

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Marko ČERNE

POVEČANJE VSEBNOSTI SELENA V RADIČU
(Cichorium intybus L.)

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2007

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Marko ČERNE

POVEČANJE VSEBNOSTI SELENA V RADIČU
(*Cichorium intybus* L.)

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

INCREASE OF SELENIUM CONTENT IN CHICORY
(*Cichorium intybus* L.)

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2007

Diplomsko delo je bilo opravljeno na Biotehniški fakulteti Ljubljana, na Oddelku za agronomijo, na Katedri za vrtnarstvo in zelenjadarstvo in na Inštitutu Jožef Stefan, na Odseku za znanost o okolju. Poskus je potekal na laboratorijskem polju in rastlinjakih Biotehniške fakultete Ljubljana ter v laboratorijih Inštituta Jožef Stefan.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je naslov diplomske naloge odobrila dne 8. 6. 2005 in za mentorja diplomske naloge imenovala prof. dr. Jožeta OSVALDA.

Komisija za oceno in zagovor:

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

Član in mentor: prof. dr. Jože OSVALD
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Dominik VODNIK
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora: 28. december 2007

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisani se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddal v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Marko ČERNE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
DK UDK 635.54:631.811:546.23 (043.2)
KG vrtnarstvo/radič/selen/dodajanje selena/foliarnoškropljenje/namakanje
/funkcionalna hrana/zdravje
KK AGRIS F01/F04
AV ČERNE, Marko
SA OSVALD, Jože (mentor)
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
LI 2007
IN POVEČANJE VSEBNOSTI SELENA V RADIČU (*Cichorium intybus* L.)
TD diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP XII, 43, [7] str., 2 pregl., 27 sl., 3 pril., 48 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI V raziskavi, ki smo jo opravili na laboratorijskem polju in v rastlinjakih Biotehniške fakultete v Ljubljani ter v laboratorijih Inštituta Jožef Stefan, smo proučevali vpliv dodajanja selena rastlinam radiča na njegovo večjo vsebnost v zunanjih, srednjih in notranjih listih. Selen smo dodajali v obliki natrijevega selenata in z njim tretirali semena v obliki namakanja ter z listnim dodajanjem sadikam radiča v fazi razvoja sadik. Semena so bila namočena v raztopini natrijevega selenata s koncentracijo 5 mg Se/L vode. Sadike smo dvakrat foliarno tretirali z raztopino natrijevega selenata s koncentracijo 1 mg Se/L vode. Predvidevali smo, da se bo dodajanje selena v obliki namakanja odrazilo v njegovem ugodnem povečanju v listih radiča ter da bo škropljenje še bolj ugodno od namakanja. Hkrati nas je zanimalo še, kakšen je vpliv dodanega selena na povečanje bujnosti rastlin in na pridelku. V času rasti smo analizirali bujnost, zdravstveno stanje, širino listov, višino listov in njihovo število. Za poskus smo uporabili kultivarja 'Anivip' in 'Monivip'. Poskus je bil zasnovan v treh ponovitvah s šestimi obravnavanji. Za nadaljnje raziskave smo uporabili obravnavanja 1, 5 in 6. Obravnavanje 1 je vključevalo namakana semena, obravnavanje 5 škropljenje in obravnavanje z oznako 6 kontrolo. Rezultati so nam pokazali, da se je vsebnost selena najbolj povečala pri škropljenju. Vsebnost selena pri namakanju je bila majhna, a še vedno večja kot pri kontroli. Listi škropljenih sadik so pri sorti 'Anivip' vsebovali vrednosti, ki so pri notranjih listih znašale 46,8 ng Se/g suhe snovi; pri srednjih listih 46,7 ng Se/g suhe snovi in pri zunanjih listih 44,35 ng Se/g suhe snovi. Pri sorti 'Monivip' pa so vrednosti pri notranjih listih znašale 34,9 ng Se/g suhe snovi; pri srednjih listih 46,05 ng Se/g suhe snovi in pri zunanjih listih 48,7 ng Se/g suhe snovi. Foliarno škropljen radič se je v našem primeru izkazal za najboljšega, ker so bile pričakovane vrednosti ugodno povišane. Vpliv selena med rastnim obdobjem je pokazal majhne razlike med samima sortama. Pri analizi mas je radič sorte 'Anivip' pokazal večjo povprečno maso očiščenih glav, neočiščenih glav in korena od sorte 'Monivip'. Rezultati so izpolnili naša pričakovanja. Negativnih vplivov selena na rastlino oz. fizioloških motenj nismo opazili.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn
DC UDC 635.54:631.811:546.23 (043.2)
CX vegetable growing/chicory/selenium/selenium treatment/foiar spraying/soaking seeds/functional food/health
CC AGRIS F01/F04
AU ČERNE, Marko
AA OSVALD, Jože (supervisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
PY 2007
TI INCREASE OF SELENIUM CONTENT IN CHICORY(*Cichorium intybus* L.)
DT graduation thesis (university studies)
NO XII, 43, [7] p., 2 tab., 27 fig., 3 ann., 48 ref.
LA sl
AL sl/en
AB The aim of the research conducted at the laboratory field and greenhouses of the Biotechnical Faculty of Ljubljana and the laboratories of Jožef Stefan Institute was to determine the effect of selenium treatment on chicory plants and to discover how much selenium content is increased in the outer, middle, and inner leaves of the plant. Selenium was added in the form of sodium selenate in two treatments. In first, the chicory seeds were soaked in the sodium selenate solution (concentration 5 mg of Se per litre of water). In the second treatment, the plants were subjected to foliar application twice in a developmental stage of seedling, with solution of sodium selenate (concentration 1 mg of Se per 1 litre of water). We assumed that soaking the seeds in selenium solution would have a positive influence on selenium content in the leaves and that spraying would increase the content even more than soaking. We were also interested in the influence of selenium treatment on quality and quantity of crops. During the growth phase we analyzed the lushness, health condition, broadness of leaves, their height and number of leaves. The cultivars 'Anivip' and 'Monivip' were used for the experiment. The experiment was based on three repetitions with six variants. Variants 1, 5 and 6 were used for further research. Variant 1 included soaking seeds; variant 5 included foliar treatment and variant 6 was the control group. The results showed that spraying increases selenium content most significantly. Selenium content for soaked seeds was lower, but still higher than in the control group. The leaves of sprayed seedlings for the 'Anivip' variety had the following selenium values in one gram of dry mass: 46.8 ng for inner leaves, 46.7 ng for middle leaves, and 44.35 for outer leaves. For the 'Monivip' variety, the selenium values in one gram of dry mass were the following: 34.9 ng for inner leaves, 46.05 for middle leaves, and 48.7 for outer leaves. In our case the foliarly treated chicory proved to be the best because the expected values were positively higher. The influence of selenium during growth stages exhibited small differences between the two varieties. In weight analysis, the 'Anivip' variety displayed a higher average weight of cleaned heads, not cleaned heads, and roots than the 'Monivip' variety. The obtained results confirmed our predictions. There was no negative influence of selenium on the plants.

KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija	III
Key words documentation	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VIII
Kazalo slik	IX
Kazalo prilog	XII
Simboli in okrajšave	XIII
1 UVOD	1
1.1 POVOD ZA RAZISKAVO	1
1.2 NAMEN RAZISKAVE	2
1.3 DELOVNA HIPOTEZA	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 SELEN	3
2.1.1 Toksičnost selena za ljudi	3
2.1.2 Pomanjkanje selena	3
2.2 SELEN V ŽIVILIH IN NJEGOVA BIORAZPOLOŽLJIVOST	4
2.2.1 Absorbicija selena pri človeku	6
2.3 SELEN V RASTLINAH	7
2.3.1 Oblika selena glede na pH tal	7
2.3.2 Delitev rastlin glede na akumulacijo selena v tleh	8
2.3.2.1 Indikatorske ali akumulirajoče rastline	8
2.3.2.2 Sekundarni indikatorji	8
2.3.2.3 Neakumulatorske rastline	8
2.3.3 Toksičnost v rastlinah	8
2.3.4 Privzem selenata, selenita in organsko vezanega selena, pri višjih rastlinah	9
2.3.5 Rastline - obogatene s selenom	9
2.3.5.1 Tehnike dodajanja	10
2.3.5.1.1 Foliarno škropljenje	10
2.3.5.1.2 Namakanje semen	11
2.3.5.1.3 Hidroponsko gojenje	12
2.3.5.1.4 Mineralno gnojenje	13
2.4 DOLOČANJE SELENA	13
2.4.1 Razkroj vzorcev	14
2.4.2 Metode določanja selena	14
3 MATERIALI IN METODE DE LA	15
3.1 MATERIAL	15
3.1.1 Izbrani sortiment radiča (<i>Cichorium intybus</i> L.), vključen v poskus	15
3.1.1.1 Sorta 'Anivip'	15
3.1.1.1.1 Opis rastline	15

3.1.1.1.2	Steblo	15
3.1.1.1.3	Listi	15
3.1.1.1.4	Cvet in seme	15
3.1.1.1.5	Odpornost na bolezni in škodljivce	16
3.1.1.1.6	Biološke lastnosti (dolžina rasti, odpornost na mraz in čas setve)	16
3.1.1.1.7	Kakovost in količina pridelka	16
3.1.1.1.8	Specifičnost sorte	16
3.1.1.2	Sorta 'Monivip'	16
3.1.2	Pri izvajanju raziskave je bil uporabljen še naslednji material	17
3.1.2.1	Biotehniška fakulteta	17
3.1.2.2	Inštitut Jožef Stefan	17
3.2	METODE DELA	18
3.2.1	Biotehniška fakulteta	18
3.2.1.1	Vzgoja sadik	18
3.2.1.2	Delo na polju	18
3.2.1.3	Priprava glav za kemične analize	19
3.2.2	Inštitut Jožef Stefan	19
3.2.2.1	Mletje vzorcev	19
3.2.2.2	Tehtanje vzorcev	19
3.2.2.3	Kemične analize	19
3.2.2.4	Detekcija selena s HG-AFS	20
3.3	STATISTIČNA ANALIZA	20
4	REZULTATI	21
4.1	REZULTATI V ČASU RASTI	21
4.1.1	Prvo ocenjevanje	21
4.1.1.1	Bujnost	21
4.1.1.2	Zdravstveno stanje	22
4.1.1.3	Širina listov	22
4.1.1.4	Višina listov	23
4.1.1.5	Število listov	23
4.1.2	Drugo ocenjevanje	24
4.1.2.1	Bujnost	24
4.1.2.2	Zdravstveno stanje	24
4.1.2.3	Širina listov	25
4.1.2.4	Višina listov	25
4.1.2.5	Število listov	26
4.1.3	Tretje ocenjevanje	26
4.1.3.1	Bujnost	26
4.1.3.2	Zdravstveno stanje	27
4.1.3.3	Širina listov	27
4.1.3.4	Višina listov	28
4.1.3.5	Število listov	28
4.2	REZULTATI PO SPRAVILU PRIDELKA	29
4.2.1	Rezultati tehtanja posameznih delov radiča	29
4.2.1.1	Masa neočiščenih glav	29
4.2.1.2	Masa očiščenih glav	30
4.2.1.3	Masa korena	30

4.3	REZULTATI O VSEBNOSTI SELENA V RADIČU	31
4.3.1	Predstavitev rezultatov	31
4.3.1.1	Prikaz v suhi snovi	31
4.3.1.1.1	Notranji listi	31
4.3.1.1.2	Srednji listi	31
4.3.1.1.3	Zunanji listi	31
4.3.1.2	Prikaz v sveži snovi	33
4.3.1.2.1	Notranji listi	33
4.3.1.2.2	Srednji listi	33
4.3.1.2.3	Zunanji listi	33
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	35
5.1	RAZPRAVA	35
5.2	SKLEPI	37
6	POVZETEK	38
7	VIRI	40

ZAHVALA
PRILOGE

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1:	Dnevno zaužite količine selena na odraslo osebo v nekaterih državah	4
Preglednica 2:	Vsebnost selena po državah in po živilih	6

KAZALO SLIK

Slika 1:	Shema atomskega fluorescenčnega spektrometra	14
Slika 2:	Prikaz sorte 'Anivip' in 'Monivip'	17
Slika 3:	Shema sistema HG-AFS	20
Slika 4:	Prikaz povprečja bujnosti za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini(23. 8. 2004)	21
Slika 5:	Prikaz povprečja zdravstvenega stanja za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini (23. 8. 2004)	22
Slika 6:	Prikaz povprečja širine listov za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini (23. 8. 2004)	22
Slika 7:	Prikaz povprečja višine listov za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini (23. 8. 2004)	23
Slika 8:	Prikaz povprečja števila listov za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini (23. 8. 2004)	23
Slika 9:	Prikaz povprečja bujnosti za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini (3. 9. 2004)	24
Slika 10:	Prikaz povprečja zdravstvenega stanja za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini (3. 9. 2004)	24
Slika 11:	Prikaz povprečja širine listov za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini (3. 9. 2004)	25
Slika 12:	Prikaz povprečja višine listov za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini (3. 9. 2004)	25

Slika 13:	Prikaz povprečnega števila listov za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini (3. 9. 2004)	26
Slika 14:	Prikaz povprečja bujnosti za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini (14. 9. 2004)	27
Slika 15:	Prikaz povprečja zdravstvenega stanja za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini (14. 9. 2004)	27
Slika 16:	Prikaz povprečja širine listov za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini (14. 9. 2004)	28
Slika 17:	Prikaz povprečja višine listov za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini (14. 9. 2004)	28
Slika 18:	Prikaz povprečja števila listov za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini (14. 9. 2004)	29
Slika 19:	Prikaz povprečne mase neočiščenih glav za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini	29
Slika 20:	Prikaz povprečne mase očiščenih glav za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini	30
Slika 21:	Prikaz povprečne mase korena za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini	30
Slika 22:	Prikaz povprečne vsebnosti selena v notranjih listih v suhi snovi za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini	32
Slika 23:	Prikaz povprečne vsebnosti selena v srednjih listih v suhi snovi za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini	32
Slika 24:	Prikaz povprečne vsebnosti selena v zunanjih listih v suhi snovi za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini	32

- Slika 25: Prikaz povprečne vsebnosti selena v notranjih listih v sveži snovi za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini 33
- Slika 26: Prikaz povprečne vsebnosti selena v srednjih listih v sveži snovi za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini 34
- Slika 27: Prikaz povprečne vsebnosti selena v zunanjih listih v sveži snovi za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini 34

KAZALO PRILOG

- Priloga A: Vizualno ocenjevanje radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' po parametrih višina listov (cm), širina listov (cm), število listov, zdravstveno stanje in bujnost v treh časovnih terminih
- Priloga B: Preglednica mas (g) neočiščenih glav, očiščenih glav, zunanjih listov, srčnih listov in korena po pravilu
- Priloga C: Preglednica proučevanih variant (1, 5 in 6) z vsebnostjo selena

SIMBOLI IN OKRAJŠAVE

As	Arzen
Cd	Kadmij
Hg	Živo srebro
HG-AFS	hidridna tehnika atomske fluorescenčne spektrometrije
kontr.	kontrola
mg	miligram
µg	mikrogram
nam.	namakanje
Na ₂ SeO ₄	natrijev selenat
ng	nanogram
Pb	svinec
RDA	priporočen dnevni vnos (Recommended Dietary Allowance)
Se	selen
SeMeSeCys	selenometioninselenocistein
SeMe	selenometionin
SRM	standardna raztopina (Standard Reference Material)
škrop.	škropljenje
WHO	svetovna zdravstvena organizacija (World Health Organization)

1 UVOD

1.1 POVOD ZA RAZISKAVO

Elementi v sledovih, med katere spada tudi selen, se v veliki meri prepletajo z našim življenjem. Selen je esencialen element, ki je znan po svojem pomanjkanju, ki lahko povzroči strukturne in fiziološke spremembe pri živalih in ljudeh. Veliko omenjenih težav je povezanih tudi z njegovo toksičnostjo.

Esencialna vloga selena je znana relativno kratek čas. Schwarz in Foltz sta leta 1957 dokazala, da je element potreben za življenje živali, saj sta odkrila njegovo vlogo v encimu glutation peroksidazi (Foster in Sumar, 1995), od leta 1972 dalje pa mu pripisujejo večji pomen v prehrani, saj je Rotruck ugotovil, da je antioksidativna vloga selena specifična, čeprav njegova funkcija še danes ni popolnoma jaskmna (Combs GF in Combs SB, 1986). Znana je antioksidativna vloga selena preko selenoencima in še nekaterih v zadnjem času odkritih selenoencimov (tioredoksin reduktaza, selenofosfat sintetaza) (Behne in Kyriakopoulos, 2001). Selen je vključen v presnovo hormonov žleze ščitnice, preko encimov jodotironindejodinaze tipa I in II (Murphy in Cashman, 2001, Combs GF in Combs SB, 1986). Selenocistein pa je prepoznan kot enaindvajseta aminokislina, ki sodeluje pri sintezi proteinov v ribosomih in je sestavina številnih selenoproteinov (Combs GF in Combs SB, 1986).

Hrana je primarni vir selena. Priporočljiv dnevni vnos je 55 in 70 $\mu\text{g}/\text{dan}$ za odrasle ženske in moške. Pod spodnjo mejo, ki jo na Kitajskem navajajo 19 $\mu\text{g}/\text{dan}$ za moške in 13 $\mu\text{g}/\text{dan}$ za ženske, se že pojavijo znaki pomanjkanja; količine nad 1000 $\mu\text{g}/\text{dan}$ pa so toksične (RDA, 1989). Pogosto je dnevni vnos selena precej nižji od priporočene količine, predvsem se razlikuje geografsko zaradi nihanja njegove vsebnosti v hrani. Vsebnost selena v rastlinah je odvisna od njegove vsebnosti v tleh, na katerih rastline rastejo, vsebnost v živilih živalskega izvora pa odraža količino selena v prehrani živali (McNaughton in Marks, 2002). Veliko selena vsebujejo predvsem živila z visoko vsebnostjo beljakovin, zato so bogat vir drobovina, meso mišičnine, jajca in morski sadeži, precej manj selena pa vsebujejo mleko in mlečni izdelki ter sadje in zelenjava (Kadrabova in sod., 1997). Kot dopolnilo selena k prehrani ljudi najdemo preparate natrijevega selenita, selenata in selenometionina. V zadnjem času pa alternativo umetnim mineralnim pripravkom in dodatkom predstavljajo tudi živila, s povečano količino naravno prisotnega selena (Elless in sod., 2000).

1.2 NAMEN RAZISKAVE

Zaradi pomanjkanja selena v tleh in posledično v rastlinah je smiselno razvijati tehnike obogatitve kulturnih rastlin s selenom oz. pridelovanje tako imenovane funkcionalne hrane, v našem primeru radiča. Namen našega dela je obogatiti kultivarja 'Anivip' in 'Monivip' in ugotoviti sledeče:

- za koliko se poveča koncentracija selena v notranjih, srednjih in zunanjih listih pri različnih tehnikah dodajanja,
- kakšen je vpliv dodajanja selena na zdravstveno stanje, bujnost, višino listov, širino listov, število listov in fiziološke procese radiča.

