

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Tjaša RADEŠČEK

**VPLIV SELENA NA RAST IN FIZIOLOŠKO AKTIVNOST PRI DVEH
GENOTIPIH ZELJA
(*Brassica oleracea*)**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**THE EFFECT OF SELENIUM ON GROWTH AND PHYSIOLOGICAL
ACTIVITY OF TWO GENOTYPES OF CABBAGE
(*Brassica oleracea*)**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2011

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija biologije. Opravljeno je bilo na Oddelku za biologijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani (biokemijske in rastne analize) in na Oddelku za agronomijo Univerze v Ljubljani na poskusnih poljih (fiziološke meritve), kjer je bil poskus postavljen.

Študijska komisija Oddelka za biologijo je potrdila temo in naslov diplomskega dela ter za mentorico imenovala doc. dr. Matejo Germ.

Mentorica: doc. dr. Mateja Germ

Komisija za oceno in zagovor:

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

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

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

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

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

Tjaša RADEŠČEK

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Dn
DK 581.18:581.5:633(043.2)=163.6
KG zeleno in rdeče zelje (*Brassica oleracea*), selen, fiziologija, rast
AV RADEŠČEK, Tjaša
SA GERM, Mateja, ment.
KZ 1000 Ljubljana, SLO, Večna pot 111
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo
LI 2011
IN VPLIV SELENA NA RAST IN FIZIOLOŠKO AKTIVNOST PRI DVEH
GENOTIPIH ZELJA (*Brassica oleracea*)
TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP X, 48 str., 4 tabele, 18 sl., 64 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI V diplomskem delu smo ugotavljali vpliv selena na rast in fiziološko aktivnost pri dveh genotipih zelja: zelenem in rdečem zelju (*Brassica oleracea*). Obema genotipoma zelja smo dodali selen v nizki in visoki koncentraciji. Med rastjo smo spremljali vsebnost fotosinteznih barvil, aktivnost elektronskega transportnega sistema (ETS), neto fotosintezo, transpiracijo in fotokemično učinkovitost fotosistema II. Na koncu smo naredili tudi rastno analizo (morfologija in biomasa rastlin). Selen v večini ni vplival na vsebnost klorofilov *a* in *b* ter antocianov. Pri zelenem zelju je bila vsebnost klorofila *b* manjša pri nizki koncentraciji dodanega selenja, vsebnost antocianov pa manjša pri visoki koncentraciji selenja v primerjavi s kontrolo. Selen ni vplival na aktivnost ETS. Ravno tako ni imel vpliva na fotosintezno aktivnost. Pri zelenem zelju se je fotosintezna aktivnost statistično značilno zmanjšala po drugi meritvi pri vseh obravnavanjih. Pri rdečem zelju se je po drugi meritvi zmanjšala samo pri kontrolnih rastlinah. Potencialna fotokemična učinkovitost PS II je ostala nespremenjena pri vseh obravnavanjih. Selen prav tako ni vplival na dejansko fotokemično učinkovitost PS II, ki je bila statistično višja po drugi meritvi pri večini obravnavanj pri obeh genotipih zelja. Transpiracija je bila značilno nižja od kontrolnih rastlin samo pri zelenem zelju pri rastlinah, ki so bile gnojene z visoko koncentracijo selenja. Tako pri zelenem kot pri rdečem zelju pa se je transpiracija močno znižala po drugi meritvi pri vseh obravnavanjih. V večini primerov selen ni vplival na rast in biomaso zelenega in rdečega zelja.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Dn
DC 581.18:581.5:633(043.2)=163.6
CX white and red cabbage (*Brassica oleracea*), selenium, physiology, growth
AU RADEŠČEK, Tjaša
AA GERM, Mateja, supervisor
PP 1000 Ljubljana, SLO, Večna pot 111
PB University of Ljubljana, Biotechnical faculty, Department of Biology
PY 2011
TI THE EFFECT OF SELENIUM ON GROWTH AND PHYSIOLOGICAL ACTIVITY OF TWO GENOTYPES OF CABBAGE (*Brassica oleracea*)
DT Graduation Thesis (University studies)
NO X, 48 p., 4 tab., 18 fig., 64 ref.
LA sl
AL sl/en
AB The effects of selenium on growth and physiological activity were studied in two genotypes of cabbage: white and red cabbage (*Brassica oleracea*). Selenium was added to both genotypes in low and high concentrations. During the growth we examined the following parameters: amount of photosynthetic pigments, electron transport system (ETS) activity, photosynthesis, transpiration and photochemical efficiency of photosystem II (PS II). At the end of the experiment morphological parameters were estimated. Selenium did not affect the amount of chlorophyll *a* and *b* and antocianins in the majority of cases. Lower content of chlorophyll *b* was found in white cabbage plants, treated with low concentration of selenium in comparison to the control. Antocianins content was lower in white cabbage plants, treated with high concentration of selenium in comparison to the control. Selenium did not affect ETS activity and photosynthesis. Photosynthesis was much lower at the second measurement in comparison to the first measurement on white cabbage plants regardless the treatment. Potential photochemical efficiency of photosystem II was not affected by the addition of selenium. Selenium also did not affect the effective photochemical efficiency of photosystem II. It was higher at the second measurement on both genotypes of cabbage. Transpiration was significantly lower on white cabbage plants treated with high concentrations of selenium in comparison to the control plants. Transpiration was also lower at the second measurement on both genotypes of cabbage. There was no difference between control plants and selenium treated plants on growth and biomass in both genotypes of cabbage.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO TABEL	IX
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	X
1 UVOD	1
1.1 Poskusni rastline.....	2
1.2 Namen in hipoteze.....	3
2 PREGLED OBJAV	5
2.1 Selen in višje rastline	5
2.2 Esencialnost selena v prehrani ljudi in živali	5
2.3 Učinek selena na rastline	6
2.4 Toksičnost selena na ravni ekosistema.....	7
2.5 Pomen antocianov za rastline in ljudi.....	7
3 MATERIAL IN METODE DELA	8
3.1 IZVEDBA POSKUSA	8
3.2 BIOKEMIJSKE MERITVE	11
3.2.1 Fotosintezna barvila	11
3.3 FIZIOLOŠKE MERITVE	13
3.3.1 Aktivnost elektronskega transportnega sistema (ETS).....	13
3.4 EKOFIZIOLOŠKE MERITVE	13
3.4.1 Neto fotosinteza.....	13
3.4.2 Transpiracija.....	14
3.4.3 Fotokemična učinkovitost	14
3.5 RASTNA ANALIZA	14
3.5.1 Morfologija.....	14
3.5.2 Biomasa	14
3.6 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV	15

4 REZULTATI.....	16
4.1 VSEBNOSTI FOTOSINTEZNIH BARVIL	16
4.1.1 Vsebnost klorofila <i>a</i> na enoto suhe mase	16
4.1.2 Vsebnost klorofila <i>b</i> na enoto suhe mase	17
4.1.3 Vsebnost klorofila <i>a</i> na enoto površine lista.....	18
4.1.4 Vsebnost klorofila <i>b</i> na enoto površine lista.....	19
4.1.5 Vsebnost antocianov na površino lista.....	20
4.1.6 Vsebnost antocianov na suho maso lista.....	21
4.2 AKTIVNOST ELEKTRONSKEGA TRANSPORTNEGA SISTEMA (ETS)	22
4.3 FOTOSINTEZNA AKTIVNOST	23
4.3.1 Neto fotosinteza na površino enote lista	23
4.3.2 Neto fotosinteza na suho maso lista	24
4.4 FOTOKEMIČNA UČINKOVITOST FOTOSISTEMA II	25
4.4.1 Potencialna fotokemična učinkovitost fotosistema II.....	25
4.4.2 Dejanska fotokemična učinkovitost fotosistema II.....	26
4.5 TRANSPIRACIJA	27
4.6 RASTNA ANALIZA IN KONČNA BIOMASA.....	28
4.6.1 Dolžina glave	28
4.6.2 Dolžina steba	29
4.6.3 Suha masa listov	30
4.6.4 Suha masa steba.....	31
4.6.5 Suha masa korenin	32
4.7 UČINKI SELENA	33
5 RAZPRAVA.....	35
5.1 VSEBNOSTI FOTOSINTEZNIH BARVIL	35
5.2 AKTIVNOST ELEKTRONSKEGA TRANSPORTNEGA SISTEMA	35
5.3 FOTOSINTEZNA AKTIVNOST	36
5.4 FOTOKEMIČNA UČINKOVITOST FOTOSISTEMA II	36
5.5 TRANSPIRACIJA	37
5.6 RASTNA ANALIZA IN KONČNA BIOMASA.....	37
5.7 RAZLIKE MED GENOTIPOMA ZELJA	38
5.8 ANALIZA SELENA	38

6 SKLEPI	39
7 POVZETEK.....	41
8 VIRI	43

KAZALO SLIK

Slika 1. Poskusno polje.....	9
Slika 2. Vpliv selena na vsebnost klorofila <i>a</i> na enoto suhe mase pri zelenem in rdečem zelju.	16
Slika 3. Vpliv selena na vsebnost klorofila <i>b</i> na enoto suhe mase pri zelenem in rdečem zelju.. ..	17
Slika 4. Vpliv selena na vsebnost klorofila <i>a</i> na enoto površine pri zelenem in rdečem zelju.. ..	18
Slika 5. Vpliv selena na vsebnost klorofila <i>b</i> na enoto površine pri zelenem in rdečem zelju.. ..	19
Slika 6. Vpliv selena na vsebnost antocianov na enoto površine pri zelenem in rdečem zelju.. ..	20
Slika 7. Vpliv selena na vsebnost antocianov na enoto suhe mase pri zelenem in rdečem zelju.. ..	21
Slika 8. Vpliv selena na aktivnost ETS pri zelenem in rdečem zelju.....	22
Slika 9. Vpliv selena na fotosintezno aktivnost na enoto površine pri zelenem in rdečem zelju.. ..	23
Slika 10. Vpliv selena na fotosintezno aktivnost na enoto suhe mase pri zelenem in rdečem zelju.. ..	24
Slika 11. Vpliv selena na potencialno fotokemično učinkovitost pri zelenem in rdečem zelju.. ..	25
Slika 12. Vpliv selena na dejansko fotokemično učinkovitost pri zelenem in rdečem zelju.. ..	26
Slika 13. Vpliv selena na transpiracijo pri zelenem in rdečem zelju.....	27
Slika 14. Vpliv selena na dolžino glave pri zelenem in rdečem zelju.. ..	28
Slika 15. Vpliv selena na dolžino stebla pri zelenem in rdečem zelju.. ..	29
Slika 16. Vpliv selena na suho maso listov pri zelenem in rdečem zelju.....	30
Slika 17. Vpliv selena na suho maso stebla pri zelenem in rdečem zelju.. ..	31
Slika 18. Vpliv selena na suho maso korenin pri zelenem in rdečem zelju.. ..	32

KAZALO TABEL

Tabela 1. Parcele, obravnavanja in zaporedne številke rastlin pri zelenem in rdečem zelju	9
Tabela 2. Dnevnik zalivanja s selenom in meritev na zelenem in rdečem zelju	10
Tabela 3. Statistično značilni vplivi selena na določene parametre pri zelenem zelju (↑ (povišanje), ↓ (zmanjšanje), = (ni razlike)).	33
Tabela 4. Statistično značilni vplivi selena na določene parametre pri rdečem zelju (↑ (povišanje), ↓ (zmanjšanje), = (ni razlike)).	34

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

CO ₂	ogljikov dioksid
ETS	elektronski transportni sistem
F ₀	minimalna fluorescenza klorofila <i>a</i> v PS II temotno adaptiranega lista
F _m	maksimalna fluorescenza klorofila <i>a</i> v PS II temotno adaptiranega lista
F _{ms}	maksimalna fluorescenza klorofila <i>a</i> v PS II svetlobno adaptiranega lista
F _s	minimalna fluorescenza klorofila <i>a</i> v PS II svetlobno adaptiranega lista
F _v	variabilna fluorescenza temotno adaptiranega lista ($F_v = F_m - F_0$)
Se	selen
Se0	obravnavano samo z vodo
Se1	nizka koncentracija selen
Se2	visoka koncentracija selen
HCl	klorovodikova kislina
NADH	nikotinamid adenin dinukleotid
NADPH	nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
PS II	fotosistem II
sm	suha masa

1 UVOD

Kot esencialen mikroelement in biološki antioksidant ima selen v našem organizmu izredno pomembno vlogo. Pomaga vzdrževati elastičnost tkiva, sodeluje pri izgradnji številnih hormonov, ima pozitivno vlogo pri odpravljanju in preprečevanju prhljaja ter povečuje število semenčic v semenski tekočini. Kot močan antioksidant selen krepi odpornost organizma in deluje vzajemno z vitaminom E.

Veliko selena vsebujejo predvsem živila z veliko vsebnostjo beljakovin, predvsem drogovina, meso mišičnine in jajca, veliko ga je tudi v morskih sadežih, precej manj ga je v mleku in mlečnih izdelkih ter sadju, zelenjadi in žitu (Smrkolj in sod., 2005). Vendar je vsebnost selena v naravnih virih močno variabilna, odvisna predvsem od vsebnosti in razpoložljivosti selena v tleh, na katerih so rastline za živila pridelana. Veliko rastlinam dostopnega selena vsebujejo predvsem nekatera področja v ZDA, Kanadi, osrednji Aziji in Avstraliji. V Evropi je rastlinam dostopnega selena veliko manj. Če torej rastline rastejo na zemlji, v kateri je selena malo, zgolj z uživanjem le-teh ne bomo zaužili potrebnih količin selena. Zato je selen danes mogoče dobiti tudi v obliki različnih prehranskih dopolnil. Slovenija je država z nizko vsebnostjo selena v zemlji (Pirc in Šajn, 1997).

Selen je esencialen nutrient za ljudi in živali (Tapiero in sod., 2003), hkrati pa je lahko tudi okoljski toksikant; meja med obema vlogama je zelo ozka in je odvisna od kemijske oblike selena, njegove koncentracije in od drugih vplivov okolja, ki se jih ne da predvidevati (Germ in sod., 2007). Selen je pomemben v metabolizmu cianobakterij in nekaterih drugih rastlin, saj je vključen v njihove antioksidativne procese (Germ in sod., 2007).

Selen je izjemno pomembna sestavina številnih telesnih beljakovin in encimov. Leta 1973 so odkrili vezavo Se v selenobeljakovino, in sicer v encim glutation-peroksidaza (Rotruck in sod., 1973). Selenoaminokislina selenocistein se uvršča med esencialne aminokisline. Glutation-peroksidaza (GPx) je encim, ki ščiti naše celice pred poškodbami prostih radikalov, velik pomen pa naj bi imel predvsem pri zaščiti celic pred škodljivimi učinki ultravijoličnih žarkov. Pomanjkanje selena lahko za naš organizem predstavlja precejšen problem, predvsem zato, ker se zmanjša aktivnost GPx, kar lahko povzroči številne zdravstvene težave, kot so na primer bolezni srca in ožilja ali razvoj astmatičnih obolenj.

Esencialnost selena pri rastlinah še ni dokazana, lahko pa ima pozitiven učinek na njihovo rast in obrambo pred stresom, kot je UV-sevanje in pomanjkanje vode – suša. Vsebnost Se v rastlinah je odvisna od same koncentracije le-tega v tleh in od sposobnosti rastlin za njegov privzem.

1.1 Poskusni rastlini

Vpliv selena smo proučevali pri zelenem (kultivar: parel F₁) in rdečem (kultivar: erfurdsko rdeče zelje) zelju (*Brassica oleracea*).

V večini evropskih držav je zelje pomembna kapusnica. Pri nas je pridelovanje zelja izredno pomembno, saj smo v preteklosti zelju namenili okoli 3000 ha zemljišč za glavni posevek in približno 1000 ha za poznejši posevek. Ta zemljišča so pomenila eno tretjino vseh površin, namenjenih pridelovanju vrtnin.

Hibrid Parel F₁ je bil vpisan v sortno listo leta 1996. V 60 dneh po presajanju na razdaljo 40 x 40 cm razvije do 1,5 kg težke okrogle glave, pri katerih vehe rastejo pokončno.

Erfurtsko zgodnjje ima sinonim Topas, v sortno listo je bilo vpisano leta 1989. Je zelo stara sorte. Naredi majhne temnordeče glave in so jo že takrat priporočali kot primerno za vrtičke in presajanje na manjše razdalje. Okroglo zbito glavo naredi v 80 do 90 dneh (Černe, 1998).

Opis kapusnic

Kapusnice so eno- ali dvoletne rastline, pri katerih uporabljamо vegetativne dele rastlin, to so glava, roža, brsti, gomolj in listi. Ob kalitvi se tvori nekaj centimetrov velik hipokotil, dva klična lista ali kotiledona in glavna korenina s stranskimi koreninicami. Pri zelju ostane kocen krajši, tanjši, na njem se razvije glava.

Korenine kapusnic prodro globoko v zemljo, nekatere tudi 1,5 do 2 m. Večina korenin se razvije do globine 30 ali 40 cm samo neposredno ob rastlini; potem ko zelje zasenči zemljo, zrastejo tudi drobne koreninice do 5 cm globoko.

Steblo se razvije iz kalčkovega rastnega stožca. Mlado steblo kapusnic je gladko, pozneje postane brazgotinasto, ker dozoreli listi postopoma odpadejo. Steblo od korenin do listov imenujemo kocen. Kocen razvijejo kolerabica, cvetača, zelje, ohrov, brokoli. Podaljšek kocena, to je steba, ki pri zelju sega v glavo, imenujemo vreteno.

Kapusnice razvijejo zelo različne liste. Pri zelju je prvi pravi list nepravilno narezan. Po prvem pravem listu že 10 dni po vzniku lahko ločimo posamezne kapusnice. Listi kapusnic vrste *Brassica oleracea* so svetleči, ker so prekriti z voščeno prevleko. Ta je odvisna od rastnih razmer, ob suši je več voščene prevleke kot ob obilnem namakanju. Tudi različne sorte imajo različno močno voščeno prevleko. Pri zelju so listi gladki in lopatasti. Pri rdečem zelju listi vsebujejo več ali manj antociana, zato so rdeče do vijolično obarvani. Tudi nekatere avtohtone populacije zelja imajo listno ploskev ob robovih rdeče obarvano. Zunanje liste zelja in ohrovta imenujemo vehe, notranji sedeči listi pa se zvijajo v glavo. V glavi so listi lepo zloženi drug nad drugim ali pa so zviti, kar pri ribanju povzroča, da je rezina krajša in kislo zelje ni lepega videza (Černe, 1998).

