

ZBORNİK VAJ ŠTUDENTOV
BIOTEHNOLOGIJE
pri predmetu
OKOLJSKA BIOTEHNOLOGIJA 2019/20



**ZBORNİK VAJ ŠTUDENTOV BIOTEHNOLOGIJE
PRI PREDMETU OKOLJSKA BIOTEHNOLOGIJA
2019/20**

Urednik: asist. Jure Mravlje

Mentorica študentom: prof. dr. Katarina Vogel-Mikuš

ZBORNİK VAJ ŠTUDENTOV BIOTEHNOLOGIJE PRI PREDMETU OKOLJSKA BIOTEHNOLOGIJA 2019/20

V zborniku so zbrani zaključni članki (poročila) pri predmetu »Okoljska biotehnologija – rastlinski del« za študente II. stopnje študija Biotehnologija, napisani na osnovi rezultatov poskusov, ki so jih študenti opravljali doma v času karantene.

Založnik: Katedra za botaniko in fiziologijo rastlin, Oddelek za biologijo,
Biotehniška fakulteta UL

Zbral in urednil: Jure Mravlje, jure.mravlje@bf.uni-lj.si

Naslov založništva: Katedra za botaniko in fiziologijo rastlin, Oddelek za
biologijo, BF UL, Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

Fotografija z naslovnice: paragvajski tolstovec (*Graptopetalum paraguayense*),
avtor Jure Mravlje

Leto izida: avgust 2020

Kraj izida: Ljubljana

Elektronska izdaja

Kataložni zapis o publikaciji (CIP) pripravili v Narodni in univerzitetni
knjižnici v Ljubljani

COBISS.SI-ID=27968515

ISBN 978-961-6822-65-7 (pdf)

(dostopno: <http://www.bf.uni-lj.si/oddelek-za-biologijo/oddelek/katedre/botanika-in-fiziologija-rastlin/>)

KAZALO VSEBINE

VPLIV DETERGENTA ZA POMIVANJE POSODE »Tandil« NA KALITEV IN RAST PŠENICE (Kolenc, Lavrenčič)	5
VPLIV ŠAMPONA »Head and Shoulders« NA KALITEV IN RAST JEČMENA (<i>Hordeum vulgare</i>) (Kordiš, Osovníkar)	11
VPLIV DETERGENTA ZA PERILO »Ariel Color Gel« NA KALJIVOST IN RAST FIŽOLA (Hozjan, Otoničar)	18
VPLIV GELA ZA TUŠIRANJE »Axe Ice Chill« NA KALJIVOST SEMEN IN RAST KORUZE (Jovanovski, Troha)	27
VPLIV ČISTILA »Meglio« NA KALITEV IN RAST KORUZE (<i>Zea mays</i>) (Godec, Obelšer)	38
VPLIV KUHINJSKEGA DETERGENTA »Tandil« NA KALITEV IN RAST FIŽOLA (Bežec, Fuks)	47
VPLIV ČISTILA »Stalex« NA KALJIVOST IN RAST KUMARIC (Kasunič, Krklec)	56
VPLIV VARIKINE NA KALJIVOST SEMEN IN RAST NAVADNEGA FIŽOLA (<i>Phaseolus vulgaris</i>) (Kralj, Renko)	65
VPLIV DETERGENTA »Ariel Color Gel – Concentrated« NA KALITEV IN RAST AJDE (Lovše, Slunečko)	75
VPLIV RAZMAŠČEVALCA »Cillit Bang« NA KALITEV IN RAST FIŽOLA (Matijašič, Zaharjeva)	87
VPLIV ČISTILA »Mr. Muscle« NA KALIVOST IN RAST KALIC JEČMENA (<i>Hordeum vulgare</i>) (Fortuna, Janežič)	96
VPLIV ŠAMPONA »Narta« NA KALITEV IN RAST FIŽOLA (Jovčevska, Kolar)	110
VPLIV RAZMAŠČEVALCA »Meglio« NA KALJENJE IN RAST VODNE KREŠE (<i>Nasturtium officinale L.</i>) (Lorenčič, Rutar)	123
VPLIV BIOLOŠKEGA ČISTILA »Frosch« NA KALITEV IN RAST PŠENICE (Beden, Jelovšek)	139
VPLIV DETERGENTA »Finish Powerball All In One« (tablete za strojno pomivanje posode) NA KALITEV IN RAST KUMAR (Bajc, Trupej)	150
VPLIV TEKOČEGA MILA »Ombia« NA KALJIVOST SEMEN TER RAST POGANJKOV IN KORENIN VRTNE KREŠE (Jamnik, Furlan)	166
VPLIV ZOBNE PASTE »Sensodyne Repair & Protect« NA RAST IN KALJENJE FIŽOLA (<i>Phaseolus vulgaris</i>) (Markež, Pavlin)	183
VPLIV USTNE VODICE »Listerine« NA KALITEV IN RAST BOŽIČNEGA ŽITA (Papler, Šipec)	204
VPLIV RAZMAŠČEVALCA »Meglio« NA KALITEV IN RAST JERUZALEMSKEGA FIŽOLA (Rečnik, Ulaga)	225

VPLIV DETERGENTA ZA POMIVANJE POSODE »Tandil« NA KALITEV IN RAST PŠENICE

Avtorja: Živa Kolenc in Eva Lavrenčič

Izvleček

Želeli smo ugotoviti vpliv različnih koncentracij detergenta za posodo na kalitev božičnega žita (*Triticum spp.*). Spremljali smo rast in dolžino poganjkov in korenin. Na kalilnik iz kartona smo namestili pšenična semena in jih namočili z različnimi koncentracijami detergenta za posodo. Po 9 dneh smo izmerili dolžino korenin in poganjkov pšenice. Rast in kaljivost sta bili najnižji pri najvišji koncentraciji detergenta (10 %). Srednja koncentracija (1 %) je negativno vplivala na dolžino korenine in pozitivno na število korenin. Rast in kaljivost pri najnižji koncentraciji (0,1 %) se nista razlikovali od kontrole. Zaključili smo, da ima detergent pri koncentracijah 1 % in 10 % negativen vpliv na rast pšenice.

Uvod

Detergenti za pranje posode so mešanica različnih sestavin, ki se uporabljajo kot čistila v gospodinjstvih in industrijah. Posledica tega je, da so industrijske in gospodinske odplake kontaminirane z detergenti v različnih koncentracijah. V mnogo državah v razvoju se takšne odplake uporabljajo za namakanje polj, kar lahko vpliva na rast in razvoj rastlin (Jaramillo in Restrepo, 2017). Kljub temu lahko le redko najdemo znanstveno literaturo, ki bi preučevala učinek komercialnih detergentov za posodo na kalitev, rast poganjkov in korenin, rastlinsko biomaso, število listov, viabilnost, celične poškodbe ali vsebnost proteinov in koncentracijo ionov (Uzma in sod., 2018). Naš cilj je bil preveriti, kako različne koncentracije komercialnega detergenta za posodo vplivajo na kalitev in rast pšenice (*Triticum spp.*), ki je pomembna kmetijska rastlina. Predvidevali smo, da bo detergent v nizkih koncentracijah (0,1 %) zaradi svoje sposobnosti omočitve površine semen pospešil kalitev semen, nato pa negativno vplival na nadaljnjo rast, v višjih koncentracijah (1 % in 10 %) pa popolnoma zaustavil kalitev in rast pšeničnih semen.

Metode in materiali

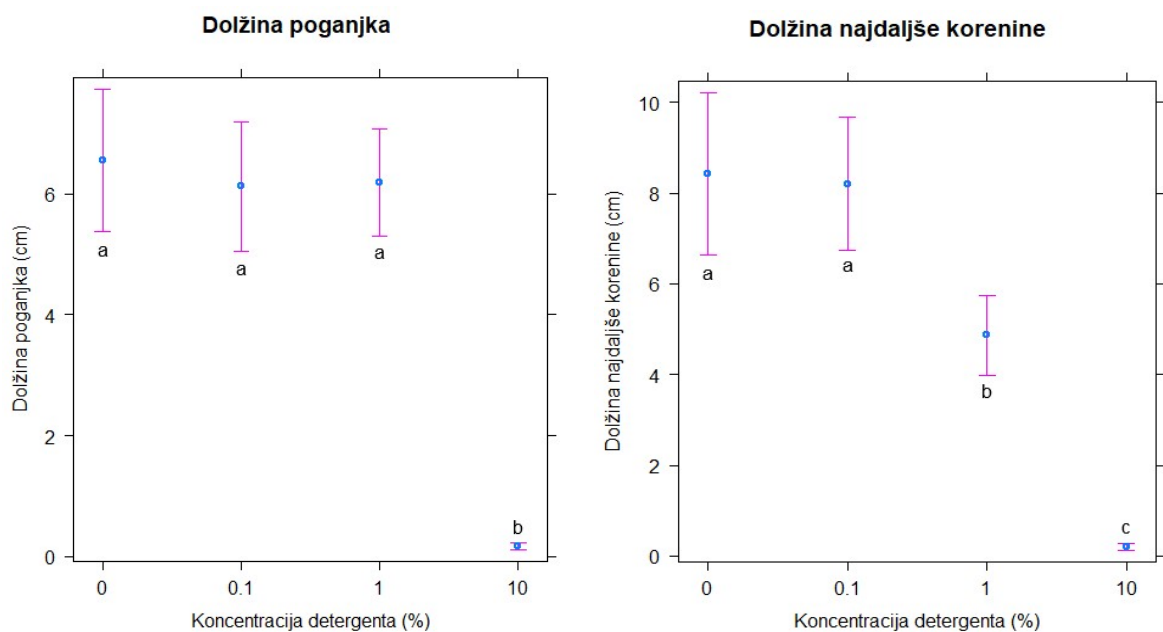
Pripravili smo raztopine koncentriranega sredstva za pomivanje posode *Tandil* z aromo limone. Detergent vsebuje 10-15 % amfoterne površinsko aktivne snovi, anionske površinsko aktivne snovi, encim amilazo, parfume (limonen in citral) ter konzervanse (benzisothiazolinone in methylisothiazolinone). Uporabili smo koncentracije 0,1 %, 1 % in 10 % (w/w) detergenta v vodni raztopini, naša kontrola je bila voda iz pipe. Prvo redčitev (10 % (w/w)) smo pripravili tako, da smo v 500 mL vode dodali 50 g koncentriranega sredstva za pomivanje posode in raztopino nežno vendar temeljito premešali. Za pripravo 1 % koncentracije smo v 500 mL vode dodali 50 g 10 % raztopine in premešali, za pripravo 0,1 % (w/w) koncentracije pa smo v 500 mL vode dodali 50 g 1 % koncentracije in premešali. Kalilnik smo sestavili iz spodnje plasti aluminijaste folije in zgornje plasti kartona velikosti 50 x 30 cm. Karton smo namočili z raztopino vode (kontrola) in raztopinami detergenta ter na vsak karton položili 25 semen pšenice, ki smo jih kupili v semenarni. Nato smo s papirnatimi brisačkami, navlaženimi v ustreznih raztopinah, fiksirali seme in karton zavili ter postavili pokonci v posodo z ustrežno raztopino oziroma kontrolo. Kalilnike smo postavili na svetlobo in pazili, da so bili vedno vlažni. Po potrebi smo dolivali ustrezne raztopine. Po 9 dneh smo kalilnike razvili in prešteli vzkaljena semena, izmerili dolžino poganjkov in najdaljše korenine ter prešteli število stranskih korenin. Podatke smo analizirali v programskem paketu R. Analizirali smo vpliv detergenta na dolžino poganjka, dolžino korenine, število korenin in kaljivost. Zaradi prisotne heteroskedastičnosti smo ocenili linearni model po metodi tehtanih najmanjših kvadratov, kjer smo kot uteži uporabili varianco znotraj posameznih skupin in v primeru statistično značilnega rezultata uporabili Tukeyev test hkratnih primerjav.

Rezultati

Ugotovili smo, da ima koncentracija detergenta statistično značilen vpliv na dolžino poganjka, dolžino najdaljše korenine, število korenin in kaljivost. Na dveh semenih se je pojavila plesen (enkrat pri kontroli in enkrat pri koncentraciji 10 %). Koncentraciji detergenta 0,1 % in 1 % nista imeli statistično značilnega vpliva na dolžino poganjka v primerjavi s kontrolo (Slika 1), poganjki so v povprečju zrasli približno do dolžine 6 cm; prav tako ni bilo opazne spremembe v barvi poganjkov. 10 % koncentracija detergenta je rast poganjka skoraj popolnoma zavrla, najdaljši poganjki so zrasli le do dolžine 5 mm, preden so odmrli in se posušili. Pri dolžini

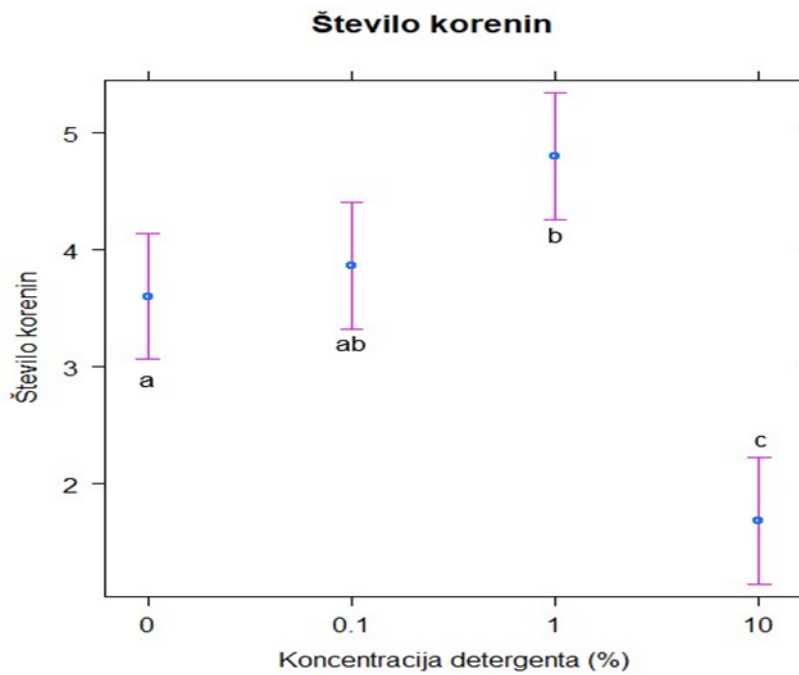
najdaljše korenine (Slika 2) nismo zaznali statistično značilnih razlik med kontrolo in izpostavitvi koncentraciji 0,1 %. Pri koncentraciji 1 % je bila glavna korenina v povprečju približno 40 % krajša kot kontroli. Ponovno je koncentracija 10 % skoraj popolnoma zavrla rast korenin: korenine so pri izpostavitvi najvišji koncentraciji začele rasti, vendar so se pri dolžini 1 do 2 mm nehale razvijati. Število korenin (Slika 3) je bilo pri izpostavitvi koncentraciji 1 % višje kot pri kontroli. Rastlina je namreč pognala korenine, ki pa so propadle. Število korenin je bilo pri izpostavitvi koncentraciji 10 % nižje od vseh drugih izpostavitvev. Podobno kot pri dolžini poganjka, tudi pri kaljivosti (Slika 4) ni bilo statistično značilnih razlik med kontrolo ter izpostavitvami 0,1 % in 1 %, kaljivost je v povprečju znašala med 86 % in 96 %. Izpostavitvev 10 % koncentraciji detergenta je zavrla kalitev 48 % semen.

Detergent v koncentraciji 0,1 % ni imel vpliva na rast in kalitev. Pri koncentraciji 1 % so bile korenine krajše, njihovo število pa je bilo večje kot pri kontroli. Koncentracija 10 % je zavrla rast poganjkov in korenin ter kaljivost.

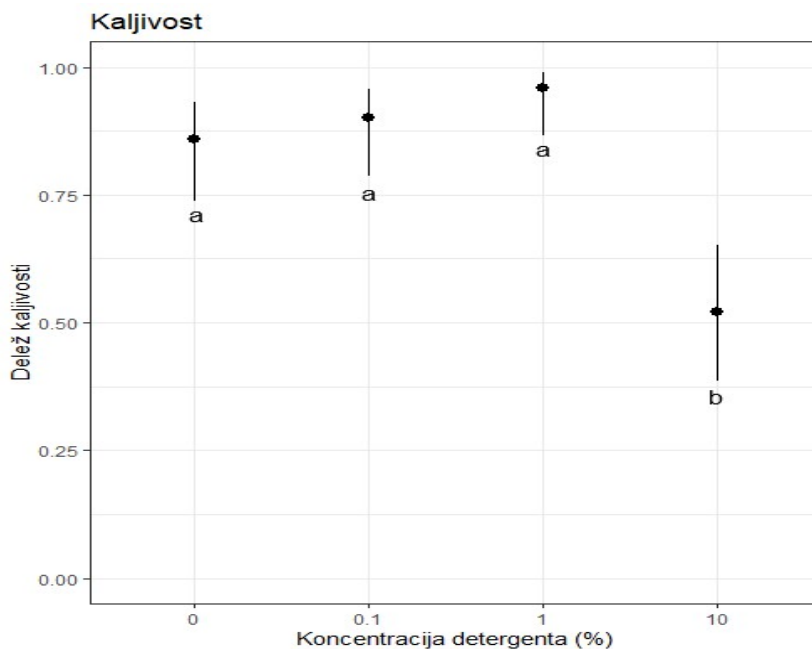


Slika 1: Povprečna dolžina poganjka glede na koncentracijo detergenta s 95 % intervalom zaupanja za povprečno napoved. Različne črke ob povprečnih vrednostih pomenijo statistično značilne razlike ($p < 0,05$).

Slika 2: Povprečna dolžina najdaljše korenine glede na koncentracijo detergenta s 95 % intervalom zaupanja za povprečno napoved. Različne črke ob povprečnih vrednostih pomenijo statistično značilne razlike ($p < 0,05$).



Slika 3: Povprečno število korenin glede na koncentracijo detergenta s 95 % intervalom zaupanja za povprečno napoved. Različne črke ob povprečnih vrednostih pomenijo statistično značilne razlike ($p < 0,05$).



Slika 4: Kaljivost v odvisnosti od koncentracije detergenta s 95 % intervalom zaupanja za delež (spodaj desno). Različne črke ob povprečnih vrednostih pomenijo statistično značilne razlike ($p < 0,05$).

Diskusija

Onesnaženost vode z raznoraznimi onesnažili je vedno večji problem današnjega časa in se pripisuje predvsem naraščajoči populaciji in industrializaciji. V mnogih državah v razvoju odpadne vode uporabljajo v kmetijstvu, kar ima lahko svoje prednosti in slabosti (Jaramilo in Restrepo, 2017). V Indiji je uporaba 100 % odpadne vode za zalivanje pšenice pokazala negativne vplive na pridelek, medtem ko je vsaj za 50 % razredčena odpadna voda pokazala pozitivne vplive tako na kalitev semen kot na rast in dolžino poganjkov ter povišano vsebnost klorofila (Dash, 2012). Med odpadnimi vodami se seveda poleg detergentov za posodo nahaja še ogromno drugih kemičnih (potencialno strupene kovine, ogljikovi hidrati, pesticidi) in bioloških (bakterije, gliste, protozoe, virusi, paraziti) onesnažil (Jaramillo in Restrepo, 2017). Raziskava z detergenti za perilo je prišla do zaključkov, da koncentracije 1-500 mg/L ne vplivajo bistveno na kalitev semen pri koruzi (*Zea mays*) ali na rast poganjkov, število in širino listov. Zanimivo je, da je eden izmed detergentov vzpodbudil rast korenin, drugi pa je rast korenin zavrl. Večje težave so se pokazale pri nadaljnji rasti koruze, saj je detergent v visoki koncentraciji poškodoval svetlobno-žetvene komplekse in preživetje celic (Uzma in sod., 2018).

Čeprav se detergenti za perilo in detergenti za posodo razlikujejo, vsi delujejo na enakem principu, in sicer tako, da razbijajo maščobe. Razlike med detergentom za perilo in posodo so v pH, odsotnosti belila pri detergentu za posodo, vsebnosti encimov in vrsti surfaktanta ter dišav. Ker je naš detergent za posodo znamke Tandil namenjen ročnemu pranju posode, deluje pri nevtralnem pH in zato na rastlinah ne povzroča slanostnega stresa, temveč rastlina propade zaradi uničenja membran zaradi vpliva detergenta.

Zanimivo je, da ni razlik med % kaljivosti pri nizki koncentraciji detergenta in med kontrolo. Pričakovali smo, da se bo zaradi vsebnosti encima amilaze v detergentu, ki v semenih sicer razkrajja endosperm in omogoča dostopnost hranil za rastlinski zarodek (Jiang in sod., 2020), kaljivost pri nizki koncentraciji nekoliko povečala, in da bo detergent zaradi svojih zmožnosti kot omočilo razbil maščobe ali voske, ki se nahajajo na površini perikarpa, ter tako omogočil hitrejši vstop vode v seme, vendar razlika ni bila statistično značilna. V visokih koncentracijah je detergent deloval ravno nasprotno, in sicer so bila semena na izgled posušena, saj je detergent uničil fosfolipidni dvosloj v membranah celic.

Pričakovali smo, da bo rastlina pri nizkih koncentracijah poskušala razredčiti kemikalijo s pospešeno rastjo, vendar se to ni zgodilo. Zanimivo je, da je število korenin najvišje pri koncentraciji 1 %, saj je rastlina pognala korenine, ki pa so zaradi vpliva detergenta že kmalu propadle. Detergent je imel negativen vpliv predvsem na rast korenine, saj sta detergent in surfaktant povzročila izgubo integritete celične membrane korenin in denaturacijo proteinov. Korenine, ki so bile v stiku z raztopino detergenta, so bile bolj prizadete kot poganjki.

Zaključek

Rezultati so primerljivi z obstoječimi raziskavami. Pri koncentracijah 1 % in 10 % lahko potrdimo negativni učinek detergenta za ročno pranje posode na rast pšenice, pri koncentraciji 10 % je močno zavrta tudi kalitev. Pri nižjih koncentracijah detergent nima negativnih vplivov na rast pšenice. Poskus bi bilo smiselno še enkrat ponoviti v kontroliranem okolju.

Literatura

- Dash A (2012) Impact of domestic waste water on seed germination and physiological parameters of rice and wheat. *International Journal of Recent Research and Applied Studies* 12 (2):. <https://www.researchgate.net/publication/267365334>
- Jaramillo MF, Restrepo I (2017) Wastewater reuse in agriculture: A review about its limitations and benefits. *Sustain.* 9
- Jiang B, Wang L, Xu C, Yan M (2020) Hydropriming enhances the germination of aged ultra-dry wheat seeds. *Seed Sci Technol* 48:57–63. <https://doi.org/10.15258/sst.2020.48.1.08>
- Uzma S, Khan S, Murad W, et al (2018) Phytotoxic effects of two commonly used laundry detergents on germination, growth, and biochemical characteristics of maize (*Zea mays* L.) seedlings. *Environ Monit Assess* 190:. <https://doi.org/10.1007/s10661-018-7031-6>

VPLIV ŠAMPONA »Head and Shoulders« NA KALITEV IN RAST JEČMENA (*Hordeum vulgare*)

Avtorja: Matjaž Kordiš in Pina Osovníkar

Izvleček

Namen dela je ugotoviti učinek gospodinjskih kemikalij (natančneje šampona proizvajalca Head and Shoulders) na kalitev semen in rast rastlin vrste *Hordeum vulgare* oziroma ječmen. Izvedli smo kalitveni test ječmenovih semen v kartonskem kalilniku. Ob koncu poskusa smo izračunali odstotek kaljivosti semen ter izmerili dolžino poganjka, glavne korenine in število stranskih korenin. Rezultati poskusa so potrdili naše hipoteze. Ugotovili smo, da nizke koncentracije šampona v vodi nimajo negativnih vplivov na kalitev, medtem ko je rast poganjkov in korenin rahlo zavrta. Visoke koncentracije šampona v vodi so negativno vplivale na število korenin in kaljivost semen.