1.3 DELOVNA HIPOTEZA

- Predvidevamo, da bo namakanje semen v raztopini natrijevega selenata ugodno za povečanje vsebnosti selena v pridelku.
- Predvidevamo, da je škropljenje z raztopino natrijevega selenata ugodnejše od namakanja.
- Predvidevamo, da je možno z izborom primerne tehnike dodajanja selena radiču doseči povečano in s tem za zdravje ljudi potrebno in hkrati varno vsebnost selena v radiču.

2 PREGLED OBJAV

2.1 SELEN

Nahaja se v šesti skupini periodnega sistema med žveplom in telurjem ter spada med metaloide, ker ima lastnosti kovin in nekovin. Ima podobne lastnosti kot žveplo. V naravi je prisotnih šest naravnih izotopov selena. V anorganskih spojinah ima selen različna oksidacijska števila: -2 (selenid), 0 (elementarni Se), $+2$ (SSeO_3^{2-} -tioselenat), $+4$ (SeO_3^{2-} -selenit), $+6$ (SeO_4^{2-} -selenat). V naravi je selen vezan v obliki hlapnih in nehlapnih organskih spojin, kot so: selenocistein, selenocistin, selenometionin, dimetil selenid, dimetil diselenid... (Combs GF in Combs SB, 1986; Pyrzynska, 1996).

2.1.1 Toksičnost selena za ljudi

Nevarnost zastrupitve se pojavi pri visoki koncentraciji selena. Pojavljajo se v vseh stopnjah: od blage kronične do letalne zastrupitve, katere glavni simptomi so nekrotična degeneracija jeter, fibroza ledvic in miokardialna kongestija (Schrauzer, 1998). Najbolj tipičen znak prevelikih zaužitih količin selena pri ljudeh je zadah po česnu zaradi izločanja hlapnih selenovih spojin, še posebej dimetilselenida. Drugi znaki zastrupitve so morfološke spremembe nohtov in izguba las. Pomembni simptomi so še bruhanje in težko dihanje. Ugotovili so, da je maksimalna dnevno zaužita količina selena, ki še ne povzroča selenoze $550 \mu\text{g}/\text{dan}$ (Combs GF in Combs SB, 1986).

2.1.2 Pomanjkanje selena

Pogosto pomanjkanje selena vodi do simptomov, ki se kažejo pri ljudeh in živalih, kot spremembe na ožilju, degeneracija pankreasa, zaostajanje v rasti in zmanjšanje plodnosti (RDA, 1989). Primanjkljaj se kaže kot posledica manjše vsebnosti selena v prehrani, ki pa je odvisna od vrste tal in geografskega območja. Kitajska je dober primer, kjer najdemo območja pomanjkanja, kakor tudi presežka. Tu je bil prvič leta 1989 določen priporočljiv dnevni vnos (RDA - Recommended Dietary Allowance), ki je v veljavi še danes. Naša država spada med območja z zmernim pomanjkanjem.

Pri ljudeh sta znani dve bolezni, ki nastopita pri pomanjkanju, in sicer: Kashin-Beckova bolezen (bolezen povečanih sklepov) in Keshanova bolezen (kardiomiopatija). Za Keshanovo bolezen najpogosteje obolijo otroci in kmetje, ki uživajo le doma pridelano hrano in pitno vodo, kjer je majhna vsebnost selena (Schrauzer, 1998). Znaki Keshanove bolezni vključujejo simptome, kot so: vrtoglavica, rahla omotičnost, občutek slabosti, izguba apetita, bruhanje; v težjih primerih pa lahko pride do akutne ali kronične srčne insuficience, povečanja srca, galopnega ritma in aritmije. Ta bolezen je pogojena s starostjo, socialno-ekonomskim statusom in je odvisna od sezonskih variacij. Kashin-Beckova bolezen pa prizadene predvsem otroke, stare od 5-13 let in se pojavlja v severni Koreji, severni Kitajski, na Japonskem in vzhodni Sibiriji. Bolezen je zelo odvisna od vrste tal in geografske lege, saj so jo zasledili le na območjih, ki so revna s selenom (Reilly, 1996). Kashin-Beckova bolezen se izraža v začetnih simptomih, kot so: okornost, šibkost udov, zatekanje in akutna bolečina v sklepih, ki postopno napredujejo do osteoartritisa in

povečanja komolcev, kolen in gležnjev, atrofije mišic in na koncu pohabljenost otrok ali zaostanek v rasti. Simptomi so vezani na slab prehranski status (Schrauzer, 1998). Obstajajo še druge bolezni, ki so povezane s pomanjkanjem selena (Downov sindrom, multipla skleroza, cistična fibroza, distrofija mišic, rak, golšavost, oslavljen imunski sistem, zobni karies, nočna slepota, hemofilija, zastrupitve z težkimi kovinami (Reilly, 1996; Schrauzer, 1998...)). Iz preglednice 1 je razvidno, da največ selena primanjkuje v severovzhodni in južni Kitajski ter na Finskem. V določenih delih Kitajske zaužijejo preveč selena. Za Slovenijo, Avstrijo in Hrvaško, kakor tudi za veliko ostalih držav, pa je značilno zmerno pomanjkanje.

Preglednica 1: Dnevno zaužite količine selena na odraslo osebo v nekaterih državah (cit. po Smrkoj, 2003).

Država	Zaužita količina ($\mu\text{g}/\text{osebo}/\text{dan}$)
ZDA (normalna-mešana prehrana)	60-168
Kanada	168
Japonska (značilna prehrana)	100
Japonska (z ribami bogata prehrana)	500
Kitajska (območje s selenozo)	4490
Kitajska (območje s Keshanovo boleznijo)	11
Švedska (normalna-mešana prehrana)	10-95
Švedska (vegetarijanska prehrana)	3-66
Italija	25; 141
Finska	30-60; 125
Avstrija	45,5; 42,9
Turčija	30; 87,2
Nizozemska	67
Švica	70
Hrvaška	27,3; 33,9
Egipt	49
Španija	32,3
Poljska	30-40; 19-32
Anglija	44,7
Slovenija	40; 30

2.2 SELEN V ŽIVILIH IN NJEGOVA BIORAZPOLOŽLJIVOST

Primarni vir selena so beljakovinska živila, zato so njegov bogat vir meso mišičnine, jajca, drobovina in morski sadeži. Sadje, zelenjava in mlečni izdelki pa ga vsebujejo precej manj (WHO, 1996). Izjema so gobe, žita in stročnice, ki vsebujejo veliko beljakovin, kjer selen zamenja žveplo v aminokislinah (cistein in cistin) (Diaz Alacron in sod., 1996). Za dopolnilo k prehrani pa obstajajo tudi preparati natrijevega selenita, selenata in selenometionina.

Žita lahko vsebujejo od 10 pa tudi do preko 500 ng Se/g suhe snovi. Večina selena je povezana z beljakovinami in to v obliki aminokislinske selenometionin. Tako mehke pšenice običajno vsebujejo manj selena kot trde pšenice, razlika pa tesno korelira z vsebnostjo proteinov. Tudi raziskave na ajdi so pokazale, da vsebnost selena zelo tesno pozitivno korelira z vsebnostjo beljakovin in mineralnih snovi. Selena je več v zunanjih delih ajdovega zrna. Moke vsebujejo manj selena od žita, iz katerih jih zmeljemo. Različni avtorji navajajo od 14 % pa celo do 75 % zmanjšanje vsebnosti selena v primerjavi s celim zrnem, odvisno od stopnje izmeljave. Več selena vsebujejo temne moke in otrobi, kar tudi kaže na to, da selen, tako kot večina drugih mineralov, ni enakomerno porazdeljen po zrnju. Vsebnosti selena v kruhu in drugih izdelkih iz žit močno variirajo, odvisno od količine selena v uporabljenih surovinah. Več selena načeloma vsebujejo kruhi iz temnih mok. Vsebnost selena lahko precej povečajo dodatki raznih semen in oreškov, pa tudi uporaba s selenom obogatene kvasa. Upoštevati pa moramo tudi možnost izgube selena pri toplotni obdelavi. Količine izgubljenega selena so lahko različne in so posledica različnih oblik selena v živilih. Veliko selenovih spojin je močno hlapnih, zato med toplotno obdelavo pri temperaturah nad 120°C lahko prihaja do izgub. Do zmanjšanja vsebnosti hlapnih oblik selena lahko pride pri peki, ekstrudiranju, sušenju na valjčkih, medtem ko lahko pri kuhanju poteka tudi izluževanje v vodi topnih selenovih spojin (Modic, 2001).

Na zaužito količino selena vplivajo: naravna vsebnost glede na vrsto hrane, prehranske navade posameznika in geografsko poreklo živil (revna ali bogata področja s selenom). Podatki o vsebnosti selena za Slovenijo so skromni, kar navaja sledeče:

- pšenica ima vsebnost od 5-188 ng Se/g, koruza od 7-58 ng Se/g, ječmen od 11-84 ng Se/g, oves od 37-171 ng Se/g in sirek od 17-48 ng Se/g (Stekar in Muck, 1971),
- mleko vsebuje od 50-150 ng Se/g, zelje od 140-160 ng Se/g, goveje meso od 20-160 ng Se/g, jetra od 60-1030 ng Se/g, meso postrvi od 350-1150 ng Se/g, žita od 10-200 ng Se/g, školjke od 190-1700 ng Se/g in gobe od 1800-47000 ng Se/g (Dremelj in sod., 1988),
- pitna voda vsebuje 0,28 µg Se/L, jetra piščancev -0,226 µg Se/g, ledvica piščancev -170 µg Se/g (Stekar, 1975),
- endosperm ajdovega zrna ima vsebnost od 17-24,1 µg Se/g, lusk ajde od 9,1-24,5 µg Se/g, kalček od 44,8-120 µg Se/g in testa ajde ki vsebuje od 96,5 µg Se/g (Modic, 1998),
- bučno olje je pod mejo detekcije (0,001 mg Se/kg), bučna semena od 0,023-0,037 mg Se/kg, bučna pogača od 0,034-0,047 mg Se/kg (Kreft in sod., 2002),
- mleko s 3,2 % maščobe ima 11,6 µg Se/g mleka (Mazej, 2002).

Država	Živilo	Se (mg/kg)
Anglija	žita, žitni proizvodi	0,11
	meso, drobovina, ribe, jajca	0,12-0,6
	mleko in mlečni proizvodi	0,01-0,085
	zelenjava in sadje	0,005-0,01
ZDA	žita, žitni proizvodi	0,3-0,56
	meso, drobovina, ribe, jajca	0,06-1,33
	mleko in mlečni proizvodi	0,006-0,3
	zelenjava in sadje	0,004-0,07
Kanada	žita, žitni proizvodi	0,01
	meso, drobovina, ribe, jajca	0,06-1,22
	mleko in mlečni proizvodi	0,005-0,01
	zelenjava in sadje	0,005-0,01
Finska	žita, žitni proizvodi	0,02
	meso, drobovina, ribe, jajca	0,05-0,48
	mleko in mlečni proizvodi	0,002-0,025
	zelenjava in sadje	0,002
Nova Zelandija	žita, žitni proizvodi	0,035
	meso, drobovina, ribe, jajca	0,03-0,38
	mleko in mlečni proizvodi	0,004-0,025
	zelenjava in sadje	0,003
Kitajska	žita, žitni proizvodi	0,01-3,88
	meso, drobovina, ribe, jajca	0,025-0,48
	mleko in mlečni proizvodi	0,002-0,02
	zelenjava in sadje	0,001-0,01

Preskrbljenost organizma pa ni odvisna samo od zaužite količine selena, temveč tudi od njegove biorazpoložljivosti. Ta se poveča s prisotnostjo antioksidantov (vitamin A; C in E) in s primerno količino metionina v prehrani (Foster in Sumar, 1997). Pomanjkanje nekaterih vitaminov (B in E), visoke vrednosti nekaterih žveplovih spojin in prisotnost težkih kovin pa zmanjšujejo biorazpoložljivost selena (Foster in Sumar, 1997). Koruza in soja so rastline s slabo biorazpoložljivostjo. Primeri rastlin z visoko razpoložljivostjo selena so: pšenica, nekatere stročnice in drugih žita, kjer je selen v obliki selenometionina in tako visoko razpoložljiv. Ribe vsebujejo veliko selena, vendar pa niso bogat vir razpoložljivega selena zaradi visoke vsebnosti težkih kovin (Kadrabova in sod., 1997). Biorazpoložljivost je vezana tudi na obliko, v kateri se selen nahaja. Glavna anorganska selenova spojina selenat se nahaja pri živalih in pri rastlinah. Selenometionin je glavna komponenta pri živalih, a le v primeru, če jih krmimo s to zvrstjo, vendar se hitro pretvori v selenocistein. Selenocistein pa je prevladujoča selenoaminokislina v tkivih živali, ko uživajo anorganski selen.

2.2.1 Absorbcija selena pri človeku

Absorbcija selena v intestinalnem traktu ni omejena, zato je presnova selena kontrolirana le s homeostaznim uravnavanjem izločanja preko ledvic. Absorbcija selena poteka predvsem v dvanajstniku, slepiču in debelem črevesju. Poskusi z radioaktivnimi sledilci so pokazali, da se iz intestinalnega trakta absorbira okoli 95 % selena v anorganski obliki; selenometionin in selenocistein pa vstopita v telo po aminokislinski absorpcijski poti z

izkoristkom skoraj 100 % (Windisch, 2002). Po drugih navedbah se iz prebavnega trakta absorbira od 76-100 % selenometionina in le približno 60 % selenita, selenat pa se absorbira bolj učinkovito kot selenit (Reilly, 1996).

Selenoaminokislina (selenometionin in selenocistein) so najbolj pogosta oblika selena, ki jih človek zaužije s hrano. Selenometionin se lahko pretvori v selenocistein ali se v organizmu vgradi v beljakovine, medtem ko se selenocistein razgradi do H_2Se in elementarnega selena. H_2Se je vmesni produkt v metabolizmu selena in se vključi v metilacijske reakcije. Metilacijski produkti so: trimetil selenonijev ion, ki se izloča z urinom, dimetilne oblike, ki so hlapne in monometilne oblike, ki nastanejo s presnovo selenometionina. Ostale beljakovine se pretvorijo v H_2Se v ledvicah in eritrocitih z glutation reduktazo (Foster in Sumar, 1997). V krvi se premeščajo na beljakovine vezane selenove zvrsti in to na albumine in β -lipoproteine in se odlagajo v telesnih organih. Pri optimalni oskrbljenosti telesa s selenom, je tega največ v ledvicah, manj pa v jetrih, vranici in trebušni slinavki. Selenove spojine se pretvorijo v selenit in/ali naprej reducirajo do selenidov (Reilly, 1996).

2.3 SELEN V RASTLINAH

Vsebnost selena v rastlinah je močno odvisna od vsebnosti selena v tleh. Primarna oblika selena, ki ga rastline privzamejo, je selenat (SeO_4^{2-}) ali selenit (SeO_3^{2-}) (Ellis in sod., 2003). Njegova porazdelitev se nanaša na klimatske dejavnike, vrsto in izvor tal. V tleh se njegova vsebnost vrti med 0,1 in 2 mg/kg (Ullrey in sod., 1983). Sedimentne kamenine vsebujejo več selena kot magmatske (Kabata Pendias, 2001). Prav tako lahko njegovo prisotnost v tleh zmanjšajo padavine, če je selen prisoten v topni obliki. Malo selena vsebujejo tla v določenih delih Kitajske, vzhodni Sibiriji, Koreji, Tasmaniji, Finski in Novi Zelandiji (Reilly, 1996). V Sloveniji so tla revna s selenom, veliko selena pa je v Avstraliji, v nekaterih delih Azije, Kanade in ZDA (Reilly, 1996). Na vsebnost selena v rastlinah poleg tal vplivajo še slanost, pH in vsebnost $CaCO_3$.

2.3.1 Oblika selena glede na pH tal

- Alkalna tla: selen je v obliki selenata, ki je dobro razpoložljiv za rastline.
- Kisla, ilovnata tla z veliko organske snovi: selen je v obliki selenida in žveplovih spojin (te oblike so netopne in zato nerazpoložljive za rastline).
- Nevtralna in vlažna tla: selen je v obliki selenita.

Privzem v rastline je odvisen tudi od temperature, saj rastline privzamejo večje količine pri temperaturah nad $20^{\circ}C$, kot pri temperaturah pod $15^{\circ}C$ (Kabata Pendias in Pendias, 1984). Prisotnost železovih zvrsti tudi zmanjša biorazpoložljivost.

2.3.2 Delitev rastlin glede na akumulacijo selena v tleh

2.3.2.1 Indikatorske in akumulirajoče rastline

Tu je selen prisoten v obliki prostih aminokislin, kot so: metilselenocistein, selenocistin, selenocistationin in selenohomocistein (rod *Astragalus*). Ker ponavadi tvorijo hlapne selenove spojine, je posledica nastanek dimetilselenida. Te rastline so indikatorji prisotnosti večjih količin selena v tleh. Pašne živali se jih izogibajo zaradi neprijetnega vonja (Reilly, 1996), povzročijo pa tudi zastrupitev. Vsebujejo lahko od 20-30 mg Se/g suhe snovi. Značilne so tudi velike razlike v sposobnosti kopičenja selena med različnimi kultivarji znotraj vrste. *Cruciferae*, kot sta gorčica in brokoli, akumulirajo velike količine selena in lahko tolerirajo nekaj 100 μg Se/g suhe snovi korenin, medtem ko ostali predstavniki te vrste ne akumulirajo večjih količin selena.

2.3.2.2 Sekundarni indikatorji

Sem spadajo rastline, ki dobro uspevajo na tleh bogatih s selenom, rastejo pa tudi, če je selena manj (rod *Aster*).

2.3.2.3 Neakumulatorske rastline

Selen je prisoten v obliki selenometionina in večina kulturnih rastlin je neakumulatorskih. Toksično delovanje selena se lahko pojavi že pod 100 μg Se/g suhe snovi ali celo manj kot 10 μg Se/g suhe snovi. Mejne toksične vsebnosti so precej nižje, če je rastlina oskrbovana s selenitom kot s selenatom (Marschner, 2002).

2.3.3 Toksičnost v rastlinah

Bledičavost in črne pike na listih, se pojavijo kot posledica visoke količine selena v rastlinah. Pri še višjih koncentracijah selena pa pride do popolnega porumenenja listov in pojava rdečkastih pik na koreninah (Kabata Pendias in Pendias, 1984). Toksičnost se kaže še v oviranju rasti, zmanjšani sintezi proteinov in na koncu celo v odmrtnosti rastline. Meja toksičnosti je vezana na starost rastline in prisotnost sulfatnih ionov. Bolj dovzetne so mlajše rastline, kjer se tudi simptomi pojavijo prej in bolj izrazito. Simptomi neakumulirajočih rastlin so odvisni od akumulirane oblike selena. Najpogostejši toksični obliki sta selenat in selenit, ker rastlina oba privzame in ju spremeni v organsko obliko. Bolj toksičen naj bi bil selenit zaradi hitrejše pretvorbe v selenoaminokislino, ki se lahko vključijo v rastlinske proteine in nadomestijo žveplo, kar pa je lahko toksično. Problem nastane, ko se selenometionin in selenocistein vključita v proteine namesto cisteina in metionina. Vključitev selenocisteina namesto cisteina v protein lahko spremeni terciarno strukturo S-proteinov, kar pa negativno vpliva na funkcijsko aktivnost. Substitucija selenometionina z metioninom ima vpliv na manjšo sintezo proteinov. Selenat in selenit lahko ovirata tvorbo nitratov v listih, selenat lahko moti sintezo encima glutation peroksidaze, zaradi česar postane rastlina bolj občutljiva na oksidativni stres ter ni več odporna na hidroksilne radikale. Eden od obrambnih mehanizmov rastlin pred pojavom toksičnih koncentracij selena je tudi fitovolatizacija. Obseg izhlapevanja selena je vezan na rastlinsko vrsto. Paradižnik, zelje, brokoli in riž so zelo učinkoviti pri izhlapevanju selena.