Uporabnost zelja

Zelje (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) je ena izmed najbolj pomembnih vrst zelenjave in je razširjeno po vsem svetu. Spada v družino križnic, ki vključuje brstični ohrov, brokoli, cvetačo in zeleni ohrov (Singh in sod., 2006). Za križnice je znano, da vsebujejo visoke koncentracije sulforaphana (Zhang in sod., 1992). Predno so začeli gledati na zelje kot na vir hrane, so ga uporabljali v medicinske namene za zdravljenje glavobolov, udnice, diareje in želodčnega čira (Cheney, 1950). Veliko raziskav se je osredotočilo na koristne fitokemikalije v zelju, predvsem na indol-3-karbinol (I3C), sulforaphane in indole. Te komponente pomagajo aktivirati in stabilizirati antioksidante v telesu in detoksifikacijske mehanizme, ki odstranijo in izločijo substance, ki povzročajo raka (Brooks in sod., 2001). Dve študiji (Cohen in sod., 2000; Kolonel in sod., 2000) sta pokazali, da obstaja povezava med zmanjšanjem tveganja za raka na prostati in uživanjem večjih količin zelenjave iz družine križnic.

Epidemološki zapisi in študije in vitro navajajo, da ima zelenjava, ki ima antioksidativne fitokemikalije (askorbinska kislina, alfa-tokoferol in beta-karoten (Prior in Cao, 2000)), zaštitne učinke proti glavnim degenerativnim boleznim, skupaj z rakom in kardiovaskularnimi boleznimi (Block in sod., 1992). Kot antioksidanti imajo askorbinska kislina, tokoferoli in karoteni sposobnost, da preprečijo in zdravijo maligne bolezni (Byers in Perry, 1992). Veliko število raziskav je pokazalo, da je glavni izvor antioksidativne vloge takšne zelenjave vsebnost fenolnih komponent, kot so flavonoidi, izoflavon, flavoni, antociani, katehin in izokatehin (Wang in sod., 1996). Epidemološke študije so pokazale, da uživanje hrane, bogate s fenolnimi snovmi, lahko reducira tveganost pri bolezni srca (Kinsella in sod., 1993). Maksimalna vrednost vitamina C, alfa-tokoferola in fenolnih snovi je bila izmerjena pri rdečem zelju (Singh in sod., 2006). Maksimum luteina pa je bil izmerjen pri belem/zelenem zelju (Singh in sod., 2006).

1.2 Namen in hipoteze

Za poskusno rastlino smo si izbrali zelje in sicer: zeleno in rdeče (*Brassica oleracea*). Zelje smo izbrali zato, ker se ga veliko uporablja za prehrano skozi celo leto. Na njem so bile narejene tudi že določene raziskave, na primer vpliv dejavnikov na vsebnost antocianov v rdečem zelju (Piccaglia in sod., 2002) in antioksidativne fitokemikalije v zelenem zelju (Singh in sod., 2006).

Namen diplomske naloge je bil ugotoviti, kako selen vpliva na rast zelja in na njegove fiziološke procese. V ta namen smo dvakrat izmerili potencialno in dejansko fotokemično učinkovitost fotosistema II, vsebnost fotosinteznih barvil, neto fotosinteze in transpiracijo. Ob koncu rastne sezone pa smo opravili tudi meritev aktivnosti elektronskega transportnega sistema (ETS). Na koncu poskusa pa smo opravili še rastno analizo (dolžina glave, dolžina steba ter suho maso listov, korenin in steba).

Hipoteze

Se v nizkih koncentracijah ne bo imel vpliva na fiziološke in biokemijske značilnosti zelja, medtem ko se bo pri visoki koncentraciji Se ta vpliv pokazal. Odzivi dveh različnih genotipov zelja bodo različni.

2 PREGLED OBJAV

2.1 Selen in višje rastline

Selen je pomemben anitoksidant pri človeku in verjetno ima vlogo tudi pri antioksidativnih mehanizmih v rastlinah (Ekelund in Danilov, 2001). Selen, dodan v primerni koncentraciji (0.1 mg kg^{-1}), lahko zavre senescenco in pospeši rast starajoče se sadike pri zeleni solati (*Lactuca sativa*) (Xue in sod., 2001). Večje koncentracije so toksične in lahko inducirajo pro-oksidativno reakcijo. Nekatere rastlinske vrste, na primer *Morinda reticulata* in *Neptunia amplexicaulis*, ki rastejo v prsti, ki vsebuje selen, so tolerantne na selen in akumulirajo visoke koncentracije selena (akumulatorji selena). Večina rastlin pa selena ne akumulira (vsebuje manj kot 25 mg Se kg^{-1} suhe snovi) in je nanj občutljiva (Terry in sod., 2000; Ellis in Salt, 2003; Tinggi, 2003). Kopenske rastline lahko privzamejo selen iz zemlje (Kahakachchi in sod., 2004). Makrofiti lahko asimilirajo selen, ki je prisoten v vodi, ki priteka iz kmetijskih površin (Lin in sod., 2002). Na področjih kislega dežja je razpoložljivost selena za rastline nižja zaradi nizkega pH v zemlji in vodi (Gerhardsson in sod., 1994).

2.2 Esencialnost selena v prehrani ljudi in živali

Pomanjkanje selena pri različnih živalskih vrstah se kaže v boleznih, kot so mišična distrofija, eksudativna diateza in druge (Shamberger, 1981). V nasprotju pa selen pomaga preprečiti aterosklerozo, določene oblike raka in arthritis (Shamberger, 1981). Umrljivost ljudi zaradi srčnih bolezni je manjša na področjih z visoko vsebnostjo selena. Esencialnost selena za živali je bila odkrita leta 1957, kar je vodilo do vprašanja, katera oblika selena je biološko aktivna. Pomemben preobrat se je zgodil leta 1973, ko je bila glutation peroksidaza (GPx) identificirana kot selenoencim (Rotruck in sod., 1973; Behne in Kyriakopoulos, 2001). Gojenje rastlin, obogatenih s selenom, bi lahko bil učinkovit način pridobivanja hrane, bogate s selenom, ki bi hkrati imela koristen učinek na zdravje (Ip in Lisk, 1994; Lyons in sod., 2005). Pri človeku je bilo nekaj primerov zastrupitve s selenom kot posledica zaužitja selenove kisline (30 g L^{-1}) (Tinggi, 2003). Čeprav trenutne tehnike omogočajo določitev velikega števila oblik selena, njihova fiziokemična identifikacija še ni zaključena. Edine odobrene oblike selena so selenit, selenat in natrijev hidrogen selenit (EC, 2002).

2.3 Učinek selena na rastline

Sprejem in akumulacija selena sta odvisna od kemijske oblike in koncentracije selena, od lastnosti prsti, kot so pH, slanost in vsebnost CaCO_3 , od vsebnosti različnih ionov in njihove koncentracije in od sposobnosti rastline za prevzem in metabolizacijo selena (Kabata Pendias, 2001; Wu, 2004). Absorbcija selena je višja pri nižjih vrednostih pH.

Koncentracije ionov (SO_4^{2-} , Cl^-), ki so pogosto prisotni v slani odtočni vodi, lahko vplivajo na privzem selena in njegovo akumulacijo v rastlinah. Selen ni bil označen kot esencialen element za rastline, kljub temu pa je bila njegova vloga spoznana kot koristna pri rastlinah, ki so sposobne akumulirati večje količine selena (Shanker, 2006). Deloval je kot antioksidant in inhibiral peroksidacijo lipidov pri ljljki (*Lolium perenne*) pri koncentraciji 0.1 in 1.0 mg Se kg^{-1} (Hartikainen in sod., 2000). Pri buči (*Cucurbita pepo*) je dodatek selena (koncentracija 1.5 mg L^{-1}) povečal pridelek (Germ in sod., 2005). Selen lahko zavre senescenco in spodbudi rast starajoče se sadike (Hartikainen in Xue, 1999; Xue in sod., 2001). Znano je, da nekatere rastline akumulirajo višje koncentracije selena in tako postanejo toksične za živali, ki se z njimi hrani (Tinggi, 2003). Toksičnost selena lahko pripisemo njegovemu pro-oksidativnemu učinku kot tudi povzročanju metabolnih motenj (Hartikainen in sod., 2000). Povečanje pridelka pri buči je bilo veliko večje pri rastlinah, ki so bile izpostavljene sončnemu sevanju z zmanjšanim UV-B sevanjem, skupaj s selenom, kot pa pri tistih, ki so bile izpostavljene obema dejavnikoma neodvisno (Germ in sod., 2005). Ječmen akumulira višje koncentracije selena kot pa jagode, vendar kljub temu ni bilo nobenih vidnih sprememb v rasti, biomasi ali fluorescenci klorofila, niti pri rastlinah, obogatenih s selenom, niti pri rastlinah, istočasno izpostavljenim selenu in UV-B sevanju (Valkama in sod., 2003).

Dokazano je bilo, da ima selen v pogojih suše sposobnost regulirati vodo v rastlinah (Kuznetsov in sod., 2003). Dodan selen inducira višji respiratorni potencial, merjen s pomočjo ETS-aktivnosti, pri mladih, s selenom obogatenih rastlinah pri vrsti *Pisum sativum* (Smrkolj in sod., 2006) in pri mladem radiču (*Cichorium intybus*) (Germ in sod., 2007). Respiratorni potencial se je značilno povečal pri vrsti *Eruca sativa*, ki je zrasla iz semena, tretiranega s selenom (Germ in Osvald, 2005). Večina žit in krmnih rastlin naj bi bila relativno slabo sposobna privzema selena, tudi v primeru, ko rastejo v prsti z visoko vsebnostjo selena (Nowak in sod., 2004).

2.4 Toksičnost selena na ravni ekosistema

Toksičnost selena za živali je pogojena s količino in kemijsko obliko selena, ki ga zaužijejo. Pogojena je tudi s časom in kontinuiteto privzemanja ter z načinom prehranjevanja (Shamberger, 1981). Selen, nekovina, je toksična za vodno življenje v relativno nizkih koncentracijah (US EPA 1987). Okoljski in biološki dejavniki, ki vplivajo na biogeokemično kroženje selena v okolju, imajo močan vpliv na poznejšo razpoložljivost in toksičnost za organizme (Amweg in sod., 2003). Ti faktorji so: (i) selen se v vodnem okolju pojavi v različnih oksidativnih stanjih, ki vključujejo oksidirano obliko selena (selenat (Se^{6+})), selenit (Se^{4+}), elementarni selen (Se^0), reducirano obliko selena, selenid (Se^{2-}). Selenit je bolj biološko dostopen in približno 5–10 krat bolj toksičen za organizme kot pa selenat (Lemly in sod., 1993). (ii) selen je podvržen biotransformaciji med anorgansko in organsko obliko kot rezultat biotskih in abiotskih procesov. (iii) dokazana je bila bioakumulacija selena v prehranjevalni verigi v vodnem okolju.

2.5 Pomen antocianov za rastline in ljudi

Antociane najdemo skoraj povsod v kraljestvu rastlin. Odgovorni so za predvsem rdečo, modro in rožnato barvo cvetov in plodov (Piccaglia in sod., 2002). Koristnost antocianov za zdravje ljudi so omenjali že v različnih študijah, kjer so pokazali na njihovo antioksidativno aktivnost (Tamura in Yamagami, 1994), delovanje protirakavih obolenj (Kamei in sod., 1995), povišanje ostrine vida (Muth, 2000) in možno obrambo proti koronarni bolezni srca (Bettini in sod., 1985).

Rdeče zelje je široko razširjeno v severni in centralni Evropi, Severni Ameriki, Kitajski in Japonski, ni pa tako razširjen v Italiji (Piccaglia in sod., 2002). Rdeče zelje bi lahko, glede na svojo vsebnost antocianov, predstavljalo alternativo grozdni jagodi (Henry, 1996). Antociani, ki jih najdemo v zelju, so primernejši za pridelavo hrane kot pa iz grozdne jagode.

3 MATERIAL IN METODE DELA

3.1 IZVEDBA POSKUSA

Poskus je bil postavljen na poskusnem polju Biotehniške fakultete Oddelka za agronomijo. Sadike zelja smo posadili konec aprila (20. 4. 2009), s poskusom pa smo končali konec junija (24.6.2009).

Sadike smo posadili na pripravljeno njivo, pokrito s folijo, v katero smo naredili luknje za sadike. Sadike smo posadili v tri vrste. Razmik med vrstami je bil 30 cm in 30 cm tudi med vsako naslednjo sadiko (slika 1). Posadili smo 129 sadik zelenega zelja in 138 sadik rdečega zelja. Na prehodu med rdečim in zelenim zeljem smo pustili 2 vrstici zelenega in 2 vrstici rdečega zelja, da ne bi vplivalo na naše meritve. Vsako od meritev smo vedno izvajali na isti rastlini. Koncentracijo klorofilov *a*, *b* in vsebnost antocianov ter neto fotosinteze smo opravili na rastlinah pod številko 1 in 7. Fotokemično učinkovitost in transpiracijo smo opravili na rastlinah pod številko 4 in 6. Na koncu meritev smo izvedli tudi rastno analizo na rastlinah pod številko 2 in 8 ter pobrali zeleno in rdeče zelje pod številkami 4, 5 in 6 in ga ločili na korenine, steblo in liste. Slednje smo zamrznili, saj so bile kasneje narejene na zelju še analize prisotnosti selena v posameznih delih rastline.

Meritve smo izvajali v petem in devetem tednu rasti rastlin. Rastline smo zalivali s tremi raztopinami. Prva ni vsebovala selena (Se0), druga (Se1) je vsebovala 2 µmol Se/L in tretja (Se2) je vsebovala za zeleno zelje 20 mg Se/L in za rdeče 0,5 mg Se/L. S tretjo raztopino je bilo zeleno zelje škropljeno foliarno, rdeče zelje pa je bilo zalito v zemljo. Vsako rastlino smo zalili z 1/3 dl raztopine selena v zemljo (razen Se2 pri zelenem zelju). Z raztopino Se0 in Se1 smo začeli zalivati 14. 5. 2009 in smo ju dodajali vsak drugi dan 1 mesec. Z raztopino Se2 smo zalili samo dvakrat – 24. 5. 2009 obe sorti in 27. 5. 2009 (zeleno) ter 3. 6. 2009 (rdeče zelje).

Rastno analizo smo opravili na koncu poskusa (22. 6. 2009). Zelje smo tudi zamrznili za nadaljnje raziskave.

Tabela 1. Parcele, obravnavanja in zaporedne številke rastlin pri zelenem in rdečem zelju

Parcela za zeleno in rdeče zelje	IIISe1	1	2	3
		4	5	6
		7	8	9
	<hr/>			
	IIISe0	1	2	3
		4	5	6
		7	8	9
	<hr/>			
	IIISe2	1	2	3
		4	5	6
		7	8	9
<hr/>				
Parcela za rdeče zelje	IISe0	1	2	3
		4	5	6
		7	8	9
	<hr/>			
	IISe2	1	2	3
		4	5	6
		7	8	9
	<hr/>			
	IISe1	1	2	3
		4	5	6
		7	8	9
<hr/>				
Parcela za rdeče zelje	ISe2	1	2	3
		4	5	6
		7	8	9
	<hr/>			
	ISe1	1	2	3
		4	5	6
		7	8	9
	<hr/>			
	ISe0	1	2	3
		4	5	6
		7	8	9



Slika 1. Poskusno polje

Tabela 2. Dnevnik zalivanja s selenom in meritev na zelenem in rdečem zelju

Datum/Zelje	Zeleno		Rdeče	
	Zalivanje	Meritve	Zalivanje	Meritve
14. 5. 2009	Se0 in Se1		Se0 in Se1	
16. 5. 2009	Se0 in Se1		Se0 in Se1	
18. 5. 2009	Se0 in Se1		Se0 in Se1	
20. 5. 2009	Se0 in Se1	Klorofil <i>a</i> in <i>b</i> , fotosinteza	Se0 in Se1	Fotosinteza
21. 5. 2009		Transpiracija, fotokemična učinkovitost PSII		Transpiracija, fotokemična učinkovitost PSII , klorofil <i>a</i> in <i>b</i>
22. 5. 2009	Se0 in Se1		Se0 in Se1	
24. 5. 2009	Se0, Se1 in Se2		Se0, Se1 in Se2	
25. 5. 2009		Antociani		Antociani
26. 5. 2009	Se0 in Se1		Se0 in Se1	
27. 5. 2009	Se2			
28. 5. 2009	Se0 in Se1		Se0 in Se1	
30. 5. 2009	Se0 in Se1		Se0 in Se1	
1. 6. 2009	Se0 in Se1		Se0 in Se1	
3. 6. 2009	Se0 in Se1		Se0, Se1 in Se2	
5. 6. 2009	Se0 in Se1		Se0 in Se1	
7. 6. 2009	Se0 in Se1		Se0 in Se1	
9. 6. 2009	Se0 in Se1		Se0 in Se1	
11. 6. 2009	Se0 in Se1	ETS	Se0 in Se1	
12. 6. 2009				ETS
15. 6. 2009		Fotosinteza in klorofil <i>a</i> in <i>b</i>		Fotosinteza in klorofil <i>a</i> in <i>b</i>
16. 6. 2009		Transpiracija in fotokemična učinkovitost PSII		Transpiracija in fotokemična učinkovitost PSII
17. 6. 2009		Antociani		Antociani
22. 6. 2009		Pobiranje zelja in rastna analiza		Pobiranje zelja in rastna analiza
24. 6. 2009				
15. 7. 2009		Tehtanje posušenih rastlinskih organov		Tehtanje posušenih rastlinskih organov

3.2 BIOKEMIJSKE MERITVE

Biokemijske meritve smo izvajali v laboratoriju na Katedri za ekologijo rastlin. Vzorce rastlin smo nabrali v jutranjem času. Vzorce za merjenje koncentracije korofilov *a*, *b*, vsebnost antocianov ter za merjenje aktivnosti ETS in suho maso smo naluknjali iz listov zelja z luknjačem, ki je imel premer odprtine 13 mm, 10 mm ali 7 mm.