Uvod

Onesnažila v vodi – tako antropogenega kot tudi geološkega izvora, so vse pogostejša problematika po vsem svetu. Višja vsebnost onesnažil v vodi ima lahko resne posledice na zdravje ljudi, živali in rastlin. Vrste in koncentracije naravnih onesnažil v vodi so odvisne od narave geoloških materialov skozi katere ta teče, onesnažila antropogenega izvora pa so posledica človeške dejavnosti, torej stranski proizvodi kmetijstva, industrije in gospodinjstev. Najpogostejša onesnažila humanega izvora so kovine (živo srebro, baker, svinec, krom...), nevarne kemikalije, barvila ter pesticidi in insekticidi. Nepravilno skladiščenje ali odstranjevanje kemikalij kot so barve, sintetični detergenti, topila, olja, zdravila, razkužila, kemikalije v bazenu, pesticidi, baterije, bencin in dizelsko gorivo, lahko privede do onesnaženja podtalnice (Sharma in Bhattacharya, 2017).

Voda onesnažena s kemikalijami iz gospodinjskih produktov, kot so kemikalije v čistilih in izdelkih za osebno nego, ter različnih farmacevtskih produktih, postaja vse večji problem, saj le-ti predstavljajo glavni vir onesnaženja tal in vode na območju urbanih predelov. Velika uporaba izdelkov za osebno nego (mila, losjoni, zobne paste, kozmetika...) in čistil, ki vsebujejo velike količine sintetičnih kemikalij ter njihovo nepravilno odstranjevanje, skupaj z neučinkovitim čiščenjem urbane odpadne vode, vodi v vedno večje količine onesnažil v vodnih

telesih (Montes-Grajales in sod., 2017). Več študij poroča, da so v naravnem okolju po vsem svetu odkrili sledi izdelkov za osebno nego in farmacevtikov. Čeprav so poročane koncentracije izdelkov v okolju na splošno nizke, je skrb vzbujajoče dejstvo, da so bile kemikalije najdene v vrsti različnih vodnih in celinskih okoljih, ter da gre za biološko aktivne spojine, ki lahko v okolju ostanejo več mesecev ali let (Boxall in sod., 2012).

Prisotnost kemikalij, ki izvirajo iz izdelkov za osebno nego in drugih gospodinjskih kemikalij, je za rastline lahko toksična. Toksičnost kemikalij se kaže neposredno, kot negativen vpliv na količino fotosinteznih pigmentov, zmanjšano število in velikost listov, zavrtje elongacije korenin in drugih negativnih učinkov, ki vplivajo direktno na rast rastline, ali pa posredno, in sicer preko antimikrobnih učinkov na simbiotsko mikrobioto v tleh (Bartrons in Peñuelas, 2017).

Cilj eksperimenta je določiti vpliv gospodinjskih kemikalij, ki se nahajajo v šamponu Head and Shoulders, na odstotek kaljivosti, ter rast poganjkov in korenin ječmena. Naša hipoteza je bila, da nižja koncentracija raztopine šampona v vodi (0.001%) ne bo imela vpliva na kaljivost semen in rast rastlin. Višje koncentracije raztopine šampona v vodi pa bodo negativno vplivale na kaljivost semen in rast poganjkov. Predvidevamo, da se bo z višanjem koncentracije šampona v raztopini zmanjševal odstotek kaljivosti semen, rast poganjkov in korenin bo zavrti, število stranjskih korenin pa se bo zmanjšalo.

Metode in materiali

Za izvedbo poskusa smo si izbrali poljubno gospodinjsko kemikalijo – v našem primeru šampon proizvajalca Head and Shoulders, in izvedli serijo redčitev. Za izvedbo poskusa smo uporabili štiri tretmaje in sicer: kontrolo (brez dodatka šampona), 0.001%, 0.01% in 0.1% raztopino šampona v vodi.

Kalitveni test smo izvedli s semeni ječmena, ki smo jih gojili v kartonskem kalilniku do višine poganjkov 5 cm pri kontrolnem poskusu. Za vsako koncentracijo raztopine šampona in vode smo izdelali svoj kalilnik in v vsakem kalilniku kalili 25 semen ječmena. Poskus smo izvedli v dveh paralelkah za vse koncentracije šampona v vodi in kontrolno raztopino.

Kalilnik smo izdelali iz kartona, za vsako redčitev posebej. Karton smo razrezali na dimenzije 40cm x 50cm in ga omočili z izbrano raztopino. Nato smo 25 semen izbrane vrste položili

približno 5cm pod vrhom kalilnika in jih rahlo potisnili v karton, ter fiksirali z več plastmi papirja. Tako pripravljen karton smo zavili in ga postavili v posodo z ustrezno raztopino, da je ta omakala karton, ter kalilnik postavili na svetlobo.

Ko je višina poganjkov pri kontrolnem poskusu dosegla 5 cm, smo izračunali kaljivost semen pri vseh koncentracijah raztopin šampona in vode, izmerili dolžino poganjkov in glavne korenine, ter prešteli število stranskih korenin. Rezultate smo statistično obdelali in jih grafično prikazali v poglavju rezultati.

Za statistično analizo podatkov smo uporabili Levenov test za potrditev, ali podatki o povprečni višini poganjkov in korenin ustrezajo predpostavki o homogenosti varianc in ali lahko zaupamo kasnejšemu ANOVA testu ($p > 0,05$). S slednjim smo nato preverili, ali obstajajo statistično pomembne razlike med povprečno višino poganjkov in korenin ($p < 0,05$). Da bi izvedeli, kateri tretmaji se med seboj razlikujejo, smo izvedli še Bonferroni – Holmov post-hoc test.

Rezultati

V Tabeli 1 vidimo, da smo najvišjo kaljivost izmerili v 0,001% raztopini, najnižjo v 0,1% raztopini, 0,01% redčitev pa je imeli isti odstotek kaljivosti kot kontrola. Povprečna višina poganjka je bila prav tako najvišja pri 0,001% raztopini najnižja pri 0,1% raztopini, višina poganjka v 0,01% raztopini pa je bila tokrat nižja od tistega v kontroli. Povprečna dolžina korenin je bila najvišja pri kontrolni raztopini, nato pa je dolžina korenina upadal z višanjem koncentracije šampona v vodi. Razlika med povprečnim številom korenin bila zelo majhna, ječmen v 0,1% raztopini je v povprečju imel 4 korenine, medtem ko je bilo pri ostalih raztopinah in kontroli povprečno število korenin približno 6.

Tabela 1: Povprečna dolžina poganjka, korenin, število korenin in odstotek kaljivosti.

Raztopina (%)	Povprečna višina poganjka (mm)	Povprečna dolžina korenine (mm)	Povprečno število korenin	Odstotek kaljivosti (%)
Kontrola	56,2	92,5	6,2	92
0,001	58,3	84,2	6,0	96
0,01	42,6	38,2	6,4	92
0,1	10,7	8,0	4,2	18

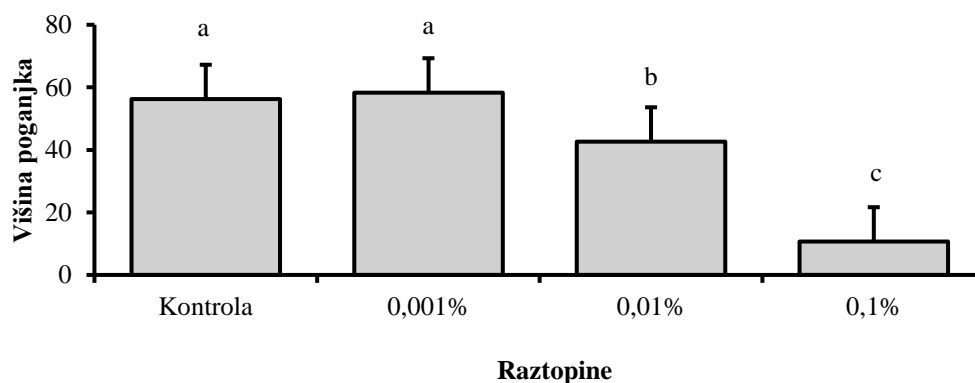
Kalitev



Slika 1: Odstotek kaljivosti v različnih raztopinah

Kaljivost v 0,001 in 0,01% raztopini je bila primerljiva s kontrolo (višja od 90%), medtem ko je bila kaljivost semen v najmanj redčeni raztopini (0,1%) le 18%.

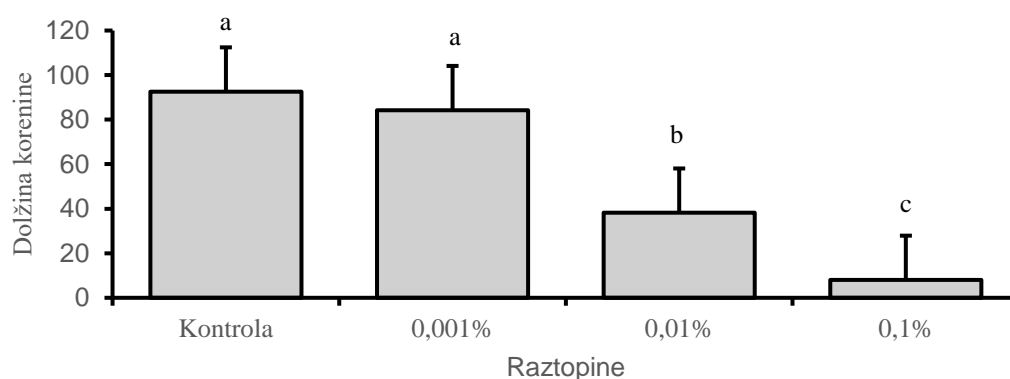
Višina poganjkov



Slika 2: Povprečna višina poganjka in standardna napaka v različnih raztopinah

Z uporabo Levenovega testa smo potrdili ($p > 0,05$), da podatki o povprečni višini poganjkov ustrezajo predpostavki o homogenosti varianc in da lahko zaupamo kasnejšemu ANOVA testu. S slednjim smo nato potrdili statistično pomembne razlike med povprečno višino poganjkov ($p < 0,05$). Da bi izvedeli, kateri tretmaji se med seboj razlikujejo, smo izvedli še Bonferroni – Holmov post-hoc test. Ta statistično pomembnih razlik ni prepoznal le pri kontroli in 0,001% raztopini, vse ostale skupine pa se med seboj statistično značilno razlikujejo.

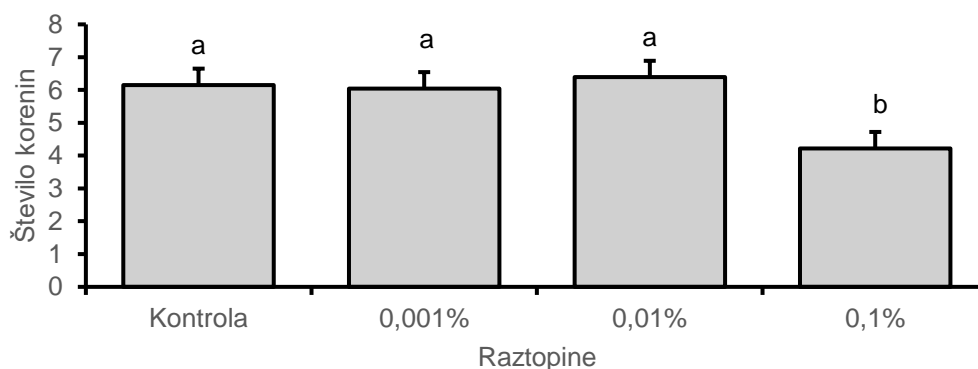
Dolžina korenin



Slika 3: Povprečna dolžina korenin s standardno napako v različnih raztopinah

Rezultate analize povprečne dolžine korenin moramo jemati previdno, saj podatki ne ustrezajo Lenovemu testu o homogenosti varianc ($p < 0,05$). Z ANOVA testom smo potrdili statistično pomembne razlike med povprečno dolžino korenin ($p < 0,05$). Statistično pomembne razlike smo s Bonferroni – Holmovim post-hoc testem ponovno zaznali posameznimi tretmaji pri vseh skupinah, razen kontroli in 0,001% raztopini.

Število korenin



Slika 4: Povprečno število korenin in standardna napaka v različnih raztopinah

Tudi rezultate analize povprečnega števila korenin moramo jemati previdno, saj podatki ne ustrezajo Lenovemu testu o homogenosti varianc ($p < 0,05$). Z ANOVA testom smo potrdili statistično pomembne razlike med povprečnim številom korenin ($p < 0,05$). Znotraj skupin pa smo statistično pomembne razlike z Bonferroni – Holmovim post-hoc testem zaznali le, ko

smo primerjali število korenin v kontroli, 0,001% in 0,01% raztopini z najmanj razredčeno 0,1% raztopino.

Diskusija

V raziskavi smo preučevali vpliv gospodinjskih kemikalij, ki se nahajajo v šamponu Head and Shoulders, na kalitev semen ter rast poganjkov in korenin ječmena. Našo hipotezo smo s pridobljenimi rezultati potrdili, saj smo ugotovili, da nizke koncentracije šampona v vodi nimajo negativnih vplivov na kalitev, medtem ko je rast poganjkov in korenin rahlo zavrta. Z večanjem koncentracije raztopine je bila povprečna višina poganjka in dolžina korenin nižja. Visoke koncentracije šampona v vodi so negativno vplivale tudi na število korenin in kaljivost semen.

Negativne učinke kemikalij v izdelkih za osebno nego, navajajo tudi drugi viri. Wilson in sodelavci so leta 2003 objavili raziskavo vpliva Tergitol NP 10 (surfaktant, ki se nahaja v številnih izdelkih za osebno nego, kot so mila in šamponi) na rast populacije alg, ki rastejo v vodotokih. Vpliv surfaktanta na populacijo alg so testirali pri koncentracijah, v katerih je Tergitol NP 10 prisoten v vodotokih (od 0.005 do 0.5 ug/L). Ugotovili so, da se pri višjih koncentracijah v vodi pridobljena biomasa zmanjša do 22% v primerjavi s kontrolo, zmanjšala pa se je tudi raznolikost populacije (Wilson in sod., 2003)

Sun in sodelavci so leta 2017 objavili članek v katerem so opisali vpliv sedemnajstih kemikalij (izbranih glede na pogostost njihovega pojavljanja v vodotokih), v produktih za osebno nego in farmacevtikih, na navadno kumaro (*Cucumis sativus*). Od tega sta bili preiskovani dve kemikaliji, ki se nahajata v produktih za osebno nego – triklosan, ki se uporablja kot konzervans, saj ima proti bakterijske in proti glivne učinkovine, in triklokaroban, ki ima prav tako proti bakterijske lastnosti in se pogosto uporablja v milih, šamponih in losjonih. Poganjke kumare so tretirali z 0.5, 5 in 50ug/L triklosana oziroma triklokarobana. Raziskava ni pokazala statistično značilnih razlik v rasti med kontrolo in rastlinami tretiranimi z nižjimi koncentracijami, visoke koncentracije (0.5mg/L) pa so povzročale zavrto rast in nekrozo na listih rastline. Prav tako se je z višanjem koncentracije kemikalije zmanjšala količina klorofila v zelenih delih rastline, povešala se je raven kisikovih reaktivnih spojin (ROS), zaznali pa so tudi povešano aktivacijo encimatskih in ne-encimatskih antioksidativnih sistemov (Sun in sod., 2017).

V šamponih za preprečevanje nastanka prhljaja se nahaja tudi fungicidna snov imenovana klimbazol, ki jo v vodotokih lahko najdemo v koncentraciji do 0.5 ug/L. Richter in sodelavci so leta 2013 objavili raziskavo o ekološki toksičnosti klimbazola in ugotovili, da ima negativne učinke na rast vodne leče (*Lemna minor*), in alg (*Navicula pelliculosa* in *Pseudokirchneriella subcapitata*). Prav tako poročajo tudi negativne učinke na kalitev semen in rast poganjkov ter korenin oljčne ogrščice (*Brassica napus*) in ovsa (*Avena sativa*). Kaljivost semen se je zmanjševala s povečevanjem koncentracije klimbazola, prav tako je bila pri višjih koncentracijah zmanjšana dolžina poganjkov in korenin (Richter in sod., 2013).

Literatura

Bartrons M., Peñuelas J. 2017. Pharmaceuticals and Personal-Care Products in Plants. Trends in Plant Science; 22, 3: 194-203. 10.1016/j.tplants.2016.12.010

Boxall A.B.A. et al. 2012. Pharmaceuticals and personal careproducts in the environment: what are the big questions? Environmental Health Perspective; 313, 36: 1221–1229. 10.1289/ehp.1104477

Montes-Grajales D. et al. 2017. Occurrenceof personal care products as emerging chemicals of concern in water resources: A review. Science of the Total Environment; 595: 601-614. 10.1016/j.scitotenv.2017.03.286

Richter, E. et al. 2013. Ecotoxicity of climbazole, a fungicide contained in antidandruff shampoo. Environ. Toxicol. Chem. 32, 2816–2825. 10.1002/etc.2367

Sharma S., Bhattacharya A. 2017. Drinking water contamination and treatment techniques. Applied Water Science; 7: 1043–1067. <https://doi.org/10.1007/s13201-016-0455-7>

Sun C. et al. 2017. Pharmaceutical and personal careproducts-induced stress symptoms and detoxification mechanisms in cucumber plants. Environmental Pollution; 234: 39-47. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.041>

Wilson, B. A. et al. 2003. Effects of three pharmaceutical and personal care products on natural fresh water algal assemblages. Environ. Sci. Technol. 37, 1713–1719. 10.1021/es0259741

VPLIV DETERGENTA ZA PERILO »Ariel Color Gel« NA KALJIVOST IN RAST FIŽOLA

Avtorja: Žan Hozjan in Jan Otoničar

Izvleček

Preveriti smo želeli, kako različne koncentracije detergenta za perilo vplivajo na kaljenje semen fižola in na rast mladih rastlin – merili smo dolžine poganjkov in dolžine korenin ter prešteli število stranskih korenin. Poskus smo delali v dveh ponovitvah. Pripravili smo 3 različno redčene (10-krat, 100-krat in 1000-krat) raztopine detergenta ter kontrolo z navadno vodo in v vsako posebej postavili priprave iz kartona, ki so imele v notranjosti razkužena semena fižola. Po sedmih dneh smo prešteli število uspešno skaljenih semen, izmerili dolžino poganjkov in rastlin ter prešteli število stranskih korenin. Rezultate sva obdelala z ANOVA analizo ter jih grafično predstavila. Opazili smo popolno zavrtje kalitve semen v najbolj koncentrirani raztopini detergenta (10-kratna redčitev), medtem ko smo pri 100-kratni in 1000-kratni redčitvi detergenta opazili zmanjšanje kalitve glede na kontrolo. Dolžine poganjkov so v vseh treh vzorcih, kjer je prišlo do kalitve, približno enake, največja pri vzorcu s 100-kratno redčitvijo detergenta, a razlika ni statistično značilna glede na kontrolo. Dolžina korenin je pri kontroli največja in je tudi signifikantno večja od dolžine korenin pri 1000-krat redčenem detergentu. Dolžina korenin pri 100-krat redčenem detergentu rahlo naraste glede na vzorec s 1000-krat redčenim detergentom.

Uvod

Med redno uporabljene produkte danes zagotovo sodijo detergenti za pranje perila. Na trgu jih najdemo v obliki prahu in v obliki tekočine. Vsebujejo surfaktante in druge sestavine, ki pomagajo pri čiščenju oblačil. Poznamo štiri vrste surfaktantov: anionski, kationski, ne-ionski, amfoterni. V detergentih za perilo najdemo predvsem ne-ionske in anionske. Surfaktanti izboljšajo močenje oblačil, izboljšajo penjenje in so udeleženi pri tvorbi emulzij. Pogosta sestavina detergentov so tudi fosfati, ki so pomagajo pri mehčanju vode in suspendiranju umazanije (Bajpai and Tyagi 2007; Kogawa et al. 2017).

Detergenti po uporabi končajo v odpadnih vodah. Fosfati v detergentih lahko povzročijo eutrofikacijo v vodnih ekosistemih in tako korenito spremenijo biološko sestavo ekosistema

(Watiniasih et al. 2019). V naprednejših državah se odpadna voda od umivanja in odpadna voda iz gospodinjstev, lahko uporabi za zalivanje poljščin. V nekaterih državah je uporaba ti. sive vode postala neprimerna za zalivanje zaradi vsebnosti nevarnih kemijskih agensov in naravno prisotnih patogenov. Velik problem pa povzroča tudi visoka slanost take vode zaradi detergentov (Mohamed et al. 2018). Visoka slanost tal negativno vpliva na rast in razvoj glikofitov, saj so ti ob visoki slanosti izpostavljeni osmotskemu stresu in toksičnosti ionov (Gupta and Huang 2014), kar negativno vpliva na velikost rastlin in na število ter površino listov, učinek pa ima tudi na maso koreninskega sistema (Abdul Qados 2011). Visoka slanost zavira tudi kaljenje in očitno upočasni rast mlade rastline (Kaymakanova 2009). Negativen učinek zalivanja poljščin z neprečiščeno sivo vodo je še dvigovanje pH tal zaradi alkalnih detergentov (Mohamed et al. 2018).

Mnogo raziskav je obravnavalo efekt različnih vrst onesnažil na kaljenje, razvoj in rast rastlin, zelo malo od teh pa se je usmerilo v neposredne efekte detergentov, zato je cilj te seminarske naloge ugotoviti, kako različne raztopine detergenta za pranje vplivajo na kaljenje fižolovih semen in na rast ter razvoj mladih rastlin.

Naši dve glavni hipotezi sta bili:

1. Pri višjih koncentracijah detergenta v kalilniku bo nižji delež uspešno skaljenih semen fižola, kot pri kontroli.
2. Pri višjih koncentracijah detergenta v kalilniku bodo poganjki in korenine rastlin krajši kot pri kontroli, prav tako bo stranskih korenin manj kot pri kontroli.

Material in metode

Poskus je bil izveden v dveh ponovitvah, poskušala sva izenačiti čim več pogojev, ampak zaradi narave poskusa je prišlo do določenih odstopanj. Obe seriji poskusa sta bili izvedeni v večjem prostoru brez direktnega vetra, na dnevni svetlobi in sobnih temperaturah v okolici 20-25°C. Podatke obeh ponovitev sva združila za analizo.

S pomočjo odmerjanja s kovinsko žlico sva pripravila redčene raztopine tekočega pralnega praška s koncentracijami(w/w): 0,1; 0,01; 0,001. Za kalilnik sva uporabila 4 kartone dimenzij 50 cm x 25 cm, te sva namočila s pripravljenimi raztopinami in vodo (v primeru kontrole). V kartone sva namestila semena fižola, predhodno razkužena s 70% etanolom. Pod karton sva položila aluminijasto folijo in na njega papirnato brisačo. Kalilnik sva nato zvila in ga postavila

v določeno posodo, katero sva napolnila z ustrezno raztopino. Meritve sva izvedla v vseh kalilnikih na enkrat po sedmih dneh od začetka poskusa. Preverila sva kaljivost, izmerila dolžine poganjkov in korenin ter preštela število stranskih korenin.

Materiali za eno ponovitev:

- 4x posoda za kalilnik
- 4x (50 cm x 50 cm karton)
- Aluminijska folija
- Papirnate brisačke
- Semena fižola
- 70% etanol
- tekoči pralni prašek Ariel Color Gel proizvajalca Orbico d.o.o.
- kovinska žlica za odmerjanje
- ravnilo

Rezultate sva obdelala z vtičnikom Daniel's XL-toolbox za program Microsoft Excel. Izvedla sva ANOVA analizo, ki prilagodi t-test za več kot dve spremenljivki. S to analizo sva preverila odstopanje vzorcev od povprečne rasti v vsaki koncentraciji in odstopanje povprečne rasti različnih koncentracij od kontrole. Postavila sva ničelno domnevo, da tekoči pralni prašek ne vpliva na kalitev in rast fižolovih poganjkov in alternativno hipotezo, da tekoči pralni prašek vpliva na rast in torej povprečna rast vsaj pri eni koncentraciji praška statistično značilno odstopa od kontrole.