Je pa izhlapevanje seveda odvisno tudi od interakcij med talnimi mikrobi in rastlinami. Prisotnost rizosfernih mikrobov pozitivno vpliva na izhlapevanje selena. Izhlapevanje je odvisno od koncentracije selena v koreninskem predelu in od kemijske oblike selena (Terry in sod., 2000).

2.3.4 Privzem selenata, selenita in organsko vezanega selena pri višjih rastlinah

Selenat se v rastlinske celice prenaša od nižjega proti višjemu elektrokemijskemu potencialu z aktivnim transportom. Selenat tekmuje z žveplom pri prevzemu in v plazmalemo korenine potujeta oba aniona s sulfatnim prenašalcem (Terry in sod., 2000). Nato sledi transport prek ksilema v liste brez kemijske modifikacije. Ko je selenat vključen v listu v kloroplaste, se tam presnovijo encimi sulfatne asimilacije. V akumulatorskih rastlinah je privzem selena prednosten pred sulfatom. Na privzem imajo vpliv tudi kloridi, vendar bistveno manj. Pri privzemu selenita pa ni znano, ali so pomembni tudi membranski prenašalci. Od organskih oblik lahko privzamejo npr. selenometionin. Na transport iz korenin v liste ima velik vpliv oblika selena. Selenat se prenaša dosti lažje kot organski selen ali selenit. Selenit se v rastlinah hitro pretvori v organsko obliko, ki ostane v koreninah, kar je zadosten razlog za manjši transport. Poleg tega pa na razporeditev selena vpliva še vrsta rastline, razvojna faza in fiziološko stanje (Terry in sod., 2000).

2.3.5 Rastline - obogatene s selenom

Poleg raznih selenovih preparatov, ki jih ljudje koristijo ob pomanjkanju selena ali preprečevanju bolezni, ki so povezane z njegovim pomanjkanjem, je rešitev za dodajanje selena ljudem obogatitev živil s selenom. To so obogatene rastline, ki jih prištevamo med funkcionalna živila. Povpraševanje po funkcionalnih živilih narašča, zato se proizvodnja vsako leto povečuje. Z večanjem splošne dostopnosti do informacij in novih spoznanj se povečujejo zahteve in pričakovanja potrošnikov, ki so vezana na živila, ki jih dnevno uživamo. Zato se od živil in »funkcionalnih živil« zahteva:

- da je živilo privlačno na pogled in nudi užitek ob njegovem uživanju,
- da nam nudi občutek ugodnosti,
- da vzdržuje zahtevan nivo hranilnih snovi med našimi telesnimi aktivnostmi in tudi po njih,
- da ima ugoden vpliv na naše zdravje in da deluje preventivno.

Predvsem zadnji dve zahtevi sta močno povezani s pripravljanjem in formulacijo »funkcionalnega« živila. Živilo pogosto vsebuje višje koncentracije biološko aktivnih sestavin, ki v primerjavi z enakim osnovnim živilom povečujejo ugodno delovanje ali nadoknadijo pomanjkljiv oz. manjkajoči fiziološki vpliv na zdravje človeka. Ugoden učinek »funkcionalnega« živila dosežemo z dodajanjem, obogatitvijo ali odstranitvijo posameznih prehranskih sestavin. Prehranske snovi, ki pripomorejo k preventivnemu preprečevanju motenj, ki so povezane s prehrano, vključujejo: nadomestke/zamenjevalce maščob in strukturnih lipidov, mono in poli-nenasičene maščobne kisline, omega-3

maščobne kisline, minerale, vitamine in elemente v sledovih, bioaktivne peptide in proteine, prebiotike, probiotike in simbiotike, ter fitokemikalije (npr. flavonoide ali karotenoide) (Batič, 2000).

2.3.5.1 Tehnike dodajanja

V zadnjem času so povsod po svetu in tudi pri nas naredili mnogo raziskav na temo povečanje naravno prisotnega selena; poskuse so delali na krompirju, gorčici, česnu, čebuli, brokoliju, pšenici, lucerni, sončnicah, zelenem čaju, ajdi, bučah, rukoli, grahu, fižolu in radiču. Za obogatitev so in se še vedno razvijajo različne tehnike dodajanja, ko so:

- namakanje semen;
- foliarno škropljenje;
- aeroponsko gojenje;
- hidroponsko gojenje;
- dodajanje selena v gnojila.

2.3.5.1.1 Foliarno škropljenje

Po raziskavah je do sedaj najugodnejši način dodajanja selena, ker omogoči uspešno povečanje tega elementa v pridelku. Na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani so v letih 2003 do 2005 izvajali foliarno dodajanje selena rastlinam fižola, graha, buč, radiča in rukole.

Krompir (*Solanum tuberosum* L.) je primer poljščine, kjer je za obogatitev primeren način škropljenje ali gnojenje s selenom obogatenimi gnojili. A največ poskusov je bilo še vedno narejenih z škropljenjem. V Italiji so Poggi in sod. (2000) krompir foliarno škropili z vodno raztopino natrijevega selenita in selenata z odmerki 0, 50 in 150 g Se/ha ter z enako raztopino obeh komponent selena z enakimi odmerki, le z dodatkom huminske kisline v vodo zaradi višjega pH. Količina selena je narasla v gomoljih po uporabi selenata in selenita. Raztopina natrijevega selenata z dodatkom huminske kisline je imela večji vpliv na vsebnost selena v gomoljih kot raztopina brez huminske kisline. V primeru kombinacije huminske kisline in natrijevega selenita se je količina selena povečala le pri 50 g Se/ha. Iz študije je razvidno, da huminske kisline povečajo dosegljivost selenata. Foliarno škropljenje selena s huminskimi kislinami je dokazano učinkovit način za večjo vsebnost tega elementa v gomoljih. Asimilacija pa je boljša pri selenatu kot selenitu.

Zeleni čaj so obogatili Hu in sod. (2001), ko so škropili liste čajevca (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze), nakar so ugotavljali kakovost zelenega čaja. Na izpostavljenih listih se je izboljšala senzorična vrednost (boljša aroma, večja sladkost in manjša trpkost) in kemijske lastnosti (višja vsebnost in stabilnost vitamina C, aminokislin in polifenolov med skladiščenjem). Zeleni čaj je primer kulture, pri kateri je verjetno foliarno škropljenje eden

od najenostavnejših načinov dodajanja, saj nam druge načine otežuje sama velikost rastline.

V zadnjem obdobju je bilo opravljenih tudi precej raziskav na ajdi (*Fagopyrum esculentum* Moench.) in bučah (*Cucurbita pepo* L.).

Ajda je bogat vir beljakovin, predvsem pa ima visoko vsebnost lizina, metionina, cisteina, veliko vlaknin in škroba. Ajda vsebuje veliko amiloze, ki je osnova za počasi prebavljive in manj prebavljive oblike škroba, kar je primerno predvsem za sladkorne bolnike (Kreft, 1995; Modic, 1998). Znano je, da je selen neenakomerno razporejen po zrnu, in sicer ga je najmanj v endospermu in luski, bistveno več pa v kalčku in testi (Modic, 1998).

Buče so s prehranskega vidika pomembne zaradi proizvodnje bučnega olja, v manjši meri pa tudi zaradi uživanja bučnih semen. V bučnih semenih je selen neenakomerno razporejen, saj pogača vsebuje več kot 30-krat več selena v primerjavi z oljem, kar je pričakovano, saj je znano, da se selen veže na beljakovine, ki pa jih v olju ni (Kreft in sod., 2002).

Študija, ki je bila opravljena na bučah in ajdi, je bila narejena z namenom ugotoviti sposobnost privzema selena v obliki natrijevega selenata (NaSeO_4), po foliarnem škropljenju v času cvetenja. Takrat so foliarno škropili s selenovo raztopino v koncentraciji 1 mg Se/L. Razlika med vsebnostjo selena v kontrolni in izpostavljeni skupini je bila največja v semenih ajde, in sicer 43,27 ng/g vzorca v kontrolni skupini in 366,6 ng/g vzorca v izpostavljeni skupini, kar predstavlja 8,5-kratno povečanje. Vsebnost selena v oplodju buč se je povečala 3,3-krat (od 0,29 ng/g svežega vzorca v kontrolni skupini do 0,97 ng/g svežega vzorca v izpostavljeni skupini). Podobno razmerje je bilo pri semenih buč, in sicer 3,5-kratno povečanje (od 105,3 ng/g svežega vzorca v kontrolni skupini do 369,0 ng/g vzorca v izpostavljeni skupini) (Smrkolj, 2003).

2.3.5.1.2 Namakanje semen

Z omočenjem semen se trenutno opravljajo raziskave na zelenjadnicah (radič), žitih (pšenica), metuljnicah (lucerna, fižol) in sončnicah. Pri tem načinu so v uspešnem privzemu selena trenutno v ospredju metuljnice. Zaradi visokega deleža beljakovin se selen lažje veže in pokaže vidno boljše razlike v primerjavi s semeni radiča.

V raziskavi, ki je bila opravljena na Katedri za vrtnarstvo Biotehniške fakultete in Inštitutu Jožef Stefan, so proučevali vezavo selena in njegove oblike v zrnih fižola (*Phaseolus vulgaris* L.). Fižol ima visok delež beljakovin, ki je dva do trikrat višji od deleža v žitih. Rastline fižola so razdelili na skupino A in B. Vsaka skupina je obsegala štiri kultivarje. Skupino A so vzgojili na hidroponski sistem in jo kasneje presadili na polje, kjer so jo v času cvetenja foliarno škropili s selenovo raztopino natrijevega selenata v koncentraciji 10 mg Se/L. Škropili so dvakrat z intervalom deset dni. Skupina B pa je bila tudi hidroponsko vzgojena iz semen, ki so bila namočena v selenovi raztopini z enako koncentracijo kot pri prejšnji skupini. Zrna skupine A so akumulirala 2 μg Se/gram suhe snovi, medtem ko je skupina B akumulirala le okoli 0,6 μg Se/gram suhe snovi. Po encimski hidrolizi so identificirali 85 % topne oblike selena pri skupini A in 65 % topne oblike pri skupini B. Pri

obeh skupinah je prevladoval supernatant SeMeSeCys, SeMe in dva neznan. Fižol je pokazal visoko preferenco k vezavi selena, kar je izredno zanimivo, saj še nobena študija prej ni bila opravljena na obogatitvi fižola s selenom (Smrkolj in sod., 2006).

Kontrolirano povečanje vsebnosti selena v zrnju izbranih sort fižola za pridobivanje funkcionalne hrane je bila še ena zanimiva študija, ki je obravnavala fižol, ki je bil tretiran s selenom z metodo namakanja, kakor tudi s foliarnim škropljenjem (Osvald, 2006). Tudi kaljenje semen žit, lucerne in sončnic se je tako kot pri grahu izkazalo kot zelo učinkovito, ker s tem postopkom izboljšamo že tako visoko prehransko vrednost kalčkov (Lintschinger in sod., 2000).

2.3.5.1.3 Hidroponsko gojenje

Raziskave v povečanju vsebnosti selena s pomočjo hidroponskih tehnik se predvsem opravljajo na vrtninah. Gorčica (*Brassica juncea* (L.) Czern.) je primer rastline, kjer so hranilni raztopini dodali 20 μ M Se na rastlino v različnih oblikah (selenat, selenit, selenocistein, selenometionin in dimetilselenonijev propionat) in ugotavljali privzem selena v poganjkih in koreninah ter tvorbo hlapnih selenovih spojin. Rastlina je prevzela največ selena v obliki dimetilselenonijevega propionata selenometionina (Terry in sod., 2000). Selenat in dimetilselenonijev propionat se največ kopičita v koreninah, selenometionin pa se porazdeli večinoma v poganjke in korenine, medtem ko se selenocistein pretežno naloži v poganjke. Elles in sod. (2000) so proučevali prednosti z minerali obogatenih rastlin v primerjavi z anorganskimi mineralnimi dopolnili k prehrani. V poganjkih gorčice so s hidroponskim gojenjem dosegli vsebnosti 1700-3000 mg Se/kg suhe snovi. Ugotovili so, da je 94 % selena iz rastlin vodotopnega, medtem ko je analiza pokazala, da multivitaminski pripravek ne vsebuje vodotopnega selena.

Radič (*Cichorium intybus* L.) je rastlina, ki vsebuje precej učinkovin (grenčin, mineralov, vitaminov...) in ureja delovanje ledvic, izločanje žolča, poživilja krvni tlak, pospešuje prebavo. Različne sorte radiča so toplotno različno odporne, zato se lahko uživajo skozi celo leto (Osvald in Kogoj - Osvald, 1994). Zaradi zgoraj naštetih lastnosti je primeren za pridelavo funkcionalne hrane.

V raziskavi, ki je bila opravljena na Katedri za vrtnarstvo, Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete so aeroponsko gojili radič (kultivarja 'Anivip' in 'Monivip'), ki so ga vsako uro izpostavili s selenom obogateni (10 mg/l) Reshevi raztopini različno število dni: 5, 7, 10 in 41 dni. Več selena so privzeli listi, medtem ko korenine manj. Vsebnost selena kultivarja 'Anivip' je narasla od 0,005 do 18,2 mg Se/kg svežega vzorca po 41 dneh izpostavljenosti oskrbe s selenom in v listih od 0,011 do 74 mg Se/kg vzorca. Vsebnost selena se je v koreninah kultivarja 'Monivip' v 41 dneh zvišala od 0,017 do 21,7 mg Se/kg vzorca, v listih pa od 0,010 do 92 mg Se/kg svežega vzorca. Listi radiča so vsebovali približno 76 % vodotopnega selena (Stibilj in Smrkolj, 2003). V radiču kljub izredno visokim koncentracijam selena ni bilo opaziti simptomov toksičnega delovanja (črne pike ali bledečavost na listih, pri višjih koncentracijah pa porumenenje listov in pojav rdečkastih pik na koreninah, oviranje rasti, zmanjšanje sinteze proteinov ali celo predčasna smrt rastlin (Terry in sod., 2000; Kabata Pendias, 2001).

2.3.5.1.4 Mineralno gnojenje

Leta 1984 so na Finskem začeli reševati problem pomanjkanja selena z dodajanjem le-tega v obliki mineralnih gnojil z odmerkom 16 mg/kg. Metoda gnojenja ni tako razširjena, saj je dodajanje selena k mineralnim gnojilom ekološko vprašljivo. Selen se lahko veže na talne delce, vežejo ga mikroorganizmi, nakar ga malo ostane dostopnega za rastline. Po drugi strani pa predstavlja nevarnost za podtalnico, saj se v tleh lahko obdrži dokaj dolgo. Že od leta 1996 Finci dodajajo le 6 mg Se/kg mineralnega gnojila (Frankenberger in Engberg, 1998). Stadloberjeva in sod. (2001) so proučevali učinke gnojenja s selenatom na vsebnost selena v različnih žitih (pšenica, ječmen, rž). V tla so dodali 30 mg Se/kg v obliki selenata, vendar se ga je v rastlinah večina pretvorila v selenometionin. Vsebnost selena se je v žitih povečala od 6,5 do 24,1 ng Se/g v kontrolnih skupinah žit in od 168 do 238 ng Se/g v tretiranih skupinah.

Pri nas so, podobno kot drugod po svetu, raziskave na področju zelenjadarstva usmerjene predvsem v primerne tehnike gojenja obogatenih vrtnin v zavarovanem prostoru ali na prostem. Za pridelovanje s selenom obogatenih vrtnin kot funkcionalne hrane je potrebno izbrati primerne tehnike, ki pripomorejo k optimalni in varni vsebnosti selena, ter ne škodujejo okolju. Pri selenu je interval med toksično in esencialno vrednostjo ozek, zato je nekontrolirano dodajanje lahko problematično.

Pri bogatenju pa ne smemo pozabiti, da so raziskave, poleg razvijanja tehnik dodajanja, usmerjene še v proučevanje oblik selena, ki se pojavijo po tretiranju. Zelo pomembno je identificirati topne in netopne oblike selena in njihov delež. Česen, čebula in brokoli so rastline, ki so bogate z žveplom, zato so zelo primerne za obogatitev. Ko so v neki študiji ugotavljali selen vsebujoče aminokisliline v teh vrtninah, so pri vseh ugotovili prevladujoči aminokislini Se-metilselenocistein in selenocistein (Cai in sod., 1995). Še en dober primer proučevanja oblik selena v obogatenih kulturah je aeroponsko gojenje peteršilja, radiča, motovilca in regrata, ki so jih na ta način tretirali 41 dni v koncentraciji 7 mg Se/L v obliki natrijevega selenata. Po encimski hidrolizi so identificirali, poleg anorganskega selena, še selenometionin (6-21 %), selenometilselenocistein (0,5-4,4 %) in selenocistin (<0,8 %) (Mazej in sod., 2007). Na osnovi študij o vsebnosti oziroma pomanjkanju selena v hrani in celodnevni obrokih ustrezno označenih živil, npr. pšenično moko Selenovital (Modic, 1998) in krompir Selenella (Poggi in sod., 2000) se v Italiji navedena živila že tržno koristi. Obogatene rastline najdemo še v ZDA in še v nekaterih večjih državah.

2.4 DOLOČANJE SELENA

Za določanje so primerne le metode z nizko mejo detekcije, ker živila vsebujejo malo selena (Combs GF in Combs SB, 1986). Zaradi kompleksne zgradbe živil je potrebno pri določanju selena doseči popoln razkroj, istočasno pa moramo preprečiti izgube zaradi nastanka hlapnih selenovih spojin. Razkroj vzorcev je ena najbolj kritičnih stopenj določanja selena. Večina metod zahteva razkroj, ki razkroji organsko snov, element pa je v topni obliki v raztopini (Reilly, 1996). Koncentracija selena v vzorcu je najpomembnejši faktor pri odločitvi, katero metodo detekcije bomo uporabili. Analiza je zahtevna zaradi prisotnosti motečih zvrsti, hlapnosti elementa, zahteve za natančnost in zanesljivost, razpoložljivosti opreme, časa in stroškov (Foster in Sumar, 1995).

2.4.1 Razkroj vzorcev

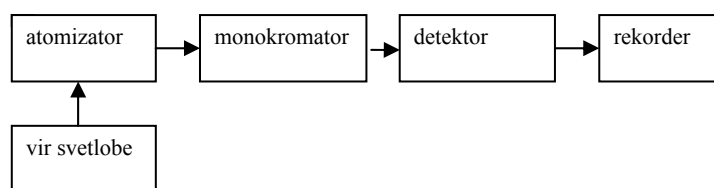
Oksidacija lahko poteka na dva načina: s suhim postopkom, ko se vzorec upepeli s segrevanjem pri visoki temperaturi ob prisotnosti zraka in kisika, ali z mokrim postopkom z uporabo različnih kislin ali njihovih mešanic pri povišani temperaturi. Suh sežig ni tako primeren zaradi izgub hlapnih selenovih spojin med segrevanjem (Reilly, 1996). Za določanje selena je primeren moker razkroj. Uporaben je za različne tipe vzorcev z različnimi matricami. Pri mokrem razkroju se v večini primerov uporabljajo mineralne kisline. Pri oksidaciji pride do razkroja organskega dela vzorca (Combs GF in Combs SB, 1986). Negativna stran mokrega razkroja je, da tu lahko uporabljamo le majhne vzorce. Pri večjih vzorcih lahko precenimo vsebnost selena v slepih vzorcih zaradi velike porabe kislin (Reilly, 1996).