3.2.1 Fotosintezna barvila

Vsebnost klorofilov *a* in *b* smo določili spektrofotometrično po Lichtenthalerju (1987). Rastlinsko tkivo z znano površino in suho maso smo strli v terilnici, ekstrahirali s 100 % acetonom in odčitali volumen končnega ekstrakta. S spektrofotometrom smo izmerili ekstinkcije pri valovni dolžini 662 nm in 644 nm. Koncentracijo klorofila smo izračunali po formulah:

$$C_a = 11,24 * E_{662} - 2,04 * E_{644} \quad (\text{mg kl } a \text{ L}^{-1}) \quad \dots (1)$$

$$C_b = 20,13 * E_{644} - 4,19 * E_{662} \quad (\text{mg kl } b \text{ L}^{-1}) \quad \dots (2)$$

$C_{a,b}$ koncentracija klorofilov *a* in *b* v enem litru
 E ekstinkcija vzorca pri izbrani valovni dolžini

Iz vsebnosti fotosinteznih pigmentov v ekstrakcijskem mediju, znanega volumna ekstrakcijskega medija in površine ter suhe mase vzorčnega tkiva smo izračunali vsebnosti klorofilov na površino in suho maso listov.

Klorofil *a* in *b* na suho maso:

$$kl_a = C_a * V * 10^{-3} * \text{sm}^{-1} \quad (\text{mg g}^{-1} \text{ sm}) \quad \dots (3)$$

$$kl_b = C_b * V * 10^{-3} * \text{sm}^{-1} \quad (\text{mg g}^{-1} \text{ sm}) \quad \dots (4)$$

Klorofil a in b na površino:

$$kl_a = C_a * V * 10^{-3} * P^{-1} \quad (mg \text{ cm}^{-2}) \quad \dots (5)$$

$$kl_b = C_b * V * 10^{-3} * P^{-1} \quad (mg \text{ cm}^{-2}) \quad \dots (6)$$

V prostornina ekstrakta (ml)

sm suha masa vzorca (g)

P površina vzorca (cm^{-2})

Vsebnosti antocianov smo določali po Khareju in Guruprasadu (1993). Sveže vzorce smo strli v terilnici, ekstrahirali v 10 ml ekstrakcijskega medija (metanol : HCl (37 %) = 99:1), prefiltrirali ter odčitali prostornine ekstraktov. Vzorce smo shranili v temi (24 ur, 3–5 °C). Ekstinkcije pri 530 nm smo izmerili s spektrofotometrom. Vsebnosti antocianov smo izrazili v relativnih enotah.

Formula:

$$Ant = E_{530} * V * sm^{-1}; E_{530} * V * P^{-1} \quad \dots (7)$$

E ekstinkcija vzorca pri izbrani valovni dolžini

V prostornina ekstrakta (ml)

sm suha masa vzorca (g)

P površina vzorca (cm^{-2})

3.3 FIZIOLOŠKE MERITVE

3.3.1 Aktivnost elektronskega transportnega sistema (ETS)

Sveže liste z znano težo smo homogenizirali v terilnici in ultrazvočnem homogenizatorju v pufru 0,1 M natrijevega fosfata (pH 8,4), ki je vseboval 0,15 % polivinil pirolidona, 75 µM magnezijevega sulfata in 0,2 % Triton-X-100. Po centrifugiranju ekstrakta smo supernatant razdelili na 3 podvzorce. Podvzorcem smo dodali raztopino 0,1 M natrijevega fosfata (pH 8,4), ki je vsebovala 1,7 mM NADH, 0,25 mM NADPH in 0,2 % Triton-X-100, in raztopino jodonitrotetrazolijevga klorida (INT) v 20 mg/10 cm⁻³ bidestilirane vode ter jih inkubirali 40 min na 20 °C. Absorpcijo nastalega formazana smo merili pri 490 nm. Aktivnost ETS smo izračunali po formuli:

$$\text{ETS-aktivnost} = \text{Abs}_{490} * V_r * V_h * 60 / V_a * sm * t * 1,42 \quad (\mu\text{L(O}_2\text{)}\text{mg}^{-1}\text{(SM)}\text{h}^{-1}) \quad \dots (8)$$

Abs_{490}	absorpcija pri 490 nm
sm	suha masa vzorca (g)
V_r	končni volumen reakcijske mešanice (3 ml)
V_h	volumen homogenata (4 ml)
V_a	volumen deleža homogenata v vzorcu (0,5 ml)
t	čas inkubacije

3.4 EKOFIZIOLOŠKE MERITVE

3.4.1 Neto fotosinteza

Fotosintezno aktivnost kopenskih rastlin najpogosteje merimo preko privzemanja CO₂. Spremembo vsebnosti CO₂ merimo z infrardečim plinskim analizatorjem (IRGA, tip LI-6200, Li-Cor) z zaprtim kroženjem zraka in diferencialnim načinom merjenja.

Zrak iz kivete, kamor namestimo objekt merjenja, teče v vzorčno celico. IR-žarek potuje skozi celici z vzorčnim in referenčnim plinom do detektorja IR-sevanja, kjer nastaja električna napetost, sorazmerna razlici med jakostjo IR-žarkov med obema celicama.

Jakost neto fotosinteze izračunava kot spremembo CO₂ v času na enoto mase rastlinskega tkiva (mmol CO₂ g⁻¹ ss s⁻¹).

3.4.2 Transpiracija

Transpiracijo smo izmerili s pomočjo porometra AP4, ki določi transpiracijo po Montheitovi umeritveni krivulji, iz časa, v katerem se relativna zračna vlaga v kivetih spremeni za 2,3 %.

3.4.3 Fotokemična učinkovitost

Fotokemično učinkovitost rastline določimo s pomočjo klorofilne fluorescence klorofila *a* v FS II. Merili smo z modulacijskim fluorometrom (tip OS-500, Opti-Sciences). Meritve potekajo na zatemnjenih ali osvetljenih delih lista, odvisno od tega, ali nas zanima potencialna ali dejanska fotokemična učinkovitost.

Potencialno fotokemično učinkovitost FS II izražamo s parametrom Fv/Fm. Pred merjenjem na list pritrdimo ščipalke za temotno adaptacijo. Po 20 minutah adaptacije list osvetlimo s saturacijskim pulzom bele svetlobe. Na aparatu odčitamo vrednosti minimalne in maksimalne fluorescence temotno adaptiranega vzorca ter potencialne fotokemične učinkovitosti. Potencialna fotokemična učinkovitost je sorazmerna potencialni neto fotosintezi. Izražamo jo s parametrom Fv/Fm. Razmerje Fv/Fm pri vitalnih rastlinah, ki rastejo v ugodnih razmerah, dosega vrednosti do 0,83 (0,85) in se zmanjša, ko je rastlina izpostavljena stresu.

Dejansko fotokemično učinkovitost FS II merimo pri danih svetlobnih razmerah. Na vzorec pritrdimo ščipalko, tako da je list osvetljen pod kotom 60 stopinj. S pomočjo saturacijskega pulza bele svetlobe sprožimo redukcijo prejemnikov elektronov v FS II. Na aparatu odčitamo Fs, ki predstavlja minimalno fluorescenco osvetljenega vzorca, Fms, ki predstavlja maksimalno fluorescenco osvetljenega vzorca, in dejansko fotokemično učinkovitost. Dejanska fotokemična učinkovitost (Y) je manjša ali enaka potencialni, odvisno od razmer na rastišču.

3.5 RASTNA ANALIZA

3.5.1 Morfologija

Vsem rastlinam zelja smo izmerili dolžino glave in dolžino steba.

3.5.2 Biomasa

Rastline smo ločili na nadzemne (listi, steblo) in podzemne organe (korenina). Sušili smo jih pri sobni temperaturi 14 dni do konstantne teže. Posušene dele rastlin smo nato stehtali in tako dobili suho maso posameznih rastlinskih organov.

3.6 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

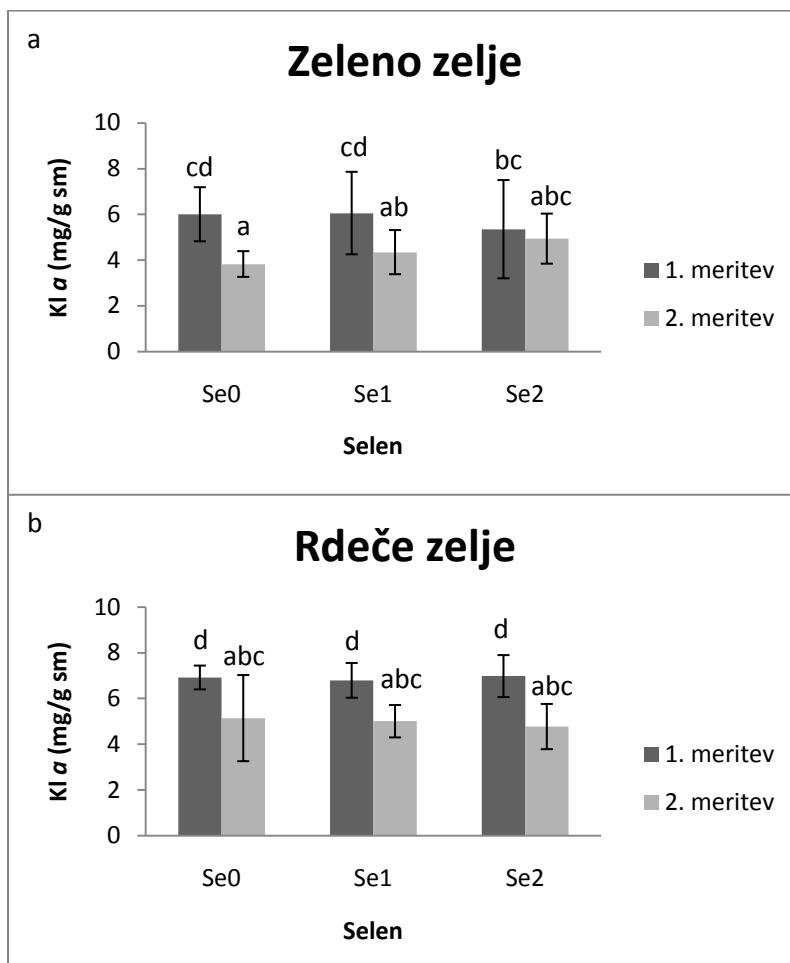
Iz rezultatov, ki smo jih dobili pri posameznih obravnavanjih (različna sorta rastline in selen), smo izračunali povprečne vrednosti parametrov in standardno deviacijo (SD).

Posamezne rezultate smo primerjali med sabo (različna obravnavanja pri vsaki sorti in med sortama) s programom Statgraphics Plus 4.0. Značilne razlike smo iskali z enosmernim in multifaktorskim ANOVA testom. Grafično predstavljeni rezultati, ki so označeni z enakimi črkami, se med seboj statistično značilno ne razlikujejo. Razlike smo določili s pomočjo *Multiple Range* testov v programu Statgraphics Plus 4.0.

4 REZULTATI

4.1 VSEBNOSTI FOTOSINTEZNIH BARVIL

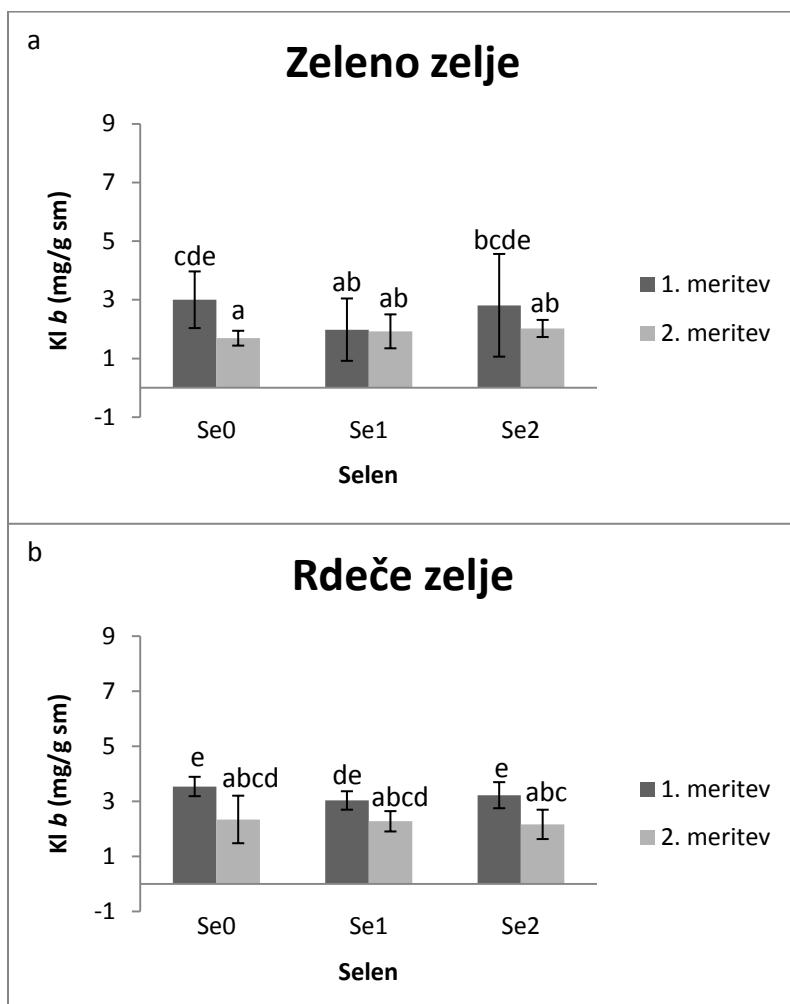
4.1.1 Vsebnost klorofila *a* na enoto suhe mase



Slika 2. Vpliv selena na vsebnost klorofila *a* na enoto suhe mase pri zelenem (a) in rdečem zelju (b). Stolpci, ki nimajo enakih črk, so značilno različni (enosmerna ANOVA; 95 % LSD-metoda).

Vsebnosti klorofila *a* se pri prvi meritvi pri zelenem zelju, ki je bil gnojen s Se, statistično ne razlikujejo od kontrolnih rastlin. Prav tako ni prišlo do razlik v vsebnosti klorofila med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, ki so bile gnojene z nizko ali visoko koncentracijo Se pri drugi meritvi. Vsebnost klorofila *a* se pri prvi meritvi pri rdečem zelju, ki je bil gnojen s Se, statistično ne razlikuje od kontrolnih rastlin. Prav tako ni prišlo do razlik v vsebnosti klorofila med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, ki so bile gnojene z nizko ali visoko koncentracijo Se pri drugi meritvi. Koncentracija klorofila *a* je podobna v listih zelenega in rdečega zelja ne glede na način obravnavanja.

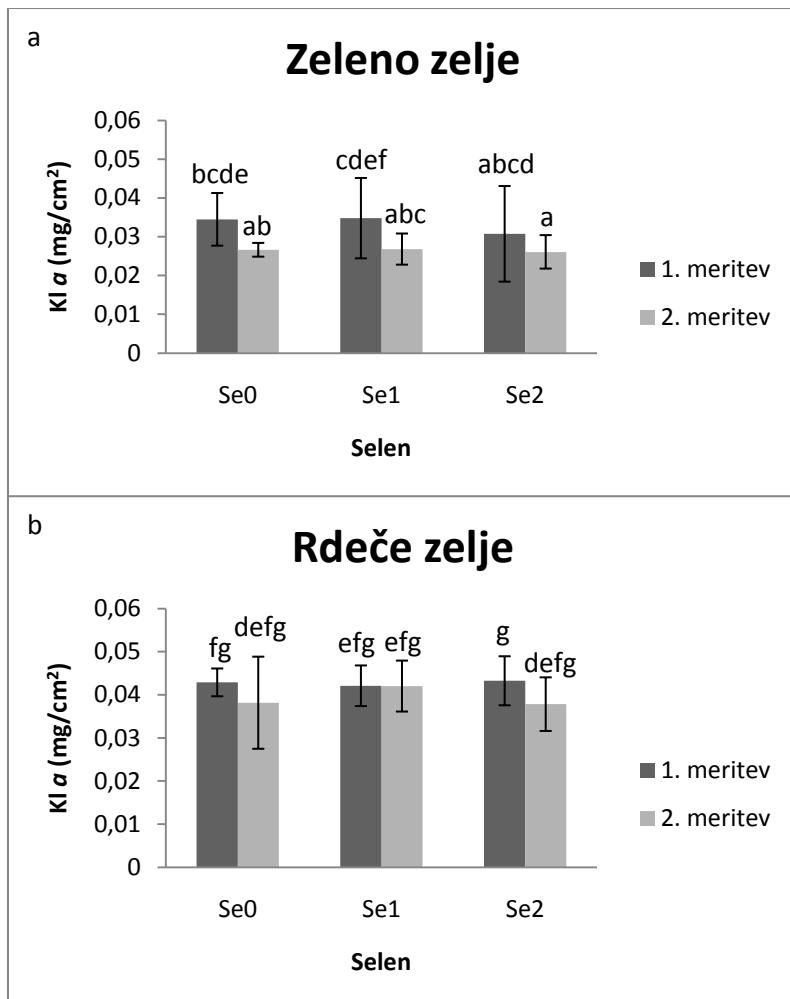
4.1.2 Vsebnost klorofila *b* na enoto suhe mase



Slika 3. Vpliv selena na vsebnost klorofila *b* na enoto suhe mase pri zelenem (a) in rdečem zelju (b). Stolpci, ki nimajo enakih črk, so značilno različni (enosmerna ANOVA; 95 % LSD-metoda).