Rezultati

Slike rezultatov prve in druge ponovitve poskusa. Slika 1 predstavlja rezultate prve ponovitve: levo zgoraj kontrola, desno zgoraj 1000x redčitev, levo spodaj 100x redčitev in desno spodaj 10x redčitev. Na sliki 2 so rezultati druge ponovitve: levo zgoraj kontrola, desno zgoraj 1000x redčitev, levo spodaj 100x redčitev in desno spodaj 10x redčitev. Pri 1000x redčitvi v tej ponovitvi, so bila semena okužena kljub predhodni sterilizaciji z etanolom, zato je ta redčitev izvzeta iz analize.

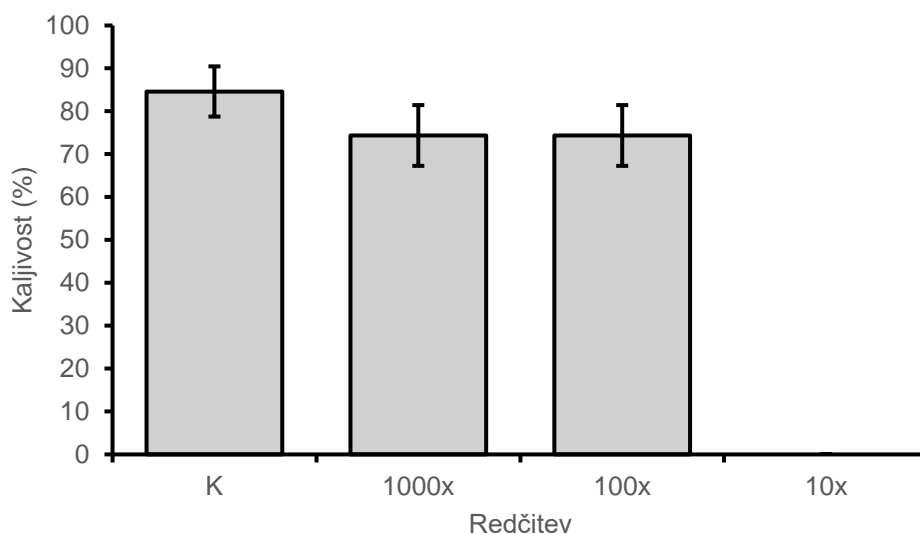


Slika 1: Razprti kalilniki v prvi ponovitvi.



Slika 2: Razprti kalilniki v drugi ponovitvi

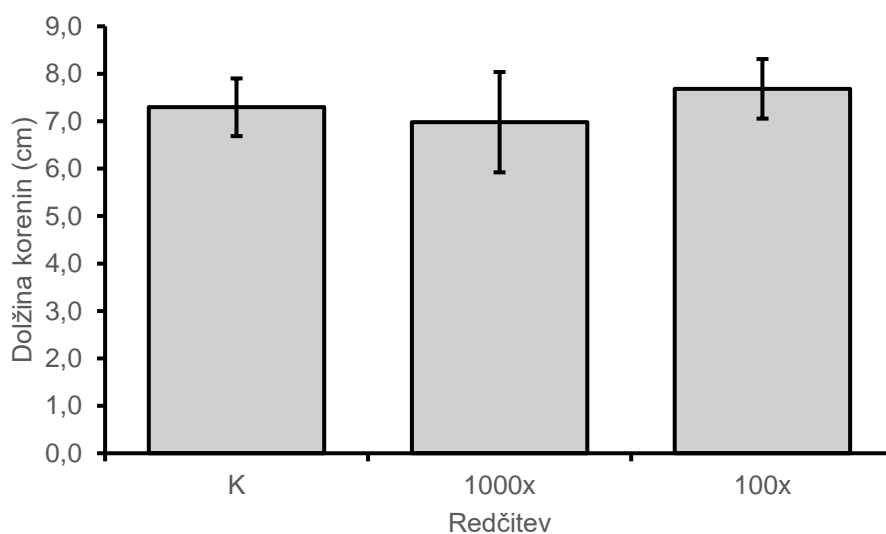
Odstotek kaljivosti



Graf 1: Odstotek kaljivosti semen pri različnih redčitvah detergenta. Vrednosti predstavljajo povprečje s standardno napako, n=39.

Odstotek kaljivosti se je znižal z večjo koncentracijo detergenta. Kaljivost v 100x in 1000x redčenih vzorcih je bila enaka in sicer 74,4 %. Pri 10x redčenju detergenta do kaljenja ni prišlo v nobenem vzorcu. V kontroli je bila kaljivost 84,6 %. ANOVA analiza je pokazala, da je znižanje odstotka kaljivosti glede na kontrolo statistično značilno pri 10x redčitvi, pri 100x in 1000x pa ne.

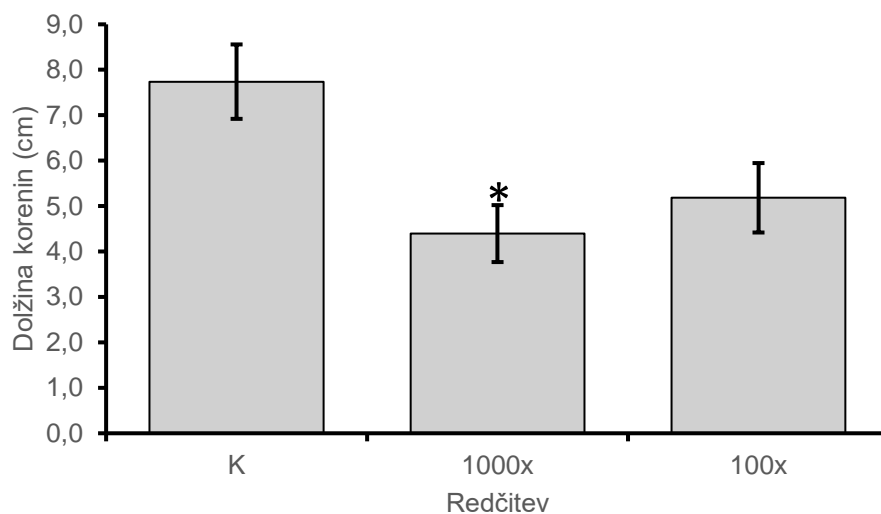
Dolžina poganjkov



Graf 2: Dolžina poganjkov pri različnih redčitvah detergenta. Vrednosti predstavljajo povprečje s standardno napako, n=39.

Povprečne rasti poganjkov 10x redčitve nisva upoštevala v nadaljnji statistični analizi, saj nobeno izmed semen ni skalilo. Povprečna dolžina poganjkov ostalih redčitev se je gibala od 7,0 cm pri 1000x redčitvi do 7,7 cm pri 100x redčitvi. Povprečna dolžina poganjkov v kontroli je bila 7,3 cm. Levenov test enakosti varianc je bil pozitiven, zato je bila izvedena ANOVA analiza, ki je pokazala, da odstopanje povprečne rasti od kontrole v nobenem primeru ni statistično značilno različno.

Dolžina korenin



Graf 3: Dolžina korenin pri različnih redčitvah detergenta. Vrednosti predstavljajo povprečje s standardno napako, n=39, »*« označuje statistično značilne razlike v primerjavi s kontrolo.

Povprečna dolžina korenin v kontrolnem poskusu je bila 7,7 cm, v 1000x redčitvi 4,4cm in v 100x redčitvi 5,2 cm. Rast korenin v 10x redčitvi prav tako ni bila uporabljena v nadaljnjih analizah. Test enakosti varianc je bil pozitiven, zato je bila izvedena ANOVA analiza. ANOVA analiza je pokazala, da je odstopanje povprečne dolžine korenin 1000x redčitve od kontrole statistično značilno (označeno z *), 100x redčitve pa ne.

Stranske korenine

Prešteli smo tudi stranske korenine, katerih število pa se je že v kontroli gibalo od 5 do 26 korenin. Povprečno število stranskih korenin v kontrolnem poskusu je bilo 10,2, v 1000x redčitvi 11,6 in v 100x redčitvi 6,3. Izveden je bil Lavene test za enakost variance, ki je pokazal, da enakost varianc ni statistično značilna, torej nadaljnja ANOVA analiza ni smiselna.

Diskusija

V našem poskusu smo preizkušali vplive različnih koncentracij detergenta za perilo na kalitev semen fižola in na rast poganjkov ter korenin. Pokazali smo, da najvišja preizkušena koncentracija pralnega praška popolnoma zavre kaljenje fižola, medtem ko smo pri nižjih koncentracijah opazili rahlo znižanje kalitve glede na kontrolo (74,4 % pri 1000-kratni redčitvi in pri 100-kratni redčitvi). Kjer je prišlo do kalitve, so dolžine poganjkov podobne. Glede na kontrolo pa smo opazili značilno znižanje dolžine korenin pri vzorcu s 1000-kratni redčenim detergentom.

Primerjava naših rezultatov z literaturo mora biti previdna, saj smo koncentracije detergenta v vzorcih le približno ocenili, poleg tega je bil postopek redčenja veliko bolj nenatančen kot bi bil v laboratorijskih pogojih. Najvišja koncentracija detergenta v našem primeru je bila ~100 g/L, to raztopino pa smo potem redčili še 10-krat in 100-krat, tako da smo dobili še raztopini s koncentracijama detergenta ~10 g/L oz. ~1 g/L.

O popolnem zavrtjukalitve v prisotnosti visokih koncentracij detergenta poročajo Ehilen et al. (2017), in sicer pri semenih afriške špinače (*Amaranthus hybridus L.*). Do popolnega zavrtja kaljenja je prišlo že pri koncentraciji detergenta 2,5 g/L, kar je očitna razlika glede na koncentracijo detergenta, ki je v našem eksperimentu dosegla popolno zavrtje, tj. ~100 g/L. Pri testiranju kaljenja semen paradižnika pri koncentraciji detergenta 2,5 g/L, popolnega zavrtja niso opazili, torej lahko sklepamo, da je afriška špinača veliko manj tolerantna na detergent kot paradižnik in fižol. Podobnost med našimi rezultati in omenjeno študijo lahko najdemo pri kaljivosti semen paradižnika pri koncentraciji detergenta 1 g/L. Ta je namreč bil 46,67 %, kar je primerljivo s kaljivosti (47,5 %) pri tej koncentraciji v našem poskusu.

Nekoliko višje koncentracije detergenta je testiral Heidari (2012), in sicer 20 g/L pri semenih koruze. Ob tej koncentraciji je bilo opaženo močno zavrtje kaljenja (11,67 %), vendar ne popolnoma. Pri manjših koncentracijah detergenta, zavrtje kaljenja ni bilo opazno. Zelo podobne rezultate kaljenja je Heidari (2013) opazil tudi pri semenih sončnice, pri katerih prav tako ni bilo opaznega popolnega zavrtja kaljenja pri najvišji testirani koncentraciji detergenta (20 g/L). V teh pogojih je skalilo 6,67 % semen. Dolžine poganjkov in korenin v slednji raziskavi nakazujejo na hormonezo – pojav, pri katerem nizka doza stresnega dejavnika izboljša rast rastlin glede na kontrolo (Agathokleous et al. 2019), saj so dolžine pri nizkih dozah detergenta večje kot pri kontroli, pri višjih dozah pa dolžine padajo. V našem primeru pri nobeni izmed merjenih lastnosti ni prišlo do pojavnosti hormoneze.

V dveh testiranih lastnostih smo opazili rahel dvig vrednosti pri 100-kratni redčitvi glede na 1000-kratno, a tu je potrebno poudariti, da so bile razlike med obema ponovitvama ravno pri teh dveh vzorcih zelo velike, zato bi morali za bolj zaupanja vredne rezultate, poskus ponoviti pod enakimi pogoji.

Literatura

- Abdul Qados AMS (2011) Effect of salt stress on plant growth and metabolism of bean plant *Vicia faba* (L.). *J Saudi Soc Agric Sci* 10:7–15. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2010.06.002>
- Agathokleous E, Kitao M, Calabrese EJ (2019) Hormesis: A Compelling Platform for Sophisticated Plant Science. *Trends Plant Sci* 24:318–327. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.01.004>
- Bajpai D, Tyagi VK (2007) Laundry detergents: an overview. *J Oleo Sci* 56:327–340. <https://doi.org/10.5650/jos.56.327>
- Ehilen, O E. , Obadoni, B.O., Imade, F.N., Eseigbe, D. and Mensah JK (2017) The Effect of Detergents on the Germination and Growth of *Amaranthus hybridus* L. and *Solanum lycopersicon* L. *Niger Ann Nat Sci* 16:100–108
- Gupta B, Huang B (2014) Mechanism of Salinity Tolerance in Plants: Physiological, Biochemical, and Molecular Characterization. *Int J Genomics* 2014:18. <https://doi.org/10.1155/2014/701596>
- Heidari H (2012) Effect of irrigation by contaminated water with cloth detergent on plant growth and seed germination traits of maize (*Zea mays*). *Life Science Journal* 2012 4:1587-1590
- Heidari H (2013) Effect of Irrigation with Contaminated Water by Cloth Detergent on Seed Germination Traits and Early Growth of Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Not Sci Biol* 5:86–89. <https://doi.org/10.15835/nsb519003>
- Kaymakanova M (2009) Effect of salinity on germination and seed physiology in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Biotechnol Equip* 23:326–329. <https://doi.org/10.1080/13102818.2009.10818430>

- Kogawa AC, Cernic BG, do Couto LGD, Salgado HRN (2017) Synthetic detergents: 100 years of history. *Saudi Pharm J* 25:934–938. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2017.02.006>
- Mohamed RM, Al-Gheethi AA, Noramira J, et al (2018) Effect of detergents from laundry greywater on soil properties: a preliminary study. *Appl Water Sci* 8:1–7. <https://doi.org/10.1007/s13201-018-0664-3>
- Watinasih NL, Purnama IGH, Padmanabha G, et al (2019) Managing laundry wastewater. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci* 248:. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/248/1/012084>

VPLIV GELA ZA TUŠIRANJE »Axe Ice Chill« NA KALJIVOST SEMEN IN RAST KORUZE

Avtorja: Terezija Jovanovski in Simon Troha

Izvleček

- Namen dela je bilo preveriti morebitne škodljive učinke gela za tuširanje AXE ICE CHILL na kaljivost semen in rast poganjkov ter korenin koruze.
- Test kaljivosti smo izvedli pri treh različnih koncentracijah in v dveh ponovitvah. Nato smo izmerili dolžino poganjkov in dolžino korenin pri vsaki posamezni izvedbi. Podatke smo statistično obdelali z metodo ANOVA in t-testom.
- Gel za tuširanje AXE ICE CHILL je zaviralno vplival na rast kalic koruze pri redčitvi 0,1 in 0,01. Pri redčitvi 0,001 pa smo zaznali učinek hormoneze.

Uvod

Okoljske raziskave kažejo, da imajo gospodinjske kemikalije in med drugimi tudi izdelki za osebno higieno negativen vpliv na onesnaževanje voda in žive organizme. Organska onesnažila v rastline preidejo z difuzijo preko korenin (zemlja, voda) ali tudi nadzemnih delov (hlapne snovi, aerosoli). Hidrofobne snovi ostanejo na področju korenin, ostale pa potujejo po ksilemu. Encimi kot so hidrolaze in encimi citokroma p450 metabolizirajo spojine, ki nato mineralizirajo ali se vgradijo v rastlinska tkiva. Iztoki in blata iz čistilnih naprav, ki vsebujejo ta organska onesnažila, lahko zato zavirajo rast in razvoj rastlin, zmanjšajo vsebnost fotosinteznih pigmentov, zmanjšajo število in velikost listov, preprečujejo rast korenin in tudi vplivajo na simbioze rastlin z mikroorganizmi. Zato predstavljajo rastline primerne organizme za okoljski biomonitoring (Bartrons in Peñuelas 2017).

Tendenca potrošnikov je podpirati uporabo naravnih komponent poleg sintetičnih spojin v kozmetičnih izdelkih, ki bi imele hkrati tudi manjši vpliv na okolje. A tudi za naravne spojine velja, da ni nujno, da so neškodljive za okolje (Klaschka 2016). Tuš gel AXE vsebuje razne kemikalije, za nekatere od teh pa že obstajajo raziskave o njihovi strupenosti za koruzo. Te so npr. mentol (Zunino in Zygadlo 2004), limonen (Abraham s sod. 2000) in natrijev klorid (Turan et al. 2010). Velik vpliv na kaljivost semen imajo tudi surfaktanti. Ti negativno vplivajo na membransko integriteto, ter tudi preidejo v notranjost celic (Bubenheim s sod., 1997). Vežejo se lahko na membranske ter ostale proteine ter vplivajo na njihovo polarnost, strukturo in

aktivnost (Doige s sod. 1993; Markina in Aizdaicher 2007). Prav tako lahko interagirajo z maščobnimi kislinami v celici in spreminjajo njihovo sestavo (Nyberg in Koskimies-Soininen 1984). Poleg tega pa je tudi navedeno, da lahko povzročijo iztekanje elektrolitov iz celic, znižajo vsebnosti klorofila in povzročijo spremembe v strukturi celice (de Bruin s sod. 2017). Možno pa je tudi, da 2 različni spojini šampona v kombinaciji skupaj vplivata bolj negativno kot vsaka posebej (Warne in Schifko 1999).

Namen naše raziskave je zato bil testirati specifičen izdelek za osebno higieno, AXE ICE CHILL gel za tuširanje 3 v 1, za morebitne zaviralne učinke na kaljivost semen in rast koruze. Predvideli smo, da bo izdelek deloval zaviralno v vseh redčitvah.

Metode in materiali

Za test vpliva gospodinjskih kemikalij na kalitev in rast rastlin smo izbrali semena koruze. Kot kemikalijo smo uporabili gel za tuširanje AXE ICE CHILL, podjetja Unilever.

Sestavine gela za tuširanje AXE ICE CHILL in verjetna vloga nekaterih komponent:

- voda,
- natrijev lavret sulfat (anionski surfaktant),
- natrijev klorid,
- citronska kislina (uravnavanje kislosti, kelator, viskoznost),
- kokamid MEA (etanolamin iz maščobnih kislin kokosovega olja - za penjenje in kot neionski surfaktant),
- dinatrijev EDTA (kelator),
- glicerol (humektant),
- hidrolat trilitne citronke (*Lippia citriodora*),
- mentol (za občutek hlajenja),
- parfum,
- PPG-6 (propilen glikol, humektant),
- natrijev benzoat (konzervans, dodatek dišavam),
- benzil salicilat (dodatek dišavam),
- limonen (terpen, dodatek dišavam),
- CI 19140 (tartrazin, sintetično barvilo - rumeno),
- CI 42090 (briljantno modra, sintetično barvilo – modro).

Za lažje spremljanje poteka rasti smo izdelali kalilnike iz kartona. Vsi kalilniki so bili v čim bolj podobnem okolju, prisotna je bila enakomerna namočenost kartona z raztopino izdelka, izognili pa smo se tudi drugim vplivom okolja, ki bi bili prisotni če bi bila semena npr. posejana v zemljo. Kalitev semen in rast rastlin smo preučevali pri treh različnih raztopinah izdelka (0,1; 0,01 in 0,001), ki smo jih primerjali s kontrolo (vodovodna voda). Zaradi nezmožnosti opravljanja vaj v laboratoriju, smo te raztopine pripravili kar z žlico (1 žlica je približno 10 g). Raztopine smo pripravili po naslednjem postopku:

- 0,1 - 5 žlic kemikalije + 0,5 L vode ($50 \text{ g}/500 \text{ g vode} = 0,1$)
- 0,01 - 5 žlic 0,1 raztopine + 0,5 L vode ($50 \text{ g} \cdot 0,1/500 \text{ g} = 0,01$)
- 0,001 – 5 žlic 0,01 raztopine + 0,5 L vode ($50 \text{ g} \cdot 0,01/500 \text{ g} = 0,001$)

Za kalilnike smo uporabili kartone dimenzij 20x50 cm, pri čemer je vsak karton bil namenjen svojemu kalilniku. Najprej smo kartone omočili s pripadajočo raztopino oz. kontrolo, ter 5 cm od zgornjega roba kartona enakomerno razporedili 25 semen. Nato smo na semena položili kuhinjsko brisačo v več plasteh in znova omočili z raztopino oz. kontrolo ter tako semena fiksirali. Kartone smo položili na prilegajoče se kose aluminijaste folije in vse skupaj zvalili v tulec ter zavarovali z elastiko. Vsak kalilnik smo nato postavili pokonci v posodo z ustrezno raztopino oz. kontrolo, ter gladino ohranjali na približno 5 cm višine od dna posode. Sproti smo preverjali rast rastlin in poskus zaključili, ko so poganjki segali približno 5 cm od vrha kalilnika.

Vsak kalilnik smo razprli ter z metrom izmerili dolžino poganjkov in korenin. Podatke dolžin smo primerjali med sabo z uporabo dveh statističnih testov; ANOVA in t-test. Za izvedbo testov smo uporabili program Excel. ANOVA test smo opravili z Excelovim dodatkom »XL Toolbox«, t-test pa z Excelovim dodatkom »orodja za analizo«. Tako smo določili ali je prisotna statistično značilna razlika med dolžinami in ali posledično prisotnost gela za tuširanje vpliva na kalitev semen in rast poganjkov ter korenin koruze.

Rezultati

Po zaključku poskusa (ko so poganjki pri kontroli zrasli približno 5 cm nad kartonom), smo opazili, da sta si bili ponovitvi različni (Slika 1), vsaj vizualno gledano pri razredčitvi 0,001,

saj so bili poganjki pri drugi ponovitvi višji v primerjavi s kontrolo pri prvi ponovitvi. Tudi poskusa sta potekala na dveh različnih lokacijah in torej tudi pri različnih rastnih pogojih. Zato smo se odločili, da bomo vsako ponovitev obravnavali posebej.



Slika 1: Test kaljivosti semen koruze (od leve proti desni: kontrola, 0,1; 0,01 in 0,001 razredčitev) pri prvi (levo) in pri drugi ponovitvi (desno).

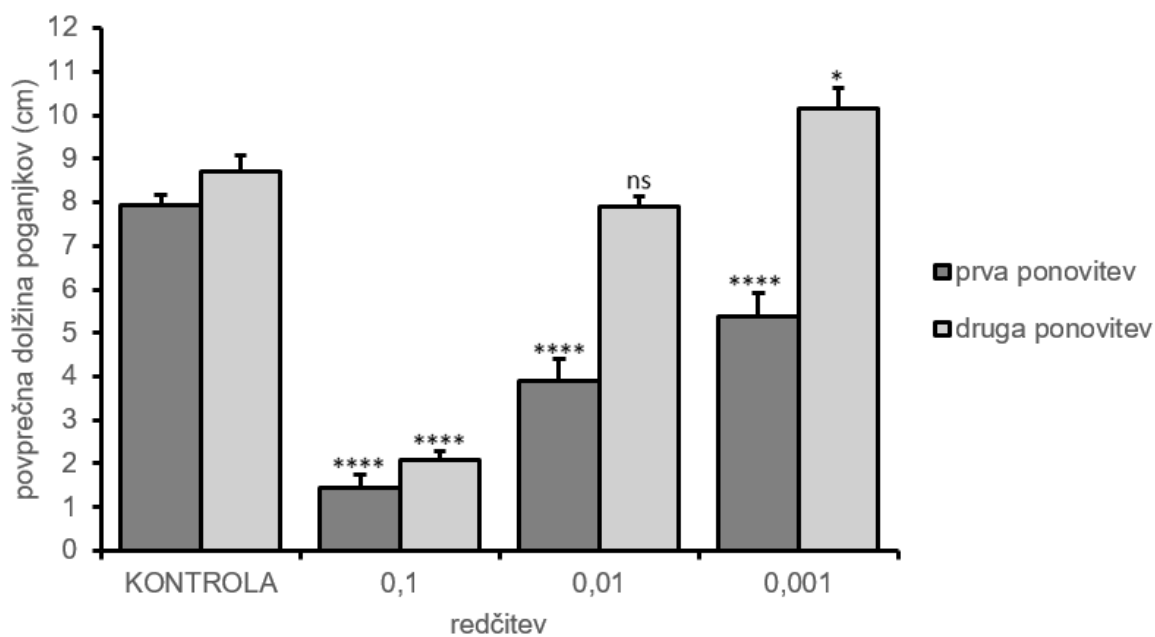
Kaljivost je bila povsod 100 %, razen v primeru 0,1 redčitve pri prvi ponovitvi, kjer je bila kaljivost semen 24 % (slika 2). Pri tako visoki koncentraciji gela za tuširanje, je bil razvoj rastlin najbolj okrnjen pri obeh ponovitvah - poganjki so zrastle le okrog 1,5 pri prvi ponovitvi in 2,1 cm pri drugi, korenine pa 0,7 pri prvi in 2,2 cm pri drugi (Sliki 3 in 4). Semena so bila rdeče barve, saj so bila obdelana z razkužilom še pred nakupom in začetkom poskusa. Kalice v drugi ponovitvi so imele večinoma bolj razvite mlade liste kot pri prvi ponovitvi, verjetno spet zaradi različnih rastnih pogojev obeh ponovitev (prva ponovitev je rasla na bolj senčnem mestu) (slika 2). Število stranskih korenin je bilo pri obeh ponovitvah in redčitvah primerljivo (razen v primeru 0,1 redčitve), zato podatkov o številu stranskih korenin nismo vključili.