2.4.2 Metode določanja selena

Za določanje selena v živilih najpogosteje omenjamo hidridno tehniko atomske absorpcijske spektrometrije (HG-AAS), fluorimetrično metodo, induktivno sklopljeno plazmo z masno spektrometrijo (ICP-MS) in radiokemično nevtronsko aktivacijsko analizo (RNAA) (cit. po Smrkoj, 2003).

Metoda atomske fluorescenčne spektrometrije s hidridno tehniko (HG-AFS), s katero smo določali selen v naših vzorcih, je novejša metoda in se uporablja za analizo okoli 25 elementov, vendar se najpogosteje uporablja za analizo As, Cd, Hg, Pb in Se (cit. po Smrkoj, 2003).

Metoda AFS je zasnovana na principu absorpcije svetlobe, ki jo prosti atomi absorbirajo iz črtastega ali kontinuiranega izvora. Pri prehodu iz vzbujenega v osnovno stanje pa fluorescirajo. Poznanih je več vrst fluorescence z različnim načinom vzbujanja in oddajanja svetlobe. Resonančna fluorescenca se ponavadi uporablja za kvantitativno analizo, kjer je valovna dolžina oddane svetlobe enaka absorbirani. Intenziteta emitirane svetlobe je proporcionalna absorbirani svetlobi in atomom analita. Fluorescirana svetloba se pri AFS širi na vse strani in jo merimo z detektorjem, ki je nameščen pravokotno na smer svetlobe iz vira za vzbujanje. Atomski fluorescenčni spektrometer je sestavljen iz enakih komponent kot atomski absorpcijski spektrometer, le da fluorescirano svetlobo merimo pravokotno na vstopno svetlobo. Slika 1 prikazuje shemo AFS. Meja detekcije se lahko izboljša z namestitvijo intenzivnega izvora za vzbujanje (cit. po Smrkoj, 2003).



Slika 1: Shema atomskega fluorescenčnega spektrometra (cit. po Smrkoj, 2003).

3 MATERIALI IN METODE

V raziskavi smo ugotavljali vpliv dodajanja selena rastlinam radiča na povečano vsebnost v listih in odziv rastlin v času rasti. Za poskus smo uporabili kultivarja 'Anivip' in 'Monivip'. Diplomsko delo je potekalo na laboratorijskem polju in v rastlinjakih Biotehniške fakultete ter v laboratorijih Inštituta Jožef Stefan. Raziskava je potekala od 14. 6. 2004 do 28. 1. 2005.

3.1 MATERIAL

3.1.1 Izbrani sortiment radiča (*Cichorium intybus* L.), ki je vključen v poskus

V poskus sta vključeni sorti 'Anivip' in 'Monivip', katerih lastnika sta prof. dr. Jože Osvald in dr. Marija Kogoj – Osvald.

3.1.1.1 Sorta 'Anivip'

3.1.1.1.1 Opis rastline

Je glavnat tip radiča z rahlo podolgovatimi do okroglimi glavicami. V fazi rozete so listi robustnejši, zelene do rahlo rjavo rdečkaste barve, v času ohladitve ter prehoda v tehnološko zrelost se listi obarvajo rjavo rdeče do rdeče z močnejše izraženimi listnimi žilami. Znotraj razvite glavice so listi rdeče obarvani z močnejše izraženimi listnimi žilami bele barve. Rastlina doseže v tehnološki zrelosti v primeru manj intenzivne pridelave višino 15 do 20 cm, premer rozete 30 do 40 cm in doseže maso 100 do 300 gramov. V primeru intenzivne pridelave so podatki o višini, širini in masi preseženi za 50 do 100 %.

3.1.1.1.2 Steblo

Cvetno steblo je visoko do 2 cm, močno razvejano in rahlo dlakavo. Debelina stebela je 1 do 2 cm.

3.1.1.1.3 Listi

Prvi pravi listi so ožji - podolgovati do srednje lopatičasti. Listi v času formiranja glavice so široki - lopatičasti, sedeči, dolžina 10 do 20 cm, širina 10 do 20 cm (odvisno od rastnih razmer). Listi so celorobi do rahlo narezani ter rahlo valoviti. Listna ploskev je ob žilah na zunanjih listih zeleno-rdeče-rjavo obarvana. Medžilni del listne ploskve je zelen, rdeč ali rahlo pisan. Listi, ki tvorijo glavico so v tehnološki zrelosti rdeče do rahlo pisane barve, z močnejše izraženimi listnimi žilami.

3.1.1.1.4 Cvet in seme

Cvet je svetlo moder. Seme je 2 do 3 mm dolgo, svetlo do temno rjavo in podolgovato.

3.1.1.1.5 Odpornost na bolezni in škodljivce

Ob upoštevanju zahtev za integrirano pridelovanje je sorta radiča 'Anivip' dobro odporna na pepelasto plesen in rjo.

3.1.1.1.6 Biološke lastnosti (dolžina rasti, odpornost na mraz in čas setve)

Sorta je odporna na nizke temperature do -8°C v obdobju rasti do tehnološke zrelosti. Čas setve od konca maja (višje lege in za jesensko spravilo) do julija - avgusta (toplejša območja in za pozno jesensko do zimsko spravilo).

3.1.1.1.7 Kakovost in količina pridelka

V fazi rozete so zunanji listi robustnejši, rahlo porasli z dlačicami, grenkega okusa. V tehnološki zrelosti se listi, ki tvorijo glavico, ponežijo, so krhki, brez oziroma z rahlo grenčico. Tržni pridelek je 10 do 40 ton glavice na ha.

3.1.1.1.8 Specifičnost sorte

Rastline so v tehnološki zrelosti lepega videza, rdeče rjavo do zeleno obarvane, glavice rdeče belo do rahlo pisane barve. Sorta je odporna na nizke temperature ter je primerna za pozno jesensko pridelovanje. Primeren je za pridelovanje glavice, za beljenje in siljenje. Posevek radiča sorte 'Anivip' se lahko zasnuje z neposredno setvijo (kasnejša zasnova in za siljenje ter beljenje) oziroma z gojenjem sadik. Presaja oziroma redči se na razdaljo 40 x 25 oziroma 30 x 30 cm. Pridelek glav ob spravilu v tehnološko zrelost je primeren za skladiščenje v hladilnicah. Rastline, ki niso dosegle tehnološke zrelosti (prepozna setev, suša), so primerne za siljenje ali beljenje.

3.1.1.2 Sorta 'Monivip'

Sorta 'Monivip' je po lastnostih, sestavi in morfologiji enaka sorti 'Anivip'; razlikuje se le po obarvanosti listov in glavice. Razlike so navedene sledeče:

V času prehoda v tehnološko zrelost so listi obarvani zeleno do belkasto rdeče pisano. Znotraj razvite glavice so listi belo-zeleno oziroma rdeče pisano obarvani. Listi, ki tvorijo glavico, so v tehnološki zrelosti zelene, belo-zelene do rahlo pisane barve. Rastline so v tehnološki zrelosti zelene do zeleno-rdeče-rjavo obarvane, glavice zelene, belo-zelene do rahlo pisane barve.



Slika 2. Prikaz sorte 'Anivip' levo in sorte 'Monivip' desno.

3.1.2 Pri izvajanju raziskave je bil uporabljen še naslednji material

3.1.2.1 Biotehniška fakulteta

- substrat KLASMAN,
- gojitvene plošče,
- polietilenska folija,
- fitofarmacevtsko sredstvo za zatiranje polžev - LIMAX,
- elektronska tehtnica, noži, škarje, količki in ostalo orodje za označbo variant v poskusu,
- kapljični namakalni sistem,
- raztopina natrijevega selenata- Na_2SeO_4 ,
- liofilizator,
- papirnate vrečke,
- tekoči dušik.

3.1.2.2 Inštitut Jožef Stefan

- vzorci radiča,
- reagenti,
- milli Q deionizirana voda,
- teflonske posode,
- elektronska tehtnica,
- ahatni planarni mikro mlin,
- atomski fluorescenčni spektrometer,
- papirnate brisače,
- etanol,
- PVC folija.

3.2. METODE DELA

Delo je potekalo na Biotehniški fakulteti in Inštitutu Jožef Stefan.

3.2.1 Biotehniška fakulteta

Raziskava je vključevala dve sorti radiča ('Anivip' in 'Monivip'). Prvi del poskusa je potekal v rastlinjaku, drugi del - presajanje sadik, sama oskrba, ocenjevanje in meritve pridelka, pa je potekal na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete. Poskus je bil zasnovan v treh ponovitvah in šestih obravnavanjih. Za nadaljnje raziskave so bila izbrana obravnavanja 1, 5 in 6. Obravnavanja:

- 1 - Seme namočeno v raztopini natrijevega selenata v koncentraciji 5 mg Se/L vode.
- 2 - Seme namočeno v raztopini natrijevega selenata v koncentraciji 2,5 mg Se/L vode.
- 3 - Seme namočeno v raztopini natrijevega selenata v koncentraciji 1 mg Se/L vode.
- 4 - Sadike v fazi prvih štirih listov, škropljenje z raztopino natrijevega selenata v koncentraciji 1 mg Se/L vode.
- 5 - Sadike v fazi prvih štirih listov so dvakrat foliarno škropljene z raztopino natrijevega selenata v koncentraciji 1 mg Se/L vode.
- 6 - Kontrola, brez dodajanja selena.

3.2.1.1 Vzgoja sadik

14. 6. 2004 smo v gojitvene plošče posejali obe sorti radiča in jih pustili v ogrevanem zavarovanem prostoru. Celice smo napolnili s setvenim substratom in v vsako dali nekaj semen. Semena obravnavanja 1 smo pred setvijo namočili za 30 minut v raztopino natrijevega selenata. Naslednja faza tretiranja s selenom je bilo škropljenje pri obravnavanju 5, v fazi prvih štirih listov. Škropili smo v dveh zaporedjih, z razmakom 14 dni. Prvo škropljenje je bilo 7. 7. 2004 in drugo 21. 7. 2004.

3.2.1.2 Delo na polju

24. 7. 2004 se je začelo sajenje pet tednov starih sadik na razdalji 25 x 25cm na polietilensko folijo. Uredili smo tudi namakalni kapljični sistem. Med rastnim obdobjem smo za posevek skrbeli z dodatnim zalivanjem in fitofarmaceutskimi sredstvi po potrebi (Limax - za polže). Na prostem je potekala nadaljnja ocena odziva rastlin na dodajanje selena. Ocenjevanje je trajalo 1 mesec z 10 dnevnim razmakom, kjer so imela vsa tri ocenjevanja enake ocenjevalne parametre. Prvo ocenjevanje se je začelo 23. 8. 2004, kjer smo ocenili bujnost, zdravstveno stanje, višino listov, širino listov in njihovo število. Drugo ocenjevanje je bilo izvršeno 3. 9., zadnje pa 14. 9. 2004. Pobiranje glav je sledilo jeseni v tehnološki zrelosti, kjer smo odvzeli naključno izbrane najboljše in izenačene rastline, iz poskusa A pri obravnavanjih 1, 5 in 6. Obravnavanja so zajemala rastline obeh

sort. Vzeli smo po tri rastline vsake sorte na obravnavanje iz celega poskusa (iz katerekoli ponovitve). Vsi podatki so navedeni v prilogi B. Po spravi smo glave pripravili za kemične analize.

3.2.1.3 Priprava glav za kemične analize

Pobrane glave smo v rastlinjaku očistili in jih ločili na zunanje, srednje in notranje liste. Ločene liste smo stehali in zamrznili v tekočem dušiku. Zamrznjene liste smo posušili v liofilizatorju in jih posušene ponovno stehali.

3.2.2 Inštitut Jožef Stefan

Delo na inštitutu je potekalo v treh sklopih. Mletje posušenih vzorcev je obsegalo prvi sklop, tehtanje vzorcev drugi in kemične analize tretji sklop. Pri pripravi vzorcev je bila potrebna natančnost in pazljivost zaradi nizke meje detekcije, ki je bila zaznana le ob točnosti priprave vzorcev. Analizirali smo šestintrideset vzorcev.

3.2.2.1 Mletje vzorcev

Vzorci smo zmleli v ahatnem planarnem mikro mlinu (FRITSCH, Pulverisette 7) (hitrost 6; čas mletja: 15 min). Vzorca so bili manjši od 0,2 mm. Po vsakem mletju smo ahatni mlinček in mizo očistili z etanolom zaradi sterilnosti. Vse vzorce smo spravili v plastične okrogle škatlice in jih nepredušno zaprli s toploto v pvc folijo zaradi zaščite pred kontaminacijo.

3.2.2.2 Tehtanje vzorcev

Tehtanje je potekalo ob veliki pazljivosti z elektronskimi laboratorijskimi tehtnicami. Pred vsakim ponovnim tehtanjem smo površino očistili z etanolom zaradi pravilnosti rezultatov. Pri večjih odstopanjih od primernih vrednosti smo tehtanje vzorca ponovili dvakrat ali trikrat.

3.2.2.3 Kemične analize

Pri poglavju o določanju selena smo že omenjali, da je potrebno doseči popolni razkroj, da dobimo element, ki je topen v raztopini, organsko snov pa razkrojimo. V našem primeru smo uporabili razkroj v zaprti teflonski posodi.

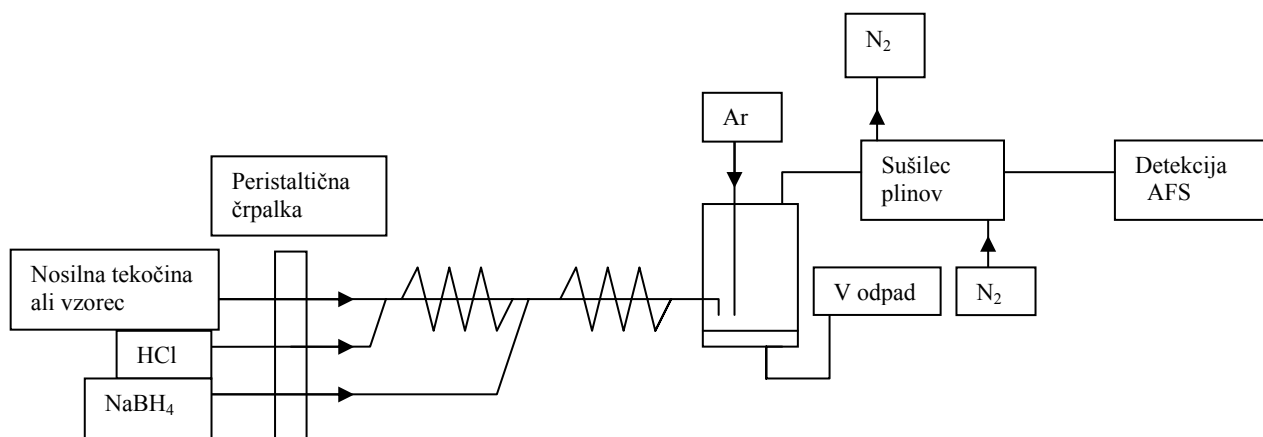
V 50 mL teflonske posode smo zatehtali 0,180 do 0,220 g vzorca. Vzorcju smo dodali 0,5 mL konc. H_2SO_4 in 1,5 mL konc. HNO_3 in segrevali čez noč pri $80^\circ C$ v aluminijastem bloku v zaprti teflonski posodi. Zjutraj smo temperaturo dvignili na $115^\circ C$ za 1 uro. Vzorce smo ohladili na sobno temperaturo, jih odprli (pustili smo odprte) in vsakemu dodali 2 mL konc. H_2O_2 in segrevali 10 minut pri $115^\circ C$. Nato smo dodali 0,1 mL 30 % HF in segrevali 8 minut pri $124^\circ C$. Dodali smo 2 mL konc. H_2O_2 in segrevali 10 minut pri $115^\circ C$.

Razkrojene vzorce smo ohladili na sobno temperaturo in dodali 0,1 mL V_2O_5 (Vanadijev pentaklorid je močan oksidant, ki razgradi prebitek H_2O_2) v H_2SO_4 in segrevali pri $115^\circ C$

do pojava modre raztopine (približno 20 minut), sledi redukcija z 2,5 mL konc. HCl, in sicer 10 minut pri 100°C. Vzorce smo razredčili na 10 g ali 15 g, odvisno od predvidene vsebnosti selena v vzorcu in s HG-AFS določili celoten selen. Standardne raztopine smo pripravili v enakem kislinskem mediju kot vzorce. Za standard smo uporabili špinačo z oznako SRM. Celoten postopek (od razkroja do določitve) je potekal v isti teflonski posodi.

3.2.2.4 Detekcija selena s HG-AFS

Detekcija vzorcev je potekala počasi in natančno. Signale vzorcev smo zabeležili z rekorderjem in jim izmerili višine, ki smo jih potem primerjali z višinami standardnih raztopin špinače (SRM). Izmerjene višine signalov smo nato vnesli v poseben program v Excelu, s pomočjo katerega smo dobili končne preračunane vrednosti za vsebnost selena v suhi snovi. Spodnja slika nam prikazuje shematski prikaz atomskega fluorescenčnega spektrometra s hidridno tehniko, ki nam je služil za detekcijo selena.



Slika 3: Shema sistema HG-AFS (cit. po Smrkolj, 2003).

3.3 STATISTIČNA ANALIZA

Podatke smo obdelali s programom Microsoft Exel Xp in Statgraphic plus 4,0. Statistično značilne razlike smo preverjali z Duncanovim testom, kjer smo upoštevali 5 % tveganje. Pri podatkih, ki so zajemali ocenjevanje med rastnim obdobjem, je bil N 3, pri podatkih o masah radiča 3 in pri vsebnosti selena 2.

4 REZULTATI

V tem poglavju prikazani rezultati so sestavljeni iz prvega in drugega dela. Za prvi del smo izvedli ocenjevanje odziva rastlin na dodajanje selena na prostem, kjer smo analizirali rezultate na bujnost, zdravstveno stanje, širino listov, višino listov in število listov. Analiza rezultatov drugega dela je vključevala obdelavo podatkov dobljenih pri detekciji selena in s tem njegovo vsebnost v suhi in sveži snovi.

4.1 REZULTATI V ČASU RASTI

Ocenjevali smo v treh časovnih terminih, kjer smo pri vsakem ocenjevanju uporabili obe sorti za vsak ocenjevalni parameter. Za vsako ocenjevanje smo za vsak parameter vzeli povprečno vrednost iz desetih rastlin za vsako sorto. Povprečne vrednosti ocenjevalnih parametrov so navedene v prilogi A. Vsako ocenjevanje je bilo izvedeno v treh ponovitvah, iz katerih smo vzeli povprečne vrednosti za obravnavanja kontrola, škropljenje in namakanje.