Vsebnost klorofila *b* je pri prvi meritvi pri zelenem zelju, gnojenim z nizko koncentracijo Se (Se1), nižja od kontrolnih rastlin. Pri drugi meritvi ni prišlo do razlik med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, ki so bile gnojene s selenom. Vsebnost klorofila *b* se pri prvi meritvi pri rdečem zelju, ki je bil gnojen s Se, statistično ne razlikuje od kontrolnih rastlin. Prav tako ni prišlo do razlik v vsebnosti klorofila *b* med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, ki so bile gnojene z nizko ali visoko koncentracijo Se, pri drugi meritvi. Koncentracija klorofila *b* je podobna v listih zelenega in rdečega zelja ne glede na način obravnavanja (Slika 3).

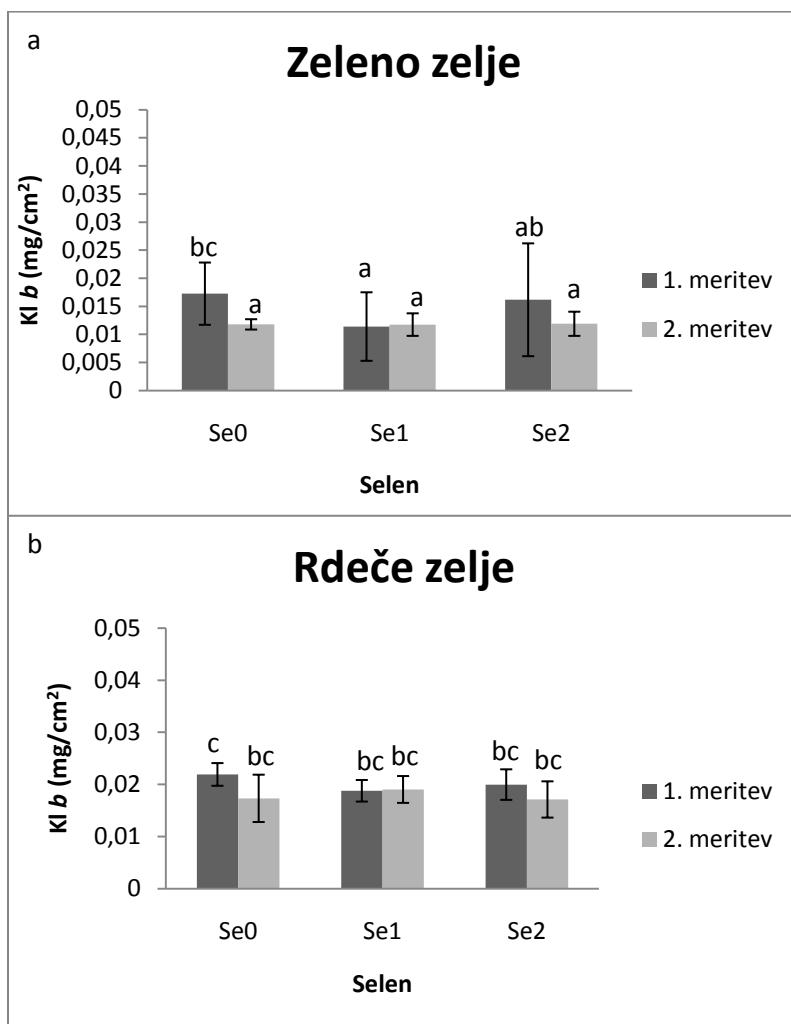
4.1.3 Vsebnost klorofila *a* na enoto površine lista



Slika 4. Vpliv selena na vsebnost klorofila *a* na enoto površine pri zelenem (a) in rdečem zelju (b). Stolpci, ki nimajo enakih črk, so značilno različni (enosmerna ANOVA; 95 % LSD-metoda).

Vsebnosti klorofila *a* se pri prvi meritvi pri zelenem zelju, ki je bil gnojen s Se, statistično ne razlikujejo od kontrolnih rastlin. Prav tako ni prišlo do razlik v vsebnosti klorofila med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, ki so bile gnojene z nizko ali visoko koncentracijo Se, pri drugi meritvi. Vsebnost klorofila *a* se pri prvi meritvi pri rdečem zelju, ki je bil gnojen s Se, statistično ne razlikuje od kontrolnih rastlin. Prav tako ni prišlo do razlik v vsebnosti klorofila med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, ki so bile gnojene z nizko ali visoko koncentracijo Se pri drugi meritvi. Vsebnost klorofila *a* je višja v listih rdečega zelja kot v listih zelenega zelja ne glede na način obravnavanja. Izjema je prva meritve na rastlinah zelenega in rdečega zelja, ki so bile gnojene z nizko koncentracijo selenia (Se1), kjer se vsebnost klorofila *a* ne razlikuje (Slika 4).

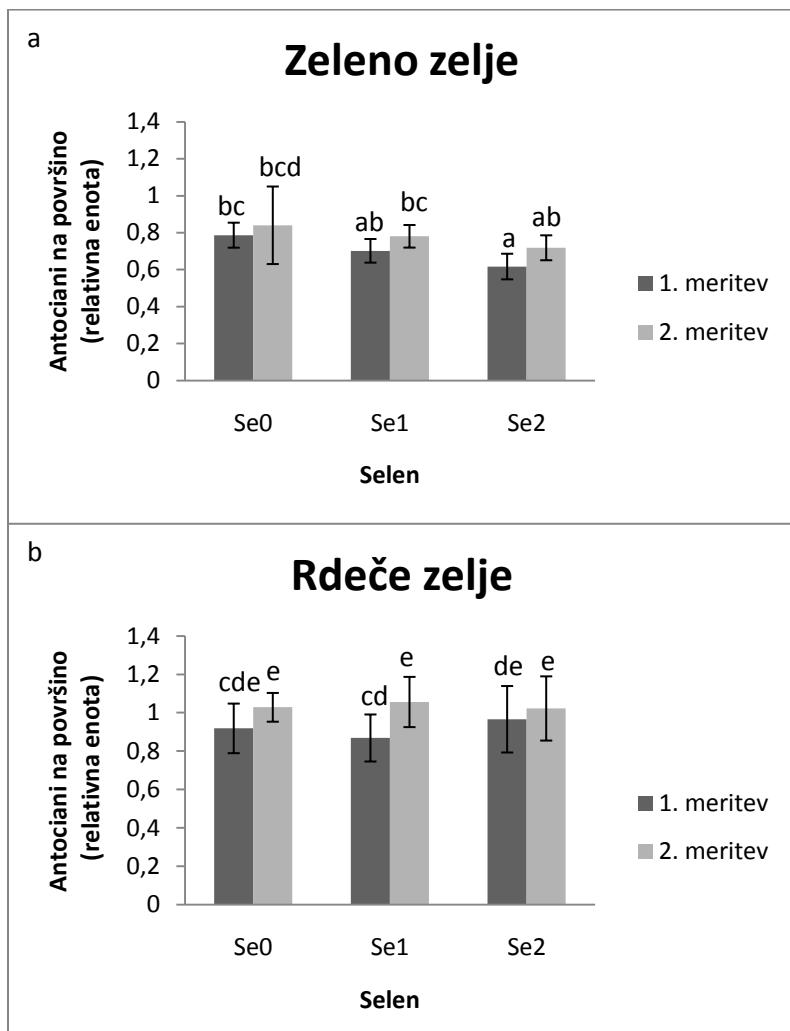
4.1.4 Vsebnost klorofila *b* na enoto površine lista



Slika 5. Vpliv selena na vsebnost klorofila *b* na enoto površine pri zelenem (a) in rdečem zelju (b). Stolpci, ki nimajo enakih črk, so značilno različni (enosmerna ANOVA; 95 % LSD-metoda).

Vsebnost klorofila *b* je pri prvi meritvi pri zelenem zelju, gnojenim z nizko koncentracijo Se (Se1), nižja od kontrolnih rastlin. Pri drugi meritvi ni prišlo do razlik med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, ki so bile gnojene s selenom. Vsebnost klorofila *b* se pri prvi meritvi pri rdečem zelju, ki je bil gnojen s Se, statistično ne razlikuje od kontrolnih rastlin. Prav tako ni prišlo do razlik v vsebnosti klorofila *b* med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, ki so bile gnojene z nizko ali visoko koncentracijo Se pri drugi meritvi. Vsebnost klorofila *b* je višja v listih rdečega zelja ne glede na način obravnavanja. Izjema je prva meritve na kontrolnih rastlinah (Se0) zelenega in rdečega zelja, kjer se vsebnost klorofila *b* ne razlikuje (Slika 5).

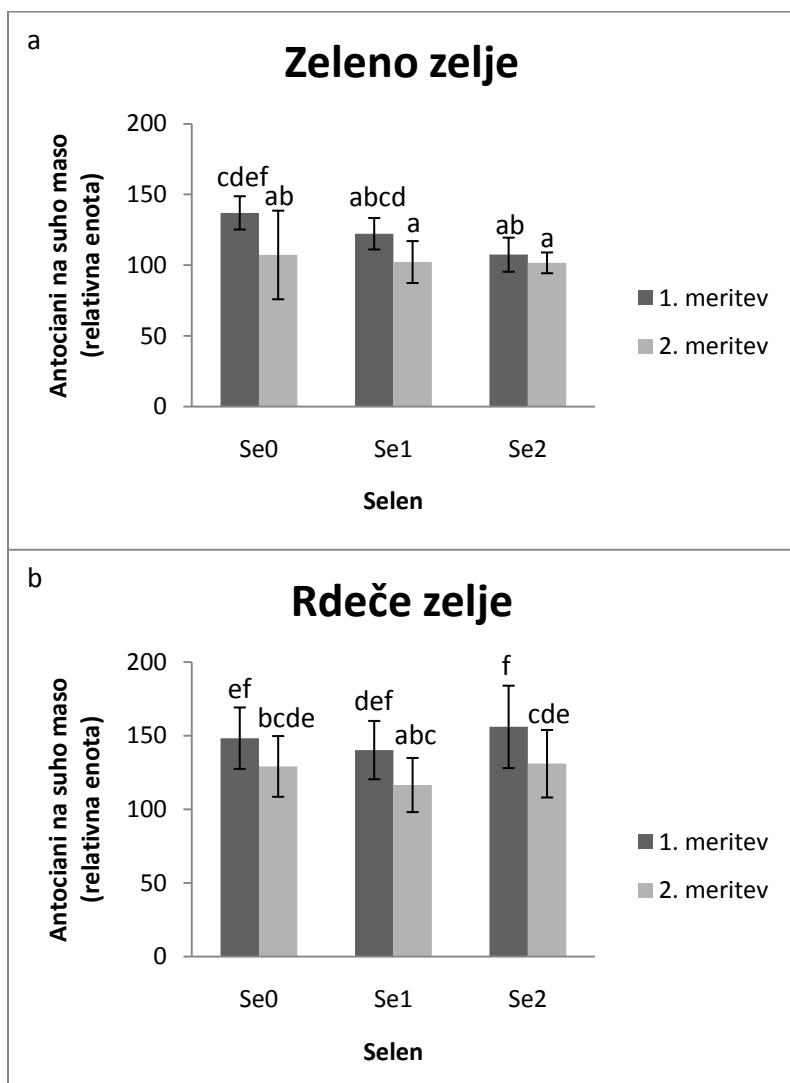
4.1.5 Vsebnost antocianov na površino lista



Slika 6. Vpliv selena na vsebnost antocianov na enoto površine pri zelenem (a) in rdečem zelju (b). Stolci, ki nimajo enakih črk, so značilno različni (enosmerna ANOVA; 95 % LSD-metoda).

Vsebnost antocianov na površino lista je pri prvi meritvi pri zelenem zelju, ki je bil gnojen z visoko koncentracijo selena (Se2), nižja od kontrolnih rastlin. Pri drugi meritvi ni prišlo do razlik med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, ki so bile gnojene s selenom. Vsebnost antocianov v rdečem zelju se niti pri prvi niti pri drugi meritvi ne razlikuje med kontrolnimi rastlinami in rastlinami gnojenimi s selenom. Pri rdečem zelju je vsebnost antocianov višja kot pri zelenem zelju ne glede na način obravnavanja. Izbema so kontrolne rastline (Se0) rdečega in zelenega zelja pri prvi meritvi, kjer se vsebnost antocianov ne razlikuje (Slika 6).

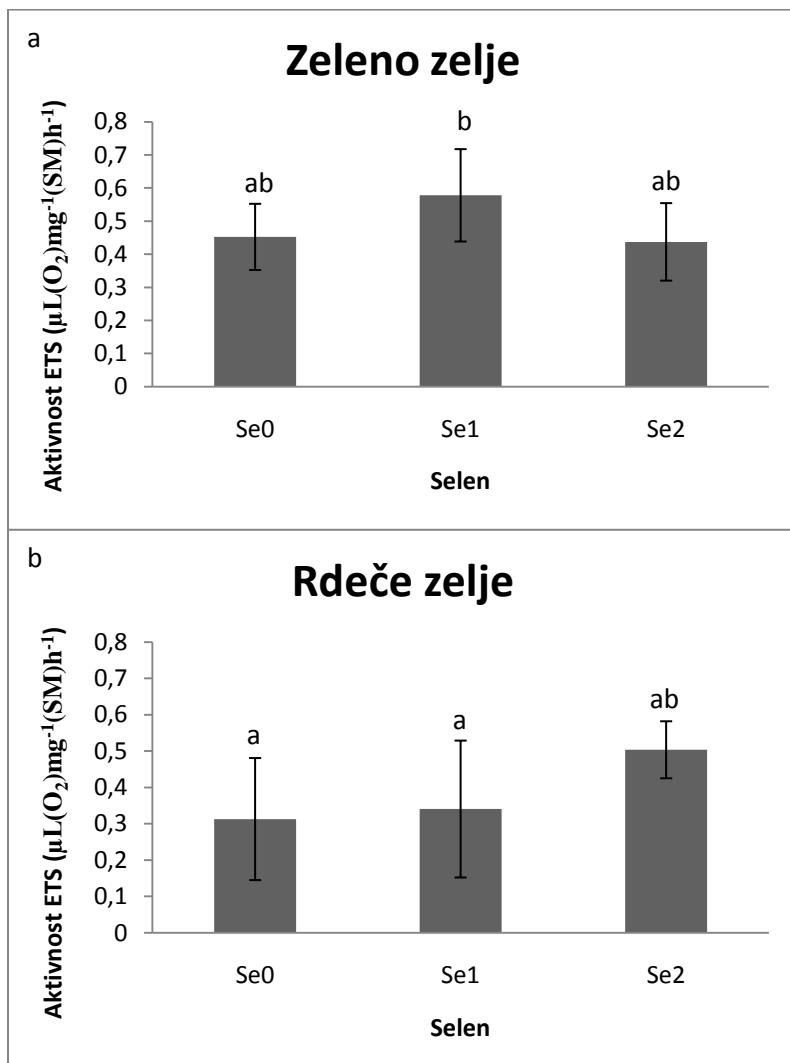
4.1.6 Vsebnost antocianov na suho maso lista



Slika 7. Vpliv selena na vsebnost antocianov na enoto suhe mase pri zelenem (a) in rdečem zelju (b). Stolpci, ki nimajo enakih črk, so značilno različni (enosmerna ANOVA; 95 % LSD- metoda).

Vsebnost antocianov na površino lista je pri prvi meritvi pri zelenem zelju, ki je bil gnojen z visoko koncentracijo selenia (Se2), nižja od kontrolnih rastlin. Pri drugi meritvi ni prišlo do razlik med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, ki so bile gnojene s selenom. Vsebnost antocianov v rdečem zelju se niti pri prvi niti pri drugi meritvi ne razlikuje med kontrolnimi rastlinami in rastlinami gnojenimi s selenom. Vsebnost antocianov je podobna v listih zelenega in rdečega zelja. Do razlike je prišlo samo pri prvi in drugi meritvi na rastlinah, gojenih z visoko koncentracijo selenia (Se2), kjer je bila vsebnost antocianov višja pri rdečem zelju (Slika 7).

4.2 AKTIVNOST ELEKTRONSKEGA TRANSPORTNEGA SISTEMA (ETS)

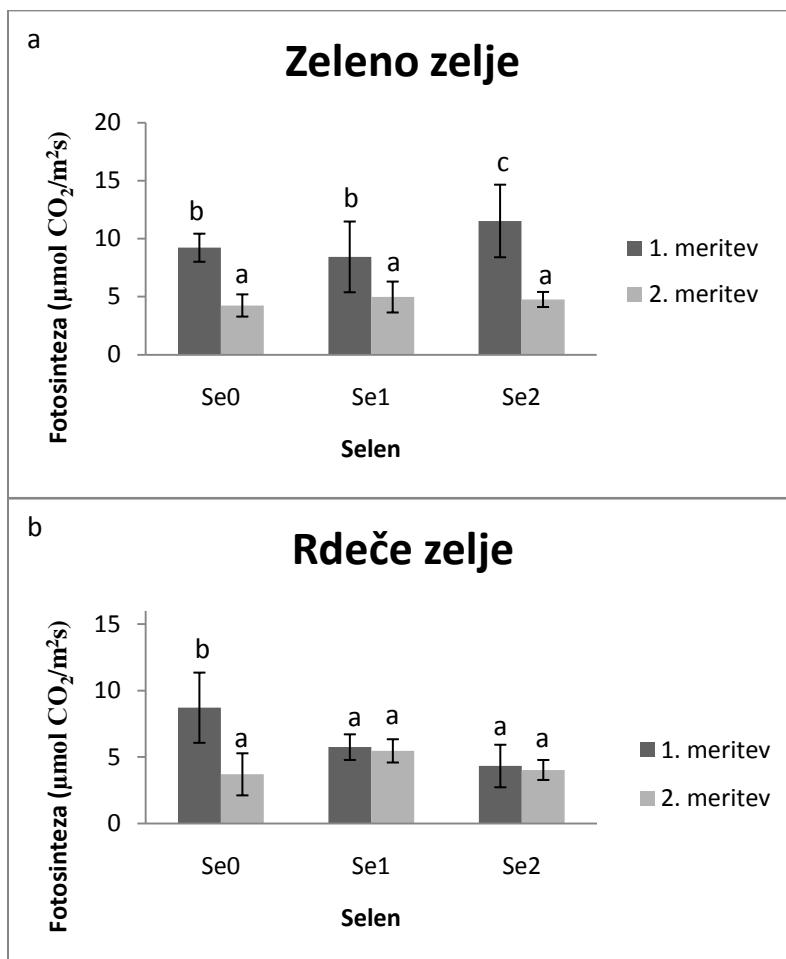


Slika 8. Vpliv selena na aktivnost ETS pri zelenem (a) in rdečem zelju (b). Stolpci, ki nimajo enakih črk, so značilno različni (enosmerna ANOVA; 95 % LSD-metoda).