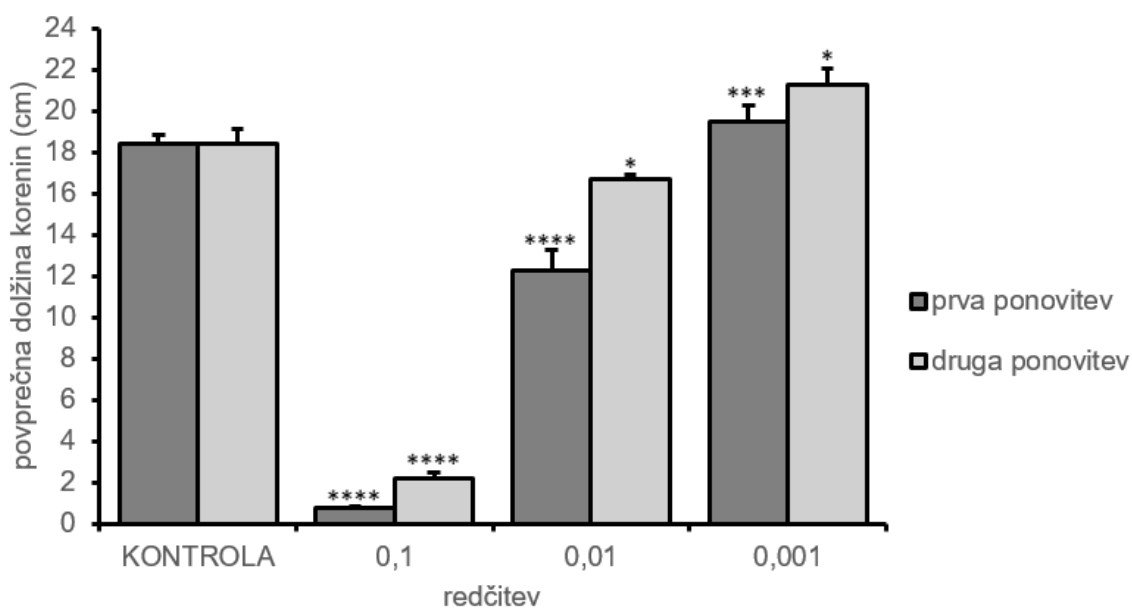


Slika 2: Zrasle kalice pri a) kontroli in različnih redčitvah: b) 0,1, c) 0,01 in d) 0,001. Leve slike predstavljajo prvo ponovitev, desne pa drugo ponovitev.

Znotraj prve ponovitve so bile med posameznimi redčitvami prisotne statistično značilne razlike (dvostranski t-test; $p < 0,05$) tako pri poganjkih kot pri koreninah (sliki 3 in 4). V drugi ponovitvi je bilo prav tako, razen v primeru 0,01 redčitve pri poganjkih (slika 3). Tu namreč ni bilo statistično značilne razlike med kontrolo in to redčitvijo (dvostranski t-test; $p > 0,05$).



Slika 3: Povprečna dolžina poganjkov (cm) pri posameznih redčitvah in kontroli pri prvi in drugi ponovitvi. Intervali napak predstavljajo standardno napako (SE) povprečnih dolžin, (n=25). Legenda: statistično značilna razlika v primerjavi s kontrolo: ns - ni statistično značilne razlike; * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$; **** - $p < 0,0001$.



Slika 4: Povprečna dolžina korenin (cm) pri posameznih redčitvah in kontroli pri prvi in drugi ponovitvi. Intervali napak predstavljajo standardno napako (SE) povprečnih dolžin, (n=25). Legenda: statistično značilna razlika v primerjavi s kontrolo: ns - ni statistično značilne razlike; * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$; **** - $p < 0,0001$.

Nadalje smo primerjali obe ponovitvi testa kaljivosti med seboj. Med kontrolami obeh ponovitev, (slika 3 in 4), ni bilo statistično značilnih razlik v dolžinah tako poganjkov kot korenin (dvostranski t-test; $p > 0,05$). Poganjki so povprečno zrasli 8 cm pri prvi in 8,7 cm pri drugi ponovitvi do zaključka testa (slika 3), korenine pa 18,4 cm pri prvi ponovitvi in 18,5 cm pri drugi ponovitvi (slika 4). V 0,1 in 0,01 redčitvah gela za tuširanje je bila rast tako poganjkov in korenin pri obeh ponovitvah manjša od kontrole (slika 1, 2, 3 in 4). V primeru 0,1 redčitve pri poganjkih ni bilo statistično značilne razlike v dolžini med ponovitvama (slika 3; dvostranski t-test; $p > 0,05$), je pa po drugi strani bila statistično značilna razlika pri isti redčitvi pri dolžini korenin (slika 4; dvostranski t-test; $p < 0,05$). Tudi redčitev 0,01 je kazala pri obeh ponovitvah statistično značilno razliko v dolžini korenin in poganjkov (slika 3 in 4; dvostranski t-test; $p < 0,05$).

Kot je bilo že omenjeno, smo vizualno določili, da so pri drugi ponovitvi pri redčitvi 0,001 imele kalice daljše poganjke od kontrole (slika 1). Opažanje smo potrdili tudi z merjenjem in statistično analizo podatkov. Med kontrolo in redčitvijo 0,001 je bila statistično značilna razlika pri obeh ponovitvah (dvostranski t-test; $p < 0,05$), s to razliko, da je bila pri prvi ponovitvi rast nižja v primerjavi s kontrolo (32,2 % nižje od kontrole), v drugi ponovitvi pa je bila višja od kontrole (16,5 % višje od kontrole) (slika 3). Zanimivo pa pri koreninah ni bilo tako. Iz slike 4 je razvidno, da je bila pri redčitvi 0,001 dolžina korenin daljša od kontrole pri obeh ponovitvah. Med obema ponovitvama tudi ni bilo statistično značilne razlike (dvostranski t-test; $p > 0,05$).

Diskusija

Na stresni odgovor rastline ob prisotnosti izdelkov za osebno higieno v okolju vplivajo fizikalno-kemijske lastnosti same spojine, fiziologija rastline, lastnosti tal in koncentracija spojine (Bartrons and Peñuelas 2017). Videli smo, da so ob prisotnosti gela za tuširanje AXE ICE CHILL semena koruze vseeno uspela kaliti pri vseh testiranih koncentracijah tega izdelka. Vseeno pa smo opazili statistično pomembne razlike v dolžini poganjkov in korenin pri uporabljenih koncentracijah v primerjavi s kontrolo. Pri tem smo pomislili, da je na zaviranje rasti najverjetneje vplivala vsaj ena od sestavin gela za tuširanje.

Že v uvodu smo omenili fitotoksične učinke, ki jih lahko imajo nekatere spojine v gelu za tuširanje. Mentol, ki je bil v izdelku verjetno uporabljen zaradi občutka hlajenja, lahko sproži oksidativni stres na lipidih v semenih koruze (Zunino in Zygadlo 2004). Tudi drugi lipofilni

monoterpen, navadno izoliran iz citrusov, limonen je pokazal inhibitorne učinke na kalitev semen in primarno rast korenin koruze (Abrahim s sod. 2000). Povišana vsebnost soli, ki je prisotna v šamponu pa zmanjša vnos vode v seme in tako zavira kalitev (Uhvits 1946).

Zasledili pa smo več raziskav o pozitivnih lastnosti kemikalij, ki se uporabljajo v raziskavah. Kelatorji kot sta EDTA in citronska kislina, pomagajo pri fitoekstrakciji kovin iz kontaminiranih prsti (s sod. 2012). Pellet s sod. 1995 tudi poročajo o sproščanju organske kisline (citrata) kot eksudata iz korenin, ki je koruzi verjetno omogočal toleranco na prisotnost aluminija v kontaminiranih tleh. Citronska kislina je v raziskavi Anwar s sod. 2016 tudi pripomogla k izboljšani rasti poganjkov in korenin in povišani biomasi ob prisotnosti kadmija. Aplikacija glicerola na liste koruze 10 dni po kalitvi, pa je izboljšala toleranco na slanost zemlje, saj je ta zmanjšal vsebnost oksidativnih encimov v kalicah (Kaya s sod. 2013).

AXE gel za tuširanje vsebuje tudi dve barvili – tartrazin in briljantno modro, za katera nismo našli poročil o toksičnih učinkih na rastline. Lahko pa ostala barvila, predvsem tista v iztokih iz tekstilnih industrij zmanjšajo rast rastlin (Shafqat s sod. 2017). Je pa seveda potrebno razmišljati o rastlinah tudi kot o organizmih, ki živijo v sožitju z mikroorganizmi. Kemikalije lahko namreč vplivajo tudi na mikrobioto rastlin in tal (Bartrons in Peñuelas 2017). V nedavni raziskavi so odkrili, da so bakterije izolirane iz odpadne vode tekstilne industrije bile zmožne razbarvati vodo kontaminirano z azo barvili, te bakterije pa so hkrati tudi izboljševale rast koruze v onesnaženem mediju (Shafqat s sod. 2017). To nakazuje, da moramo poleg abiotskih stresnih dejavnikov kot so kemikalije, pri ugotavljanju toksičnosti izdelkov za osebno higieno prištevati tudi biotske elemente, kot so mikroorganizmi, ki lahko pripomorejo k nižanju njihovih toksičnih učinkov (Lellis et al. 2019).

Izgleda torej, da te sestavine do sedaj niso bile prepoznane kot toksične, čeprav bi morali za potrditev te hipoteze vedeti točno koncentracijo teh spojin tudi v našem izdelku (kar pa ni navedeno na etiketi s sestavinami). Izpostavljamo tudi vidik raziskav, ki navadno obravnavajo fitotoksične učinke veliko višje koncentracije spojin kot jih najdemo v okolju v enkratnem poskusu. Hkrati pa vemo, da so organska onesnažila težko razgradljiva v okolju in se zato tudi akumulirajo v okolju. V prihodnosti zato predlagamo dodatne raziskave za proučevanje vpliva fitotoksičnosti omenjenih spojin, ki pa naj spremljajo učinke tekom daljšega obdobja. K zmanjšani rasti poganjkov in korenin v naši raziskavi so morda vplivale tudi spojine, za katere nismo našli dovolj podatkov o njihovi toksičnosti v literaturi, npr. točno določeni surfaktanti kot je kokamid MEA. Tudi zanje predlagamo nadaljnje raziskave o fitotoksičnosti.

V drugi ponovitvi poskusa smo videli, da so kalice, ki so rastle pri največji redčitvi tuš gela, tj. 0,001, imele 16,5 % višjo rast poganjkov v primerjavi s kalicami raslimi v kontrolni tekočini. Prav tako so bile korenine približno 5,7 % daljše od kontrole pri prvi in 15,2 % daljše pri drugi ponovitvi. Ta fenomen lahko pripišemo učinku hormoneze, ki pravi, da nizka količina stresnega dejavnika lahko celo pripomore k boljšemu fitnessu rastlin, saj lahko tako razvijejo nekakšne adaptivne odgovore za morebitno povišanje koncentracije tega dejavnika v prihodnosti (Agathokleous s sod. 2019). Raziskave kažejo, da takšna izpostavitve sproži nastanek kisikovih reaktivnih zvrsti (ROS), ki nato regulirajo izražanje genov za mehanizme tolerance (Poschenrieder s sod. 2013; Agathokleous s sod. 2019). Izraz hormoneza navadno uporabljamo v primerih, ko natančen mehanizem delovanja za povišano rast ob prisotnosti stresnih dejavnikov še ni bilo mogoče določiti (Poschenrieder s sod. 2013). Določena doza toksične snovi lahko tudi deluje kot biostimulator – tudi v našem primeru so kalice pri izpostavitvi zrasle več kot pri kontroli. Je pa izkoriščanje tega fenomena v npr. kmetijstvu nepriporočljivo, saj lahko ta povišana koncentracija snovi vpliva na druge organizme v okolju (Agathokleous s sod. 2019). Pri poganjkih v prvi ponovitvi pa tega fenomena nismo opazili. Zato predlagamo ponovitev poskusa, tokrat pod istimi ravnimi pogoji, da bi ugotovili, ali bi se ta fenomen spet pojavil. Ker hormoneza tudi kaže značilno narobe obrnjeno U-obliko krivuljo rasti za neesencialne toksične snovi v sledovih (Poschenrieder s sod. 2013), bi lahko ob ponovitvi poskusa tudi preverili, če bi bila rast pri še večji redčitvi gela (npr. 0,0001) nižja kot pri 0,001 redčitvi.

Zaključki

Naša raziskava tako kaže, da AXE ICE CHILL gel za tuširanje deluje zaviralno na rast koruze vsaj pri redčitvah 0,1 in 0,01, kjer sklepamo, da na to verjetno vpliva vsaj ena ali pa kombinacija več toksičnih komponent gela za tuširanje. Pri redčitvi 0,001 je bila rast poganjkov višja v eni ponovitvi, rast korenin pa je bila daljša v obeh primerih, kar kaže na učinek hormoneze. Na koncu še opozarjamo na možne fitotoksične učinke, ki jih ima ta in podobni izdelki v višjih koncentracijah in na posledičen pomen ozaveščenja o zmerni uporabi agresivnih izdelkov za čiščenje in pomembnosti učinkovitega delovanja čistilnih naprav za čistejšo okolje.

Literatura

Abraham D, Braguini WL, Kelmer-Bracht AM, Ishii-Iwamoto EL (2000) Effects of four

- monoterpenes on germination, primary root growth, and mitochondrial respiration of maize. *J Chem Ecol* 26:611–624. <https://doi.org/10.1023/A:1005467903297>
- Agathokleous E, Kitao M, Calabrese EJ (2019) Hormesis: A Compelling Platform for Sophisticated Plant Science. *Trends Plant Sci* 24:318–327. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.01.004>
- Almaroai YA, Usman ARA, Ahmad M, et al (2012) Effects of synthetic chelators and low-molecular-weight organic acids on chromium, copper, and arsenic uptake and translocation in Maize (*Zea mays* L.). *Soil Sci* 177:655–663. <https://doi.org/10.1097/SS.0b013e31827ba23f>
- Anwar S, Khan S, Ashraf MY, et al (2016) Impact of chelators induced phytoextraction of cadmium on yield and ionic uptake of maize. *Int J Phytoremediation* 15:1–33. <https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1254153>
- Bartrons M, Peñuelas J (2017) Pharmaceuticals and Personal-Care Products in Plants. *Trends Plant Sci* 22:194–203. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.12.010>
- Bubenheim D, Wignarajah K, Berry W, Wydeven T (1997) Phytotoxic effects of gray water due to surfactants. *J Am Soc Hortic Sci* 122:792–796. <https://doi.org/10.21273/jashs.122.6.792>
- de Bruin W, van der Merwe C, Kritzinger Q, et al (2017) Ultrastructural and developmental evidence of phytotoxicity on cos lettuce (*Lactuca sativa*) associated with nonylphenol exposure. *Chemosphere* 169:428–436. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.11.020>
- Doige CA, Yu X, Sharom FJ (1993) The effects of lipids and detergents on ATPase-active P-glycoprotein. *BBA - Biomembr* 1146:65–72. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(93\)90339-2](https://doi.org/10.1016/0005-2736(93)90339-2)
- Kaya C, Aydemir S, Sonmez O, et al (2013) Regulation of growth and some key physiological processes in salt-stressed maize (*Zea mays* L.) plants by exogenous application of asparagine and glycerol. *Acta Bot Croat* 72:157–168. <https://doi.org/10.2478/v10184-012-0012-x>
- Klaschka U (2016) Are natural compounds used in personal care products toxic for the aquatic

- environment? *Sustain Chem Pharm* 4:13–20. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2016.07.002>
- Lellis B, Fávaro-Polonio CZ, Pamphile JA, Polonio JC (2019) Effects of textile dyes on health and the environment and bioremediation potential of living organisms. *Biotechnol Res Innov* 3:275–290. <https://doi.org/10.1016/j.biori.2019.09.001>
- Markina Z V., Aizdaicher NA (2007) Influence of laundry detergents on the abundance dynamics and physiological state of the benthic microalga *Attheya ussurensis* (Bacillariophyta) in laboratory culture. *Russ J Mar Biol* 33:391–398. <https://doi.org/10.1134/S1063074007060053>
- Nyberg H, Koskimies-Soininen K (1984) The glycolipid fatty acids of *Porphyridium purpureum* cultured in the presence of detergents. *Phytochemistry* 23:751–757. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)85018-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)85018-9)
- Pellet DM, Grunes DL, Kochian L V. (1995) Organic acid exudation as an aluminum-tolerance mechanism in maize (*Zea mays* L.). *Planta An Int J Plant Biol* 196:788–795. <https://doi.org/10.1007/BF00197346>
- Poschenrieder C, Cabot C, Martos S, et al (2013) Do toxic ions induce hormesis in plants? *Plant Sci* 212:15–25. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2013.07.012>
- Shafqat M, Khalid A, Mahmood T, et al (2017) Evaluation of bacteria isolated from textile wastewater and rhizosphere to simultaneously degrade azo dyes and promote plant growth. *J Chem Technol Biotechnol* 92:2760–2768. <https://doi.org/10.1002/jctb.5357>
- Turan MA, Elkarim AHA, Taban N, Taban S (2010) Effect of salt stress on growth and ion distribution and accumulation in shoot and root of maize plant. *African J Agric Res* 5:584–588. <https://doi.org/10.5897/AJAR09.677>
- Uhvits R (1946) Effect of Osmotic Pressure on Water Absorption and Germination of Alfalfa Seeds. *Am J Bot* 33:278. <https://doi.org/10.2307/2437434>
- Warne MSJ, Schifko AD (1999) Toxicity of laundry detergent components to a freshwater cladoceran and their contribution to detergent toxicity. *Ecotoxicol Environ Safety* 206:196–206. <https://doi.org/10.1006/eesa.1999.1824>
- Zunino MP, Zygadlo JA (2004) Effect of monoterpenes on lipid oxidation in maize. *Planta* 219:303–309. <https://doi.org/10.1007/s00425-004-1216-7>

VPLIV ČISTILA »Meglio« NA KALITEV IN RAST KORUZE (*Zea mays*)

Avtorja: Tim Godec in Maks Evgen Obelšer

Izvleček

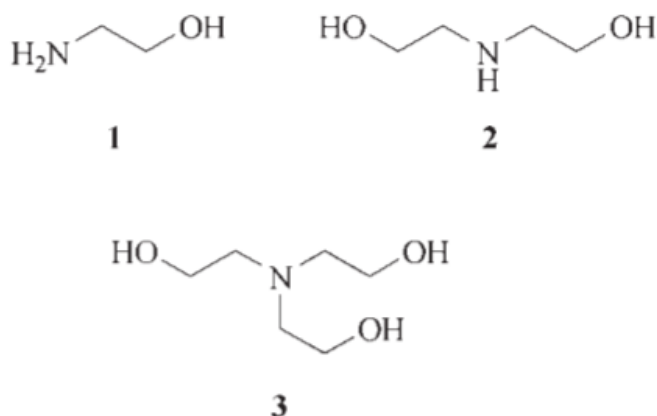
Namen dela je bil da ugotoviva ali čistilo Meglio™ (univerzalni detergent visoke koncentracije z visokim razmaščevalnim učinkom) vpliva na kaljenje semen koruze. Uporabila sva kalilnike iz kartona in semena lanske koruze iz polja na Polici v okolici Grosuplja. Dolžino korenin sva objektivno ocenila s pomočjo fotografij in analize poganjkov v programu ImageJ. Hipoteze sva statistično ovrednotila s pomočjo enosmerne analize varianc (ANOVA) s pomočjo orodja Daniel's XL Toolbox, add-in for the Microsoft® Excel® spreadsheet software. Rezultati kažejo, da čistilo ne vpliva na dolžino korenin in poganjkov, vendar je mogoče, da vpliva na kaljivost. Mogoče je, da uporabljena sorta nosi dobro odpornost na oksidativen stres.

Uvod

Meglio™

Surfaktanti so raznolika skupina spojin, ki so narejene za čiščenje in raztapljanje. V glavnem so sestavljene iz polarne glave, ki je hidrofilna in nepolarnega repa, ki je hidrofoben, torej so amfifilne molekule. So ekonomsko pomembne kemikalije. Različni surfaktanti so pogosto uporabljeni v domačih gospodinjstvih in večjih industrijskih obratih. Po uporabi surfaktanti in njihovi produkti velikokrat končajo v čistilnih napravah, od koder se izločijo v okolje in v površinske vode. Njihovo obnašanje in usoda v okolju se razlikujeta, na primer neionski in kationski surfaktanti se veliko bolj vežejo na zemljo in sedimente kot anionski. (Ying, 2006). Meglio™ je univerzalni detergent visoke koncentracije z visokim razmaščevalnim učinkom. Deluje s pomočjo dveh aktivnih snovi, etanolamina in kvartarnega alkil metil amin etoksilat metil klorida dolžine 12 – 14 C atomov. Namen najinega poskusa je ovrednotiti fitotoksičnost omenjenega čistila za koruzo.

Etanolamini



Slika 5: mono-, di- in trietanolamin

veliko kombinacij, na primer z oleati in drugimi maščobnimi kislinami in tako predstavljajo velik del detergentov in mil, ki jih uporabljamo vsak dan (Frauenkron in sod., 2001).

Etanolamini so skupina molekul, ki jih sintetiziramo z menjavo enega, dveh ali treh vodikovih atomov v molekuli amonijaka z etanolom. Uporabljajo se predvsem kot detergenti, ker jih lahko formuliramo v nevtralne ali rahlo bazične kombinacije in jih tako lahko dobro prenaša koža, prav tako pa ne poškodujejo tekstila. Omogočajo

Kvartarne amonijeve spojine

Kvartarni alkil metil amin etoksilat metil klorid spada v družino kvartarnih amonijevih spojin (quaternary ammonium compounds, ali na kratko quats). Natančneje lahko to spojino uvrstimo med kvartarne amonijeve soli, ki se od ostalih surfaktantov razlikujejo predvsem v tem, da vsebujejo hidrofilno amonijevo glavo in hidrofobno alkilno verigo, ki predstavlja rep spojine. S tem se pri svojem delovanju predvsem zanašajo na elektrostatske interakcije amonijeve glave, ki je tudi osnova njihovega delovanja. Večina ostalih surfaktantov se zanaša predvsem na polarne in Van der Waalsove interakcije. (Barney in sod., 2006). Dokazali so prisotnost visokih koncentracij teh spojin v vzorcih blata in sedimentov (Zhang in sod., 2015).