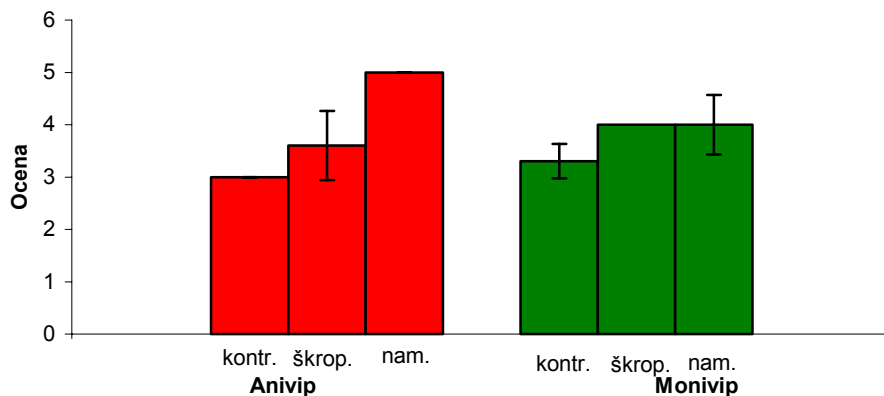
4.1.1. Prvo ocenjevanje

Prvo ocenjevanje je bilo izvedeno 23. 8. 2004, v času, ko so imele rastline radiča zadovoljivo velike liste in so bile v fazi oblikovanja glav. Ocenjevanje bujnosti in zdravstvenega stanja je vsebovalo lestvico ocen od 1 (najslabša) do 5 (najboljša). K meritvam je spadalo še merjenje višine in širine listov ter njihovo štetje. Vsi podatki so navedeni v prilogi A.

4.1.1.1 Bujnost

Sorta 'Anivip' je imela povprečje bujnosti 3,0 pri kontroli, 3,6 pri škropljenju in 5,0 pri namakanju. Rastline, ki smo jim dodali selen v obliki namakanja semen so bile bujnejše.

Sorta 'Monivip' je imela povprečje bujnosti 3,3 pri kontroli, 4,0 pri škropljenju in 4,0 pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

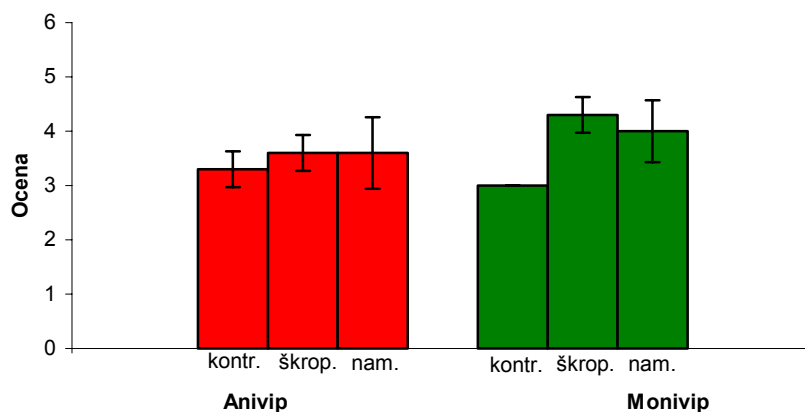


Slika 4: Prikaz povprečja bujnosti za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.

4.1.1.2 Zdravstveno stanje

Sorta 'Anivip' ima povprečje zdravstvenega stanja 3,3 pri kontroli, 3,6 pri škropljenju in 3,6 pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

Sorta 'Monivip' ima povprečje zdravstvenega stanja 3,0 pri kontroli, 4,3 pri škropljenju in 4,0 pri namakanju. Rastline, ki smo jih škropili s selenovo raztopino, so bolj zdrave.

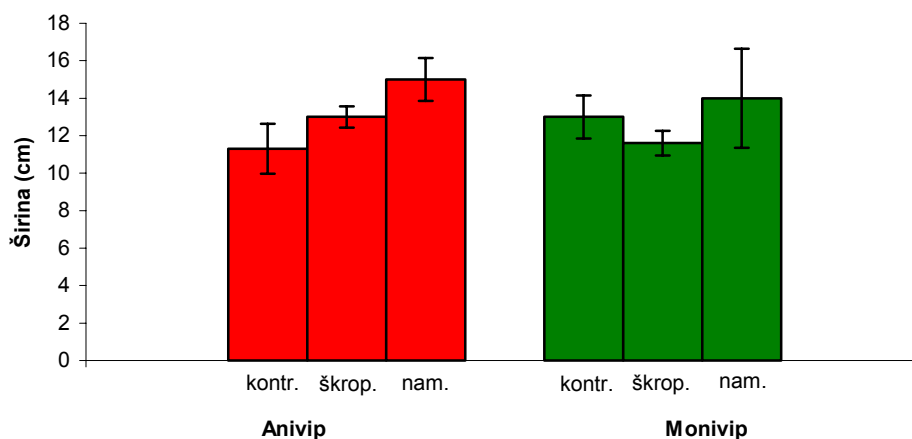


Slika 5: Prikaz povprečja zdravstvenega stanja za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.

4.1.1.3 Širina listov

Sorta 'Anivip' ima povprečno širino listov 11,3 cm pri kontroli, 13,0 cm pri škropljenju in 15,0 cm pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

Sorta 'Monivip' ima povprečno širino listov 13,0 cm pri kontroli, 11,6 cm pri škropljenju in 14,0 cm pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

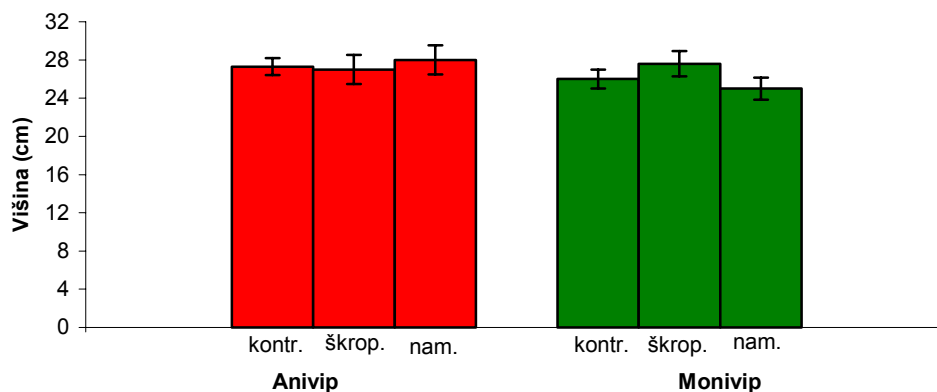


Slika 6: Prikaz povprečja širine listov za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.

4.1.1.4 Višina listov

Sorta 'Anivip' ima povprečno višino listov 27,3 cm pri kontroli, 27,0 cm pri škropljenju in 28,0 cm pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

Sorta 'Monivip' ima povprečno višino listov 26,0 cm pri kontroli, 27,6 cm pri škropljenju in 25,0 cm pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

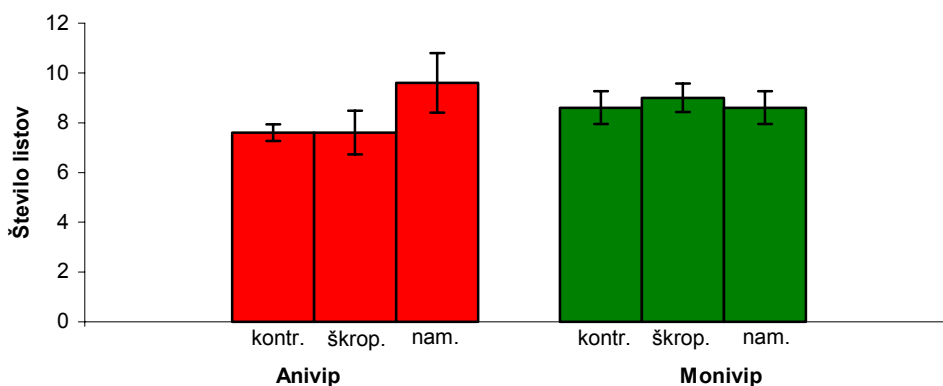


Slika 7: Prikaz povprečja višine listov za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.

4.1.1.5 Število listov

Sorta 'Anivip' ima povprečno število listov 7,6 pri kontroli, 7,6 pri škropljenju in 9,6 pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

Sorta 'Monivip' ima povprečno število listov 8,6 pri kontroli, 9,0 pri škropljenju in 8,6 pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.



Slika 8: Prikaz povprečja števila listov za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.

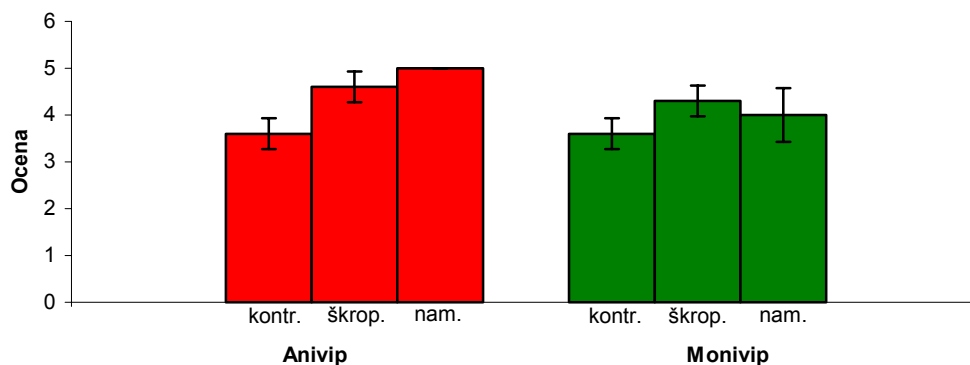
4.1.2 Drugo ocenjevanje

Drugo ocenjevanje je bilo narejeno 3. 9. 2004 v času polnega oblikovanja glav. Vsi podatki so navedeni v prilogi A.

4.1.2.1 Bujnost

Sorta 'Anivip' ima povprečje bujnosti 3,6 pri kontroli, 4,6 pri škropljenju in 5,0 pri namakanju. Rastline, ki smo jim dodali selen z namakanjem in škropljenjem so bile bujnejše.

Sorta 'Monivip' ima povprečje bujnosti 3,6 pri kontroli, 4,3 pri škropljenju in 4,0 pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

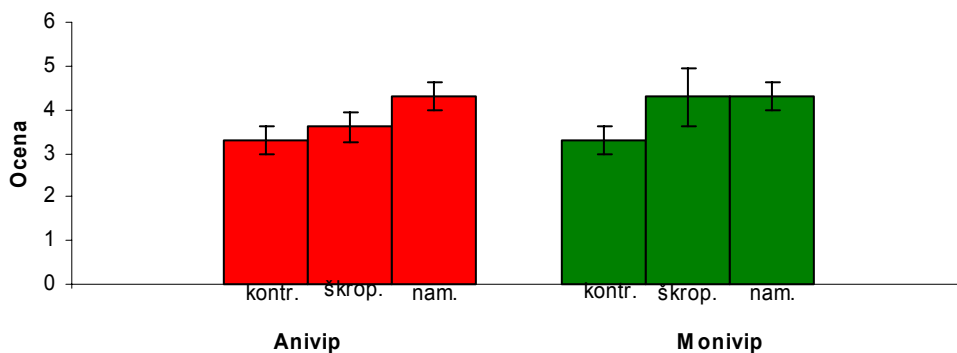


Slika 9: Prikaz povprečja bujnosti za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.

4.1.2.2 Zdravstveno stanje

Sorta 'Anivip' ima povprečje zdravstvenega stanja 3,3 pri kontroli, 3,6 pri škropljenju in 4,3 pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

Sorta 'Monivip' ima povprečje zdravstvenega stanja 3,3 pri kontroli, 4,3 pri škropljenju in 4,3 pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

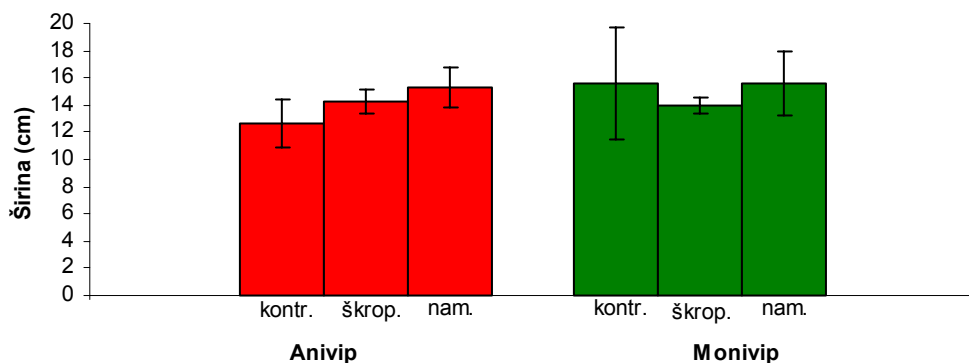


Slika 10: Prikaz povprečja zdravstvenega stanja za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.

4.1.2.3 Širina listov

Sorta 'Anivip' ima povprečno širino listov 12,6 cm pri kontroli, 14,3 cm pri škropljenju in 15,3 cm pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

Sorta 'Monivip' ima povprečno širino listov 15,6 cm pri kontroli, 14,0 cm pri škropljenju in 15,6 cm pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

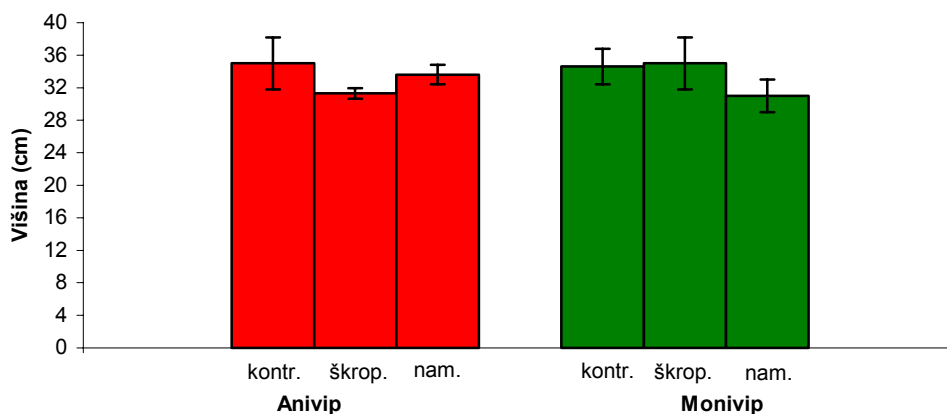


Slika 11: Prikaz povprečja širine listov za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.

4.1.2.4 Višina listov

Sorta 'Anivip' ima povprečno višino listov 35,0 cm pri kontroli, 31,3 cm pri škropljenju in 33,6 cm pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

Sorta 'Monivip' ima povprečno višino listov 34,6 cm pri kontroli, 35,0 cm pri škropljenju in 31,0 cm pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

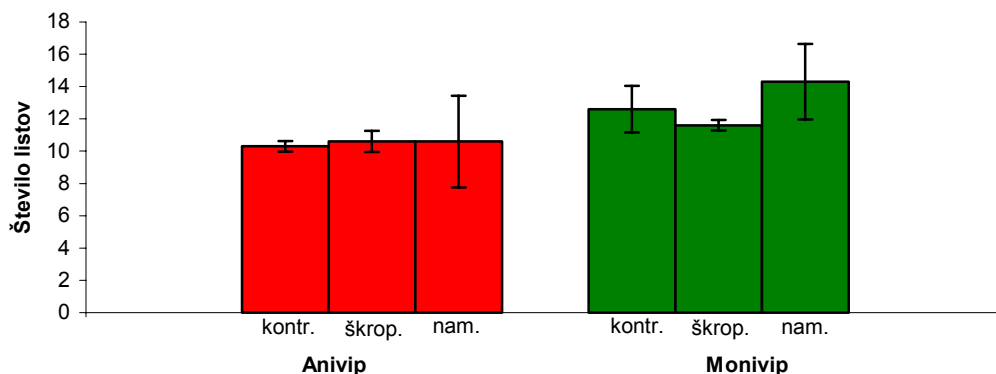


Slika 12: Prikaz povprečja višine listov za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.

4.1.2.5 Število listov

Sorta 'Anivip' ima povprečno število listov 10,3 pri kontroli, 10,6 pri škropljenju in 10,6 pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

Sorta 'Monivip' ima povprečno število listov 12,6 pri kontroli, 11,6 pri škropljenju in 14,3 pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.



Slika 13: Prikaz povprečnega števila listov za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.

4.1.3 Tretje ocenjevanje

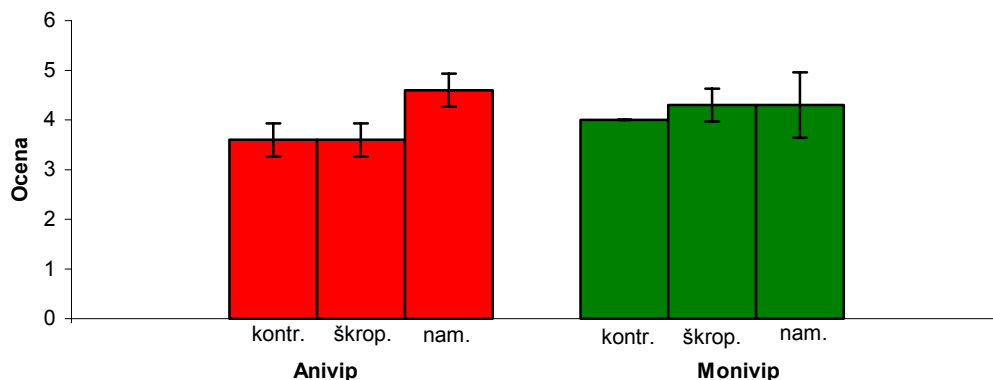
Tretje ocenjevanje na prostem se je izvajalo 14. 9. 2004 v skoraj tehnološki zrelosti. Rastline so imele že primerno obliko in velikost glav; zato je bilo to zadnje ocenjevanje pred pobiranjem v tehnološki zrelosti. Vsi podatki so navedeni v prilogi A.

4.1.3.1 Bujnost

Sorta 'Anivip' ima povprečje bujnosti 3,6 pri kontroli, 3,6 pri škropljenju in 4,6 pri namakanju.

Med obravnavanji ni opaznih razlik.

Sorta 'Monivip' ima povprečje bujnosti 4,0 pri kontroli, 4,3 pri škropljenju in 4,3 pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

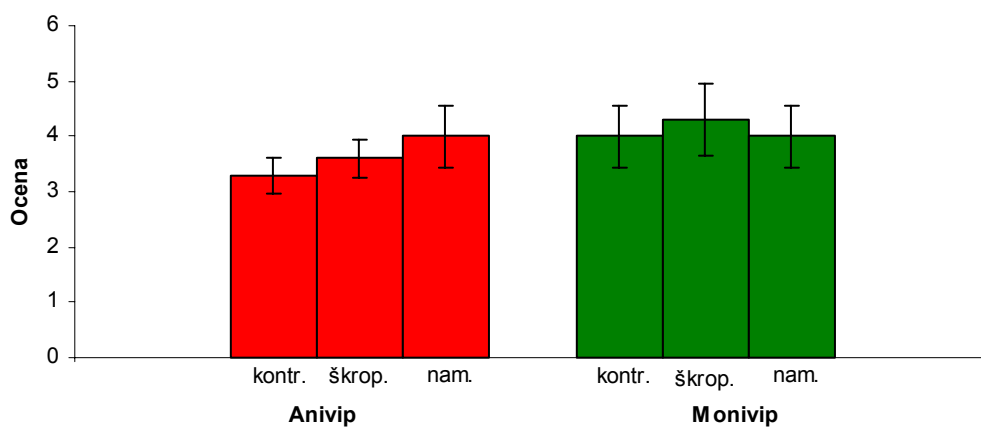


Slika 14: Prikaz povprečja bujnosti za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.