Aktivnost elektronskega transportnega sistema se pri zelenem zelju ne razlikuje med različnimi obravnavanji. Ravno tako ni prišlo do razlik v aktivnosti ETS med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, gnojenimi s selenom, pri rdečem zelju. Med rdečim in zelenim zeljem je prišlo do razlike v aktivnosti ETS le pri rastlinah, ki so bile gnojene z nizko koncentracijo selena (Se1), kjer je bila aktivnost ETS višja pri zelenem zelju (Slika 8).

4.3 FOTOSINTEZNA AKTIVNOST

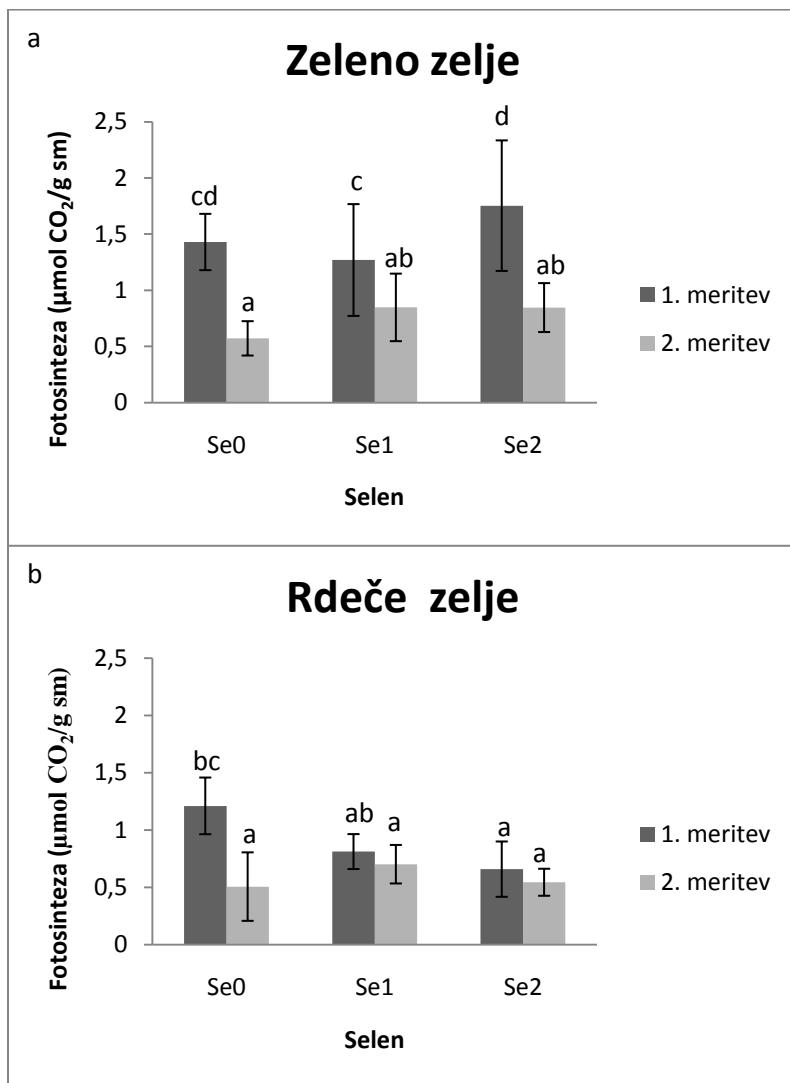
4.3.1 Neto fotosinteza na površino enote lista



Slika 9. Vpliv selena na fotosintezno aktivnost na enoto površine pri zelenem (a) in rdečem zelju (b). Stolpci, ki nimajo enakih črk, so značilno različni (enosmerna ANOVA; 95 % LSD-metoda).

Fotosintezna aktivnost se pri prvi meritvi pri zelenem zelju ne razlikuje med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, ki so bile gnojene s selenom. Ravno tako ni prišlo do razlik pri drugi meritvi med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, ki so bile gnojene s selenom. Fotosintezna aktivnost je pri prvi meritvi pri rastlinah rdečega zelja, ki so bile gnojene z nizko koncentracijo selena (Se1), statistično nižja od kontrolnih rastlin rdečega zelja. Pri drugi meritvi fotosintezne aktivnosti pri rdečem zelju ni bilo razlik med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, ki so bile gnojene s selenom. Fotosintezna aktivnost je bila pri prvi meritvi višja v listih zelenega zelja pri rastlinah, ki so bile gnojene z nizko koncentracijo selena (Se1) v primerjavi z listi rdečega zelja (Slika 9).

4.3.2 Neto fotosinteza na suho maso lista

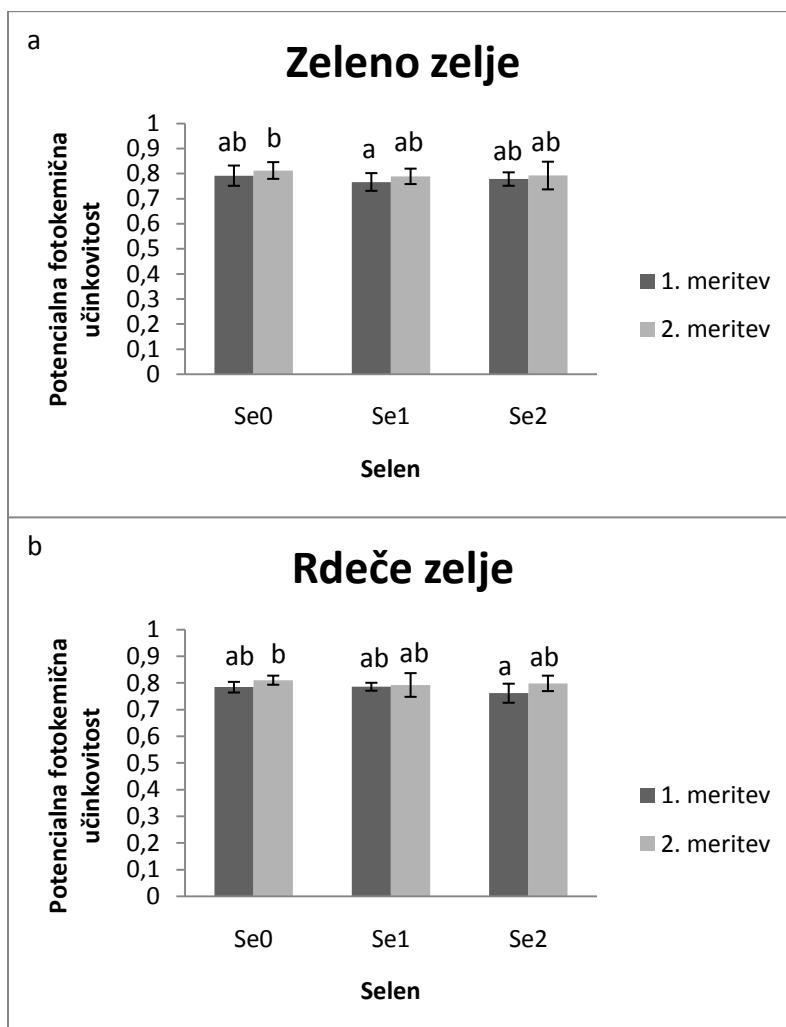


Slika 10. Vpliv selena na fotosintezno aktivnost na enoto suhe mase pri zelenem (a) in rdečem zelju (b). Stolpci, ki nimajo enakih črk, so značilno različni (enosmerna ANOVA; 95 % LSD-metoda).

Fotosintezna aktivnost se pri prvi meritvi pri zelenem zelju ne razlikuje med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, ki so bile gnojene s selenom. Ravno tako ni prišlo do razlik pri drugi meritvi med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, ki so bile gnojene s selenom. Fotosintezna aktivnost se pri prvi meritvi pri rdečem zelju ne razlikuje med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, ki so bile gnojene s selenom. Ravno tako ni prišlo do razlik pri drugi meritvi med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, ki so bile gnojene s selenom. Fotosintezna aktivnost je bila pri prvi meritvi višja v listih zelenega zelja pri rastlinah, ki so bile gnojene z nizko koncentracijo selena (Se1) v primerjavi z listi rdečega zelja (Slika 10).

4.4 FOTOKEMIČNA UČINKOVITOST FOTOSISTEMA II

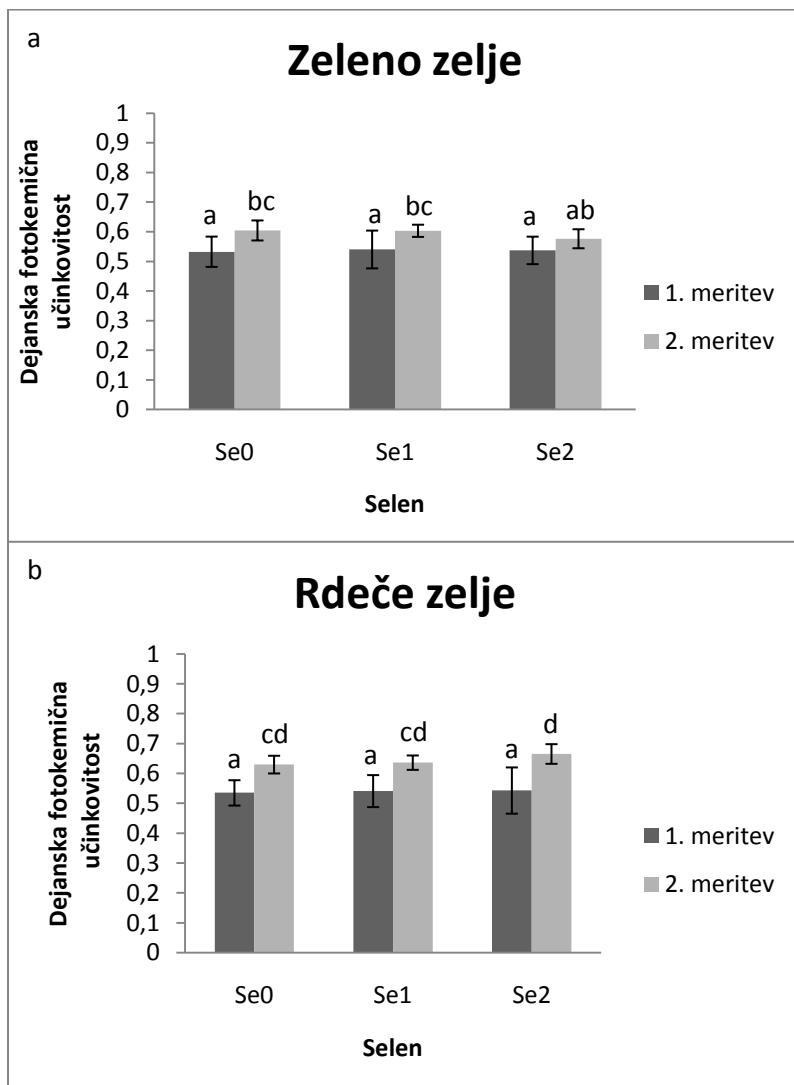
4.4.1 Potencialna fotokemična učinkovitost fotosistema II



Slika 11. Vpliv selena na potencialno fotokemično učinkovitost pri zelenem (a) in rdečem zelju (b). Stolpci, ki nimajo enakih črk, so značilno različni (enosmerna ANOVA; 95 % LSD-metoda).

Pri zelenem zelju ni bilo razlik v vrednostih potencialne fotokemične učinkovitosti ne glede na način obravnavanja z različnimi koncentracijami selena. Ravno tako ni prišlo do razlik v vrednostih potencialne fotokemične učinkovitosti pri rdečem zelje, ne glede na obravnavanje. Vrednosti potencialne fotokemične učinkovitosti so podobne pri zelenem in rdečem zelju, ne glede na način obravnavanja (Slika 11).

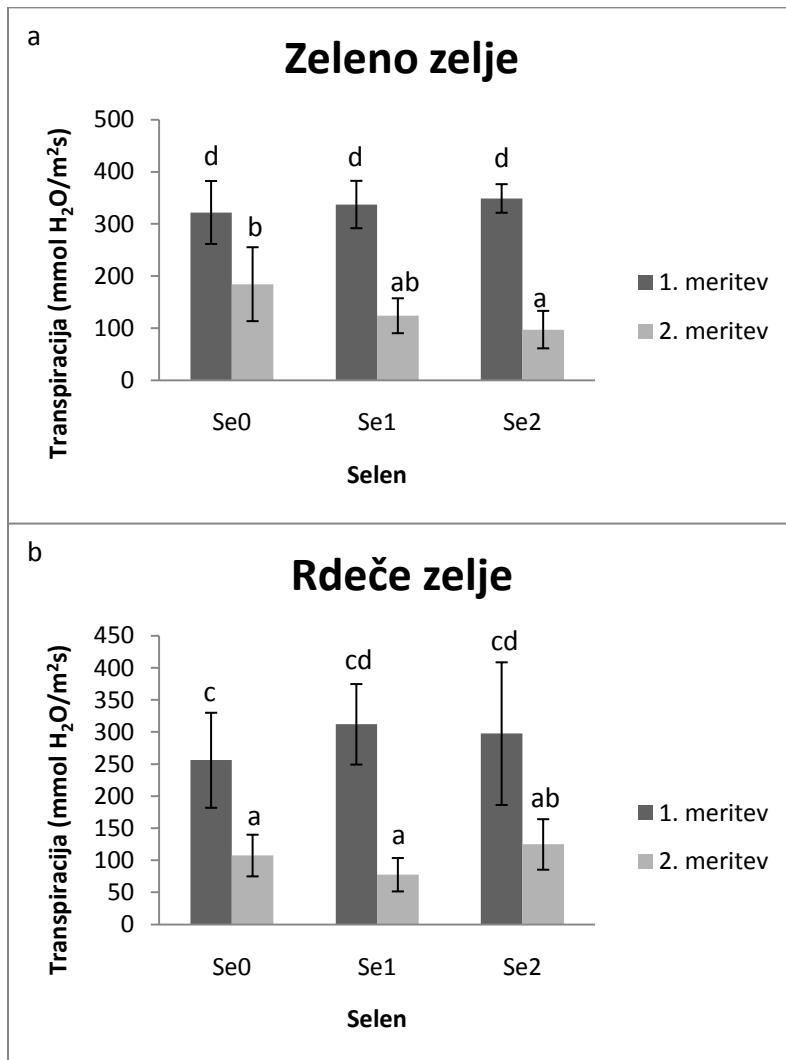
4.4.2 Dejanska fotokemična učinkovitost fotosistema II



Slika 12. Vpliv selena na dejansko fotokemično učinkovitost pri zelenem (a) in rdečem zelju (b). Stolpci, ki nimajo enakih črk, so značilno različni (enosmerna ANOVA; 95 % LSD-metoda).

Pri zelenem zelju ni bilo razlik v vrednostih dejanske fotokemične učinkovitosti ne glede na način obravnavanja z različnimi koncentracijami selena. Ravno tako ni prišlo do razlik v vrednostih dejanske fotokemične učinkovitosti pri rdečem zelju, ne glede na obravnavanje. Vrednost dejanske fotokemične učinkovitosti je pri drugi meritvi višja pri rdečem zelju, na rastlinah, ki so bile gnojene z visoko koncentracijo selena (Se2). Pri ostalih obravnavanjih ni bilo razlik med zelenim in rdečim zeljem (Slika 12).

4.5 TRANSPIRACIJA

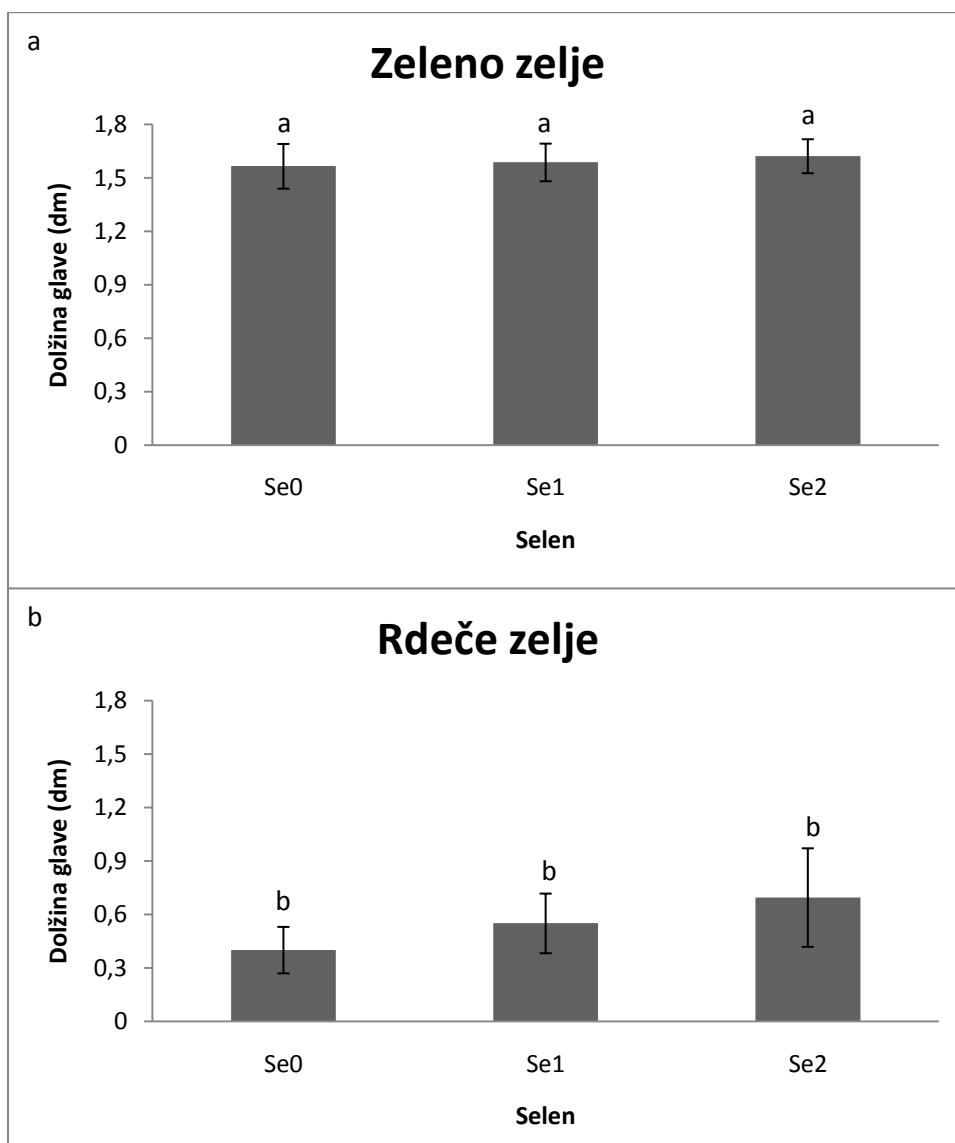


Slika 13. Vpliv selena na transpiracijo pri zelenem (a) in rdečem zelju (b). Stolpci, ki nimajo enakih črk, so značilno različni (enosmerna ANOVA; 95 % LSD-metoda).