Fitotoksičnost

Fitotoksičnost etanolaminov je kljub njihovi veliki pojavnosti slabo okarakterizirana. Veliko je publikacij na temo mikrobne toksičnosti, saj se etanolamini lahko uporabijo kot biocidi, kjer lahko zaradi mikrobne razgradnje izgubljam pomembne surovine. Raziskovalci so dokazali, da je lahko njihovo delovanje toksično za mikrobne populacije iz vzorcev, kjer se pojavlja mikrobna razgradnja in je uporaba etanolaminov smiselna. Posebej so učinkoviti pri višjem pH (Bakalova in sod., 2008). Fitotoksičnost kvartarnih amonijevih spojin je bila večkrat dokazana na različnih rastlinah. Li in sodelavci (2019) so pokazali, da višje koncentracije kvartarnih amonijevih soli močno zavirajo rast, kar se kaže v zmanjšani teži poganjkov, dolžini korenin

in manjši pigmentiranosti pšenice. Prav tako lahko opazimo, da se toksičnost teh spojin spreminja s koncentracijo in številom ogljikovih atomov, kar se pozna na pigmentiranosti in teži poganjkov pomladnega ječmena in navadne redkve (Biczak, 2016). To lahko razlagamo s pojavom oksidativnega stresa in peroksidacijo membranskih lipidov, kar lahko dokažemo s specifičnim povečanjem aktivnosti encimov povezanih z oksidativnim stresom (katalaza, peroksidaza, superoksid dismutaza), pri čemer je povečanje specifično za posamezen surfaktant. Prav tako se poveča količina reaktivnih kisikovih zvrsti in oksidacija malondialdehida (MDA), ki je membranski lipid (Biczak, 2016; Li in sod., 2019).

Cilji in hipoteze

Namen tega poskusa je bil ovrednotiti fitotoksičnost komercialnega čistila Meglio™, ki je kombinacija dveh surfaktantov, od katerih en spada v skupino spojin z dokazanim fitotoksičnim delovanjem. Rezultate sva statistično ovrednotila s pomočjo enosmerne analize varianc (ANOVA). Pričakovala sva zmanjšano rast v prisotnosti čistila, rast bo bolj zavrta pri višjih koncentracijah. Glede na kemijsko sestavo čistila sva pričakovala pri najmanjši redčitvi skoraj popolnoma zavrto rast.

Metode in materiali

Semena in kalilnik

Semena sva pridobila iz lokalne koruze, ki je bila vzgojena na poljih okoli vasi Polica. Kalilnik sva pripravila iz kartona po postopku razvidnem na sliki 2.



Slika 6: Postopek priprave kalilnika iz kartona

Semena sva razporedila na karton v razmaku 2 cm, vsak kalilnik sva namočila s pripadajočo raztopino Meglio™. Pripadajoče redčitve so: neredčena raztopina, 10-kratna, 100-kratna in 1000-kratna. Redčitve sva pripravila s pomočjo merilnih valjev, ki sva jih imela doma.

- Kalilnike sva zaradi bližine prebivališč izpostavila istim pogojem in ponovitve postavila v isto sobo ter tako zagotovila večjo primerljivost rezultatov.



Slika 7: Kalilniki v času kalitve

Ponovitve sva izpostavila identičnim pogojem, kalilniki z enakimi koncentracijami so v ločenih posodah. Kalilnike sva slikala zraven metra in slike obdelala v programu ImageJ. S tem sva zagotovila objektivno meritev dolžine korenine in zmanjšala napako.



Slika 8: Razgrnjeni kalilniki z metri, slike sva uporabila za meritev dolžine korenin

Rezultati

Spodaj so zbrani rezultati poskusa. Vzorci so označeni s črkami:

K – kontrola (vodovodna voda),

A – 1000-krat redčena raztopina,

B – 100-krat redčena raztopina,

C – 10-krat redčena raztopina.

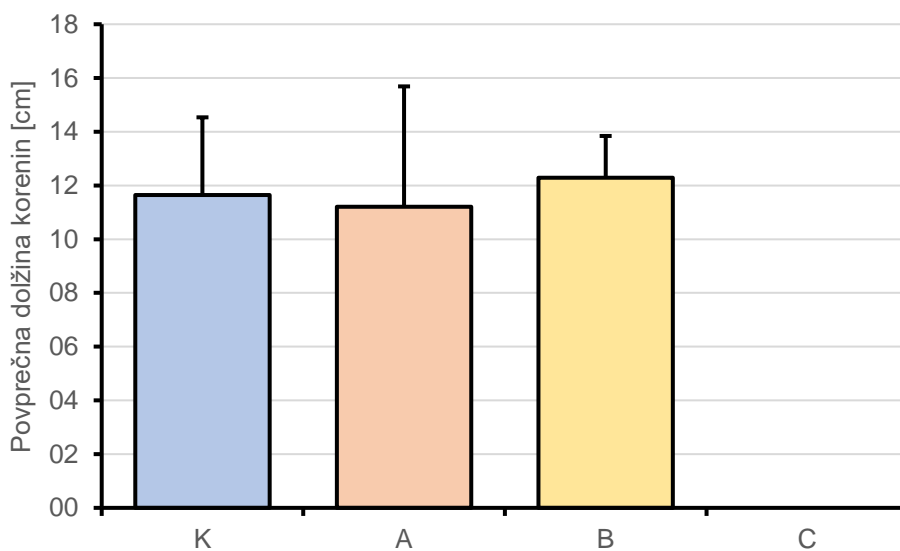
Podatki obeh ponovitev posameznega vzorca so bili združeni v en vzorec, saj so bili izpostavljeni popolnoma enakim pogojem. Razlog je premajhno število podatkov v nekaterih vzorcih (ena kalitev v eni ponovitvi kontrole), kar onemogoča analizo variance. En vzorec torej vsebuje 50 semen. Iz Tabele 1 je razvidno število kalčkov posameznega vzorca (a) in preračunan odstotek kaljivosti 50-ih semen v vzorcu (b). Kaljivost je bila izredno nizka, kar omejuje razlago rezultatov. Slabo kaljivost se je najverjetneje pojavila zaradi uporabe semena hibridne koruze za krmo, ki v naslednji generaciji zelo slabo kali. Kaljivost je bila najvišja pri vzorcu A (16 %, najnižja koncentracija čistila), malo nižja pri kontroli (12 %), še nižja pri vzorcu B (10 %). Pri najvišji koncentraciji čistila (vzorec C) semena niso kalila. Razlog je najverjetneje prevelik stres zaradi detergentov v čistilu, vendar bi za potrditev te hipoteze potrebovali večje število semen, ali semena z višjo kaljivostjo. Višjo kaljivost pri vzorcu z najnižjo koncentracijo čistila ne morava razložiti s hormezo, saj nisva imela statistično značilnih povečanih parametrov glede na kontrolo. Tako sklepanje omejuje nizka kaljivost semen in tako samo ena izvedba poskusa. Da bi to preverila bi morala izvesti več vzporednih poskusov kaljivosti.

Tabela 2: Število kalčkov v vzorcih (a), odstotek kaljivosti vzorcev (b) in dolžine korenin posameznih kalčkov (c)

a) ŠTEVILO KALČKOV			
K	A	B	C
6	8	5	0
b) KALJIVOST %			
K	A	B	C
12	16	10	0
c) DOLŽINA KORENIN [cm]			
K	A	B	C

8,4	13,1	12,6	/
8,1	13,3	11,7	
12,0	8,0	9,9	
13,8	14,0	13,1	
12,2	12,5	14,0	
15,4	13,6		
	13,9		
	1,2		

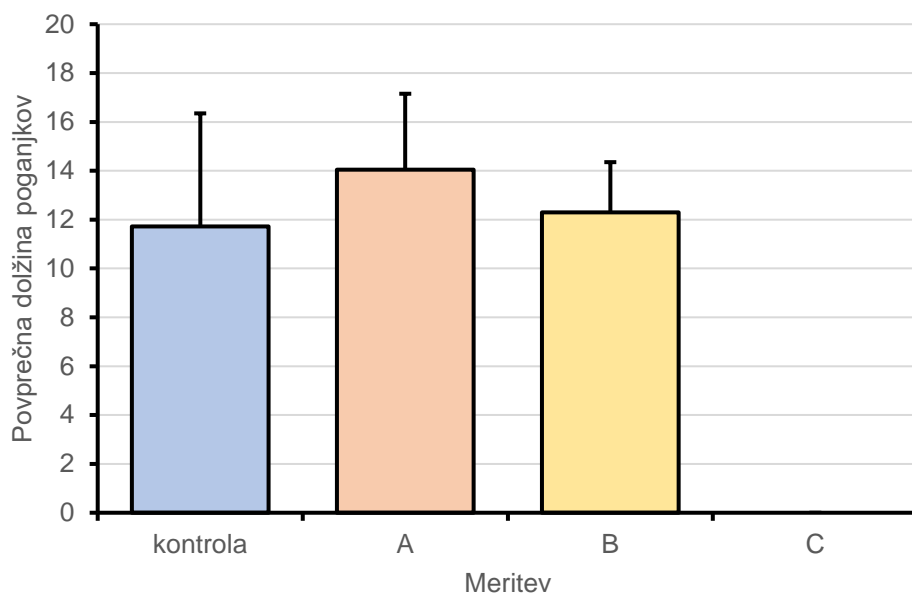
Slika 5 prikazuje povprečno dolžino korenin vzorcev K, A, B in C ob koncu izpostavitve raztopinam čistila. Najdaljše korenine so v povprečju imeli kalčki v vzorcu B (12,3 cm), krajše je imela kontrola (11,6 cm) in najkrajše vzorec A (11,2 cm). Analiza varianc (ANOVA test) dolžin korenin je pokazala, da lahko predpostaviva enake variance za vzorce K, A in B. Test je pokazal, da ni statistično značilnih razlik med povprečji dolžin korenin ($P = 0,592$). Semena iz vzorca C niso kalila, zato so bila izvzeta iz analize. Iz dobljenih rezultatov ne moreva potrditi najinih hipotez o vplivu čistila na rast korenin.



Slika 5: Povprečna dolžina korenin posameznih vzorcev po kalitvi.

Slika 6 prikazuje povprečno dolžino poganjkov vzorcev K, A, B in C ob koncu izpostavitve raztopinam čistila. Poganjki izpostavljeni najnižji in srednji koncentraciji čistila so bili v povprečju daljši od kontrole. Semena vzorca C niso kalila. Statistično značilnih razlik ni bilo

med nobeno skupino. Posamične meritve prikazuje Tabela 2. Skupno je ena meritev manj, kot pri rezultatih dolžin korenin, saj so pri enem kalčku pognale samo korenine.



Slika 6: Povprečna dolžina poganjkov posameznih vzorcev po kalitvi.

Tabela 3: Število poganjkov v vzorcih (a) in dolžine listov posameznih poganjkov (c)

a) ŠTEVILO POGANJKOV			
kontrola	A	B	C
6	6	5	0
b) DOLŽINA POGANJKOV			
8,0	9,4	13,6	
4,8	13,5	11,8	
13,0	16,4	8,9	
12,0	12,1	13,3	
16,0	18,1	13,9	
16,7	14,8		

Diskusija

Za izboljšavo poskusa predlagava, da se pred izvedbo kalitvenih testov preveri kaljivost semen. Iz odstotka kaljivost lahko ocenimo koliko semen potrebujemo v posameznem vzorcu, da dobimo podatke, s katerimi bomo lahko bolj gotovo preverili najine hipoteze. Odlična izboljšava bi bila tudi izbira semen z boljšo kaljivostjo.

Poskus je pokazal, da se dolžina korenin in dolžina poganjkov ne spreminjata z naraščajočo koncentracijo čistila, čeprav sva to pričakovala glede na prebrano literaturo. Kar dve raziskavi poročata o fitotoksičnem efektu uporabljenih snovi na kaljivost (Biczak, 2016; Li in sod., 2019). Mogoče je, da je uporabljena sorta koruze bolj odporna na oksidativen stres, ter tako preprečuje peroksidacijo membranskih lipidov, ki jo povzročajo kvartarne amonijeve soli v čistilu. To bi lahko preverila s testom tolerance na oksidativen stres (katalaza, peroksidaza, superoksid dismutaza).

To bi tudi lahko razložilo zakaj kaljivost tako pade pri 10x redčenem vzorcu. Koncentracija čistila naraste preko kritične točke in rastlina ne more več učinkovito odstranjevati reaktivnih kisikovih zvrsti. To bi lahko preverila z izvedbo poskusa, pri katerem bi preverila tudi vmesne koncentracije čistila. Tako bi se pokazala bolj jasna krivulja, iz katere bi lahko sklepala na kritično koncentracijo, ki preprečuje kalitev.

Možna je tudi razlaga, da čistilo vpliva samo na kaljivost semen, ne pa tudi na njihovo rast. Da bi to hipotezo preverila, bi morala izvesti več poskusov kaljivosti pri različnih koncentracijah. S tem bi lahko primerjala povprečno kaljivost pri dani koncentraciji. To je mogoče, saj se dolžina korenin ne spreminja statistično značilno med vzorci. Zelo nenavaden pa je nenaden upad kalitve pri najvišji koncentraciji, ki bi ga morala raziskati z poskusom, pri katerem bi raziskala več vmesnih redčitev.

Poganjki rastlin izpostavljeni najnižji in srednji koncentraciji čistila so bili v povprečju daljši od kontrole in nakazujejo padajoči trend dolžine poganjkov z večanjem koncentracije, vendar razlike niso statistično značilne.

Literatura

- Bakalova, S., Mincheva, V., Doycheva, A., Groudeva, V., & Dimkov, R. (2008). Microbial toxicity of ethanolamines. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 22(2), 716–720. <https://doi.org/10.1080/13102818.2008.10817540>
- Barney, R., Carroll, J., & Delaet, D. (2006). Surfactant studies of quaternary ammonium compounds: Critical surfactant concentration. *Journal of Surfactants and Detergents*, 9(2), 137–140. <https://doi.org/10.1007/s11743-006-0382-y>
- Biczak, R. (2016). Quaternary ammonium salts with tetrafluoroborate anion: Phytotoxicity and oxidative stress in terrestrial plants. *Journal of Hazardous Materials*, 304, 173–185. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.10.055>
- Frauenkron, M., Melder, J.-P., Ruider, G., Rossbacher, R., & Höke, H. (2001). Ethanolamines and Propanolamines. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. https://doi.org/10.1002/14356007.a10_001
- Li, Y., Zhou, C., Wang, S., Lin, Q., Ni, Z., Qiu, H., Morel, J. L., & Qiu, R. (2019). Phytotoxicity and oxidative effects of typical quaternary ammonium compounds on wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(25), 25985–25999. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05822-7>
- Ying, G. G. (2006). Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment. In *Environment International* (Vol. 32, Issue 3, pp. 417–431). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2005.07.004>
- Zhang, C., Cui, F., Zeng, G. ming, Jiang, M., Yang, Z. zhu, Yu, Z. gang, Zhu, M. ying, & Shen, L. qing. (2015). Quaternary ammonium compounds (QACs): A review on occurrence, fate and toxicity in the environment. In *Science of the Total Environment* (Vols. 518–519, pp. 352–362). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.007>

VPLIV KUHINJSKEGA DETERGENTA »Tandil« NA KALITEV IN RAST FIŽOLA

Avtorja: Kaja Bežec in Alen Fuks

Izвлеček

- S poskusom sva želela ugotovi, kako detergent vpliva na kaljivost semen in rast fižola.
- Semena sva izpostavila detergentu za ročno pomivanje posode pri različnih koncentracijah in nato določila kaljivost le-teh ter ocenila rast fižola.
- Ugotovila sva, da se je z večanjem koncentracije detergenta za ročno pomivanje posode slabšala kaljivost semen ter rast fižola.

Uvod

Kalitev je proces v razvoju rastline, ki se začne po obdobju dormance semena. Ko seme pride v stik z vodo začne nabrekati in zarodek v semenu nadaljuje svoj prekinjen razvoj. Za začetek kalitve, semena potrebujejo zadostno količino vode in pravšnjo temperaturo. Pri kalitvi voda prodre v seme v procesu imenovanem imbibicija, kjer se semenska ovojnica zmehča. Voda v semenu aktivira življenjske procese kot je sinteza giberelinske kisline v alevronu, ki je odgovorna za dormanco semen. Škrob predstavlja zalogo rezervnih snovi, a je molekula škroba prevelika, da bi vstopala v celične procese, ki so potrebni za nadaljevanje kalitve. Giberelinska kislina sproži sintezo alfa-amilaze, to je encim, ki razgrajuje škrob v enostavne sladkorje. Glukoza vstopa v proces celičnega dihanja, kjer se sprošča energija, ki jo seme potrebuje za razvoj in rast kalčka.

Zaradi naraščanja števila prebivalstva, nastaja kot posledica vedno več odpadne vode, ki jo marsikje spuščajo v okolje neočiščeno, zato se vedno bolj ukvarjamo s tem, kako odpadno vodo ustrezno očistiti in jo potem ponovno uporabiti za različne namene (industrija, zalivanje). Pojem odpadna voda se nanaša na porabljeno vodo v gospodinjstvu z izjemo tiste, ki se uporablja za splakovanje stranišč. V gospodinjstvu se največ poslužujemo uporabe detergentov, katerih glavna sestavina so površinsko aktivne snovi (surfaktanti), ki so tudi posledično glavni problem odpadnih voda (Sawadogo in sod., 2014).

Površinsko aktivne snovi ali surfaktanti so spojine, ki znižujejo površinsko napetost med dvema tekočinama ali med tekočino in trdnino. So molekule s hidrofilno glavo in hidrofobnim repom, ki so učinkovite pri čiščenju umazanije. Anionski surfaktanti imajo na svoji hidrofilni glavi pripete anionske funkcionalne skupine, kot so sulfat, sulfonat, fosfat in karboksilat. Amfoterni surfaktanti imajo od pH odvisen neto naboj. Pri visokem pH imajo negativen naboj in so zato anionski, pri nizkem pH pa imajo pozitiven naboj in so kationski surfaktanti (Klein in Palefsky, 2007).

Dokazali so, da odpadna voda, ki vsebuje veliko površinsko aktivnih snovi, zmanjša površinsko napetost vode in posledično spremeni strukturo tal (Abu-Zreig in sod., 2003). Surfaktanti lahko zmanjšajo zadrževalno kapaciteto vode v tleh, kar lahko negativno vpliva na agrikulturno produktivnost. Porozna tla predstavljajo problem, saj prevelika poroznost privede do tega, da rastlina ne more absorbirati vode, ki jo potrebuje za rast in razvoj. Vse spremembe v strukturi tal posledično vplivajo na rast rastlin (Faisal Anwar, 2011). Sawadogo in sod. (2014) so testirali, kakšen vpliv ima voda, ki vsebuje detergent, na okro (*Abelmoschus esculentus*) in solato (*Lactuca sativa*). Zaključili so, da visoke koncentracije detergentov niso ugodne za rastline zaradi spremembe v pH-ju in električni prevodnosti. Jovanic in sod. (2010) so gledali učinke detergentov na fotosintezno aktivnost fižola (*Phaseolus vulgaris*) in pokazali, da lahko detergenti zmanjšajo koncentracijo klorofila II in fotosintezno aktivnost v listih rastline. Različni detergenti, ki jih vsakodnevno uporabljamo za čiščenje našega doma, vsebujejo škodljive kemikalije. Te kemikalije posledično prehajajo v okolje preko odpadnih voda in neugodno vplivajo na okolje. Detergenti vsebujejo različne kemične komponente kot so surfaktanti, parfumi in encimi, ki vplivajo na okolje.

Eksperiment

Za najin eksperiment sva si izbrala semena fižola. Ta semena sva si izbrala, saj so nama bila lahko dostopna, imajo visoko hitrost rasti (1-2 tedna) in ker skalijo skoraj vsa ob istem času.

Hipoteze

1. Pri različnih koncentracijah detergenta za posodo se bo opazila razlika v kaljivosti in rasti fižola.
2. Semena fižola, ki jih bova gojila pri najvišji koncentraciji detergenta za posodo, bodo kalila najslabše (najslabša rast).

Material in metode

- Semena fižola (priskrbela babica)
- Detergent za posodo »Tandil« (anionsko površinsko aktivne snovi, amfoterne površinsko aktivne snovi, parfumi, konzervansi (phenoxyethanol))
- Voda
- Alu folija
- Karton (30 x 50 cm)
- Škarje
- Lepilni trak
- Stekleni kozarci
- Kuhinjske brisače
- Zalivalnik
- Merilni valj
- Ravnilo

Priprava kalilnika

Na aluminijasto folijo sva postavila karton velikosti cca 30 x 50 cm, katerega sva namočila s pripravljeno raztopino detergenta za posodo (skupno 4 kartoni za 4 različne koncentracije). Na karton sva položila 25 semen (3 cm od vrha), tako da sva jih pritisnila v karton. Čez semena sva položila omočeno kuhinjsko papirnato brisačo, da sva semena fiksirala. Karton sva nato zavila in pokončno postavila v kozarcih na okensko polico, da sva semenom zagotovila dovolj svetlobe. Med poskusom sva poskrbela, da je bil karton vedno vlažen (zalivanje z ustrezno koncentracijo raztopine detergenta).

Priprava različnih koncentracij raztopin detergenta za posodo »Tandil«

Raztopine detergenta za posodo sva pripravila z uporabo vodovodne vode. Pripravila sva 3 različne koncentracije in kontrolo (voda brez detergenta).

1. KONTROLA: 750 mL H₂O + 0 mL detergenta za posodo
2. 0,1: 675 mL H₂O + 75 mL detergenta za posodo
3. 0,01: 742,5 mL H₂O + 7,5 mL detergenta za posodo
4. 0,001: 749,25 mL H₂O + 0,75 mL detergenta za posodo

Izvedba poskusa

Pripravila sva dve ponovitvi poskusa, kjer je vsak kalilnik bil izpostavljen enakim pogojem gojenja: temperatura, svetloba in vlažnost. Vsak kalilnik je bil omočen z enako količino ustrezne raztopine. Ko so vsi poganjki fižola pri kontrolnem kalilniku dosegli višino 5 cm, sva poskus zaključila. Po končanem poskusu sva odvila kalilnike in izmerila višino poganjkov, velikost glavne korenine in preštela stranske korenine. Hkrati sva tudi preštela koliko semen je v vsakem kalilniku skalilo.

Rezultati

Rezultate, ki sva jih pridobila iz poskusa, sva statistično obdelala z ANOVO in Post-hoc testom.

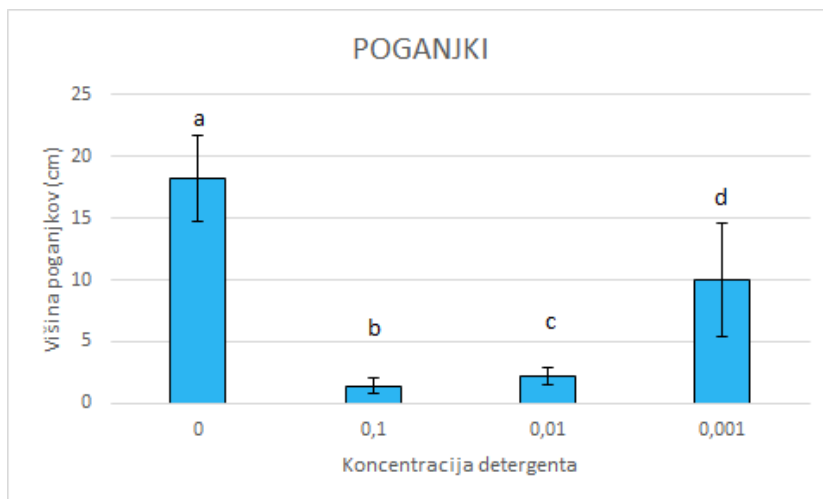
	ŠTEVILO NEKALJIVIH SEMEN	ŠTEVILO POSEJANIH SEMEN	% KALJIVOST I
H ₂ O BREZ DETERGENTA	13	50	74
0,1 DETERGENT	27	50	46
0,01 DETERGENT	25	50	50
0,001 DETERGENT	17	50	66

Tabela 1: Prikaz števila kaljivih in posejanih semen fižola ter % kaljivosti

Po 9 dneh sva poskus prekinila. Pri kontrolni skupini je skalilo 37 semen od 50 (74% kaljivost). Koncentracija detergenta 0,1 je pokazala upad kaljivosti semen, saj je skalilo le 23 semen od 50 (46% kaljivost). Pri koncentraciji 0,01 detergenta je skalilo 25 semen od 50 (50% kaljivost). Pri najmanjši koncentraciji detergenta 0,001 pa je skalilo 33 semen od 50 (66% kaljivost) (Tabela 1).