4.1.3.2 Zdravstveno stanje

Sorta 'Anivip' ima povprečje zdravstvenega stanja 3,3 pri kontroli, 3,6 pri škropljenju in 4,0 pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

Sorta 'Monivip' ima povprečje zdravstvenega stanja 4,0 pri kontroli, 4,3 pri škropljenju in 4,0 pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

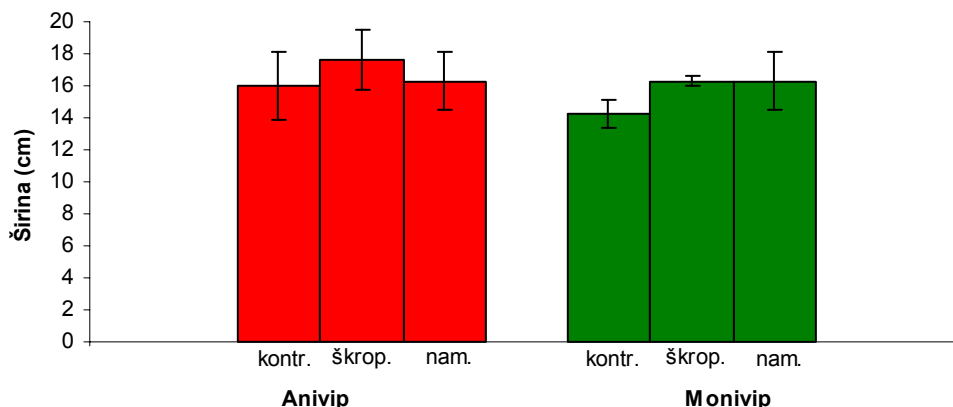


Slika 15: Prikaz povprečja zdravstvenega stanja za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.

4.1.3.3 Širina listov

Sorta 'Anivip' ima povprečno širino listov 16,0 cm pri kontroli, 17,6 cm pri škropljenju in 16,3 cm pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

Sorta 'Monivip' ima povprečno širino listov 14,3 cm pri kontroli, 16,3 cm pri škropljenju in 16,3 cm pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

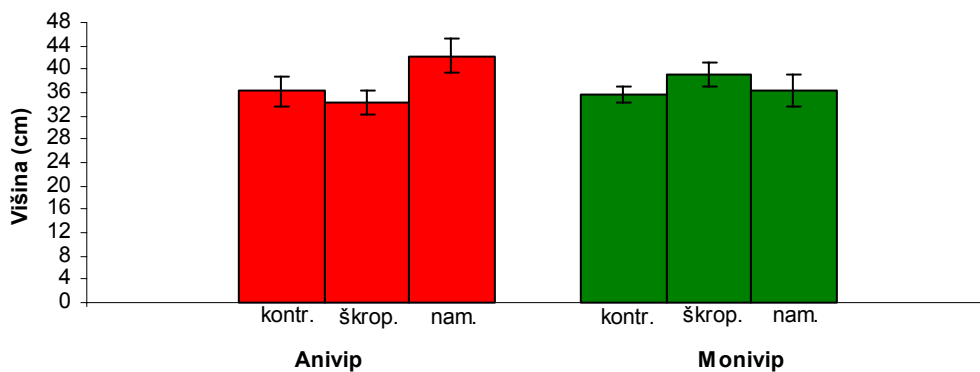


Slika 16: Prikaz povprečja širine listov za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.

4.1.3.4 Višina listov

Sorta 'Anivip' ima povprečno višino listov 36,3 cm pri kontroli, 34,3 cm pri škropljenju in 42,3 cm pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

Sorta 'Monivip' ima povprečno višino listov 35,6 cm pri kontroli, 39,0 cm pri škropljenju in 36,3 cm pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

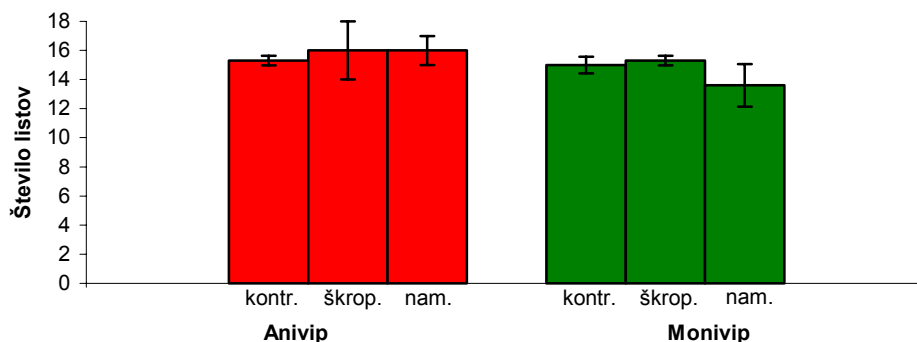


Slika 17: Prikaz povprečja višine listov za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.

4.1.3.5 Število listov

Sorta 'Anivip' ima povprečno število listov 15,3 pri kontroli, 16,0 pri škropljenju in 16,0 pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.

Sorta 'Monivip' ima povprečno število listov 15,0 pri kontroli, 15,3 pri škropljenju in 13,6 pri namakanju. Med obravnavanji ni opaznih razlik.



Slika 18: Prikaz povprečja števila listov za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.

4.2. REZULTATI PO SPRAVILU PRIDELKA

S pravilom pridelka smo začeli v tehnološki zrelosti, približno 3 mesece po setvi oz. 2 meseca po saditvi na prosto. Nastop tehnološke zrelosti smo ocenili vizualno in z ocenjevanjem zbitosti glav. Radič smo pobirali, ko so bile glave primerno trde.

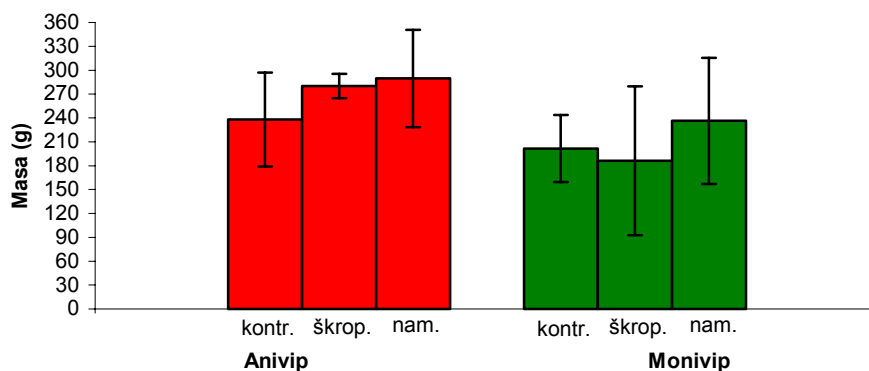
4.2.1 Rezultati tehtanja posameznih delov radiča

Spodnje slike nam prikazujejo rezultate tehtanja obeh sort; neočiščenih glav, očiščenih glav in korena.

4.2.1.1 Masa neočiščenih glav

Sorta 'Anivip' ima povprečno maso neočiščene glave 238,0 g pri kontroli, 280,3 g pri škropljenju in 289,6 g pri namakanju. Rastline, ki smo jim dodali selen z namakanjem in škropljenjem, imajo večjo maso neočiščene glave.

Sorta 'Monivip' ima povprečno maso 201,3 g pri kontroli, 186,3 g pri škropljenju in 236,3 g pri namakanju. Rastline, ki smo jim dodali selen v obliki namakanja semen, imajo večjo maso neočiščene glave.

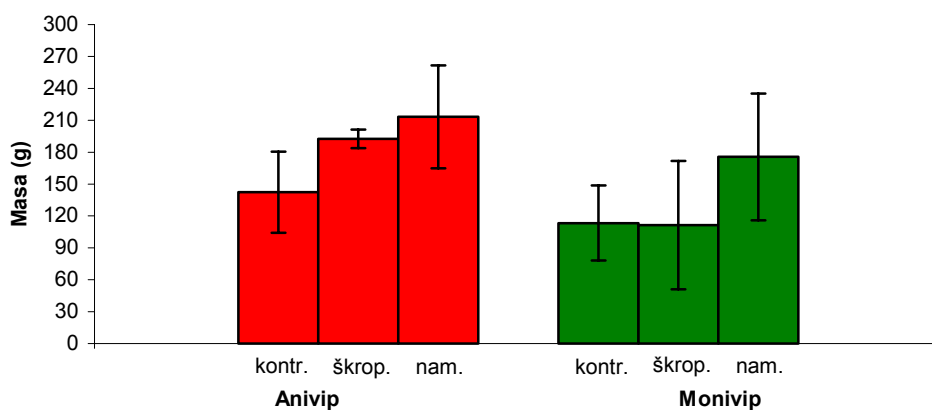


Slika 19: Prikaz povprečne mase neočiščenih glav za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.

4.2.1.2 Masa očiščenih glav

Sorta 'Anivip' ima povprečno maso očiščenih glav 142,3 g pri kontroli, 192,6 g pri škropljenju in 213,3 g pri namakanju. Rastline, ki smo jim dodali selen z namakanjem in škropljenjem, imajo večjo maso očiščene glave.

Sorta 'Monivip' ima povprečno maso očiščenih glav 113,3 g pri kontroli, 111,3 g pri škropljenju in 175,6 g pri namakanju. Rastline, ki smo jim dodali selen v obliki namakanja semen, imajo večjo maso očiščene glave.

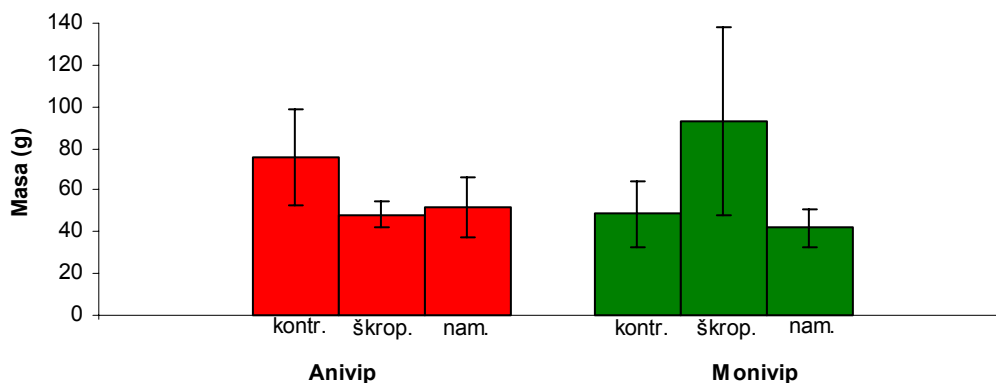


Slika 20: Prikaz povprečne mase očiščenih glav za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.

4.2.1.3 Masa korena

Sorta 'Anivip' ima povprečno maso korena 75,6 g pri kontroli, 48,3 g pri škropljenju in 51,8 g pri namakanju. Rastline, ki jim nismo dodali selena, imajo večjo maso korena.

Sorta 'Monivip' ima povprečno maso korena 48,4 g pri kontroli, 93,2 g pri škropljenju in 42,0 g pri namakanju. Rastline, ki smo jih škropili s selenovo raztopino, imajo večjo maso korena.



Slika 21: Prikaz povprečne mase korena za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.

4.3 REZULTATI O VSEBNOSTI SELENA V RADIČU

Vsebnost selena smo določali v zunanjih, srednjih in notranjih listih očiščene glave. Vrednosti so se zmanjševale od zunanjih proti notranjim listom.

4.3.1. Predstavitev rezultatov

Spodnje slike nam kažejo vsebnost selena v suhi in sveži snovi v zunanjih, srednjih in notranjih listih očiščene glave. Prikaz v ng Se/gram suhe snovi, je zaradi prvotnega določanja selena v suhih vzorcih. Ker pa uživamo vedno sveže vrtnine, uporabimo ponavadi še prikaz v ng Se/gram sveže snovi. Vsi podatki so navedeni v prilogi C.

4.3.1.1 Prikaz v suhi snovi

Iz podatkov je razvidno, da se je vsebnost selena najbolj povečala pri rastlinah, ki smo jim dodajali selen v obliki škropljenja.

4.3.1.1.1 Notranji listi

Sorta 'Anivip' ima povprečno vsebnost selena 15,75 ng Se/g suhe snovi pri kontroli, 46,8 ng Se/g suhe snovi pri škropljenju in 17,5 ng Se/g suhe snovi pri namakanju.

Sorta 'Monivip' ima povprečno vsebnost selena 14,55 ng Se/g suhe snovi pri kontroli, 34,9 ng Se/g suhe snovi pri škropljenju in 16,75 ng Se/g suhe snovi pri namakanju.

4.3.1.1.2 Srednji listi

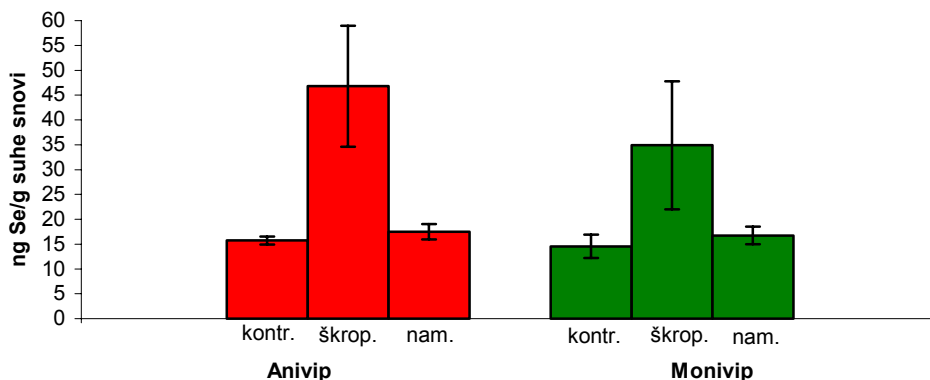
Sorta 'Anivip' ima povprečno vsebnost selena 19,95 ng Se/g suhe snovi pri kontroli, 46,7 ng Se/g suhe snovi pri škropljenju in 22,85 ng Se/g suhe snovi pri namakanju.

Sorta 'Monivip' ima povprečno vsebnost selena 18,25 ng Se/g suhe snovi pri kontroli, 46,05 ng Se/g suhe snovi pri škropljenju in 25,7 ng Se/g suhe snovi pri namakanju.

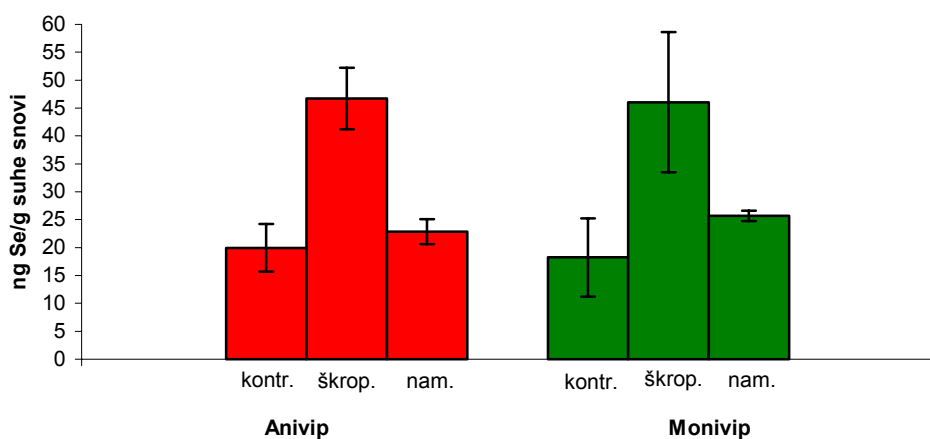
4.3.1.1.3 Zunanji listi

Sorta 'Anivip' ima povprečno vsebnost selena 31,65 ng Se/g suhe snovi pri kontroli, 44,35 ng Se/g suhe snovi pri škropljenju in 32,9 ng Se/g suhe snovi pri namakanju.

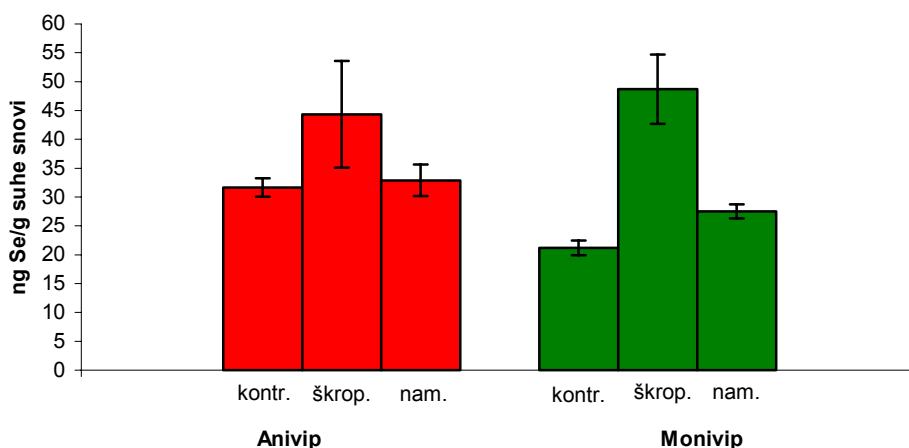
Sorta 'Monivip' ima povprečno vsebnost selena 21,2 ng Se/g suhe snovi pri kontroli, 48,7 ng Se/g suhe snovi pri škropljenju in 27,5 ng Se/g suhe snovi pri namakanju.



Slika 22: Prikaz povprečne vsebnosti selena v notranjih listih v suhi snovi za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.



Slika 23: Prikaz povprečne vsebnosti selena v srednjih listih v suhi snovi za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.



Slika 24: Prikaz povprečne vsebnosti selena v zunanjih listih v suhi snovi za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.

4.3.1.2 Prikaz v sveži snovi

Iz podatkov je razvidno, da se je vsebnost selena najbolj povečala pri rastlinah, ki smo jim dodajali selen v obliki škropljenja.

4.3.1.2.1 Notranji listi

Sorta 'Anivip' ima povprečno vsebnost selena 1,5 ng Se/g sveže snovi pri kontroli, 4,6 ng Se/g sveže snovi pri škropljenju in 1,55 ng Se/g sveže snovi pri namakanju.

Sorta 'Monivip' ima povprečno vsebnost selena 1,2 ng Se/g sveže snovi pri kontroli, 3,2 ng Se/g sveže snovi pri škropljenju in 1,3 ng Se/g sveže snovi pri namakanju.