Pri zelenem zelju pri prvi meritvi ni bilo razlik v transpiraciji glede na način obravnavanja. Razlika se je pojavila pri drugi meritvi med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, ki so bile gnojene z visoko koncentracijo selenia (Se2), kjer je bila transpiracija tistih z visoko koncentracijo selenia nižja od kontrolnih rastlin. Pri rdečem zelju ni bilo razlik v transpiraciji niti pri prvi niti pri drugi meritvi, ne glede na način obravnavanja. Razlika v transpiraciji se je pojavila tudi med zelenim in rdečim zeljem, in sicer pri prvi in drugi meritvi pri kontrolnih rastlinah, in v obeh primerih je bila transpiracija večja pri zelenem zelju (Slika 13).

4.6 RASTNA ANALIZA IN KONČNA BIOMASA

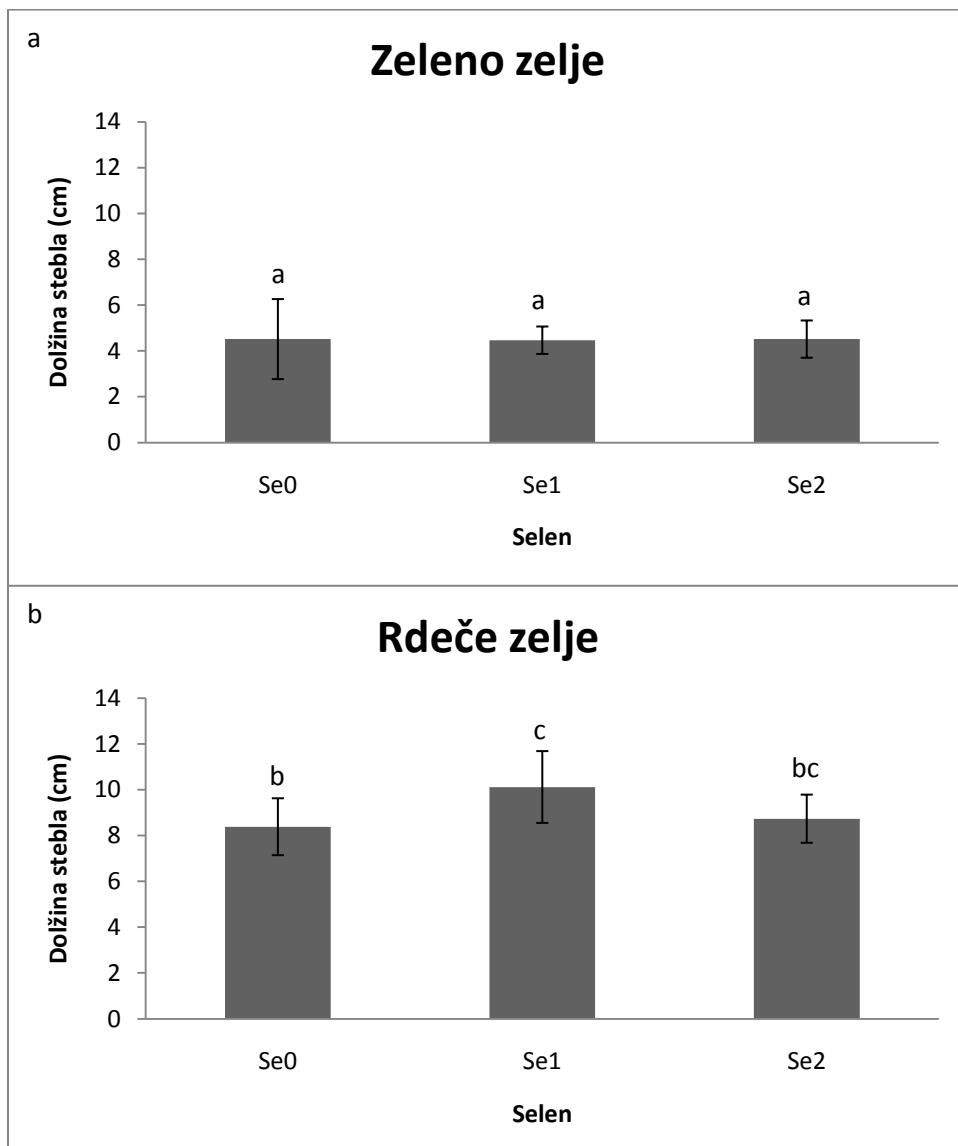
4.6.1 Dolžina glave



Slika 14. Vpliv selena na dolžino glave pri zelenem (a) in rdečem zelju (b). Stolpci, ki nimajo enakih črk, so značilno različni (enosmerna ANOVA; 95 % LSD-metoda).

Dolžina zeljne glave se pri zelenem zelju ne razlikuje glede na način obravnavanja. Pri rdečem zelju ravno tako ni prišlo do razlik v dolžini zeljne glave, ne glede na način obravnavanja. Do statistično značilnih razlik je prišlo med zelenim in rdečim zeljem pri vseh obravnavanjih. Dolžina zeljne glave je večja pri zelenem zelju v primerjavi z rdečim zeljem pri vseh obravnavanjih (Slika 14).

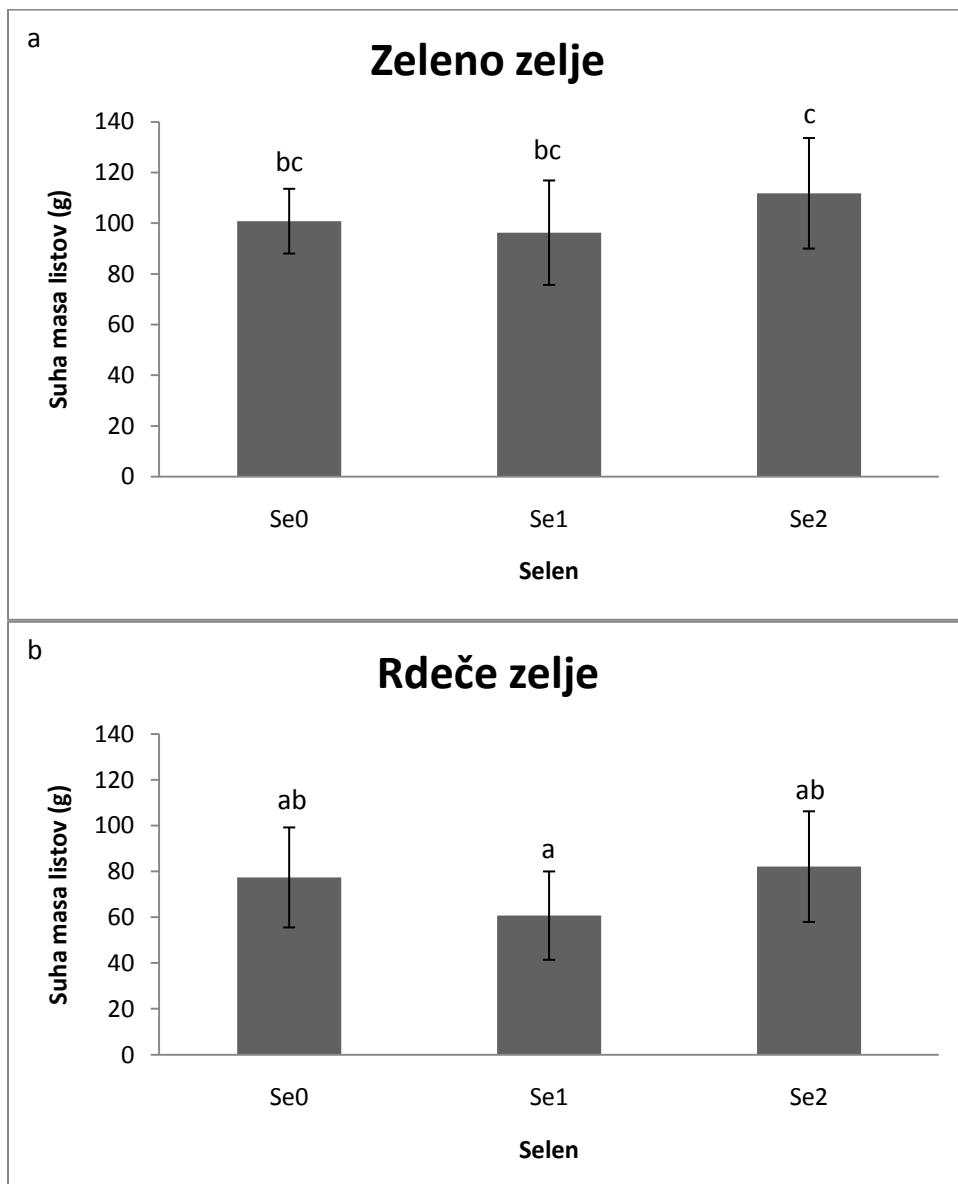
4.6.2 Dolžina steba



Slika 15. Vpliv selena na dolžino steba pri zelenem (a) in rdečem zelju (b). Stolpci, ki nimajo enakih črk, so značilno različni (enosmerna ANOVA; 95 % LSD-metoda).

Dolžina steba se pri zelenem zelju ne razlikuje glede na način obravnavanja. Pri rdečem zelju je razlika v dolžini steba med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, ki so bile gnojene z nizko koncentracijo selena (Se1). Dolžina steba je daljša pri nizki koncentraciji selena (Se1). Do statistično značilnih razlik je prišlo med zelenim in rdečim zeljem pri vseh obravnavanjih. Dolžina steba pri rdečem zelju je večja od zelenega zelja pri vseh obravnavanjih (Slika 15).

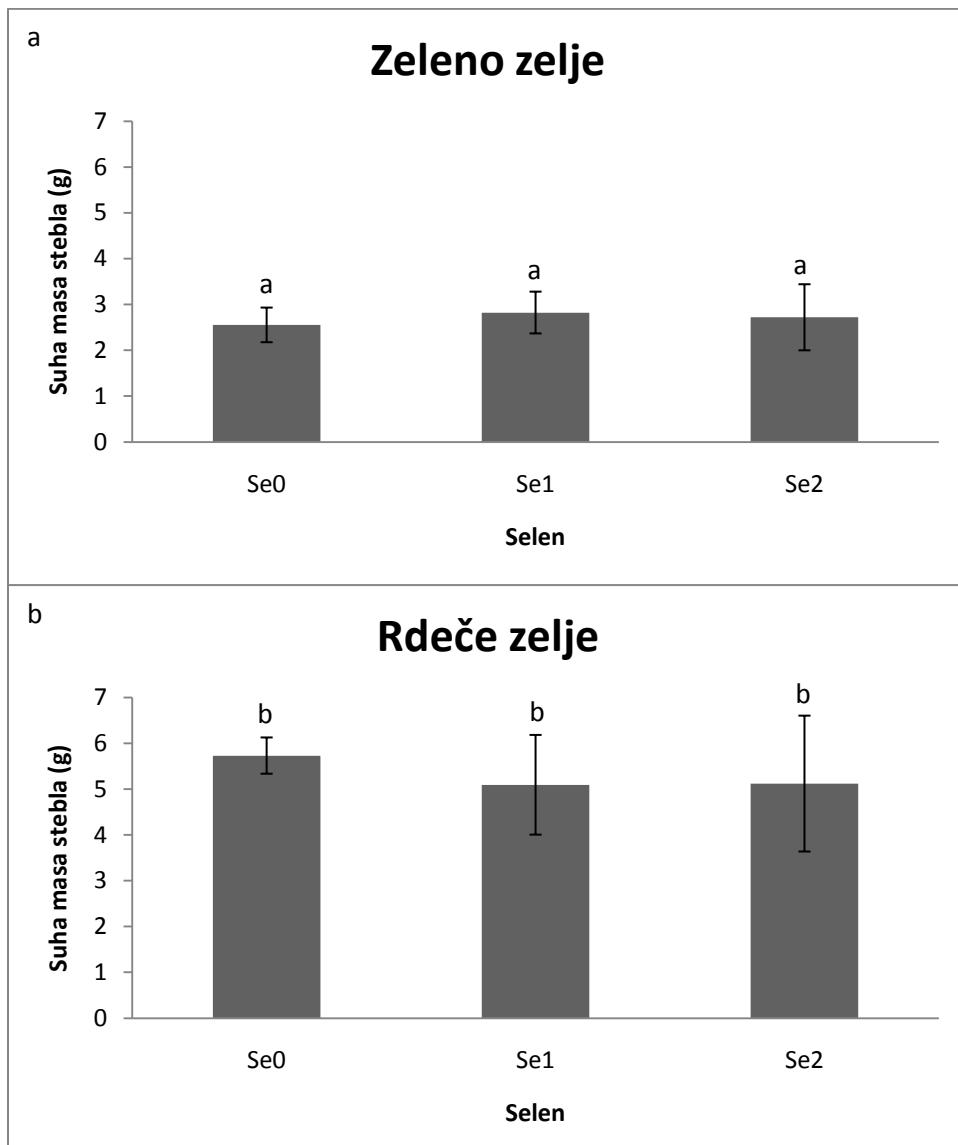
4.6.3 Suha masa listov



Slika 16. Vpliv selena na suho maso listov pri zelenem (a) in rdečem zelju (b). Stolpci, ki nimajo enakih črk, so značilno različni (enosmerna ANOVA; 95 % LSD-metoda).

Suha masa listov se pri zelenem zelju ni razlikovala glede na način obravnavanja. Ravno tako ni bilo razlik v suhi masi listov pri rdečem zelju, ne glede na način obravnavanja. Razlika se je pokazala med zelenim in rdečim zeljem, in sicer je imelo zeleno zelje večjo suho maso listov pri rastlinah z nizko in visoko koncentracijo selena (Slika 16).

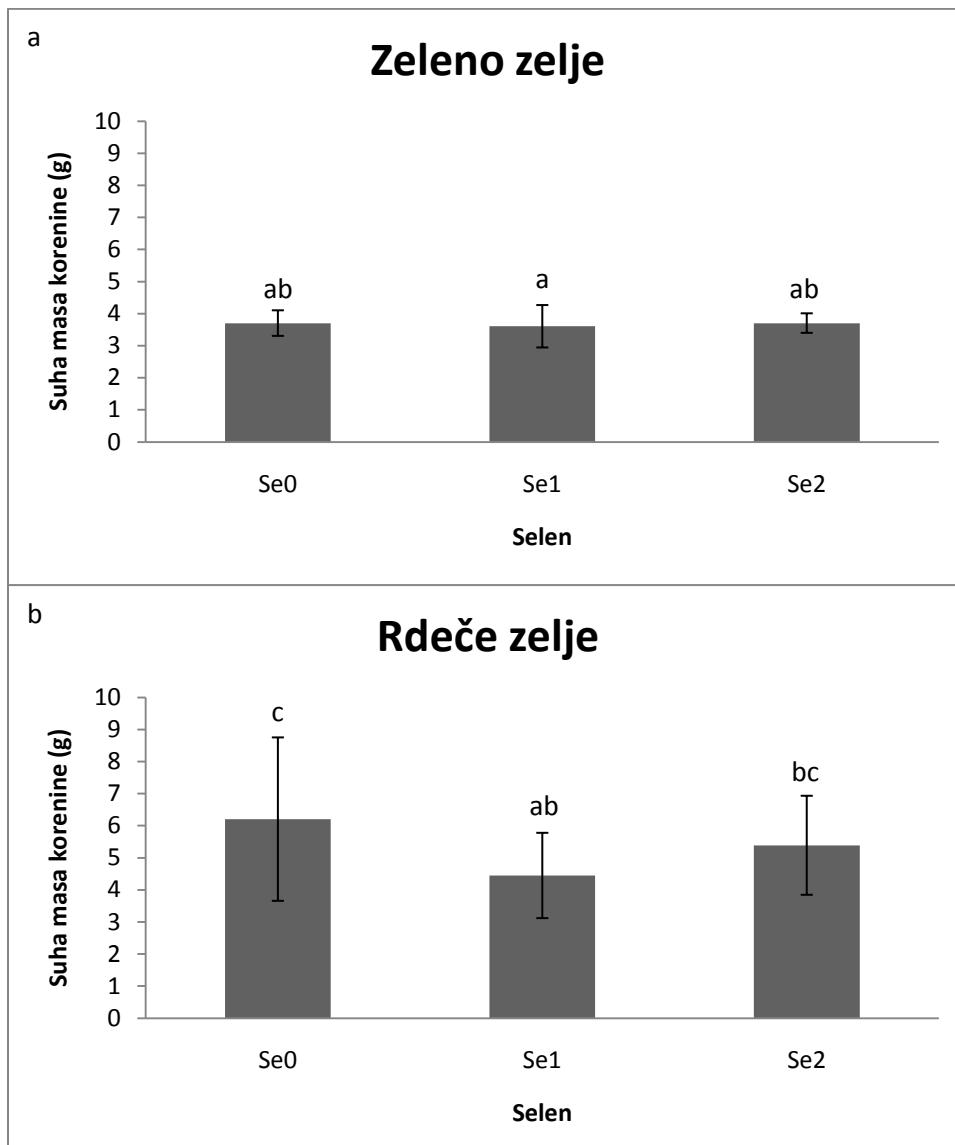
4.6.4 Suha masa stebla



Slika 17. Vpliv selena na suho maso stebla pri zelenem (a) in rdečem zelju (b). Stolpci, ki nimajo enakih črk, so značilno različni (enosmerna ANOVA; 95 % LSD-metoda).

