom (1. sklop meritev)

Povprečne vrednosti merjenih parametrov \pm standardna deviacija, n = 12 (n = 20 pri $\Delta F/F_m'$)

Merjeni parameter	Hibridna ajda		Tatarska ajda	
	UV-	UV+	UV-	UV+
Klorofil <i>a</i> [mg/g sm]	14,59 \pm 3,25	14,72 \pm 4,13	11,67 \pm 5,14	13,08 \pm 3,91
Klorofil <i>b</i> [mg/g sm]	10,80 \pm 2,81	12,82 \pm 5,35	9,77 \pm 6,08	10,54 \pm 5,42
Karotenoidi [mg/g sm]	3,52 \pm 0,40	3,58 \pm 0,97	3,10 \pm 1,01	3,15 \pm 0,86
Antociani [rel./g sm]	327,32 \pm 152,63	263,35 \pm 60,81	231,39 \pm 73,60	294,07 \pm 95,90
UV-B abs. snovi [rel./g sm]	1722,5 \pm 449,1	1744,5 \pm 554,0	1572,2 \pm 495,1	1720,3 \pm 468,5
UV-A abs. snovi [rel./g sm]	3094,4 \pm 747,9	3200,0 \pm 1173,0	2968,4 \pm 911,8	3206,1 \pm 820,3
ETS [μ L(O ₂)/mg sm/h]	0,662 \pm 0,348	0,711 \pm 0,374	0,611 \pm 0,227	0,369 \pm 0,132
F _v /F _m	0,652 \pm 0,024	0,672 \pm 0,048	0,651 \pm 0,026	0,684 \pm 0,040
$\Delta F/F_m'$	0,343 \pm 0,158	0,320 \pm 0,143	0,322 \pm 0,140	0,304 \pm 0,148
Transpiracija [mmol H ₂ O/m ² s]	797,13 \pm 150,19	690,61 \pm 106,53	749,78 \pm 149,13	644,64 \pm 132,83

Priloga B

Povprečne vrednosti biokemijskih in fizioloških značilnosti rastlin obeh vrst ajde 1 teden po foliarnem gnojenju s selenatom (2. sklop meritev)

Povprečne vrednosti merjenih parametrov ± standardna deviacija, n = 12 (n = 20 pri $\Delta F/F_m'$)

Merjeni parameter	Hibridna ajda				Tatarska ajda			
	Se- UV-	Se- UV+	Se+ UV-	Se+ UV+	Se- UV-	Se- UV+	Se+ UV-	Se+ UV+
Klorofil <i>a</i> [mg/g sm]	10,37 ± 1,13	9,25 ± 1,76	8,71 ± 1,15	8,79 ± 2,89	8,13 ± 1,73	9,39 ± 2,94	8,78 ± 2,13	8,03 ± 2,16
Klorofil <i>b</i> [mg/g sm]	3,96 ± 1,65	3,97 ± 1,58	3,67 ± 1,17	4,02 ± 2,29	3,22 ± 1,74	4,04 ± 2,38	4,56 ± 1,96	3,42 ± 1,76
Karotenoidi [mg/g sm]	3,31 ± 0,40	2,90 ± 0,54	2,69 ± 0,31	2,73 ± 0,73	2,60 ± 0,36	3,03 ± 0,79	2,64 ± 0,57	2,55 ± 0,57
Antociani [rel./g sm]	56,32 ± 39,22	92,37 ± 55,95	82,86 ± 54,47	50,20 ± 41,98	103,87 ± 71,06	134,82 ± 92,77	74,59 ± 72,53	209,31 ± 203,77
UV-B abs. snovi [rel./g sm]	3828,7 ± 1470,5	2929,8 ± 506,2	3403,1 ± 635,9	3110,9 ± 1043,0	3995,7 ± 895,3	3856,7 ± 1141,4	3604,2 ± 812,1	3671,6 ± 1123,3
UV-A abs. snovi [rel./g sm]	8438,7 ± 3593,6	6473,6 ± 1184,3	7498,9 ± 1588,0	6980,3 ± 2583,8	9576,1 ± 2227,4	9254,9 ± 2788,7	8667,7 ± 1919,4	8694,3 ± 2519,2
ETS [$\mu\text{L}(\text{O}_2)/\text{mg sm/h}$]	0,567 ± 0,214	0,702 ± 0,405	0,668 ± 0,197	0,658 ± 0,385	0,649 ± 0,121	0,534 ± 0,389	0,642 ± 0,251	0,561 ± 0,312
F_v/F_m	0,694 ± 0,042	0,699 ± 0,036	0,702 ± 0,023	0,674 ± 0,019	0,713 ± 0,028	0,686 ± 0,043	0,691 ± 0,026	0,700 ± 0,027
$\Delta F/F_m'$	0,140 ± 0,035	0,149 ± 0,037	0,154 ± 0,041	0,143 ± 0,044	0,122 ± 0,040	0,140 ± 0,037	0,154 ± 0,058	0,158 ± 0,049
Transpiracija [$\text{mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2\text{s}$]	303,83 ± 149,43	316,33 ± 114,98	410,82 ± 161,79	498,68 ± 256,06	198,86 ± 96,22	270,02 ± 146,66	286,85 ± 163,55	326,98 ± 165,79

Priloga C

Povprečne vrednosti biokemijskih in fizioloških značilnosti rastlin obeh vrst ajde 3 tedne po foliarnem gnojenju s selenatom (3. sklop meritev)

Povprečne vrednosti merjenih parametrov ± standardna deviacija, n = 12 (n = 20 pri $\Delta F/F_m'$)