4.3.1.2.2 Srednji listi

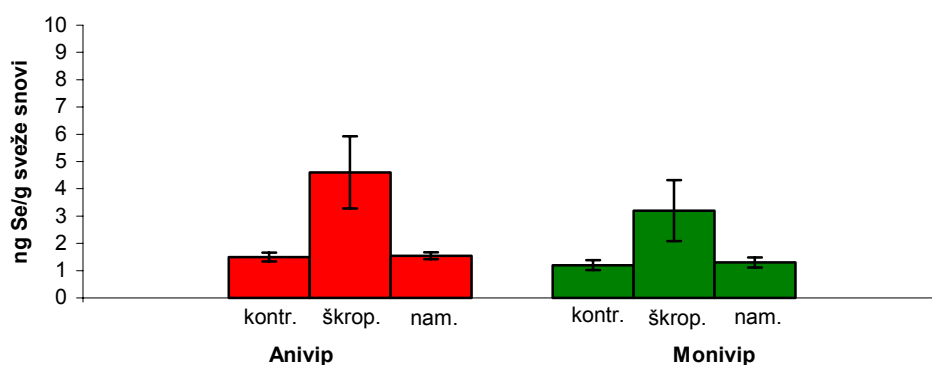
Sorta 'Anivip' ima povprečno vsebnost selena 2,3 ng Se/g sveže snovi pri kontroli, 4,85 ng Se/g sveže snovi pri škropljenju in 2,3 ng Se/g sveže snovi pri namakanju.

Sorta 'Monivip' ima povprečno vsebnost selena 1,6 ng Se/g sveže snovi pri kontroli, 4,3 ng Se/g sveže snovi pri škropljenju in 2,4 ng Se/g sveže snovi pri namakanju.

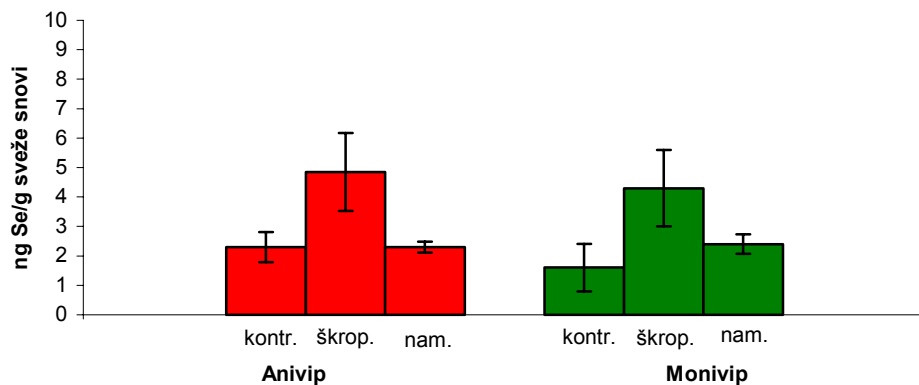
4.3.1.2.3 Zunanji listi

Sorta 'Anivip' ima povprečno vsebnost selena 4,65 ng Se/g sveže snovi pri kontroli, 6,1 ng Se/g sveže snovi pri škropljenju in 4,75 ng Se/g sveže snovi pri namakanju.

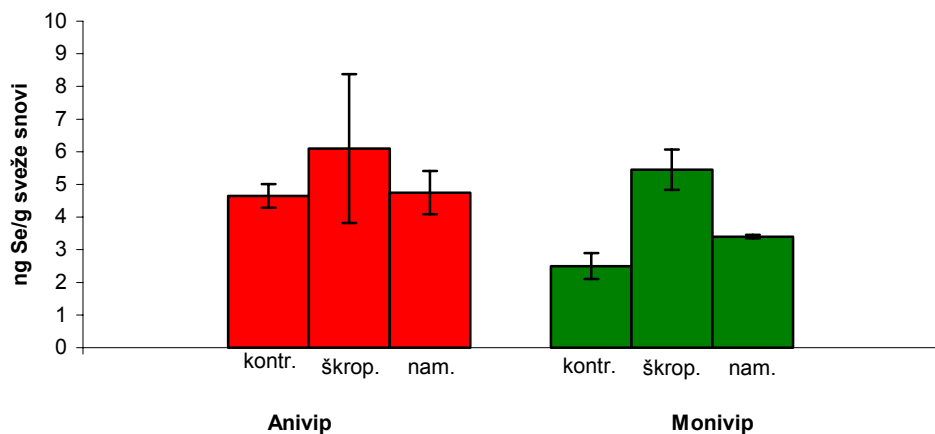
Sorta 'Monivip' ima povprečno vsebnost selena 2,5 ng Se/g sveže snovi, pri kontroli, 5,45 ng Se/g sveže snovi pri škropljenju in 3,4 ng Se/g sveže snovi pri namakanju.



Slika 25: Prikaz povprečne vsebnosti selena v notranjih listih v sveži snovi za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.



Slika 26: Prikaz povprečne vsebnosti selena v srednjih listih v sveži snovi za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.



Slika 27: Prikaz povprečne vsebnosti selena v zunanjih listih v sveži snovi za radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' pri kontroli, škropljenju s selenovo raztopino in namakanju v selenovi raztopini.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Radič uvrščamo v skupino solatnic, v družino radičevk (Cichoriaceae). Gojimo ga zaradi listne rozete, ki se razvije na skrajšanem stebelu. Bogat je z fosforjem, železom, kalijem, kalcijem, provitaminom A, vitaminom C in snovjo intibinom, ki ima fiziološko-prehranski pomen. Intibin je grenčična snov, ki se nahaja v belih rebrih listov in daje radiču njegov močan grenko-trpek okus. V poskusu obravnavani sorti 'Anivip' in 'Monivip' sta glavni tip radiča, z rahlo podolgovatimi do okroglimi glavicami. Po lastnostih sta si enaki, kakor tudi po namenu pridelave; saj obe sorti lahko koristimo za pridelovanje glavic, za beljenje ali siljenje.

Selen ima pomembno vlogo pri antioksidativnih procesih cianobakterij in nekaterih rastlin. Selen je široko razširjen po zemeljski obli in na razpolago rastlinam vsaj v majhnih količinah. Gojenje rastlin, ki so obogatene s selenom, je učinkovit način dodajanja selena ljudem za izboljšanja zdravja. V znanstvenem svetu poteka debata, ali je selen potreben za rastline. Obstajajo pa dokazi, da selen pri rastlinah pospešuje antioksidacijsko aktivnost, zavira procese, povezane s staranjem in omili stres zaradi visoke svetlobe in tudi suše (Germ in Stibilj, 2007).

Poskus je bil zasnovan z neposredno setvijo z namenom pridelave glavic, ker je bil cilj naše raziskave proučiti vpliv dodanega selena na rastline radiča med rastnim obdobjem in na povečanje njegove vsebnosti v listih. Vsebnost selena smo določali v zunanjih, srednjih in notranjih listih.

V prvem delu opazovanja - vpliva selena na rastline, kjer smo ocenjevali bujnost, zdravstveno stanje, širino listov, višino listov in njihovo število, smo prišli do ugotovitve, da se sorti 'Anivip' in 'Monivip' med seboj ne razlikujeta veliko glede na kontrolne in tretirane rastline. Po vizualnem ocenjevanju lahko rečemo, da selen ni vplival negativno na pridelek, kar je bilo razvidno med variantami in ponovitvami. Študija, ki so jo izvedli Germ in sod. (2007) na istih rastlinah, nakazuje povečan respiracijski potencial in hitrost prenosa elektronov pri škropljenih in namakanih rastlinah radiča.

Pri analizi mas posameznih delov radiča smo dobili statistično značilne razlike pri obeh sortah. Pri sorti 'Anivip' statistično izstopajo obravnavanja škropljenja in namakanja za neočiščene glave, obravnavanja škropljenja in namakanja za očiščene glave in obravnavanje kontrole za koren. Statistično značilne razlike pri sorti 'Monivip' so bile vidne pri obravnavanju namakanja za neočiščene glave, pri obravnavanju namakanja za očiščene glave in pri obravnavanju škropljenja za koren. Selen v našem primeru ni vidno vplival na večjo rast. Kljub temu pa nekateri avtorji poročajo, da je način foliarnega škropljenja s selenom že pripomogel k večji rasti pri solati (Xue in sod., 2001), krompirju (Turakainen in sod., 2004) in listih zelenega čaja (Hu in sod., 2001). Majhne razlike smo našli med samima sortama. Iz podatkov lahko zaključimo, da je imela sorta 'Anivip' v povprečju večjo maso očiščene in neočiščene glave kot sorta 'Monivip'. Pri podatkih o masi korena, izstopa obravnavanje škropljenje pri sorti 'Monivip', medtem ko so ostale

vrednosti večje pri soti 'Anivip'.

Poskus z večjim odstotkom selena v raztopini bo v prihodnje še pomemben, če hočemo izboljšati rast radiča in s tem povečati pridelek. Možnosti so ugodne, ker ima radič dobro razvit koreninski sistem, kar je ena od ključnih lastnosti pri prehajanju selena in njegovi začasni zalogi. Prav tu pa bo potrebnega še dosti dela, ker vemo, da selen ni bil razvrščen kot esencialni element za rastline, kljub njegovi domnevno pozitivni vlogi pri rastlinah, ki ga lahko črpajo v večjih količinah (Terry in sod., 2000). Vezava selena v radiču in količina akumuliranega je pogojena s kemijsko obliko selena in koncentracijo ter talnimi dejavniki, kot so: pH, slanost, odstotek kalcijevega karbonata (CaCO_3), specifičnost in koncentracija ionov in zmožnost radiča za absorpcijo in presnovo selena (Kabata Pendias, 2001). Aktivno rastoča tkiva ponavadi vsebujejo največjo vsebnost selena (Kahakachchi in sod., 2004). Po raziskavah akumulirajo rastline več selena v poganjkih in listih kot pa v koreninah (Zayed in sod., 1998). Navsezadnje je radič tudi ena cenejših vrtnin, pri čemur smo še v eni prednosti pri potrošnikih.

Vsebnost selena, ki je bil dodan v obliki natrijevega selenata (Na_2SeO_4), se je razlikovala najbolj glede na liste. Statistično značilno se razlikujejo obravnavanja škropljenja pri notranjih, srednjih in zunanjih listih pri obeh sortah. Na vezavo selena vpliva veliko dejavnikov, od katerih so ključni: suha snov, žveplo vsebujoče aminokisliline (cistein in metionin) in škrob. Vsebnost selena je bila pri škropljenih rastlinah večja kot pri namakanih in kontroli. Iz dobljenih rezultatov je razvidno, da se je v našem primeru najboljše obnesel način foliarnega škropljenja sadik.

Vsako škropljenje ali namakanje z raztopino natrijevega selenata bi lahko vodilo v kontaminacijo, zato smo izvajali tretiranje posebno pazljivo in natančno. Ker z našimi koncentracijami selena nismo dobili negativnih rezultatov oz. fizioloških motenj, nam to vzpodbudi nove načrte za uspešno povečanje vsebnosti selena v solatnicah. Namakanje semen, foliarno škropljenje, aeroponsko gojenje, hidroponsko gojenje, dodajanje selena v gnojila ali kakšen drugi način obogatitve radiča s selenom, je še vedno predmet raziskav, kateri način je najbolj uspešen (Mazej in sod., 2007). Vsekakor je vsaka metoda po svoje primerna, a jo je potrebno prilagoditi razvojni fazi rastline, koncentraciji selenove raztopine, sorti in zunanjim dejavnikom.

S selenom obogaten radič je potencialni vir hranljivega selena, ker je le-ta razporejen po celi glavi. Foliarno škropljeni radič je primerna vrtnina za področja, kjer primanjkuje selena oziroma ga je zelo malo. Ta način obogatitve se je v našem primeru sicer izkazal za najbolj ugodnega, vendar je nevarnost kontaminacije večja kot pri namakanju semen. Pri namakanju, ki ni bilo tako uspešno v povečanju vsebnosti selena, bo potrebno še natančneje raziskati, kakšna koncentracija selena bi ustrezala radiču, da ne bi prišlo do toksičnosti za rastlino in toksičnosti za človeka. V primerni koncentraciji pa ima selen lahko po navedbah nekaterih avtorjev tudi ugoden vpliv na prirast pridelka.

Tudi v prihodnosti bo radič izmed solatnic eden od najboljših kandidatov za pridelavo funkcionalne hrane. Predvsem zato, ker ga lahko uživamo presnega čez celo zimo, ko ostale zelenjave ni toliko na voljo. Najbolj ga uporabljajo države, kot so: Italija, Španija in Slovenija. S 3400 tonami v letu 2004 (statistični letopis Republike Slovenije, 2005), je

radič pri nas druga najbolj zastopana vrtnina med solatnicami. Pri neki raziskavi se je aeroponsko vzgojeni radič izkazal kot dober vir zelenjave, ki je bogata s selenom (Mazej in sod., 2006), a bo kljub temu pomembno še raziskati, katera tehnika dodajanja selena bo najbolj uspešna in kako bi se to obneslo na tržišču.

5.2 SKLEPI

- Pri namakanju semen ni bilo negativnih vplivov na rastlino, niti se vsebnost selena ni veliko povečala, kar je po pričakovanjih zadovoljivo.
- Foliarno škropljenje je bilo učinkovitejše od namakanja, saj se je vsebnost selena v listih ugodno povečala, kar nakazujejo dejstva, ki so pri varianti škropljenje očitna. Fizioloških motenj ni bilo, zato je bil ta način obogatitve najbolj primeren.
- Razlike med zunanjimi in notranjimi listi so pokazale, da se je več selena vezalo v zunanjih listih. Vzrok bi lahko bil večji odstotek suhe snovi v zunanjih listih.
- Sorta 'Anivip' je imela večjo povprečno maso očiščenih in neočiščenih glav kot sorta 'Monivip'. Opažene sortne razlike so pomembne pri prihodnjih načrtovanih dodajanja selena in predvidevanju, katere sorte radiča so bolj primerne za povečanje vsebnosti selena in s tem tudi povezanim povečanjem samega pridelka.
- Z izborom primerne koncentracije selena je možno povečati vsebnost selena v radiču do stopnje, ki ugodno vpliva na zdravje, hkrati pa ni toksična za rastlino in ne za človeka.

6 POVZETEK

Selen je esencialen element za žive organizme, saj je že v nanogramskih količinah pomemben za presnovne procese, zato je pomembno, da spremljamo njegovo vsebnost v kulturnih rastlinah, ker je hrana njegov primarni vir. Vedno ga najdemo v zelo nizkih količinah, večinoma v ng/gram vzorca.

Določanje selena v rastlinah še vedno povzroča težave kljub številnim sodobnim tehnikam. Ker so vsa živila sestavljena iz organskih in anorganskih komponent, se zahteva bolj kompleksen proces razgradnje. Zaradi hlapnih selenovih spojin je za določanje selena primeren moker razkroj v zaprti posodi. Pri tem pride do razgradnje organskega dela vzorca, z uporabo mešanic mineralnih kislin in vodikovega peroksida. Za detekcijo selena se uporabljajo radiokemična nevtronska aktivacijska analiza, fluorimetrična metoda, atomska absorpcijska spektrometrija s hidridno tehniko (HG-AAS) in v zadnjem času atomska fluorescenčna spektrometrija s hidridno tehniko (HG-AFS).

Namen našega dela je bil povečati vsebnost selena v radiču ter določiti njegovo vsebnost. Poskus je bil zasnovan v treh ponovitvah in šestih obravnavanjih. Za nadaljnje analize smo izbrali obravnavanja 1, 5 in 6. Obravnavanje 6 je vključevalo kontrolo, obravnavanje 1 namakana semena v raztopini natrijevega selenata in obravnavanje 5, ki je obsegalo foliarno škropljenje sadik z raztopino natrijevega selenata. V raziskavi smo obravnavali sorti 'Anivip' in 'Monivip' do stadija oblikovanja glav. Za namakanje smo uporabili raztopino natrijevega selenata v koncentraciji 5 mg Se/L vode in notri pustili semena 30 minut. Raztopina natrijevega selenata za škropljenje, pa je bila pripravljena v koncentraciji 1 mg Se/L vode. Škropili smo dvakrat v fazi prvih štirih listov, v razmaku 14 dni. Delo se je začelo v rastlinjaku s setvijo in nadaljevalo na polju s presajanjem, vizualnim ocenjevanjem, pobiranjem glav v tehnološki zrelosti ter s kemičnimi analizami in detekcijo selena na koncu.

Vsebnost selena smo določili v 36 vzorcih radiča, ki je bil pobran v tehnološki zrelosti in je zajemal naključne najbolj zdrave in izenačene rastline, iz obravnavanj 1, 5 in 6. Vsi vzorci so bili deljeni na sorto 'Anivip' in 'Monivip' z kontrolnimi in tretiranimi rastlinami. Spremljanje vpliva selena na obe sorti se je delilo na ocenjevanje v času rasti in določanje selena v laboratoriju, na njegovo vsebnost. Ocenjevanje v času rasti nam je dalo vpogled, kako selen vpliva na prirast pridelka. Učinek selena na bujnost in zdravstveno stanje ter ostale ocenjevalne parametre se ni pokazal, niti ni bilo negativnih vplivov. Čeprav nismo dobili povečanega pridelka, kot je to znano iz literature; smo opazili majhne razlike med samima sortama, ko smo primerjali mase očiščenih glav, neočiščenih glav in korena. Sorta 'Anivip' je pokazala večjo povprečno težo od sorte 'Monivip'; kar nam pokaže sortne razlike, ki jih moramo tudi upoštevati pri dodajanju selena kulturnim rastlinam.

Pri detekciji selena po metodi HG-AFS s hidridno tehniko, smo dobili natančne rezultate o vsebnosti selena in hkrati ugotovili, da je bil v našem primeru najboljši način obogatitve, foliarno nanešen selen. Če ovrednotimo izide škropljenih in namakanih rastlin, nam povečane vrednosti pri škropljenih rastlinah pokažejo razlike, ki so statistično značilne. Vrednosti namakanih rastlin so bile tudi rahlo povečane, zato lahko zaključimo, da smo

dobili ugodne in pričakovane rezultate. Vseeno bo potrebnega še nekaj dela, da povečamo vsebnost selena v radiču do stopnje, ki bo imela ugoden vpliv na zdravje človeka, ter sočasno ne bo toksičnih učinkov tako za rastlino, kot za človeka.

Obogatene vrtnine, v našem primeru radič, lahko postanejo vir prehranskega selena, če z pravilnimi tehnikami in upoštevanjem vseh negativnih in pozitivnih dejavnikov, dosežemo tisto stanje, da se obogateni radič izkaže kot funkcionalna hrana, ki zdravi ali preprečuje bolezni, ki so povezane s pomanjkanjem selena. Obenem pa mora biti zanimiv, tako za potrošnike, kot za stroko. Ker je funkcionalna hrana v ospredju šele zadnjih nekaj let, se v svetu pojavljajo tudi dvomi o primernosti in nujnosti take hrane, predvsem s stališča živilstva. Zato je pomembno, da se poudarja prednost obogatenih živil, ker so prehranski dodatki le-teh vseeno bolj dostopni človeškemu organizmu in zdravju prijazni, kot sintetični preparati.