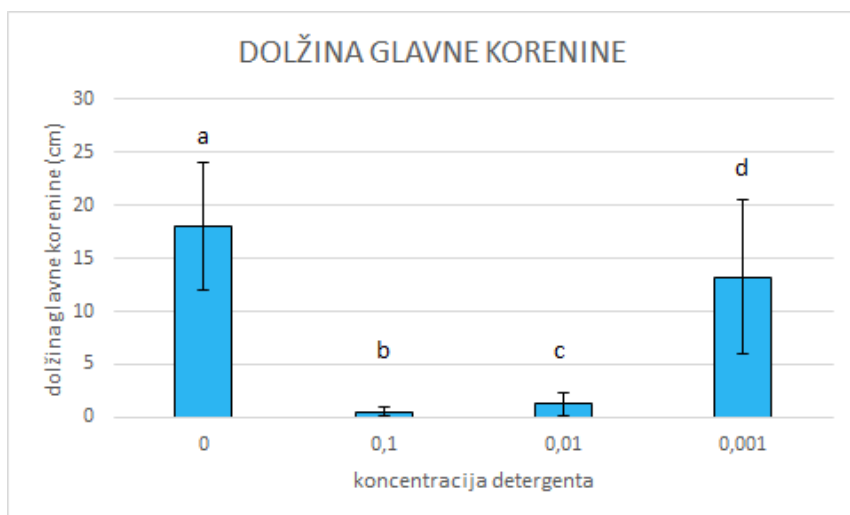
Z uporabo programa Excel z XL Toolbox NG, s pomočjo ANOVE in Post-Hoc testa, sva ugotovila, da med skupinami obstajajo statistično značilne razlike. To pomeni, da obstajajo med različnimi skupinami (kontrola glede na koncentracije) razlike v višini poganjkov, številu stranskih korenin in dolžini glavne korenine.

Slika 1 prikazuje višino poganjkov fižola (cm) v odvisnosti od koncentracije detergenta (Tandil). Največji so bili poganjki pri kontroli (brez detergenta), ki so v povprečju bili visoki 18,3 cm. Pri najmanjši koncentraciji detergenta (0,001) je bila povprečna višina poganjkov fižola 10 cm. Najmanjši so bili poganjki pri koncentraciji detergenta 0,1 in sicer so merili 1,4 cm. Poganjki pri koncentraciji 0,01 pa so merili 2,2 cm. ANOVA je pokazala, da med vsemi skupinami obstajajo statistično značilne razlike.

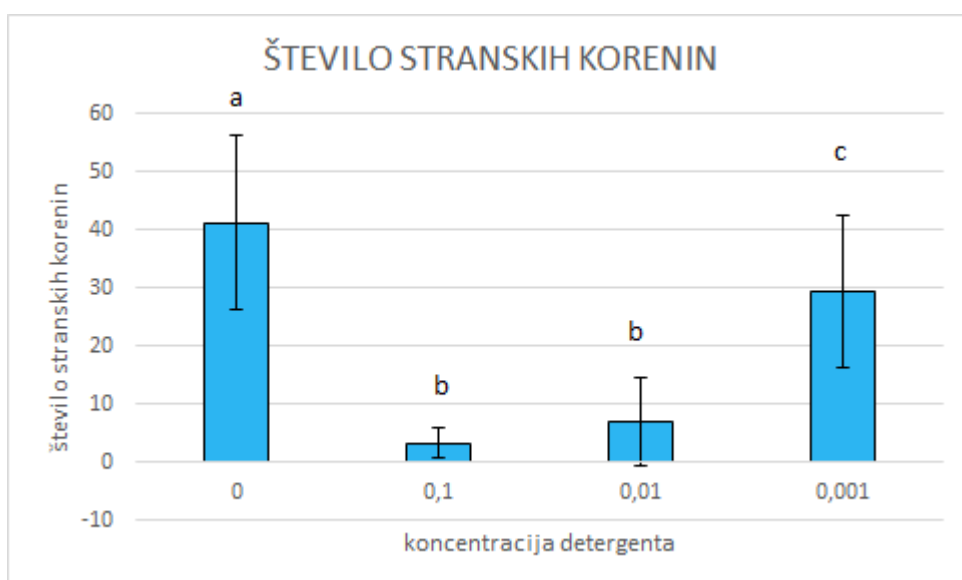


Slika 1: Višina poganjka v odvisnosti od koncentracije detergenta. Različne črke nad posameznimi vrednostmi prikazujejo statistično značilne razlike ($p < 0,05$).

Slika 2 prikazuje dolžino glavne korenine (cm) v odvisnosti od koncentracije detergenta (Tandil). Najdaljša je bila glavna korenina pri kontroli (brez detergenta), ki je bila v povprečju dolga 18,1 cm. Pri najmanjši koncentraciji detergenta (0,001) je bila povprečna dolžina glavne korenine 13,3 cm. Najkrajša je bila glavna korenina pri koncentraciji detergenta 0,1 in sicer so merili 0,5 cm. Poganjki pri koncentraciji 0,01 pa so merili 1,3 cm. ANOVA je pokazala, da med skupinami obstajajo statistično značilne razlike.



Slika 2: Dolžina glavne korenine v odvisnosti od koncentracije detergenta. Različne črke nad posameznimi vrednostmi prikazujejo statistično značilne razlike ($p < 0,05$).



Slika 3: Število stranskih korenin v odvisnosti od koncentracije detergenta. Različne črke nad posameznimi vrednostmi prikazujejo statistično značilne razlike ($p < 0,05$). Enake črke nad posameznimi vrednostmi ne prikazujejo statistično značilnih razlik ($p > 0,05$).

Slika 3 prikazuje število stranskih korenin v odvisnosti od koncentracije detergenta (Tandil). Največje število stranskih korenin je bilo opaziti pri kontroli (brez detergenta), in sicer 41. Pri najmanjši koncentraciji detergenta (0,001) je bilo povprečno 29 stranskih korenin. Najmanj stranskih korenin je bilo pri koncentraciji detergenta 0,1 in sicer 3. Pri koncentraciji 0,01 je bilo 7 stranskih korenin. ANOVA je pokazala, da obstajajo med vsemi skupinami, razen med 0,1 in 0,01 koncentracijo, statistično značilne razlike.

Diskusija

Rezultati nama ponujajo dovolj dokazov, da potrdiva svoji hipotezi. Pri različnih koncentracijah detergenta za posodo (Tandil) sva opazila statistično značilne razlike v kaljivosti, višini poganjkov, dolžini glavne korenine in številu stranskih korenin. Pri tem lahko zaključiva, da voda, ki vsebuje detergent za posodo, pomembno vpliva na rast in razvoj semen fižola. Kaljivost semen fižola je bila kot pričakovano najboljša pri kontrolni skupini in je upadala skupaj s koncentracijo detergenta. Enako velja tudi za višino poganjkov, dolžino glavne korenine ter število stranskih korenin.

Surfaktanti povzročijo spremembe v prsti, ki se odražajo v omejevanju privzema vode v semena in rastline, kar pojasni krajšo višino oziroma dolžino poganjkov v primerjavi s kontrolo. Podobne učinke so opazili tudi pri drugih raziskavah, kjer so uporabljali vodo z različnimi koncentracijami detergenta pri solati in okri. Zanimalo jih je, ali bi lahko uporabili odpadne vode za namakanje v kmetijstvu. Podobno kot pri našem poskusu so ugotovili, da to ni primerno pri visokih koncentracijah (visok pH) (Sawadogo in sod., 2014). Parr in Norman (1963) sta ob dodatku surfaktantov opazila, da le-ti zavirajo podaljševanje glavne korenine kumar, pri višjih koncentracijah pa zavirajo rast stranskih korenin in laskov. Detergenti se lahko mešajo z vodo in lipidi, zato posledično lahko prodrejo v membrano in jo raztopijo. Celična membrana je namreč iz fosfolipidnega dvosloja, ki obdaja celico. Z drugimi besedami, detergent za ročno pomivanje posode uniči celične membrane na enak način kot očisti oljne madeže iz posode.

Literatura

Abu-Zrei M., Rudra P., Dickinson W. 2003. Effect of application of surfactants on hydraulic properties of soils. *Biosystem engineering*, 84, 3: 363-372.

Faisal Anwar A. H. M. 2011. Effect of Greywater Irrigation on Soil Characteristics. *IPCBE*, 4.

Jovanič R. B., Bojović S., Panić B., Radenković B., Despotović M. 2010. The effect of detergent as polluting agent on the photosynthetic activity and chlorophyll content in bean leaves. *Health*, 2, 5: 395-399.

Klein K., Palefsky I. 2007. Handbook for cleaning/decontamination of surfaces. New Jersey, Elsevier B. V.: 992 str.

Sawadogo B., Sou M., Hijikata N. 2014. Effects of Detergent from Greywater on Irrigated Plants: Cases of Okra (*Abelmoschus esculentus*) and Lettuce (*Lactuca sativa*). Journal of Arid land studies, 24, 1: 117-120.

Taiz L., Zeiger E. 2003. Plant Physiology. 3rd edition. North America. Sunderland: Sinauer Associates, 761 str.

Priloge



Priloga 1: semena fižola

Priloga 2: kalilnik s semeni fižola



Priloga 3: kalilnik in kontrola (semena brez detergenta)



Priloga 4: konec poskusa, različne koncentracije detergenta

VPLIV ČISTILA »Stelex« NA KALJIVOST IN RAST KUMARIC

Avtorja: Tomaž Kasunič in Daniel Krklec

Izvleček

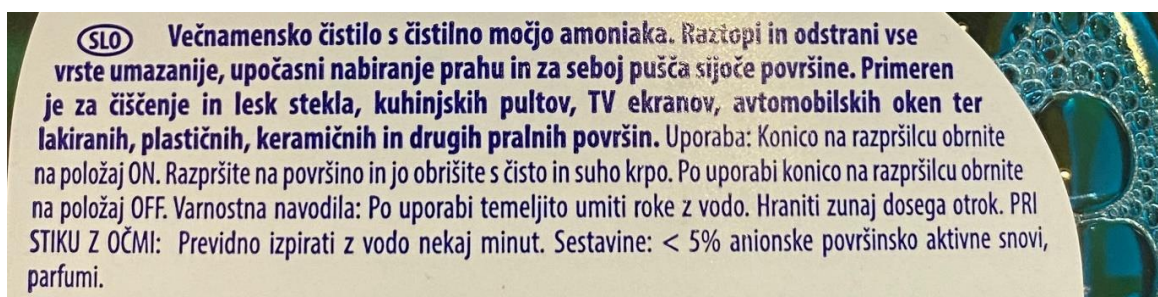
Preizkušala sva vpliv čistila Stelex na kaljivost semen kumaric ter na njihovo rast. Ob izdelavi kartonskih kalilnikov za vzklitje in rast semen, sva le-te za 9 dni izpostavila trem različnim koncentracijam čistila. Meritve dolžin korenin in poganjkov, štetje stranskih korenin ter izračun odstotka kaljivih semen kažejo na to, da določeno poslabšane rasti in kaljivosti kumaric pride zgolj pri izpostavitvi 10-krat redčenemu čistilu. Izpostavitve najnižji koncentraciji čistila, 1000-krat redčenemu Stelex-u pa kaže na izboljšano rast poganjkov.

Uvod

V današnjem času se pogosto znajdemo v situaciji, kjer je okolje, v katerem želimo gojiti rastline, onesnaženo. Obstajajo vprašanja ali ta onesnažila vplivajo tudi na uspešnost in kakovost rasti rastlin. Rastline se lahko hitro znajdejo v stresnem odzivu [1], ki lahko zniža stopnjo kaljivosti, zavira rastne faktorje, najpogosteje pa kar oboje. Z najinim eksperimentom sva preverila vpliv anionskih surfaktantov, katere sva dodala v rastno okolje rastlin z dodatkom čistila. Surfaktanti so uporabljeni v številnih industrijah ter so prisotni v raznih komercialnih produktih na trgu. Niso zgolj prisotni v milih in detergentih, ki so del našega vsakdana, ampak se uporabljajo tudi pri industrijskih procesih, kjer zagotavljajo koloidno stabilnost, sodelujejo pri obdelavi kovin [2] ipd. V raziskavi sva uporabila čistilo Stelex, ki se uporablja predvsem za čiščenje stekla in gladkih površin. Zanj sva se odločila zato, ker sva ga oba imela na razpolago doma. V literaturi nisva našla raziskav o vplivu tega čistila na rast rastlin. V svoji raziskavi sva uporabila semena kumaric. Skozi že opravljene raziskave [3] je bilo potrjeno, da so ta semena dovzetna za občutljivost na razne zaviralne faktorje. Semena sva postavila v različne koncentracije čistila ter zraven imela še kontrolno skupino, kjer je bila uporabljena zgolj voda. Postavila sva hipotezi, da bo prisotnost čistila negativno vplivala na kalitev semen (se pravi več kot bo čistila, manjši bo % kaljivosti) in da bo prisotnost čistila negativno vplivala na dolžino korenin in poganjkov ter na število stranskih korenin.

Material in metode

- Semena kumaric
- Karton
- Aluminiijasta folija
- Kovinska žlica
- Posodica/skodelica
- Gumica
- Čistilo Stelex
- Ravnilo
- Papirnate brisačke



Slika 1: Sestavine čistila Stelex.

Kalitev in rast semen v kalilnikih

Poskus sva izvedla v dveh ponovitvah, v katerih sva se trudila, da so pogoji (temperatura, brezvetrje, raven svetlobe) čim bolj enaki. S pomočjo odmerjanja s kovinsko žlico in uporabo redčitvene vrste sva pripravila raztopine z vsebnostmi čistila 0,1; 0,01; 0,001 (w/v). Pripravila sva jih tako, da sva v prvo posodo dala 5 kuhinjskih žlic čistila (cca 50g) in do oznake 500ml nalila vodo. To raztopino sva nato zmešala in 5 kuhinjskih žlic prestavila v naslednjo posodo. To sva ponovila še enkrat, tako da sva imela 3 različne raztopine v redčitveni vrsti. Za kontrolo je služila voda. Te raztopine sva uporabila kot sredstvo, katerega bodo rastline uporabile kot vir vode. Semena sva dala na kalitev v posebne kalilnike, ki so bili narejeni iz kartona. Notri so bile za lažjo prehodnost vode dodane papirnate brisačke, okoli pa je bila za manjšo izgubo vlažnosti ovita aluminiijasta folija. V vsak kalilnik sva dala po 25 semen (2 cm od zgornjega roba) in vsakega po dodatku semen in zvitju podala v svojo skodelico, v kateri so bile prisotne različne raztopine. Po potrebi sva dodajala raztopine, da se je ohranjala ustrezna količina v posodicah. Kalilniki so bili postavljeni na stalne pogoje, kjer je temperatura bila v območju od 21 do 24 stopinj Celzija. Poskus je bil končan po devetih dneh.

Meritve

Po zaključenem poskusu smo merili naslednje lastnosti:

- Ali je seme vzknilo
- Dolžina zraslega poganjka
- Dolžina zrasle korenine
- Število stranskih korenin

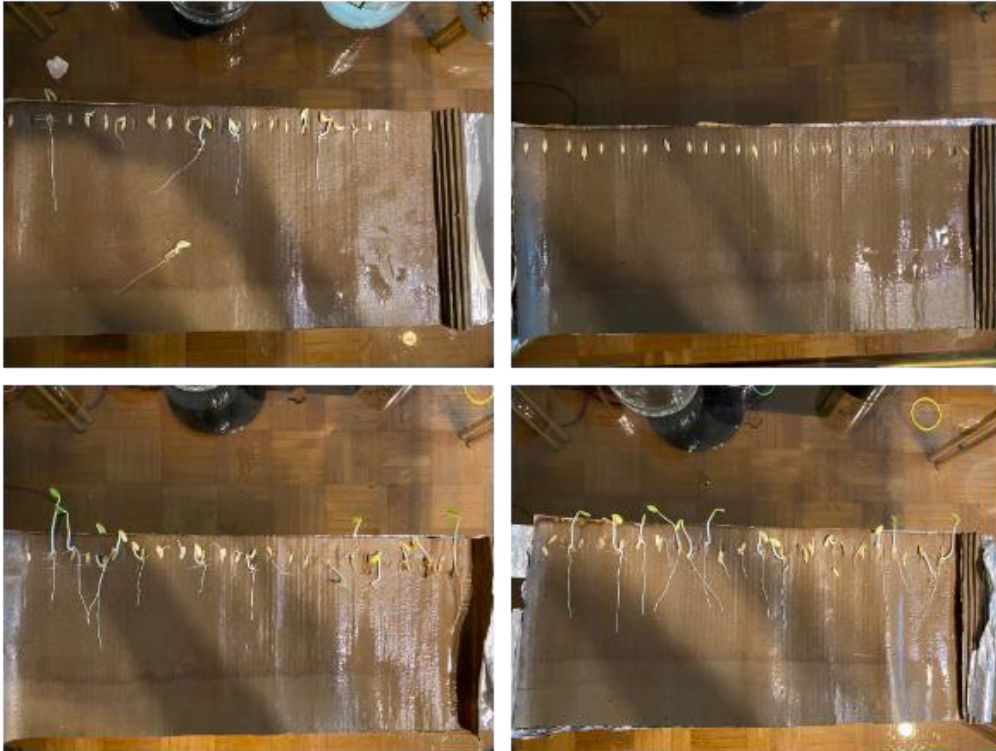
Statistična analiza

Kot omenjeno, je bil poskus izveden v dveh ponovitvah. Podatke obeh ponovitev sva združila po ustreznih skupinah ter tako dobila skupna povprečja, standardne odklone in odstotke kaljivosti. Tako na podatkih dolžin korenin kot na podatkih dolžin poganjkov med skupinami variance niso bile enake. Zato sva namesto klasične analize variance (ANOVA) uporabila Welchovo analizo variance, ki tolerira neenakost varianc med skupinami. Izbrana stopnja značilnosti (p-vrednost) je znašala 0,05. Zaradi statistično značilnih rezultatov sva izvedla še Games-Howellov post-hoc test. Statistični testi so bili izvedeni v programu R-Studio, grafe pa sva izrisala v programu Microsoft Excel.

Rezultati



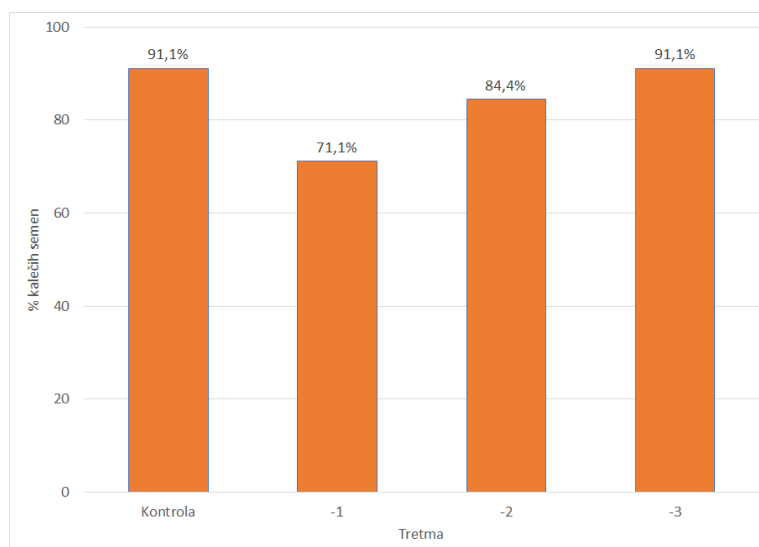
Slika 2: Rezultati prve ponovitve (n = 20)



Slika 3: Rezultati druge ponovitve (n = 25)

Odstotek kaljivosti

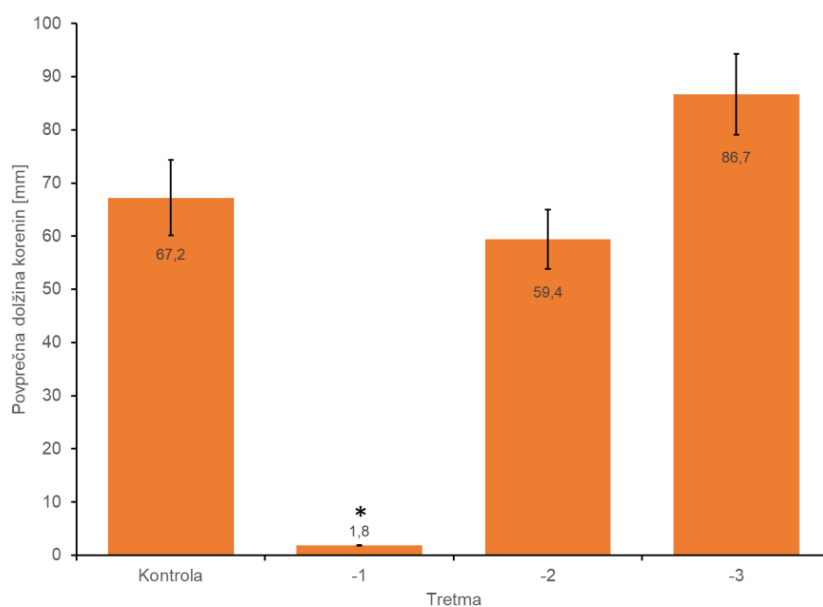
Kot sva pričakovala, je bila kaljivost semen najvišja v kontrolni skupini, kjer je kalilo 91% semen, najnižja pa pri najvišji koncentraciji, kjer je kaljivost padla na 71%. Kaljivost semen, izpostavljenih 1000-krat redčenemu čistilu, je bila enaka kaljivosti semen v kontrolni skupini. Rezultati so grafično prikazani v grafu 1. Ker gre za združene rezultate dveh ponovitev, so procenti kaljivosti podani brez intervalov napak.



Graf 1: Odstotki uspešno vzklitih semen v posamezni skupini (n = 45).

Vpliv čistila na dolžino korenin

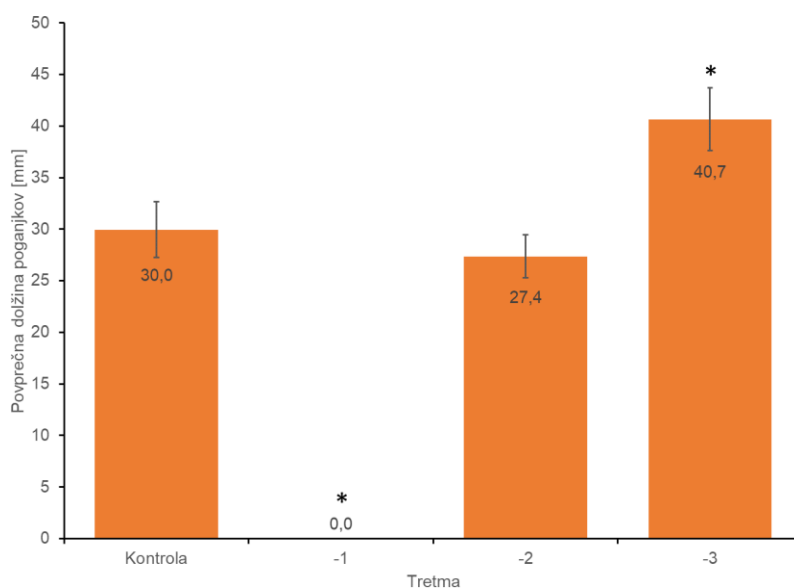
V kontrolni skupini je bila povprečna dolžina korenin 67 mm, pri najvišji koncentraciji čistila pa so bile korenine v povprečju dolge 2 mm. Welchova ANOVA je pokazala statistično značilne razlike med skupinami ($p < 0,001$), post-hoc test pa je pokazal, da se od kontrole statistično značilno razlikuje le skupina izpostavljena 10-krat redčenemu čistilu ($p < 0,001$). Zanimivo je, da so bile korenine najdaljše v skupini z najbolj razredčenim čistilom - tam je povprečna dolžina znašala 87 mm, a ta razlika napram kontroli ni značilna. Rezultati so prikazani v grafu 2.