Merjeni parameter	Hibridna ajda				Tatarska ajda			
	Se- UV-	Se- UV+	Se+ UV-	Se+ UV+	Se- UV-	Se- UV+	Se+ UV-	Se+ UV+
Klorofil <i>a</i> [mg/g sm]	9,38 ± 3,67	9,51 ± 3,01	9,92 ± 2,69	10,32 ± 1,70	6,93 ± 1,26	9,01 ± 3,56	8,11 ± 2,14	7,48 ± 1,57
Klorofil <i>b</i> [mg/g sm]	6,13 ± 3,01	5,46 ± 2,74	6,90 ± 3,31	6,35 ± 2,09	3,55 ± 0,81	6,73 ± 4,19	4,72 ± 2,86	4,11 ± 1,88
Karotenoidi [mg/g sm]	2,47 ± 0,79	2,70 ± 0,71	2,42 ± 0,37	2,65 ± 0,48	2,05 ± 0,45	2,27 ± 0,69	2,25 ± 0,53	2,13 ± 0,48
Antociani [rel./g sm]	116,00 ± 80,28	97,75 ± 39,87	171,58 ± 94,89	92,83 ± 40,48	82,39 ± 80,25	102,68 ± 64,24	103,23 ± 35,89	126,13 ± 61,49
UV-B abs. snovi [rel./g sm]	3166,6 ± 860,7	3119,8 ± 607,1	3164,6 ± 486,3	3235,4 ± 834,5	2974,8 ± 1104,7	3048,1 ± 1258,6	2761,6 ± 453,5	3103,8 ± 857,6
UV-A abs. snovi [rel./g sm]	6519,2 ± 1709,3	6499,3 ± 1264,2	6676,8 ± 1029,3	6766,5 ± 1703,4	6611,6 ± 2213,5	6713,2 ± 2442,1	6172,6 ± 917,7	6886,1 ± 1918,5
ETS [$\mu\text{L}(\text{O}_2)/\text{mg sm/h}$]	0,939 ± 0,364	0,595 ± 0,228	0,793 ± 0,174	0,839 ± 0,131	0,796 ± 0,160	0,571 ± 0,203	0,713 ± 0,553	0,716 ± 0,362
F_v/F_m	0,759 ± 0,017	0,735 ± 0,020	0,748 ± 0,012	0,738 ± 0,015	0,753 ± 0,026	0,752 ± 0,032	0,729 ± 0,033	0,737 ± 0,024
$\Delta F/F_m'$	0,134 ± 0,056	0,150 ± 0,045	0,165 ± 0,074	0,173 ± 0,078	0,104 ± 0,047	0,144 ± 0,082	0,134 ± 0,074	0,135 ± 0,069
Transpiracija [$\text{mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2\text{s}$]	283,75 ± 117,70	379,58 ± 89,66	431,75 ± 85,50	363,50 ± 127,60	301,60 ± 129,26	310,70 ± 126,41	354,42 ± 100,61	330,25 ± 102,79

Priloga D

Povprečne vrednosti biomase rastlinskih delov obeh vrst ajde po foliarnem gnojenju s selenatom (1. merjenje)

Povprečne vrednosti merjenih parametrov \pm standardna deviacija, n = 8

Biomasa	Hibridna ajda				Tatarska ajda			
	Se- UV-	Se- UV+	Se+ UV-	Se+ UV+	Se- UV-	Se- UV+	Se+ UV-	Se+ UV+
Semena [g]	3,53 \pm 1,55	8,34 \pm 4,49	5,10 \pm 3,08	1,41 \pm 1,38	5,94 \pm 2,89	8,04 \pm 6,63	6,54 \pm 3,94	2,49 \pm 1,90
Stebila [g]	11,56 \pm 3,08	18,91 \pm 3,70	11,88 \pm 5,83	5,11 \pm 2,50	10,33 \pm 4,31	13,02 \pm 8,71	13,51 \pm 8,14	6,43 \pm 4,41
Listi [g]	5,09 \pm 1,11	7,16 \pm 1,00	5,44 \pm 2,47	3,03 \pm 1,65	4,08 \pm 1,80	4,15 \pm 2,01	7,23 \pm 4,20	3,70 \pm 2,39

Priloga E

Povprečne vrednosti biomase rastlinskih delov obeh vrst ajde po foliarnem gnojenju s selenatom (2. merjenje)

Povprečne vrednosti merjenih parametrov \pm standardna deviacija, n = 8

Biomasa	Hibridna ajda				Tatarska ajda			
	Se- UV-	Se- UV+	Se+ UV-	Se+ UV+	Se- UV-	Se- UV+	Se+ UV-	Se+ UV+
Semena [g]	10,42 \pm 7,13	10,14 \pm 5,52	10,87 \pm 6,92	5,30 \pm 5,28	11,39 \pm 6,63	16,74 \pm 10,35	12,17 \pm 4,67	23,99 \pm 8,68
Stebila [g]	13,77 \pm 6,57	13,49 \pm 6,52	19,41 \pm 6,84	8,62 \pm 3,21	20,98 \pm 11,24	16,10 \pm 8,49	17,93 \pm 7,26	27,76 \pm 9,04
Listi [g]	6,41 \pm 2,51	7,10 \pm 2,67	8,49 \pm 3,65	4,44 \pm 1,31	8,95 \pm 4,57	5,47 \pm 3,49	10,15 \pm 4,84	12,78 \pm 5,51
Korenine [g]	2,02 \pm 1,14	1,51 \pm 0,52	1,94 \pm 0,35	1,11 \pm 0,42	3,50 \pm 1,77	3,08 \pm 1,68	2,89 \pm 1,65	4,36 \pm 1,83

Priloga F

Fotografija eksperimentalnega polja (J. Turk)

Na sliki je polje s tatarsko in hibridno ajdo, okrog je posejana navadna ajda. Lesen okvir pokrivajo plastični strešniki, ob strani je napeta mreža proti toči.