Suha masa stebla se pri zelenem zelju ni razlikovala glede na način obravnavanja. Ravno tako ni bilo razlik v suhi masi stebla pri rdečem zelju, ne glede na način obravnavanja. Razlika se je pokazala med zelenim in rdečim zeljem, in sicer je imelo rdeče zelje večjo suho maso stebla od zelenega zelja pri vseh obravnavanjih (Slika 17).

4.6.5 Suha masa korenin



Slika 18. Vpliv selena na suho maso korenin pri zelenem (a) in rdečem zelju (b). Stolpci, ki nimajo enakih črk, so značilno različni (enosmerna ANOVA; 95 % LSD-metoda).

Suha masa korenin se pri zelenem zelju ni razlikovala glede na način obravnavanja. Pri rdečem zelju je prišlo do razlike med kontrolnimi rastlinami in rastlinami z nizko koncentracijo selena (Se1), kjer je bila večja suha masa korenin pri kontrolnih rastlinah. Razlika med zelenim in rdečim zeljem se je pokazala le pri kontrolnih rastlinah. Večja suha masa korenin je bila pri kontrolnih rastlinah rdečega zelja (Slika 18).

4.7 UČINKI SELENA

V tabeli 3 in 4 so predstavljeni učinki različnih koncentracij selena na različne merjene parametre pri zelenem in rdečem zelju.

Tabela 3. Statistično značilni vplivi selena na določene parametre pri zelenem zelju (\uparrow (povišanje), \downarrow (zmanjšanje), $=$ (ni razlike)).

Parametri/ Obravnavanja	Zeleno zelje			
	prva meritev		druga meritev	
	Se1	Se2	Se1	Se2
Kl _a / sm	=	=	=	=
Kl _b / sm	↓	=	=	=
Kl _a / cm ²	=	=	=	=
Kl _b / cm ²	↓	=	=	=
Antociani na površino	=	↓	=	=
Antociani na sm	=	↓	=	=
Fotosinteza na površino	=	=	=	=
Fotosinteza na sm	=	=	=	=
Transpiracija	=	=	=	↓
Fv/Fm	=	=	=	=
Y	=	=	=	=
ETS			=	=
Dolžina glave			=	=
Dolžina stebla			=	=
Suha masa listov			=	=
Suha masa stebla			=	=
Suha masa korenin			=	=

Tabela 4. Statistično značilni vplivi selena na določene parametre pri rdečem zelju (\uparrow (povišanje), \downarrow (zmanjšanje), $=$ (ni razlike)).

Parametri/ Obravnavanja	Rdeče zelje			
	Prva meritev		Druga meritev	
	Se1	Se2	Se1	Se2
Kl _a / sm	=	=	=	=
Kl _b / sm	=	=	=	=
Kl _a / cm ²	=	=	=	=
Kl _b / cm ²	=	=	=	=
Antociani na površino	=	=	=	=
Antociani na sm	=	=	=	=
Fotosinteza na površino	\downarrow	=	=	=
Fotosinteza na sm	=	=	=	=
Transpiracija	=	=	=	=
Fv/Fm	=	=	=	=
Y	=	=	=	=
ETS			=	=
Dolžina glave			=	=
Dolžina stebla			\uparrow	=
Suha masa listov			=	=
Suha masa stebla			=	=
Suha masa korenin			\downarrow	=

5 RAZPRAVA

5.1 VSEBNOSTI FOTOSINTEZNIH BARVIL

Selen večinoma ni imel vpliva na vsebnost klorofila *a* in *b* na enoto suhe mase pri rdečem in zelenem zelju. Do vpliva selena je prišlo samo pri zelenem zelju, kjer smo pri prvi meritvi opazili nižjo vsebnost klorofila *b* na enoto suhe mase pri nizki koncentraciji selena. Pri meritvah klorofilov na površino lista ravno tako ni bilo vpliva selena na različna genotipa. Do vpliva selena je prišlo samo pri zelenem zelju, kjer smo pri prvi meritvi opazili nižjo vsebnost klorofila *b* na enoto površine lista pri nizki koncentraciji selena. Vsebnost klorofilov na enoto suhe mase se med genotipoma zelja ne razlikuje, medtem ko je pri meritvah klorofilov na površino lista prišlo do statističnih razlik med genotipoma zelja. Listi rdečega zelja vsebujejo več klorofila *a* in *b* na površino lista kot pa listi zelenega zelja.

V raziskavi o vplivu selena na vsebnost klorofila (Padmaja s sod., 1990) so ugotovili, da selen vpliva na manjše vsebnosti klorofilov pri rastlinah navadnega fižola (*Phaseolus vulgaris*). Naši rezultati tega ne potrjujejo. Značilno znižanje klorofilov pri rastlinah z dodano nizko koncentracijo selena v primerjavi s kontrolnimi rastlinami smo izmerili le pri zelenem zelju – klorofil *b* na enoto suhe mase. Podobno so ugotovili tudi pri sivi in tatarski ajdi (Tadina, 2005) ter pri navadni in tatarski ajdi (Breznik in sod., 2005).

Selen je pri zelenem zelju negativno vplival na vsebnost antocianov tako na suho masa lista kot na površino lista. Do statistično značilnih razlik je prišlo pri visoki koncentraciji selena pri prvi meritvi. Višja vsebnost antocianov na površino lista smo opazili v listih rdečega zelja kot pa v listih zelenega zelja. Visoko vsebnost antocianov v rdečem zelju so potrdili tudi Piccaglia in sod. 2002. Razlik med genotipoma zelja v vsebnosti antocianov na suho maso lista ni bilo, višja vsebnost le-teh smo izmerili samo v listih rdečega zelja pri visoki koncentraciji selena.

5.2 AKTIVNOST ELEKTRONSKEGA TRANSPORTNEGA SISTEMA

Aktivnost ETS smo izmerili na koncu rastne sezone in ugotovili, da selen ni imel vpliva na aktivnost ETS v listih zelenega in rdečega zelja. Podobno so ugotovili pri buči (Germ in sod., 2005) ter navadni in tatarski ajdi (Breznik in sod., 2005).

Eden od odgovorov na stresne razmere je tudi povečana potreba po energiji (Martinez, 1992; Amthor, 1995). Sposobnost premagovanja stresa pri vitalnih rastlinah je zato povezana z dihalnim potencialom (aktivnostjo ETS) določenega tkiva. Večji dihalni potencial zagotavlja več energije, kar omogoča rastlini vzpostavitev zaščitnih in popravljalnih mehanizmov in rastlinam poveča odpornost na neugodne, stresne razmere. Rastlinam, ki so zaradi različnih dejavnikov pod stresom, se poveča dihalni potencial (Germ in Gaberščik, 2003).

Dokazano je bilo, da je bila aktivnost ETS približno dvakrat višja v mladih listih graha kot pa pri že cvetočih listih graha (*Pisum sativum* L.) (Smrkolj in sod., 2006). V raziskavi o vplivu pomanjkanja vode in selena pri dveh vrstah ajde (Pyra in Siva) (Tadina in sod., 2007) so ugotovili, da se je aktivnost ETS ob koncu rastne sezone pri Pyri (obravnavani s selenom) znižala, pri Sivi (obravnavani s selenom) pa povišala, glede na kontrolo. Raziskavo o aktivnosti ETS so naredili tudi na radiču (Germ in sod., 2007), kjer je bila pri vrsti cv. Anvip višja v mladih listih, kasneje pa ni bilo razlik. Pri vrsti cv. Monvip pa je bila ETS višja vse do šestnajstega tedna po kalitvi (Germ in sod., 2007). Respiratorni potencial pri rukoli se je značilno povečal pri rastlinah, katerih semena so bila obravnavana s selenom (Germ in Osvald, 2005).

5.3 FOTOSINTEZNA AKTIVNOST

Vpliv selena na fotosintezno aktivnost v listih rdečega zelja se je pokazal samo pri prvi meritvi, kjer je bila fotosintezna aktivnost statistično nižja pri rastlinah, ki so bile gnojene z nizko koncentracijo selena, v primerjavi s kontrolnimi rastlinami. Pri ostalih obravnavanjih pri zelenem in rdečem zelju vpliva selena na fotosintezno aktivnost ni bilo.

5.4 FOTOKEMIČNA UČINKOVITOST FOTOSISTEMA II

Potencialna fotokemična učinkovitost fotosistem II se statistično ni razlikovala glede na različna obravnavanja od kontrolnih rastlin, niti pri zelenem niti pri rdečem zelju. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi pri buči (Germ in sod., 2005), navadni in tatarski ajdi (Breznik in sod., 2005) ter radiču (Germ in sod., 2007). Pri vseh so bile vrednosti potencialne fotokemične učinkovitosti blizu teoretičnemu maksimumu 0.83 (Schreiber in sod., 1995), kar kaže na nepoškodovan antenski kompleks (Bischof in sod., 1998).

V nasprotju pa so pri jagodi ugotovili, da je selen povečal potencialno fotokemično učinkovitost (Valkama in sod., 2003).

Pri meritvah dejanske fotokemične učinkovitosti fotosistema II ni prišlo do razlike med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, gnojenimi s selenom, niti pri zelenem niti pri rdečem zelju. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi pri buči (Germ in sod., 2005) in radiču (Germ in sod., 2007). Nasprotno pa so pri navadni ajdi opazili povečanje dejanske fotokemične učinkovitosti (Breznik in sod., 2005).

5.5 TRANSPIRACIJA

Selen v večini obravnavanj pri zelenem in rdečem zelju ni imel vpliva na transpiracijo. Edini negativni učinek selena se je pokazal pri drugi meritvi v listih zelenega zelja med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, ki so bile gnojene z visoko koncentracijo selena. Pri slednjih je bila transpiracija za skoraj polovico manjša od kontrolnih rastlin. Opazili smo tudi, da je bila transpiracija pri kontrolnih rastlinah rdečega zelja statistično nižja od kontrolnih rastlin zelenega zelja.

Tadina in sod. (2007) so ugotovili, da sam selen nima vpliva na transpiracijo pri navadni ajdi. Selen je imel vpliv le skupaj s stresom – pomanjkanje vode (Tadina in sod., 2007). Raziskave so potekale tudi na dveh vrstah ajde (navadna in tatarska ajda). Pri sivi (vrsta navadne ajde) so imele rastline, obogatene s selenom, višjo transpiracijo v primerjavi s kontrolnimi rastlinami, medtem ko jo bila transpiracija pri tatarski ajdi statistično značilno nižja v primerjavi s kontrolnimi rastlinami (Tadina, 2005).

5.6 RASTNA ANALIZA IN KONČNA BIOMASA

Pri rastni analizi, ki smo jo opravili na koncu poskusa, smo se osredotočili na dolžino glave in dolžino steba pri zelenem in rdečem zelju. Predvidevali smo, da bo dodatek nizke ali visoke koncentracije selena vplival na dolžino glave in steba pri obeh genotipih zelja. Ugotovili smo, da selen ni imel vpliva na dolžino glave pri obeh genotipih. Razlika se je pojavila samo med genotipoma zelja, pri čemer je imelo rdeče zelje statistično manjše glave od zelenega zelja pri vseh obravnavanjih. Vpliv selena na dolžino steba smo opazili pri rdečem zelju, kjer je selen v nizki koncentraciji statistično povečal dolžino steba, v primerjavi s kontrolnimi rastlinami. Pri zelenem zelju ni bilo statističnih razlik v dolžini steba znotraj obravnavanj.

Za ugotavljanje končne biomase smo rastline ločili na liste (glavo), steblo in korenine. Glede na predhodne raziskave o vplivu selena na biomaso rastlin smo pričakovali ali zmanjšanje ali povečanje biomase.

Suha masa listov rastlin, ki so bile gnojene s selenom, se ni razlikovala od kontrolnih rastlin niti pri zelenem niti pri rdečem zelju. Ravno tako ni bilo razlik v suhi masi stebel ne glede na obravnavanje. Edini vpliv selena smo opazili pri suhi masi korenin. Nizka koncentracija selena je pri rdečem zelju statistično zmanjšala suho maso korenin v primerjavi s kontrolnimi rastlinami. Raziskave pri ljuljki (*Lolium perenne*) in endiviji (*Lactuca sativa*) so pokazale, da ima lahko selen pri koncentracijah, višjih od 10 mg Se/kg, škodljive učinke (redukcija v biomasi). Zmanjšanje suhe mase rastlin zaradi selena so ugotovili tudi pri jagodi (Valkama in sod. 2003). Pozitivne učinke selena na biomaso zelene solate pa so ugotovili pri nižjih koncentracijah (0.1 mg/kg) (Xue in sod., 2001). Germ in sod. (2007) so preučevali vpliv selena na biomaso pri radiču (cv. Anvip in cv. Monvip). Biomasa se je pri cv. Monvip

statistično povečala pri rastlinah, ki so bile gnojene s selenom, v primerjavi s kontrolnimi rastlinami. Pri cv. Anvip razlik v biomasi ni bilo. Stimulatorni efekt selena na rast so ugotovili

tudi pri Ijuljki (Hartikainen in sod., 2000), zeleni solati (Xue in sod., 2001), krompirju (Turakainen in sod., 2004) in listih zelenega čaja (Hu in sod., 2003).

Tadina in sod. (2007) so preučevali vpliv selena na navadno ajdo in ugotovili, da selen (1g Se/L) ni imel vpliva na suho maso poganjka in suho maso korenin. Breznik in sod. (2005) pa so ugotovili, da se je biomasa rastlin navadne ajde statistično zmanjšala pri rastlinah, ki so bile gnojene s selenom (1g Se/L), medtem ko pri tatarski ajdi razlike ni bilo.

5.7 RAZLIKE MED GENOTIPOMA ZELJA

Ugotovili smo, da se v določenih parametrih zeleno in rdeče zelje razlikujeta. Razlika se je pokazala pri vsebnosti klorofilov *a* in *b* ter antocianov na površino lista. Vsebnost le-teh je višja v listih rdečega zelja v primerjavi z listi zelenega zelja.

Po opravljeni rastni analizi smo opazili, da ima zeleno zelje večjo dolžino glave od rdečega zelja. Nasprotno pa se je pokazalo, da ima rdeče zelje daljše steblo in posledično večjo suho maso stebla od zelenega zelja.

5.8 ANALIZA SELENA

Mechora in sod. (v tisku) in Mechora in sod. (v pripravi) so ugotovili, da sta oba genotipa zelja akumulirala veliko koncentracijo selena. Čeprav so rastline sprejele selen, ni bilo vpliva na večino merjenih parametrov.

Predvidevamo, da je zelje odporno na morebitne negativne vplive selena. V določenih raziskavah so uporabili na različnih rastlinah tudi višjo koncentracijo selena (1g/m⁻³), kjer selen ravno tako ni imel vpliva na merjene parametre. Analize prisotnosti selena v zelju so potrdile, da je zelje, kljub ne tako visokim koncentracijam v raztopini, akumuliralo velike količine selena. Glede na to, da je zelje zelo pogosta vrtnina, bi lahko naredili poskus tudi s še večjimi koncentracijami selena v raztopini in se prepričali o njegovem vplivu oziroma ne vplivu.

6 SKLEPI

Selen ni vplival na vsebnost klorofila *a*. Vpliv selena se je pokazal samo v primeru vsebnosti klorofila *b*. Vsebnost klorofila *b* je bila pri zelenem zelju po prvi meritvi nižja pri rastlinah, ki so bile gnojene z nizko koncentracijo selena, v primerjavi s kontrolnimi rastlinami. Kasneje ni bilo razlik v vsebnosti fotosinteznih pigmentov niti pri zelenem niti pri rdečem zelju. Opazili smo, da je po drugi meritvi v večini obravnavanj padla vsebnost klorofilov *a* in *b* na enoto suhe mase tako pri zelenem kot pri rdečem zelju.

Na vsebnost antocianov selen ni imel vpliva. Edini vpliv se je pokazal pri zelenem zelju pri prvi meritvi, kjer je bila vsebnost antocianov nižja pri rastlinah, ki so bile gnojene z visoko koncentracijo selena, v primerjavi s kontrolnimi rastlinami. Po drugi meritvi razlik ni bilo. Splošno smo opazili, da rdeče zelje vsebuje več antocianov na površino lista kot pa zeleno zelje.

Vpliv selena se na aktivnost elektronskega transportnega sistema (ETS) ni izrazil pri nobenem od genotipov zelja.

Selen ni vplival na fotosintezeno aktivnost niti pri zelenem niti pri rdečem zelju. Edini vpliv selena se je pokazal pri rdečem zelju pri prvi meritvi, kjer je bila fotosintezena aktivnost nižja pri rastlinah, ki so bile gnojene z nizko koncentracijo selena, v primerjavi s kontrolnimi rastlinami. Pri zelenem zelju se je fotosintezena aktivnost po drugi meritvi močno znižala, kar delno sovpada s padcem vsebnosti klorofila *a* in *b*.

Potencialna fotokemična učinkovitost je pri vseh rastlinah zelenega in rdečega zelja ostala nespremenjena. Selen ravno tako ni imel vpliva na dejansko fotokemično učinkovitost pri zelenem in rdečem zelju ne glede na obravnavanje. Pri vseh obravnavanjih tako pri zelenem kot pri rdečem zelju pa smo opazili povečanje dejanske fotokemične učinkovitosti po drugi meritvi, v primerjavi s prvo meritvijo. Od tega vzorca odstopajo samo rastline zelenega zelja, ki so bile gnojene z visoko koncentracijo selena.