7 VIRI

- Batič M. 2000. Pekarski izdelki kot funkcionalna živila. *Mlinarstvo in pekarstvo*, 4: 16-22
- Cai X.-J., Block E., Uden P.C., Zhang X., Quimby B.D., Sullivan J.J. 1995. Allium Chemistry: Identification of selenoamino acids in ordinary and selenium-enriched garlic, onion and broccoli using gas chromatography with atomic emission detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 1754-1757
- Combs G.F., Combs S.B. 1986. The role of selenium in nutrition. Orlando, San Diego, New York, Academic Press: 453 str.
- Diaz-Alacron J.P., Navarro-Alacron M., Lopez-Garcia de la Serrana H., Lopez-Martinez M. C. 1996. Determination of selenium in cereals, legumes and dry fruits from southeastern Spain for calculation of daily dietary intake. *The Science of the Environment*, 184: 183-189
- Dremelj M., Byrne A.R., Smodiš B., Stegnar P. 1988. Uporabnost nevtronske aktivacijske analize pri preiskavah vzorcev hrane. V: Analizne metode v živilstvu. Bitenčevi živilski dnevi, Ljubljana, 17. in 18. november 1988. Klofutar F., Bučar F., Slanovec T., Šikovec V., Žlender B. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 23-34
- Elles M.P., Blaylock M.J., Huang J.W., Gussman C.D. 2000. Plants as a natural source of concentrated mineral nutritional supplements. *Food Chemistry*, 71: 181-188
- Ellis D.R., Salt D.E. 2003. Plants, selenium and human health. *Current Opinion in Plant Biology*, 6: 273-279
- Foster L.H., Sumar S. 1995. Methods of analysis used for the determination of selenium in milk and infant formulae: a review. *Food Chemistry*, 53: 453-466
- Foster L.H., Sumar S. 1997. Selenium in health and disease: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37(3): 211-228
- Frankenberger W.T., Engberg R.A. 1998. Environmental chemistry of selenium. Marcel Dekker, New York: 713 str.
- Germ M., Stibilj V. 2007. Selenium and plants. *Acta agriculturae Slovenica*, 89, 1: 65-71
- Germ M., Stibilj V., Osvald J., Kreft I. 2007. Effect of selenium Foliar Application on Chicory (*Cichorium intybus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 795-798
- Hu Q., Xu J., Pan G. 2001. Effect of selenium spraying on green tea quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 1387-1390

- Kabata Pendias A. 2001. Trace elements in soils and plants. 3rd ed. Boca Raton, Florida, CRC Press: 313 str.
- Kabata Pendias A., Pendias H. 1984. Trace Elements in Soils and Plants. Boca Raton, Florida, CRC Press: 313 str.
- Kadrabova J., Mandaric A., Ginter E. 1997. The selenium content of selected food from the Slovak Republic. *Food Chemistry*, 58: 29-32
- Kahakachchi C., Boayke H.T., Uden P.C., Tyson J.F. 2004. Chromatographic speciation of anionic and neutral selenium compounds in Se-accumulating *Brassica juncea* (Indian mustard) and selenized yeast. *Journal of Chromatography A*, 1054 (1): 303-312
- Kreft I. 1995. Ajda. Ljubljana, ČZD Kmečki glas: 110 str.
- Kreft I., Stibilj V., Trkov Z. 2002. Iodine and selenium contents in pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) oil and oil-cake. *European Food Research and Technology*, 215: 279-281
- Lintschinger J., Fuchs N., Moser J., Kuehnelt D., Goessler W. 2000. Selenium-enriched sprouts. A raw material for fortified cereal-based diets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 5362-5368
- Marschner H. 2002. Mineral nutrition of Higher Plants. 6th ed. Amsterdam, Boston, London, Academic Press: 887 str.
- Mazej D., Osvald J., Stibilj V. 2007. Selenium species in leaves of chicory, dandelion, lamb's lettuce and parsley. *Food Chemistry*, 107: 75-83
- Mazej D. 2002. Določanje selena in njegove porazdelitve v bioloških vzorcih z metodo hidridne tehnike atomske fluorescenčne spektrometrije. Magistrsko delo. Ljubljana, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo: 97 str.
- Mazej D., Falonga I., Veber M., Stibilj V. 2006. Determination of selenium species in plant leaves by HPLC-UV-HG-AFS. *Talanta*, 68: 558-568
- McNaughton S.A., Marks G.C. 2002. Selenium content of Australian foods: a review of literature values. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15: 169-182
- Modic M. 1998. Ugotavljanje vsebnosti in porazdelitev selena v vzorcih ajde (*Fagopyrum esculentum* Moench.). Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 164 str.
- Modic M. 2001. Žita in izdelki iz žit kot vir prehranskega selena. V: Rastlinska hrana za zdravje ljudi. Kreft I. (ur.). Ljubljana, SAZU: 27-28

- Murphy J., Cashman K.D. 2001. Selenium content of a range of Irish foods. *Food Chemistry*, 74: 493-498
- Osvald J., Kogoj-Osvald M. 1994. Pridelovanje zelenjave na vrtu. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 241 str.
- Osvald M., 2005. Kontrolirano povečanje vsebnosti selena v zrnju izbranih sort fižola (*Phaseolus vulgaris* L.). Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 117 str.
- Pyrzynska K. 1996. Speciation analysis of some organic selenium compounds. *Analyst – Letchworth*, 121: 77-83
- Poggi V., Arcioni A., Filippini P., Pifferi P.G. 2000. Foliar application of selenite and selenate to potato (*Solanum tuberosum*): effect of ligand agent on selenium content of tubers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 10: 4749-4751
- RDA. Recommended dietary allowances. 1989. 10 th ed. Washington, D.C., National Academic Press: 217-224
- Reilly C. 1996. Selenium in food and health. London, Weinheim, New York, Blackie Academic & Professional: 323 str.
- Schrauzer G.N. 1998. Selen-Neue Entwicklungen aus Biologie, Biochemie and Medizin. Heidelberg, Leipzig, Johann Ambrosius Barth Verlag: 231 str.
- Smrkolj P. 2003. Ugotavljanje selena in njegove porazdelitve v izbranih živilih z metodo hidridne tehnike atomske fluorescenčne spektrometrije. Magistrsko delo. Ljubljana, oddelek za živilstvo: 98 str.
- Smrkolj P., Kogoj-Osvald M., Osvald J., Stibilj V. 2006. Selenium uptake and species distribution in selenium-enriched bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds obtained by two different cultivations. *European Food Research and Technology*, 225: 233-237.
- Stadlober M., Sager M., Irgolic K.J. 2001. Effects of selenate supplemented fertilisation on the selenium level of cereals – identification and quantification of selenium compounds by HPLC-IPC-MS. *Food Chemistry*, 73: 357-366
- Statistični letopis Republike Slovenije 2005. Ljubljana, Statistični urad Republike Slovenije: 611 str.
- Stekar M. 1975. Vpliv vsebnosti selena v krmi na prirast in vsebnost selena v tkivih piščancev pitancev. Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, kmetijstvo, 25: 171-180
- Stekar J., Muck O. 1971. Količina selena v žitnem zrnju. Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, 18: 13-17

Terry N., Zayed A., De Souza M. P., Tarun A.S. 2000. Selenium in higher plants. Annual Review on Plant Physiology and Molecular Biology, 51: 401-432

Trace elements in human nutrition and health. 1996. Geneva, WHO: 361 str.

Turakainen M., Hartikainen H., Seppänen M. M. 2004. Effect of selenium treatments on potato (*Solanum tuberosum*) growth and concentrations of soluble sugars and starch. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 25: 5378-5382

Ullrey D.E. 1983. Selenium in nutrition. Washington, D.C., National Academy Press: 119 str.

Windisch W. 2002. Interaction of chemical species with biological regulation of the metabolism of the essential trace elements. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 372: 421-425

Zayed A., Lytle C.M., Terry N. 1998. Accumulation and volatilization of different chemical species of selenium by plants. Planta, 206 (2): 284-292

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

ZAHVALA

Najlepše se zahvaljujem mentorju, prof. dr. Jožetu Osvaldu, za strokovne nasvete in pomoč pri teoretičnem in praktičnem delu diplomske naloge. Lepo se zahvaljujem tudi dr. Vekoslavi Stibilj, ki mi je pomagala pri laboratorijskem delu in dajala strokovne nasvete glede kemičnih analiz na Inštitutu Jožef Stefan.

Zahvala velja tudi ostalim zaposlenim na Katedri za vrtnarstvo in zelenjadarstvo, posebno gospodu Draganu Žnidarčiču in gospodu Mateju Jeraši zaradi pomoči pri praktičnem delu in tehnični pomoči ter z njihovimi prijaznimi nasveti.

Posebno zahvalo pa namenjam svojim staršem in dekletu Kristini, ki so mi ves čas študija in opravljanja diplomskega dela stali ob strani.

PRILOGA A

Vizualno ocenjevanje radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' po parametrih: višina listov (cm), širina listov (cm), število listov, zdravstveno stanje in bujnost v treh časovnih terminih.

Priloga A1 - datum ocenjevanja 23. 8. 2004

obravnava	ponovitev	listi	listi	število	zdravst.	bujnost
-	-	višina cm.	širina cm.	listov	stanje (1-5)	(1-5)
1/A	I	26	17	12	3	5
1/M	I	23	19	8	4	4
2/A	I	21	17	11	5	3,4
2/M	I	30	11	10	3	3,4
3/A	I	28	13	10	4	4
3/M	I	26	15	7	5	3
4/A	I	26	10	8	3	3
4/M	I	26	14	8	4	3
5/A	I	26	14	9	3	3
5/M	I	29	13	10	4	4
6/A	I	26	14	8	4	3
6/M	I	25	15	8	3	3
2/A	II	25	10	7	4	3
2/M	II	27	9	8	4	3
5/A	II	30	12	8	4	5
5/M	II	29	11	9	5	4
3/A	II	32	14	9	4	4
3/M	II	29	10	9	4	4
6/A	II	29	10	8	3	3,4
6/M	II	25	13	10	3	3
1/A	II	31	15	8	3	5
1/M	II	25	13	8	3	3
4/A	II	32	9	7	5	4
4/M	II	29	12	8	4	4,3
5/A	III	25	13	6	4	3
5/M	III	25	11	8	4	4
2/A	III	26	12	7	4	4
2/M	III	24	13	6	3	4
4/A	III	20	12	7	3	3
4/M	III	24	12	7	5	5
3/A	III	26	10	6	4	4
3/M	III	27	10	12	5	4
6/A	III	27	10	7	3	3
6/M	III	28	11	8	3	4
1/A	III	27	13	9	5	5
1/M	III	27	10	10	5	5

Priloga A2

Datum ocenjevanja radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' po parametrih: višina listov (cm), širina listov (cm), število listov, zdravstveno stanje in bujnost dne 3. 9. 2004.

obravnava	ponovitev	listi	listi	število	zdravst.	bujnost
-		višina cm.	širina cm.	listov	stanje (1-5)	(1-5)
1/A	I	32	18	5	5	5
1/M	I	33	20	10	4	4
2/A	I	30	20	12	5	4
2/M	I	29	15	10	5	5
3/A	I	34	17	11	5	5
3/M	I	39	18	12	5	3
4/A	I	32	19	10	4	4
4/M	I	36	20	12	5	5
5/A	I	30	16	10	3	4
5/M	I	40	14	11	5	4
6/A	I	40	16	10	3	4
6/M	I	33	24	10	3	3
2/A	II	32	11	10	3	3
2/M	II	35	12	10	3	4
5/A	II	32	14	12	4	5
5/M	II	36	13	12	3	4
3/A	II	36	14	11	4	4
3/M	II	31	12	10	3	4
6/A	II	36	12	11	4	4
6/M	II	32	12	15	4	4
1/A	II	36	15	14	4	5
1/M	II	27	15	8	4	3
4/A	II	32	16	11	4	5
4/M	II	35	15	13	4	5
5/A	III	32	13	10	4	5
5/M	III	29	15	12	5	5
2/A	III	29	14	12	3	3
2/M	III	22	12	10	2	3
4/A	III	23	17	11	3	3
4/M	III	31	13	15	3	4
3/A	III	30	12	10	3	3
3/M	III	36	17	15	3	4
6/A	III	29	10	10	3	3
6/M	III	39	11	13	3	4
1/A	III	33	13	13	4	5
1/M	III	33	12	15	5	5

Priloga A3

Datum ocenjevanja radiča sort 'Anivip' in 'Monivip' po parametrih: višina listov (cm), širina listov (cm), število listov, zdravstveno stanje in bujnost dne 14. 9. 2004.

obravnava	ponovitev	listi	listi	število	zdravst.	bujnost
-		višina cm.	širina cm.	listov	stanje (1-5)	(1-5)
1/A	I	41	20	18	5	5
1/M	I	39	15	11	4	5
2/A	I	29	22	11	5	4
2/M	I	32	16	12	4	4
3/A	I	52	14	15	5	5
3/M	I	40	20	15	5	4
4/A	I	37	17	20	4	5
4/M	I	44	24	12	5	3
5/A	I	36	19	14	3	3
5/M	I	43	17	16	5	4
6/A	I	41	20	15	4	4
6/M	I	36	16	14	5	4
2/A	II	35	13	18	4	3
2/M	II	37	19	12	4	4
5/A	II	37	14	20	4	4
5/M	II	38	16	15	3	4
3/A	II	37	15	16	4	4
3/M	II	42	13	15	4	3
6/A	II	36	15	16	3	4
6/M	II	38	14	16	4	4
1/A	II	48	14	15	3	4
1/M	II	31	20	14	3	3
4/A	II	32	22	12	4	4
4/M	II	35	15	14	4	4
5/A	III	30	20	14	4	4
5/M	III	36	16	15	5	5
2/A	III	20	13	15	3	3
2/M	III	26	13	15	3	3
4/A	III	22	12	15	4	3
4/M	III	33	10	17	3	4
3/A	III	28	13	16	3	3
3/M	III	32	10	20	3	4
6/A	III	32	13	15	3	3
6/M	III	33	13	15	3	4
1/A	III	38	15	15	4	5
1/M	III	39	14	16	5	5

Legenda: A - 'Anivip', M - 'Monivip', I - prva ponovitev, II - druga ponovitev, III - tretja ponovitev, obravnavanja 1, 2 in 3 vključujejo namakanje v Se raztopini, obravnavanja 4 in 5 vključujejo škropljenje s Se raztopino, obravnavanje 6 je kontrola, (1-5) – lestvica ocene od najslabše (1) do najboljše (5).

PRILOGA B

Preglednica mas (g) neočiščenih glav, očiščenih glav, zunanjih listov, srčnih listov in korena po spraviu.

oznaka vzorca	masa cele rastline(g)	masa glave(g)	masa zun. listov, ki oklepajo glavo(g)	masa srčnih listov(g)	masa korena(g)	
A	1/I A 1	241	194	47	115	76,9
	1/II A 2	411	305	164	145	50
	1/IIIA 3	217	141	74	90	28,5
A	1/I M 1	299	225	73	173	24
	1/I M 2	79	57	33	27	48,75
	1/I M 3	331	245	75	188	53,47
A	5/I A 1	275	194	80	114	56,3
	5/II A 2	309	207	105	85	53,64
	5/IIIA 3	257	177	78	109	35,16
A	5/I M 1	63	33	27	12	39,8
	5/I M 2	370	230	132	98	57,34
	5/I M 3	126	71	52	24	182,74
A	6/I A 1	379	232	137	131	29,44
	6/I A 2	180	129	50	85	98,07
	6/I A 3	240	109	129	50	99,52
A	6/I M 1	182	97	83	44	48,05
	6/I M 2	282	181	99	111	75,84
	6/I M 3	140	62	76	24	21,41
B	5/II A 1	206	125	74	69	84,15
	5/II A 2	145	100	44	61	37
	5/II A 3	154	100	53	52	41,57
B	5/II M 1	100	63	39	45	40,6
	5/II M 2	389	178	214	59	43,8
	5/III M 3	114	59	54	91	141,7
B	6/II A 1	171	85	85	37	51,77
	6/II A 2	170	106	62	41	28,44
	6/II A 3	196	130	64	49	57,21
B	6/II M 1	69	38	31	23	72,6
	6/II M 2	56	40	16	22	42,72
	6/II M 3	275	189	86	97	53,5
B	1/II A 1	385	263	122	199	35,23
	1/II A 2	120	93	26	64	32,9
	1/II A 3	177	119	58	81	63,84
B	1/II M 1	186	120	61	74	61,65
	1/II M 2	153	121	32	91	27,44
	1/II M 3	256	140	117	97	41,5

Legenda: A - 'Anivip', M - 'Monivip', I - prva ponovitev, II - druga ponovitev, III - tretja ponovitev, 5 (foliarno škropljenje), 1 (namakano seme), 6 (kontrola) so obravnavanja.

PRILOGA C

Preglednica proučevanih variant (1, 5 in 6) z vsebnostjo selena – obdobje januar 2005.

lab. ozn. na JS	oznaka vzorca na BF	masa rastline v vrečki-NETO (vrečka že odšteta)	suha masa korena	Procent suhe snovi	povp. konc. selena v ng Se/g ss snovi	povp. konc. selena v ng Se/g sv. snovi
	lokacija					
1	1/I A 1	Z 115,62	3,71	14,15	28,9	4,1
2	A 1/II A 2	S 104	9	11,18	22,2	2,5
3	1/IIIA 3	N 153,65	7,05	9,6	17,3	1,7
4	1/I M 1	Z 93,39	8,15	11,66	28,7	3,3
5	A 1/I M 2	S 83,80	6,8	7,43	17,3	1,3
6	1/I M 3	N 160,67	11,83	8,35	12,8	1,1
31	1/II A 1	N 144,65	5,65	9,81	14,2	1,4
32	B 1/II A 2	S 73	4,25	11,93	17,7	2,1
33	1/II A 3	Z 92,74	12,7	15,73	34,4	5,4
34	1/II M 1	Z 62,75	2,9	13,13	26,3	3,5
35	B 1/II M 2	S 59,43	2,75	10,14	19,2	1,9
36	1/II M 3	N 104,61	8,18	9	16,3	1,5
7	5/I A 1	Z 97,10	6	15,64	53,6	8,4
8	A 5/I A 2	S 104,80	10	11,84	52,2	6,2
9	5/IIIA 3	N 125,68	11,56	10,05	59,0	5,9
10	5/I M 1	Z 80,22	6,54	11,08	54,7	6,1
11	A 5/I M 2	S 77,22	10,16	9,62	58,6	5,6
12	5/I M 3	N 69,72	40,81	9,1	47,8	4,3
19	5/II A 1	Z 86,98	15,8	10,85	35,1	3,8
20	B 5/II A 2	S 71,45	5,35	8,59	41,2	3,5
21	5/II A 3	N 89,62	8,55	9,49	34,6	3,3
22	5/II M 1	N 74	6,1	9,55	22,0	2,1
23	B 5/II M 2	S 64,26	16,9	9,01	33,5	3,0
24	5/III M 3	Z 84,90	32	11,26	42,7	4,8
25	6/II A 1	Z 86,71	10,34	13,71	31,3	4,3
26	B 6/II A 2	S 87,40	4,05	9,46	18,6	1,8
27	6/II A 3	N 74,60	10,85	9,85	15,5	1,5
28	6/II M 1	Z 84,67	13,85	12,07	35,4	4,2
29	B 6/II M 2	S 80,42	8	9,81	32,7	3,2
30	6/II M 3	N 99,47	9,16	7,4	19,1	1,4
13	6/I A 1	Z 89,10	4,35	14,53	34,5	5,0
14	A 6/I A 2	S 93,35	21,75	10,33	27,1	2,8
15	6/I A 3	N 98,40	6,94	8,95	17,1	1,5
16	6/I M 1	Z 113,38	9,85	11,68	21,2	2,5
17	A 6/I M 2	S 70,82	15,5	8,47	18,7	1,6
18	6/I M 3	N 60,60	2,85	7,22	14,4	1,0

Legenda: 1 - namakano seme v Se razt., 5 – 2x škropljene sadike s Se razt., 6 – kontrola.