Graf 2: Povprečna dolžina korenin po skupinah (n = 45). Intervali napak predstavljajo standardne napake. S simbolom »*« je označena skupina, katere povprečje značilno odstopa od kontrole.

Vpliv čistila na dolžino poganjkov

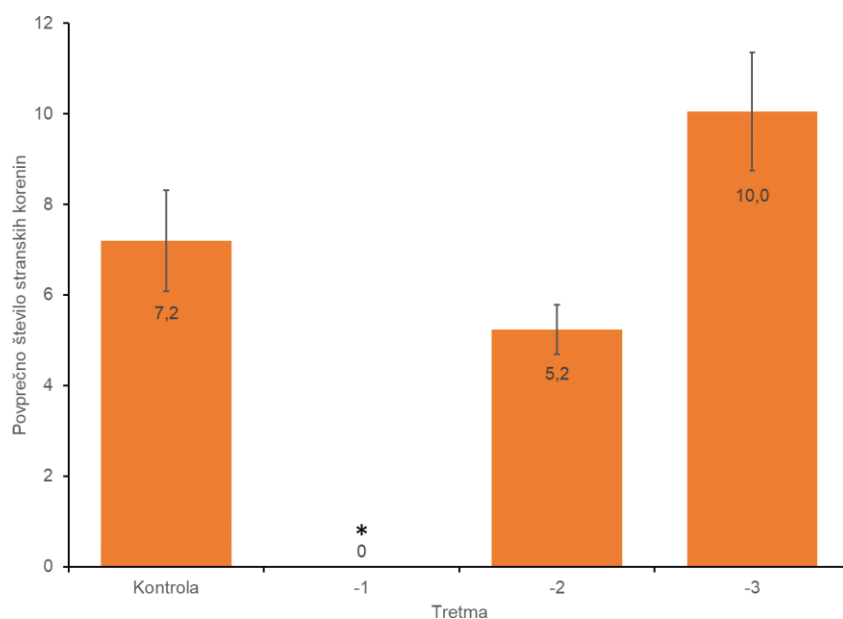
Podobno kot pri koreninah, je bila rast poganjkov najbolj prizadeta pri semenih, izpostavljenih najvišji koncentraciji čistila - ta semena poganjkov niti niso razvila oz. so bili tako kratki, da sva jim pripisala dolžino 0 mm. V primerjavi z ostalimi skupinami, je Games-Howellov test kazal na statistično značilne razlike. Podobno kot pri dolžini korenin so bili tudi poganjki pri najmanjši redčitvi (41 mm) daljši od poganjkov iz kontrolne skupine (30 mm). V tem primeru se je izkazalo, da je tudi ta razlika statistično značilna ($p = 0,050$), kar bi lahko razložili s pojavom hormoneze (glej diskusijo). Podatki so grafično predstavljeni na grafu 3.



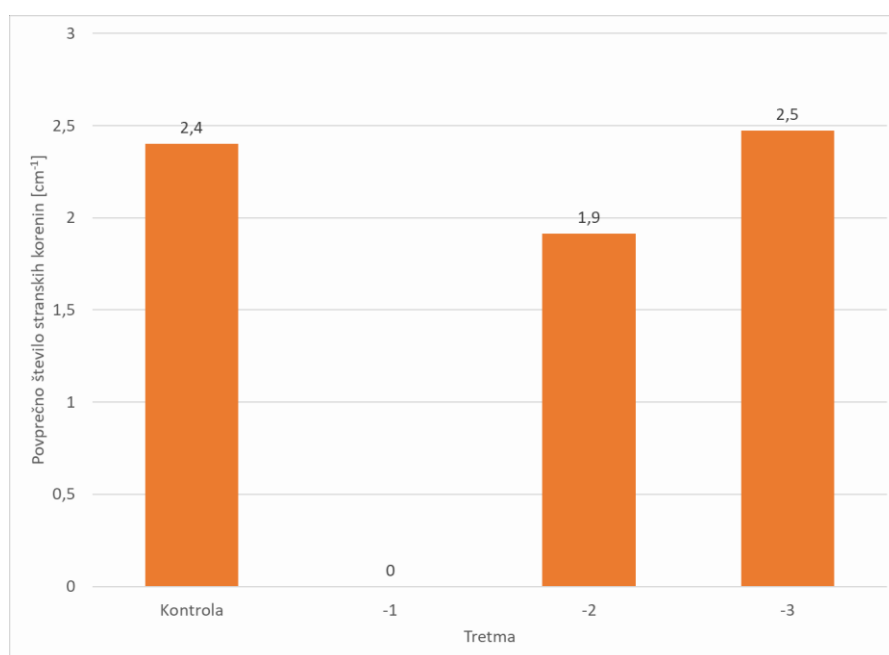
Graf 3: Povprečna dolžina poganjkov po skupinah (n = 45). Intervali napak predstavljajo standardne napake. S simbolom »*« sta označeni skupini, katerih povprečji značilno odstopata od kontrole.

Vpliv na število stranskih korenin

Tudi pri štetju stranskih korenin so bili rezultati skladni z dolžino korenin ter poganjkov. Jasno je, da zaradi zelo kratkih korenin po izpostavitvi semen 10-krat redčeni raztopini na teh koreninah ni bilo razvitih koreninskih laskov (graf 4). Pri najnižji redčitvi je bilo laskov neznačilno več kot pri kontroli. Na grafu 5 je po skupinah prikazano povprečno število stranskih korenin na 1 cm korenine.



Graf 4: Povprečno število stranskih korenin po skupinah (n = 45). Intervali napak predstavljajo standardne napake. S simbolom »*« je označena skupina, katere povprečje značilno odstopa od kontrole.



Graf 5: Povprečno število stranskih korenin podano na povprečno dolžino korenin v posamezni skupini (n = 45).

Diskusija

Iz zgoraj navedenih rezultatov vidimo, da izpostavitve semen raztopini čistila Stelex vpliva na kaljivost semen kot tudi na nadaljnjo rast korenin in poganjkov. S tem bi obe hipotezi potrdila. Pri rasti oz. dolžini poganjkov in korenin lahko rečemo, da do značilnega zaviranja rasti pride zgolj pri izpostavitvi 10-krat redčenemu čistilu. V isti skupini opazimo tudi padec v deležu kaljivih semen, česar pa statistično ne moremo ovrednotiti. Na deklaraciji čistila je omenjena le vsebnost parfumov ter anionskih surfaktantov (slika 1), vpliv na poslabšano kaljivost ter rast pa pripisujeva predvsem prisotnosti slednjih, kar potrjuje tudi literatura. Pokazano je bilo, da odpadna voda, ki vsebuje bodisi natrijev alkil benzen sulfonat bodisi natrijev alkil trioksietilen sulfat, zmanjša kaljivost semen pšenice, rži, kreše ter bele gorjušice. Prvi kaže strupene učinke pri koncentraciji 10 mg/L, drugi pa pri koncentraciji 30 mg/L [4]. Zanimivo je, da se anionski surfaktanti uporabljajo tudi v premazih semen, kjer omogočajo boljše razporejanje premaza po površini semena. Pokazano je bilo, da je v ta namen bolje uporabljati neionske surfaktante – anionski so se namreč izkazali kot toksični in zaviralni pri kalitvi semen čebule in solate. Prav tako so ti povzročili slabšo rast korenin [5]. Razlogov za negativen vpliv surfaktantov na kalitev in rast je več. Površinsko aktivne snovi namreč destabilizirajo membrano, se vežejo na membranske proteine, nekateri pa povzročijo tudi zmanjšano produkcijo klorofila ter izgubo elektrolitov iz rastlinskih celic [6][7]. Na etiketi proizvajalec navaja, da čistilo Stelex odlikuje »čistilna moč amonijaka« (slika 1), vsebnost amonijaka v čistilu pa ni navedena. Na njegovo prisotnost tudi ni bilo moč sklepati iz vonja čistila. V kolikor čistilo vsebuje amonijak, bi lahko negativen vpliv na kaljivost pripisala tudi temu, saj prisotnost amonijaka močno poslabša tako kaljivost kot tudi rast kumaric [8]. Amonijak naj bi rast rastlin prizadel predvsem zato, ker po vstopu v celice zaradi bazične narave preprečuje oksidacijo NADH v NAD [9]. Zanimivo je, da je pri izpostavitvi najmanj (1000-krat) redčenemu čistilu prišlo do izboljšanja rasti korenin ter poganjkov – pri slednjih je bila razlika s kontrolo tudi statistično značilna. Kot omenjeno v rezultatih, bi lahko to pripisali pojavu hormoneze. Gre za pojav, pri katerem nizka stopnja izpostavljenosti nekemu stresnemu dejavniku izboljša rast rastline, pri večji izpostavljenosti pa ta isti dejavnik povzroči poslabšanje rasti. Na žalost nama v literaturi ni uspelo najti podatka o hormonezi pri rastlinah, ki bi bila izzvana s surfaktanti. Sklepava pa, da je lahko izboljšana rast tudi posledica močno razredčenega amonijaka. Nižje koncentracije amonijaka namreč nimajo več toksičnega učinka, temveč služijo kot hranilo, ki bi lahko pozitivno vplivalo na rast rastline.

Literatura

- ¹ Fan HF, Du CX, Ding L, Xu YL. Effects of nitric oxide on the germination of cucumber seeds and antioxidant enzymes under salinity stress. *Acta Physiol Plant* 2013; 35: 2707–2719
- ² Wu SH, Pendleton P. Adsorption of Anionic Surfactant by Activated Carbon: Effect of Surface Chemistry, Ionic Strength, and Hydrophobicity. *J Colloid Interface Sci* 2001; 243: 306–315
- ³ Mushtaq YK. Effect of nanoscale Fe₃O₄, TiO₂ and carbon particles on cucumber seed germination. *J Environ Sci Heal - Part A Toxic/Hazardous Subst Environ Eng* 2011; 46: 1732–1735
- ⁴ Liwarska-Bizukojc E, Urbaniak M. Evaluation of phytotoxic effect of wastewater contaminated with anionic surfactants. *Biotechnologia* 2007; 76: 203-214
- ⁵ Gálvez A, López-Galindo A, Peña A. Effect of different surfactants on germination and root elongation of two horticultural crops: implications for seed coating. *New Zeal J Crop Hortic Sci* 2019; 47: 83–98 Im Internet: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/01140671.2018.1538051>
- ⁶ Doige CA, Yu X, Sharom FJ. The effects of lipids and detergents on ATPase-active P- glycoprotein. *BBA - Biomembr* 1993; 1146: 65–72
- ⁷ de Bruin W, van der Merwe C, Kritzing Q, Bornman R, Korsten L. Ultrastructural and developmental evidence of phytotoxicity on cos lettuce (*Lactuca sativa*) associated with nonylphenol exposure. *Chemosphere* 2017; 169: 428–436
- ⁸ Ells JE, MeSay AE, Workman SM. Toxic Effects of Manure, Alfalfa, and Ammonia on Emergence and Growth of Cucumber Seedlings. *HortScience* 2019; 26: 380–383
- ⁹ Vines HM, Wedding RT. Some Effects of Ammonia on Plant Metabolism and a Possible Mechanism for Ammonia Toxicity. *Plant Physiol* 1960; 35: 820– 825

VPLIV VARIKINE NA KALJIVOST SEMEN IN RAST NAVADNEGA FIŽOLA (*Phaseolus vulgaris*)

Avtorja: Jernej Kralj in Gašper Renko

Izvleček

Preverili smo vpliv komercialno dostopne varikine (4 % NaClO) na kaljivost semen ter rast poganjkov in korenin navadnega fižola (*Phaseolus vulgaris*). Vpliv smo preverili pri deset, sto in tisočkrat redčeni komercialno dostopni varikini. Vpliv vsake redčitve smo preverili na vzorcu 25 semen, katerih kaljivost in razvoj korenin ter poganjkov smo primerjali s kontrolnimi semeni, ki so kalili v prisotnosti vodovodne vode. Po končanem eksperimentu smo prešteli vzkliła semena in izmerili dolžine poganjkov in glavne korenine. Za statistično obdelavo rezultatov smo uporabili t-test, ANOVA in post-hoc test. Potrdili smo zaviralni učinek na razvoj korenin in poganjkov pri desetkrat redčeni varikini, medtem ko smo dobili pri tisočkrat redčeni varikini nasprotujoče si rezultate. Namreč v eni paralelki je varikina zavirala razvoj korenin in poganjkov, v drugi paralelki pa je spodbujala kalitev in razvoj poganjkov ter korenin.

Uvod

Navadni fižol (*Phaseolus vulgaris*) je pomembna kmetijska enoletnica in je v nekaterih državah kot je npr. Ugandi glavni rastlinski proteinski vir (Ssekandi in sod., 2016). Kalitev je ena od pomembnejših stopenj v procesu gojenja kmetijskih vrst, zaradi česar se veliko raziskav posveča vplivom genetskega materiala in okoljskih dejavnikov na kalitev kmetijsko pomembnih rastlin (Rosental in sod., 2016; Kaymakanova, 2009). Za začetek kalitve je pomembna prekinitev dormance semena, ki je kontrolirana s strani različnih okoljskih dejavnikov kot so npr. svetloba, temperatura, prisotnost nitratov in različnih rastnih faktorjev kot je npr. giberelinska kislina (Bouwmeester in Karssen, 1992).

Natrijev hipoklorit se v rastlinski biotehnologiji ter kmetijstvu velikokrat uporablja kot sredstvo za razkuževanje semen (Guthrie, 1978). Pri navadni solati (*Lactuca sativa*) so opazili, da ima natrijev hipoklorit negativen vpliv na kalitev semen (Pavlišta in Haber, 1970; Sweet in Bolton, 1979). Vendar pa vpliv natrijevega hipoklorita na kaljivost semen ni enoznačen, tako so recimo odkrili, da prekinja dormanco in stimulira kalitev v semenih vrst *Capsicum annum*, *Oryza sativa japonica* cc. Caloro in vrstah iz rodu *Bouteloua* (Mikkelsen in Sinah, 1961; Major

in Wright, 1974; Fieldhouse in Sasser, 1975). Namen našega eksperimenta je bil preveriti vpliv komercialno dostopne varikine na kaljivost semen, podaljševanje korenin ter rast poganjkov navadnega fižola. Uporabila sva parfimirano varikino proizvajalca Šampionka, ki vsebuje 4 % natrijevega hipoklorita (NaClO) (<https://www.sampionka.si/brands/varikina/>).

Hipoteze:

- Pri desetkratni redčitvi ne bo prišlo do kaljenja.
- Vse tri raztopine bodo zavirale rast poganjkov in korenin.

Materiali in metode

- Kalilnik iz stiropora z izdolbenimi luknjicami ter kalilnik izdelan iz kartona.
- 200 semen navadnega fižola.
- Bombažna vata.
- Merilni valj
- Varikina proizvajalca Šampionka (4% natrijevega hipoklorita)

Za namene poskusa smo pripravili deset, sto in tisočkrat redčene raztopine varikine. Redčitve smo pripravili tako, da smo odmerili 50 mL komercialno dostopne varikine (4 % NaClO) in zmešali z 450 mL vode. Ta redčitev je bila desetkratna. Nato smo iz desetkrat redčene varikine vzeli 50 mL in dodali 450 mL vode in dobili stokrat redčeno varikino. Na enak način smo nato pripravili še tisočkrat redčeno varikino.

V luknjice kalilnika iz stiropora smo dodali kosme bombažne vate in jih navlažili z ustreznimi redčitvami ter vodovodno vodo, ki je služila kot pozitivna kontrola. Pri vsaki redčitvi in kontroli smo uporabili 25 semen. Med kaljenjem smo opazovali morebitne morfološke spremembe semen ter vlažili kosme vate po potrebi. Po končanem eksperimentu smo pobrali poganjke jih prešteli in izmerili dolžino poganjka ter dolžino glavne korenine.

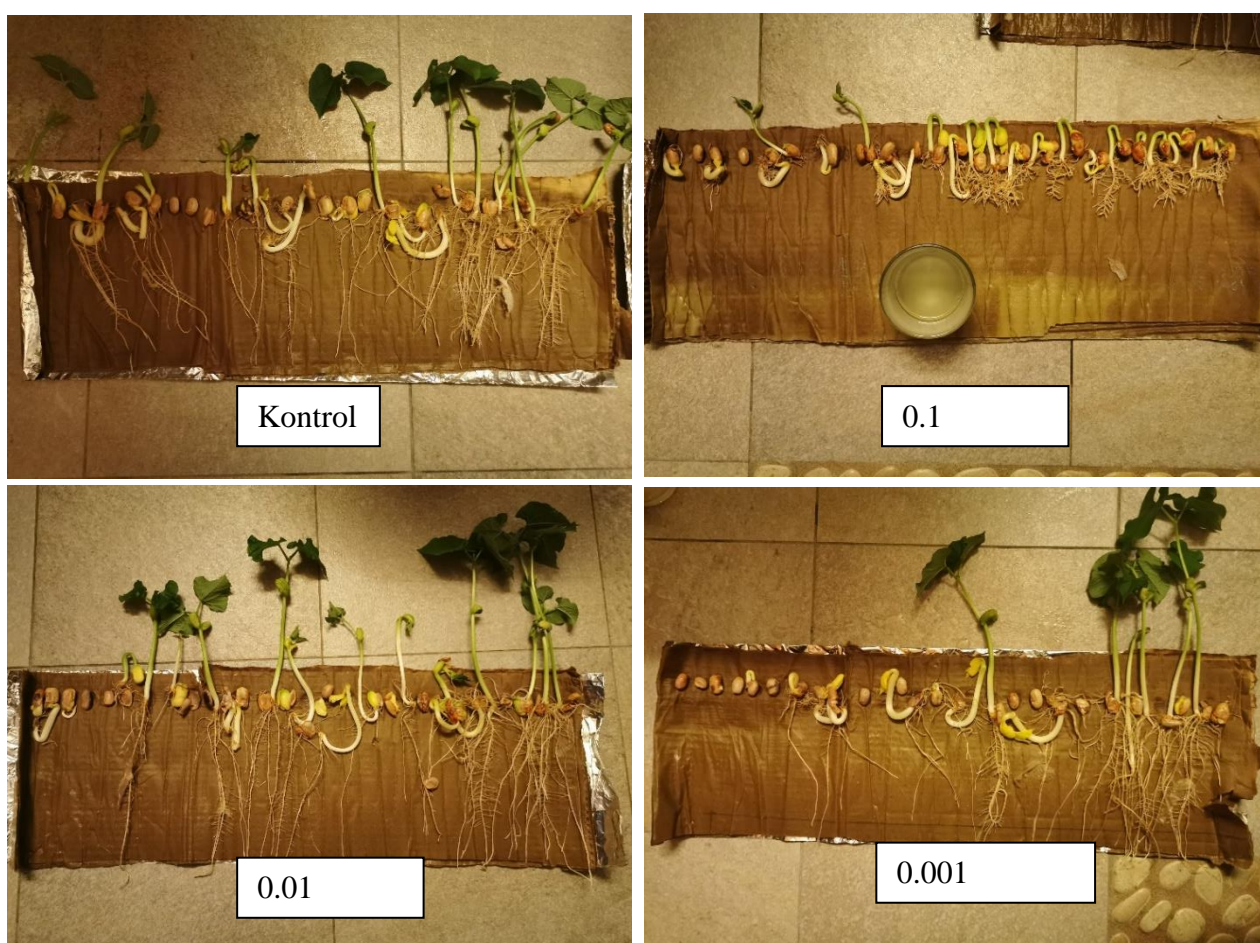
Kalilnik iz kartona smo izdelali po navodilih mentorja, kjer smo v vsak sveženj kartona in papirnate brisačke položili po 25 semen fižola.

Rezultate smo obdelali statistično z ANOVA, post-hoc testom in t – testom. Uporabili smo XL_toolbox dodatek za Excel pri ANOVA analizi in post-hoc testom, t – test pa smo opravili preko vgrajenega Excelovega vtičnika.

Rezultati

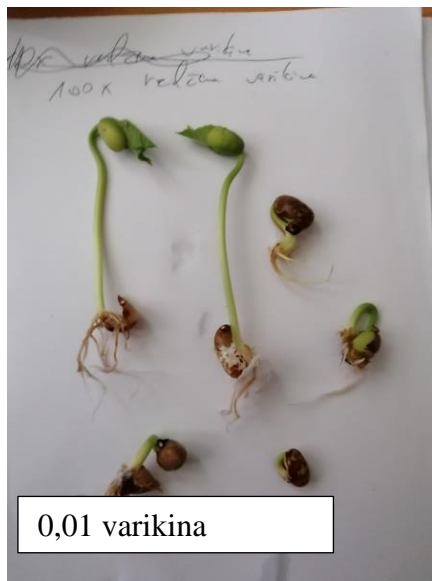
Ko so poganjki v kontrolnem kalilniku dosegli višino 5 cm smo poskus ustavili in pregledali rezultate. Dolžino poganjkov in korenin smo pomerili z ravnilom in podatke vnesli v Microsoft Excel. Prešteli smo tudi razvejanost korenin in jo številsko ovrednotili. Tukaj smo naleteli na problem, saj so se korenine pri stiropornem kalilniku prepletle z vato in jih je bilo nemogoče nepoškodovane prešteti (glej slika 2). V nadaljevanju nisva upoštevala podatka o razvejanosti korenin. V Excelu smo izračunali kaljivost semen. Podatke sva obravnavala vsak zase, saj so se med seboj precej razlikovali.