Selen ni vplival na transpiracijo pri nobenem od genotipov zelja. Izjema so rastline zelenega zelja, ki so bile gnojene z visoko koncentracijo, kjer se je transpiracija znižala po drugi meritvi, v primerjavi s kontrolnimi rastlinami. Pri vseh obravnavanjih tako pri zelenem kot pri rdečem zelju pa se je transpiracija močno znižala po drugi meritvi. Posledično se je znižala tudi fotosintezena aktivnost.

Pri rastni analizi in končni biomasi selen ni pokazal vpliva, ne glede na obravnavanje. Izjem sta dva parametra. Dolžina steba je bila pri rdečem zelju pri rastlinah, ki so bile gnojene z nizko koncentracijo selena, večja od kontrolnih rastlin. Pri istih rastlinah pa smo opazili tudi manjšo biomaso korenin v primerjavi s kontrolnimi rastlinami.

Izmerjeno je bilo, da je zelje akumuliralo velike količine selena, vendar kljub temu ni bilo vpliva na večino merjenih parametrov. Tako lahko rečemo, da je zelje odporno na morebitne negativne vplive selena. Zelje je pri nas zelo pogosta vrtnina, ki se uporablja tako v

prehranske kot v medicinske namene. Zato bi bilo smotrno uporabljati zelje kot poskusno rastlino in ugotavljati, ali je mogoče rastline, obogatene s selenom, uporabljati v prehrani ljudi.

7 POVZETEK

Slovenija je ena izmed evropskih držav, poleg Avstrije, Hrvaške, Slovaške in Finske, ki ima nizko vsebnost selena v tleh. Vzgoja rastlin, obogatenih s selenom, bi lahko bila učinkovit način zagotavljanja selena v prehrani ljudi. Rastline lahko privzemajo selen v obliki selenata (SeO_4^{2-}) ali selenita (SeO_3^{2-}). Znano je, da je selen esencialen mikroelement, ki preprečuje oksidativne poškodbe in pomaga pri regulaciji hormonov pri ljudeh in živalih. Pomanjkanje selena lahko za naš organizem predstavlja precejšen problem, predvsem zato, ker se zmanjša aktivnost GPx, kar lahko povzroči številne zdravstvene težave, kot so na primer bolezni srca in ožilja ali razvoj astmatičnih obolenj.

V diplomskem delu smo ugotavljali vpliv selena na rast in fiziološko aktivnost pri dveh genotipih zelja: zeleno in rdeče zelje (*Brassica oleracea*). V poskus smo vključili selen, da bi ugotovili, ali privzem selena v rastline vpliva bodisi negativno bodisi pozitivno ali pa sploh ne vpliva na rast in fiziološko aktivnost zelja.

S poskusom smo začeli konec aprila 2009 in ga končali konec junija 2009. S selenom smo začeli zalivati v sredini maja in prenehali v sredini junija. Na rastlinah smo izvedli biokemijske meritve (klorofil *a* in *b* ter antociani) in meritve fizioloških parametrov (aktivnost ETS, fotokemična učinkovitost fotosistema II, neto fotosinteza in transpiracija). Vse meritve, razen aktivnosti ETS, smo opravili dvakrat med poskusom. Na koncu pa smo opravili še rastno analizo in biomaso rastlin ter analizo prisotnosti selena.

Ugotovili smo, da selen ni vplival na vsebnost fotosinteznih barvil, saj ni bilo razlik med kontrolnimi rastlinami in rastlinami, ki so bile gnojene s selenom. Le pri prvi meritvi je prišlo do razlike v vsebnosti klorofila *b* pri zelenem zelju (med kontrolo in Se1). Po drugem merjenju klorofilov *a* in *b* ni prišlo do vpliva selena. Pri večini obravnavanj tako pri zelenem kot pri rdečem zelju pa smo opazili, da se je vsebnost klorofilov *a* in *b* na suho maso lista zmanjšala po drugi meritvi. Vse rastline smo zalivali tudi z vodo, tako da niso bile izpostavljene suši, vendar kljub temu lahko padec klorofila pripisemo tudi velikim temperaturam.

Selen je imel negativen vpliv na vsebnost antocianov samo pri zelenem zelju, na rastlinah, ki so bile gnojene z visoko koncentracijo selena. Po drugem merjenju razlike ni bilo več. Med prvo in drugo meritvijo ni bilo razlik v vsebnosti antocianov. Pri večini obravnavanj je rdeče zelje vsebovalo večjo vsebnost antocianov na površino lista kot pa zeleno zelje.

Na aktivnost ETS selen ni imel vpliva. Selen rastlinam ni predstavljal tako velikega stresa, zato rastlinam ni bilo potrebno povečati dihalnega potenciala in tako se aktivnost ETS ni povečala.

Na fotosintezno aktivnost selen ni imel vpliva. Ugotovili smo, da se je fotosintezna aktivnost zmanjšala po drugi meritvi, kar je povezano z manjšo vsebnostjo klorofilov *a* in *b*. Na

transpiracijo selen ravno tako ni imel vpliva. Transpiracija se je močno zmanjšala po drugi meritvi. Vzporedno z njenim zmanjšanjem se je zmanjšala tudi fotosintezna aktivnost in posledično z njo tudi vsebnost klorofilov *a* in *b*.

Potencialna fotokemična učinkovitost je ostala nespremenjena (vrednosti so bile okrog 0,8), kar kaže na to, da ni prišlo do irreverzibilnih poškodb fotosinteznega aparata. Selen tudi na dejansko fotokemično učinkovitost ni imel vpliva. Po drugi meritvi se je le-ta pri vseh obravnavanih povečala v primerjavi s prvo meritvijo in dosegla vrednosti približno 0,6.

Pri merjenju rasti in končne biomase selen na zeleno in rdeče zelje v večini ni vplival. Izjema je rdeče zelje, pri katerem je Se1 vplival na dolžino steba in na suho maso korenin.

Opazili smo, da rdeče zelje v večini vsebuje več klorofilov *a* in *b* ter antocianov na površino lista v primerjavi z zelenim zeljem. Pri rastni analizi smo ugotovili, da ima zeleno zelje večjo dolžino glave od rdečega zelja, v nasprotju pa ima rdeče zelje daljše steblo od zelenega zelja. Skupaj z daljšim stebлом pa smo izmerili tudi večjo suho maso steba pri rdečem zelju kot pa pri zelenem zelju.

Selen je imel zelo različne vplive na merjene parametre. Večino vplivov selen smo opazili pri zelenem zelju. Razlike so se pokazale v večini primerov pri prvi meritvi. Po drugi meritvi ni bilo več opaziti vpliva selen.

8 VIRI

Amthor J.S. 1995. Higher plant respiration and its relationship to photosynthesis. In: Schulze, E.-D., Caldwell, M.M. (ed.) *Ecophysiology of Photosynthesis*. – Berlin, Heidelberg, New York. Springer-Verlag, p. 71-101.

Amweg EL., Stuart DL., Weston DP. 2003. Comparative bioavailability of selenium to aquatic organisms after biological treatment of agricultural drainage water. *Aquatic Toxicology*, 63:13-25

Behne D., Kyriakopoulos A. 2001. Mammalian selenium-containing proteins. *Annual Review of Nutrition*, 21:453-473

Bettini V., Fiori A., Martino R., Mayellano R., Ton P. 1985. Study of the mechanism whereby anthocyanins potentiate the effect of catecholamines on coronary vessels. *Fitoterapia*, 54:67-72

Bischof K., Hanelt D., Wiencke C. 1998. UV- radiation can affect depth-zonation of Antarctic macroalgae. *Mar. Biol. Berlin*, 131: 597-605

Block G., Patterson B., Subar A. 1992. Fruits vegetables and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Nutr. Cancer*, 18:1-29

Breznik B., Germ M., Gaberščik A., Kreft I. 2005. Combined effects of elevated UV-B radiation and the addition of selenium on common (*Fagopyrum esculentum* Moench) and tartary (*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.) buckwheat. *Photosynthetica*, 43: 583-589

Brooks J. D., Paton V. G., Vidanes G. 2001. Potent induction of phase 2 enzymes in human prostate cells by sulforaphane. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 10 (9): 949-954

Byers T., Perry G. 1992. Dietary carotenes, Vitamin C and Vitamin E as protective antioxidants in human cancers. *Annu. Rev. Nutr.*, 12: 139-159

Cheney G. 1950. Anti-peptic ulcer dietary factor. *J. A. Diet Assoc.*, 26: 668-672

Cohen J. H., Kristal A. R., Stanford J. L. 2000. Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk. *J. Natl. Cancer Inst. (Bethesda)*, 92: 61-68

Černe M. 1998. Kapusnice. Ljubljana, Kmečki glas, 173

EC 2002. Directive 2002/46/EC of the European Parliament and the Council. *Official Journal of the European Communities*, L183: 51-57

Ekelund N. G.A., Danilov R.A. 2001. The influence of selenium on photosynthesis and "light-enhanced dark respiration" (LEDR) in the flagellate *Euglena gracilis* after exposure to ultraviolet radiation. *Aquatic Sciences*, 63:457-465

Ellis D. R., Salt D.E. 2003. Plants, selenium and human health. *Current Opinion in Plant Biology*, 6:273-279

Gerhardsson L., Oskarsson A., Skerfving S. 1994. Acid precipitation – effect on trace elements and human health. *The Science of the Total Environment*, 153:237-245

Germ M., Gaberščik A. 2003. Dihalni potencial – kazalnik stresa pri rastlinah. *Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Kmetijstvo*, 81: 335-339

Germ M., Kreft I., Osvald J. 2005. Influence of UV-B exclusion and selenium treatment on photochemical efficiency of photosystem II, yield and respiratory potential in pumpkins (*Cucurbita pepo*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 43:445-448

Germ M., Osvald J. 2005. Selenium treatment affected respiratory potential in *Eruca sativa*. *Acta Agriculturae Slovenica*, 85:329-335

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

Germ M., Stibilj V., Kreft I. 2007. Metabolic importance of selenium for plants. *The European Journal of Plant Science and Biotechnology*, 1(1), 91-97

Hartikainen H., Xue T. 1999. The promotive effect of selenium on plant growth as triggered by ultraviolet irradiation. *Journal of Environmental Quality*, 28:1272-1275

Hartikainen H., Xue T., Piironen V. 2000. Selenium as an antioxidant and pro-oxidant in ryegrass. *Plant and Soil*, 225:193-200

Henry B. S. 1996. Natural food colors. *Natural Food Colorants*. Ed by Henry G. A. F. in Houghton J. D., Blackie Academic and Professional, New York, pp 40-79

Hu Q., Xu J., Pang G. X. 2003. Effect of selenium on the yield and quality of green tea leaves harvested in early spring. *J. Agric. Food Chem.*, 51: 3379-3381

Ip C. P., Lisk D. J. 1994. Enrichment of selenium in allium vegetables for cancer prevention. *Carcinogenesis*, 15:1881-1885

Kabata Pendias A. 2001. *Trace Elements in Soils and Plants (3rd Edn)* CRC Press, Boca Raton, FL, 287 pp

Kamei H., Kojima T., Hasegawa M., Koide T., Umeda T., Yukawa T., Terabe K. 1995. Suppression of tumor cell growth by anthocyanins *in vitro*. *Cancer Invest*, 13:590-594

Kinsella J. E., Frankel E., German B., Kanner J. 1993. Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant foods. *Food Technol.*, 47: 85-89

Kolonel L. N., Hankin J. H., Whittemore A. S., Wu A. H., Gallagher R. P., Wilkens L. R., John E. M., Howe G. R., Dreon D. M., West D. W., Paffenbarger R. S. 2000. Vegetables, fruits, legumes and prostate cancer: a multiethnic case-control study. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, 9: 795-804

Kuznetsov V. V., Kholodova V. P., Kuznetsov V. I. V., Yagodin B. A. 2003. Selenium regulates the water status of plants exposed to drought. *Doklady Biological Sciences*, 390:266-268

Lemly A. D. 2002. Selenium Assessment in Aquatic Ecosystems – a Guide for Hazard Evaluation and Water Quality Criteria, Springer-Verlag, New York, 161 pp

Lyons G., Ortiz-Monasterio I., Stangoulis J., Graham R. 2005. Selenium concentration in wheat grain: Is there sufficient genotypic variation to use in breeding? *Plant and Soil*, 269:369-380

Martinez R. 1992. Respiration and respiration electron transport activity in marine phytoplankton; growth rate dependence and light enhancement. - *J. Plankton Res.*, 14, 6: 789-797.

Mechora Š., Stibilj V., Radešček T., Gaberščik A., Germ M. 2011. Impact of Se (IV) fertilization on Se concentration in different parts of red cabbage plants. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 9:357-361 (v tisku)

Muth E. R. 2000. The effect of bilberry nutritional supplementation on night visual acuity and contrast sensitivity. *Alt Med Rev*, 5:164-173

Nowak J., Kkaklewski K., Ligocki M. 2004. Influence of selenium on oxidoreductive enzymes activity in soil and in plants. *Soil Biology and Biochemistry*, 36:1553-1558

Pajk F. 2006. Vpliv UV-B sevanja na šentjanževko (*Hypericum perforatum* L.)Dipl. naloga. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo.

Piccaglia R., Marotti M., Baldoni G. 2002. Factors influencing anthocyanin content in red cabbage (*Brassica oleracea* var *capitata* L f *rubra* (L) Thell). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 1504-1509

Pirc S., Šajn R. 1997. The influence of geochemistry in determination of chemical loadnig of environment. Ljubljana, Slovenian Ecological Society, 165-185.

Prior R. L., Cao G. 2000. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables. Diet and health implications. Hortic. Sci., 35: 588-592

Rotruck J. T., Pope A. L., Ganther H. E., Hafeman D. G., Swanson A. B., Hoekstra W. G. 1973. Selenium: biochemical role as a component of glutatione peroxidase. Science, 179:588-590

Schreiber U., Bilger W., Neubauer C. 1995. Chlorophyll fluorescence as a nonintrusive indicator for rapid assessment of *in vivo* photosynthesis. Ecophysiology of Photosynthesis, pp 49-70

Shamberger R. J. 1981. Selenium in the environment. Science of the Total Environment, 17:59-74

Shanker A. K. 2006. Countering UV-B stress in plants: does selenium have a role? Plant and Soil, 282:21-26

Shimizu T., Muroi T., Ichi T., Nakamura M., Yoshihira K. 1997. Analysis of red cabbage colors in commercial foods using high performance liquid chromatography with photodiode array detection-mass spectrophotometry. Food Hyg Soc, 38:34-38

Simon R. A. 1998. Update of sulfite sensitivity. Allergy, 53(Suppl 46):78-79

Singh J., Upadhyay A. K., Bahadur A., Singh B., Singh K. P., Rai M. 2006. Antioxidant phytochemicals in cabbage (*Brassica oleracea* L. var capitata). Scientia Horticulturae, 108: 233-237

Smrkolj P., Pograjc L., Hlastan-Ribič C., Stibilj V. 2005. Selenium content in selected Slovenian foodstuffs and estimated daily intakes of selenium. Food Chemistry, 90:691-697

Smrkolj P., Germ M., Kreft I., Stibilj V. 2006. Respiratory potencial and Se compounds in pea (*Pisum sativum* L.) plants grown from Se-enriched seeds. Journal of Experimental Botany 57:3595-3600

Tadina N. 2005. Vpliv suše na dve vrsti ajde (*Fagopyrum esculentum* in *Fagopyrum tataricum*). Dipl. naloga. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo.

Tadina N., Germ M., Kreft I., Breznik B., Gaberščik A. 2007. Effects of water deficit and selenium on common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.) plants. *Photosynthetica*, 45: 472-476

Tamura H., Yamagami A. 1994. Antioxidative activity of monoacylated anthocyanins isolated from Muscat Bailey A grape. *Agric Food Chem*, 42:1612-1615

Tapiero H., Townsend D. M., Tew K. D. 2003. Dossier: Oxidative stress pathologies and antioxidants: The antioxidant role of selenium and seleno-compounds. *Biomed. Pharmacotherapy*, 57: 134-144.

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

Tinggi U. 2003. Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: a review. *Toxicology Letters*, 137:103-110

Turakainen M., Hartikainen H., Seppanen M. M. 2004. Effects of selenium treatments on potato (*Solanum tuberosum*) growth and concentrations of soluble sugars and starch. *J. Agric. Food Chem.*, 52: 5378-5382

US EPA 1987. Ambient aquatic life criteria for selenium. EPA-440/5-87-006. US Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC, pp 142-237

Valkama E., Kivimäenpää M., Hartikainen H., Wulff A. 2003. The combined effects of enhanced UV-B radiation and selenium on growth, chlorophyll fluorescence and ultrastructure in strawberry (*Fragaria x ananassa*) and barley (*Hordeum vulgare*) treated in the field. *Agric. For. Meteorol.*, 120: 267-278

Wang H., Cao G., Prior R. L. 1996. Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric Food Chem*, 44: 701-705

Wang H., Cao G., Prior R. L. 1997. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *J. Agric Food Chem*, 45:304-309

Wu L. 2004. Review of 15 years of research on ecotoxicology and remediation of land contaminated by agricultural drainage sediment rich in selenium. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 57:257-269

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

Zhang Y., Talalay P., Cho C. G., Posner G. H. 1992. A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli: isolation and elucidation of structure. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 2399-2403

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici doc. dr. Mateji Germ za prijazno pomoč, literaturo in vse nasvete pri izvedbi poskusa in pisanju diplomske naloge.

Prof. dr. Ivanu Kreftu se zahvaljujem za vsestransko pomoč pri praktični izvedbi poskusa in nasvete pri vzgoji zelja. Hkrati se zahvaljujem za recenzijo naloge.

Hvala prof. dr. Alenki Gaberščik za nasvete pri praktični izvedbi poskusa.

Zahvaljujem se Draganu Abramu (tehnični sodelavec), Špeli Mechora in Ireni Smole za pomoč pri praktični izvedbi poskusa.

Zahvala tudi Draganu Žnidarčiču, mag. in Mateju Jeraši (tehnični sodelavec) za pripravo poskusnega polja in nasvete pri vzgoji zelja.