GAŠPER



Slika 9: Rast fižola v Gašperjevi paralelki

JERNEJ

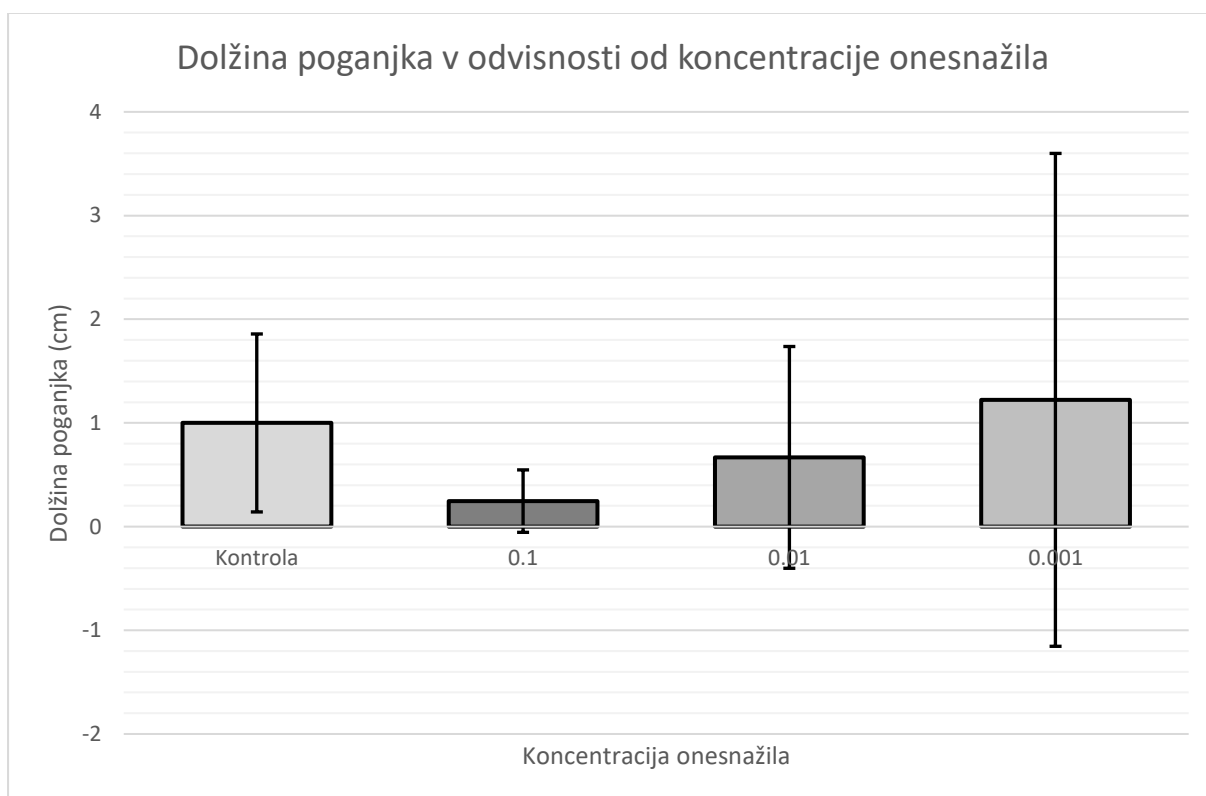


Slika 10: Rast fižola pri Jernejevi paralelki

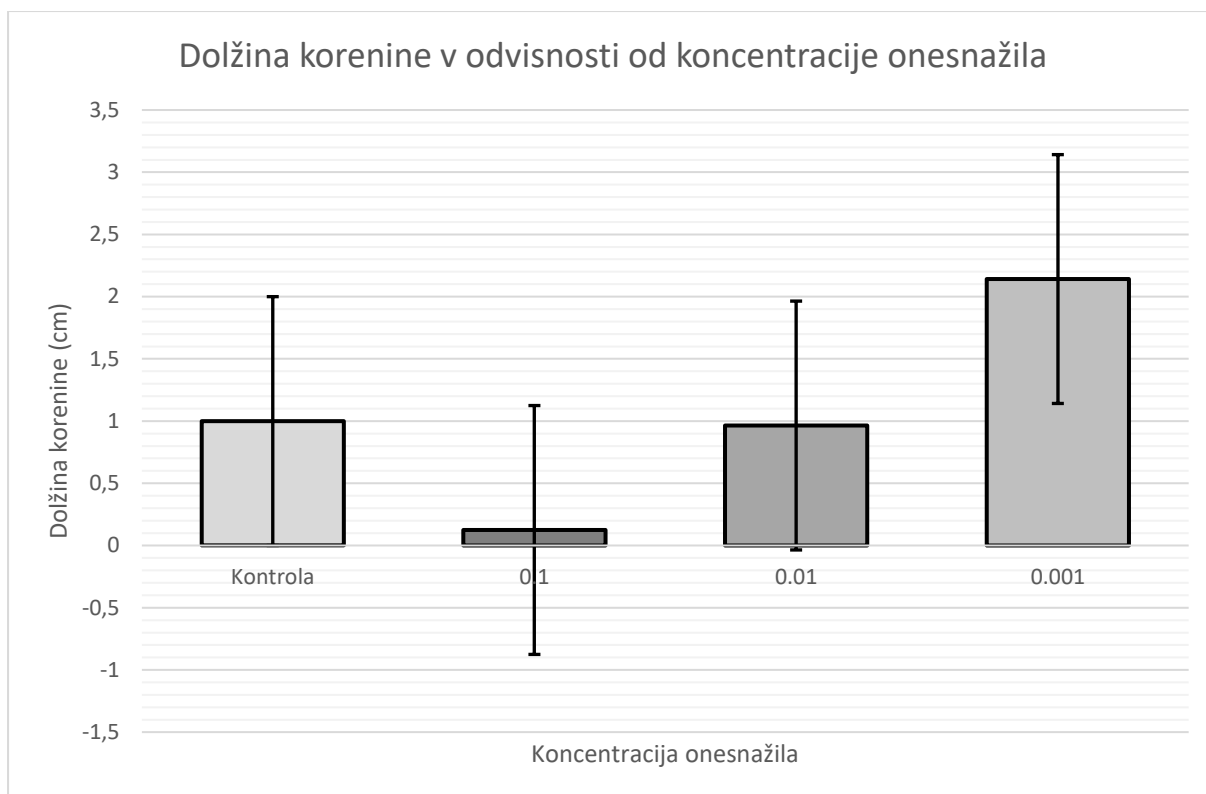
Izračunani podatki so predstavljeni v tabeli 1 in z dvema grafoma. Na grafih (Slika 3 in 4) so predstavljeni tudi standardni odkloni. Podatke sva združila tako, da sva vrednosti posamezne kontrole pripisala 100% in potem izračunala odstotke posameznih meritev.

Tabela 1: Podatki o kaljivosti in dolžinah korenin ter poganjkov za oba poskusa.

Koncentracija varikine	Gašper			Jernej		
	Odstotek kaljivosti	Dolžina poganjka (povprečje)	Dolžina korenine (povprečje)	Odstotek kaljivosti	Dolžina poganjka (povprečje)	Dolžina korenine (povprečje)
0 - kontrola	68%	11.12	15.21	20%	11.46	4.10
0.1	88%	4.23	2.93	32%	0.00	0.00
0.01	84%	8.69	11.19	24%	3.53	3.48
0.001	56%	9.21	11.71	52%	7.77	5.75



Slika 11: Dolžina poganjka v odvisnosti od koncentracije onesnažila



Slika 12: Dolžina korenine v odvisnosti od koncentracije onesnažila

Statistična obdelava z ANOVA testom

Po statistični obdelavi in ANOVA testu z vtičnikom Daniel's XL Toolbox smo dobili rezultate, da ne moremo predpostaviti enake variance tako za dolžino poganjka kot za dolžino korenine pri različni koncentraciji varikine. Rezultati so predstavljeni v Tabeli 2.

Tabela 2: Rezultati ANOVA testa.

ANOVA test	F vrednost	P vrednost
Dolžina korenine	8.380775879	3.13864E-05
	Stat. significantne razlike (P<0.05)	
Dolžina poganjka	4.008161541	0.008666486
	Stat. significantne razlike (P<0.05)	

Post-hoc test

S post-hoc testi smo pregledali, kje med skupinami prihaja do statistično značilnih razlik. Uporabili smo Holm-Šidak verzijo post-hoc testa, ki je manj konzervativen kot druge opcije.

Tabela 3: Rezultati post-hoc testa.

Skupina 1	Skupina 2	Poganjek	Korenina
0	0.1	3.68E-07*	5.08E-11*
0	0.01	0.181314	0.914258
0	0.001	0.652291	0.118929
0.1	0.01	0.008536	0.000255
0.1	0.001	0.004853	0.000125
0.01	0.001	0.135496	0.034786

V tabeli 3 so predstavljene vrednosti P iz vseh post-hoc testov. Z zeleno barvo so pobarvane vrednosti, ki so statistično značilno različno in ovržejo ničelno hipotezo za izbrani par. Ker nas predvsem zanima razlika med kontrolo sta dve P vrednosti še posebej zanimivi. To sta podatka za 0.1 varikino za dolžino poganjka in dolžino korenine. S 0.05 stopnjo prostosti lahko trdimo, v primeru 0.1 redčene varikine, prihaja do statistično značilnega zaviralnega vpliva. Z drugimi besedami, v teh dveh primerih prihaja do inhibicije rasti fižola, tako poganjka kot korenin.

T-testi

Izvedli smo t-teste za dve spremenljivki, kjer smo kot eno privzeli kontrolo, druga spremenljivka pa je bila dolžina poganjka pri različnih koncentracijah onesnažila. Kot ničelno domnevo smo vzeli, da je porazdelitev enaka kot pri kontroli. Za vse t-teste smo privzeli stopnjo značilnosti 0.05. Rezultati so prikazani v tabeli 4.

Tabela 4: Rezultati t-testa.

	Gašper		Jernej	
	P – enostranska		P – enostranska	
Primerjava	Poganjek	Korenin	Poganjek	Korenina
Kontrola – 0.1	0.00	1.6132E-05	0.051289357	0.023705
Kontrola – 0.01	0.4357949	0.30470572	0.063267532	0.482342
Kontrola – 0.001	0.0406716	0.00163868	0.030992284	0.00024

T-testi za dolžino poganjka

V obeh primerih pri 0.01 koncentraciji varikine lahko ničelno domnevo obdržimo - torej, da je porazdelitev enaka tisti pri kontroli. V primerih 0.1 varikine lahko za Gašperjev poizkus ničelno hipotezo ovržemo, pri Jerneju je vrednost mejna in v rangju statistične napake, vendar kljub temu (na podlagi, da ni sploh poteklo kaljenje) lahko tudi tukaj ovržemo ničelno hipotezo.

Zanimivi so podatki pri 0.001 redčeni varikini, kjer po t-testu ovržemo ničelno hipotezo, vendar se paralelki razlikujejo v tem, da pri Jerneju je dejansko povečana dolžina poganjka (glej t statistiko), pri Gašperju pa zmanjšana.

Pri stopnji 0.05 lahko trdimo, da je porazdelitev drugačna v primeru 0.1 in 0.001 redčene varenine. To pomeni, da imata te dve redčitvi statistično značilen vpliv na rast fižola.

T-testi za dolžino korenine

V obeh primerih pri 0.01 koncentraciji varikine lahko ničelno domnevo obdržimo - torej, da je porazdelitev enaka tisti pri kontroli. V primerih 0.1 varikine lahko za obe paralelki ničelno hipotezo ovržemo.

Zanimivi so podatki pri 0.001 redčeni varikini, kjer po t-testu ovržemo ničelno hipotezo, vendar se paralelki razlikujejo v tem, da pri Jerneju je dejansko povečana dolžina poganjka (glej t statistiko), pri Gašperju pa zmanjšana.

Pri stopnji tveganja 0.05 lahko trdimo, da je porazdelitev drugačna v primeru 0.1 in 0.001 redčene varenine. To pomeni, da imata ti dve redčitvi statistično značilen vpliv na rast fižola.

Diskusija

Že iz kaljivosti vidimo, da so podatki težko primerljivi. Vzrokov za drugačno kaljivost je lahko ogromno. Ker se ne pogovarjamo o striktno laboratorijskih pogojih imamo prisotne variacije v temperaturi, vlažnosti, odstotku kisika, CO₂,... Bolj primerljive podatke med paralelkama bi lahko dobili, če bi poskušala bolj uskladiti pogoje gojenja. Po drugi strani so različni pogoji pozitivna spremenljivka v tem smislu, da lahko gledamo vpliv onesnažila tudi pri različnih odstotkih kaljivosti.

Pri opazovanju poganjkov in dolžine korenin sva opazila, da pri kartonastem kalilniku najboljše kalijo semena, ki se nahajajo v sredini svežnja. Ta pojav sva si razlagala tako, da je tam največ prostora za širitev korenin in poganjka, ter da je tudi dostop do plinov boljši kar pripomore k

hitrejši rasti. Tudi samo z opazovanjem je bila najina hipoteza potrjena, da bo rast zavrta pri 0.1 redčeni varikini. Sicer sva mislila, da semena sploh ne bodo vzkalila, pa temu ni bilo tako. V obeh paralelkah je bila prisotna rast. Pri Gašperjevem kalilniku še bolj kot v Jernejevem primeru.

Po izvedbi statistične analize ANOVA testa je bilo jasno, da tudi statistika potrjuje najine domneve. Rezultati povedo, da je v primeru najbolj koncentrirane varikine prišlo do statistično značilnih razlik. Pomembno je, da rezultate ANOVE podkrepimo z rezultati post-hoc testa, kjer dejansko vidimo, kje so doprinosi k skupni P statistiki. Če upoštevamo post-hoc test, vidimo, da je statistično značilna inhibicija rasti prisotna samo pri 0.1 redčeni varikini.

Podatke iz ANOVE delno potrjujejo tudi podatki iz t-testov. Daleč najbolj zaviralno delovanje vidimo v 0.1 redčeni varikini pri Gašperju, vendar v oči bode Jernejeva 0.1 paralelka, kjer pravzaprav ni zrastle ničesar, ANOVA pa govori, da je kljub temu porazdelitev statistično podobna kot pri kontrolnem poizkusu. Vidno je, da je pri Jernejevi paralelki število vzkaljenih poganjkov pri kontroli premajhno, zato so podatki ANOVE zelo težko interpretirani. Kljub temu, manj robustni t-test pokaže mejne vrednosti P statistike za dolžino poganjka in zavrto vrednost za dolžino korenine. V tem primeru lahko trdimo, da je t-test bolj primeren.

Pri 0.01 redčeni varikini so podatki primerljivi po vseh paralelkah in govorijo, da ni prišlo do statistično značilnega zavrtja rasti.

Zanimivi so rezultati najbolj redčene varikine, kjer v obeh primerih ovržemo ničelno domnevo. V Gašperjevem primeru je viden zaviralni učinek varikine, bolj zanimivi so Jernejevi rezultati, kjer vidimo, da gre dejansko za povečanje rasti. To je razvidno iz t statistike, ki je pri Jernejevem primeru negativna. Tudi dejansko je vidna boljša rast: dolžina poganjka in korenin je večja – tudi povprečno gledano.

Z nekaj iskanja po literaturi sva naletela na zanimiv učinek varikine na semena. Pri nekaterih vrstah rastlin je dokazano, da spodbuja kalitev in skrajša dobo dormance semen. Sklepava, da je v Jernejevem primeru prišlo do slednjega pojava. Težko si je razlagati, zakaj se isti rezultati ne pojavijo pri Gašperjevi paralelki.

Glede statistične analize podatkov je potrebno povedati, da se je bolj robustna in hitrejša metoda - ANOVA izkazala za pomanjkljivo, saj je kljub jasno vidnim rezultatom (0.001 redčena varikina pri Jerneju) potrjevala ničelno domnevo. Problem ANOVA testa pri tem primeru je velika variabilnost podatkov in majhno število podatkov. Specifično v takšnem

primeru, kot je najin bolj zaupava t-testom. Mogoče bi z večjim številom semen in številnejšimi paralelkami prišli na teritorij ANOVE, vendar tudi takrat se zdi, da hitreje ni vedno boljše.

Literatura

Bouwmeester, H. J., & Karssen, C. M. (1992). The dual role of temperature in the regulation of the seasonal changes in dormancy and germination of seeds of *Polygonum persicaria* L. *Oecologia*, 90(1), 88-94.

Fieldhouse, D. J., & Sasser, M. (1975). Stimulation of pepper seed germination by sodium hypochlorite treatment. *HortScience*.

Guthrie, J. W. (1978). Standardizing the use of sodium hypochlorite as a seed pretreatment. *Association of official seed analysts newsletter*, 52(2), 41-49.

M. Kaymakanova (2009) Effect of Salinity on Germination and Seed Physiology in Bean (*Phaseolus Vulgaris* L.), *Biotechnology & Biotechnological Equipment*,

Major, R. L., & Wright, L. N. (1974). Seed Dormancy Characteristics of Sideoats Gramagrass, *Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr. 1. *Crop Science*, 14(1), 37-40.

Mikkelsen, D. S., & Sinah, M. N. (1961). Germination Inhibition in *Oryza Sativa* and Control by Preplanting Soaking Treatments 1. *Crop Science*, 1(5), 332-335.

Pavlišta, A. D., & Haber, A. H. (1970). Embryo expansion without protrusion in lettuce seeds. *Plant Physiology*, 46(4), 636.

Rosental, L., Perelman, A., Nevo, N., Toubiana, D., Samani, T., Batushansky, A., ... & Fait, A. (2016). Environmental and genetic effects on tomato seed metabolic balance and its association with germination vigor. *BMC genomics*, 17(1), 1047.

Sweet, H. C., & Bolton, W. E. (1979). The surface decontamination of seeds to produce axenic seedlings. *American Journal of Botany*, 66(6), 692-698.

Ssekandi, W., Mulumba, J. W., Colangelo, P., Nankya, R., Fadda, C., Karungi, J., ... & Jarvis, D. I. (2016). The use of common bean (*Phaseolus vulgaris*) traditional varieties and their mixtures with commercial varieties to manage bean fly (*Ophiomyia* spp.) infestations in Uganda. *Journal of Pest Science*, 89(1), 45-57.

VPLIV DETERGENTA »Ariel Color Gel – Concentrated« NA KALITEV IN RAST AJDE

Avtorja: Anže Lovše in Jan Slunečko

Izvleček

Testirali smo vpliv različnih redčitev detergenta Ariel Color - Gel Concentrated na rast in razvoj semen netretirane ajde sorte Darja. Merili smo dolžine poganjkov, korenin in štetje stranskih korenin ajde vzgajane v domačem kalilniku narejenem iz kartona. Ugotovili smo, da semena pri najvišji koncentraciji detergenta kalijo slabše v primerjavi s kontroli. Prisotnost detergenta je pri 100-kratni in 10-kratni redčitvi zavirala rast poganjkov, opazen je bil tudi padajoč trend v dolžini korenin. Pri najvišji koncentraciji ni bilo razvitih stranskih korenin.

Uvod

Detergenti za pranje perila so široko uporabljeni v industriji in v domačih gospodinjstvih (Bajpai in Tyagi 2007). Skozi leta so naravna mila nadomestili sintetični detergenti, ki so rutinsko uporabljeni po vsem svetu. Njihova uporaba je splošno sprejeta kljub nevarnosti za okolje, ki jo lahko predstavljajo posamezne komponente (Kogawa s sod. 2017). Glavne uporabljene komponente so površinsko aktivne snovi, zgoščevalci, encimi, mehčalci vode, belila in drugi aditivi (Smulders s sod. 2001). Ostanke teh snovi v odpadni vodi bi lahko imeli negativen vpliv na rastline. Pri koruzi so ugotovili, da detergent lahko zavira rast korenin ali pa jo pospeši, kar je odvisno od sestavin v detergentu. Poleg tega so detergenti pri višjih koncentracijah povzročili poškodbe listov in korenin. To kaže, da ima lahko prisotnost pralnih detergentov v vodi za zalivanje znaten vpliv na rast rastlin (Uzma s sod. 2018). Tudi v slovenskih rekah so v letu 2019 zaznali ostanke anionskih detergentov (ARSO 2019), zato nas je zanimalo, kako bi uporaba vode, onesnažene s komercialnim detergentom, vplivala na rast rastlin. Cilj naloge je bil ovrednotiti vpliv komercialnega detergenta na rast in kalitev avtohtone sorte ajde.

Hipoteze

H1: Semena pri najvišji koncentracij ne bodo kalila.

H2: Prisotnost detergenta bo zavirala rast poganjkov.

H3: Prisotnost detergenta bo zavirala rast korenin.

H4: V prisotnost detergenta bo manj stranskih korenin.

Metode in materiali

Priprava kalilnika

Za preverjanje kaljivosti in rasti v odvisnosti od koncentracije detergenta, ki smo si ga izbrali, smo uporabili preprost domač kalilnik, narejen iz kartona in folije za živila. Naredili smo 5 kalilnikov, vsak s svojo koncentracijo detergenta. Karton (dimenzije 20 cm x 50 cm) posameznega kalilnika smo omočili s pripravljeno razredčino detergenta (10-kratna, 100-kratna, 1000-kratna in 10000-kratna in kontrola). Po tem, ko smo ga omočili, smo nanj položili semena ajde 2 cm od zgornjega roba in 2 cm medsebojne razdalje. Preko semen smo večkrat položili prepognjeno papirnato brisačo, da smo semena učvrstili na mestu, brisačko smo rahlo omočili z ustrežno raztopino in karton skupaj z brisačko zvalili v tulec, ki smo ga nato ovili s folijo za živila, da smo preprečili, da bi se nam kalilnik razvil, hkrati pa se zmanjša izhlapevanje vode. Kalilnik smo postavili v posodo in jih postavili na mesto, kjer so prejeli zadostno količino svetlobe, prav tako pa smo redno preverjali, ali je kalilnik vlažen in ga po potrebi zalili z ustrežno raztopino.



Slika 13 Kalilniki med poskusom.

Konec eksperimenta

Eksperiment smo ustavili, ko je poganjek pri kontroli dosegel 5 cm. Po končanem eksperimentu smo kalilnike razdrli in iz njih pobrali vsa semena in rastline ter jih razporedili glede na to, s kakšno koncentracijo detergenta smo jih zalivali. Pri vsaki koncentraciji smo prešteli, koliko semen je vzknilo, izmerili dolžino poganjka in dolžino glavne korenine in število stranskih korenin.

Statistična analiza podatkov

Vsak član skupine je normaliziral podatke glede na aritmetično sredino meritev kontrole. Nato se je podatke združilo in statistično obdelalo. Vse analize smo izvedli s programom R (4.0.0). Kaljivost semen smo izračunali z deljenjem števila vseh vzklitih semen in celotnega števila

uporabljenih semen. Surove vrednosti smo prikazali z okvirjem z ročaji, kjer so predstavljene tudi posamezne točke. Normalnost porazdelitve podatkov smo preverili s Shapiro-Wilk testom. Za analizo variance smo uporabili Kruskal–Wallis test in pregledali povzetek modela. Ker porazdelitev ni bila normalna smo uporabili neparametrični test imenovani Wilcoxon-ov test. V prilogi je dodana celotna skripta za analizo podatkov.

Pregled vseh materialov:

- Karton
- Folija za živila
- Kuhinjska papirnata brisačka
- Netretirana ajda (*Fagopyrum esculentum* Moench), sorta Darja (Semenarna Ljubljana)
- Vodovodna voda
- Detergent Ariel Color - Gel Concentrated
- Ravnilo
- Škarje
- Alkoholni flomaster
- Posoda za kalilnike

Sestavine pralnega praška Ariel Color - Gel Concentrated

Natrijev C10-13 alkil benzensulfonat, natrijev citrat, natrijev lavret sulfat, C12-14 paret-n, C15 paret-n, natrijev palmin kernelat, MEA-C10-13 alkil benzensulfonat, PARFUM, natrijev kumenesulfonat, ko-polimer PEG / vinil acetat, propilen glikol, sulfoniran etoksiliran heksametilendiamin kvaterniran, lavramin oksid, natrijev dietilentriamin pentameten fosfonat, alkohol, hidrogenirano ricinusovo olje, PEG/PPG-12/w propilheptil eter, natrijev hidroksid, lavret-3, natrijev sulfat, natrijev format, sorbitol, citronelol, proteaza, tripropilen glikol, alfa-isometil ionon, dipropilen glikol, kalcijev klorid, etanolamine, amilaza, benzotiazolinon , natrijev klorid, barvilo, dimetikon, hidroksietilceluloza, dimetikonol, dipropilen glikol, PEG-2 stearat (Procter & Gamble 2020).

Rezultati

Ko so sejanke dosegle višino 5 cm smo poskus zaključili in odvili kalilnike. Vizualna primerjava sejank ni pokazala razlik pri 10000-kratni redčitvi (Slika 2). Razvidno je, da je rast nekaterih sejank zavrta že pri 1000-kratni redčitvi kar je bolj izrazito pri 100-kratni. Pri 10-kratni pa so vzknila le redka semena in vidimo poškodovane korenine. Opazili smo, da se številne korenine razraščajo tudi v vmesno plast kartona neodvisno od koncentracije detergenta in tako otežujejo merjenje.



Slika 14 Rastline ob koncu poskusa pri posameznih redčitvah detergenta.

Kaljivost

Pri vsakem smo prešteli število semen, ki so vzknila in na podlagi tega izračunali kaljivost pri posameznih koncentracijah. Rezultati so prikazani v Tabeli 1. Odstotek kaljivosti semen pri kontroli je bil enak 64 %. Največjo kaljivost smo opazili pri skupini, ki je bila izpostavljena 1000-krat redčenemu detergentu, medtem ko je bila kaljivost v primeru 10-kratne redčitve detergenta pričakovano najslabša.

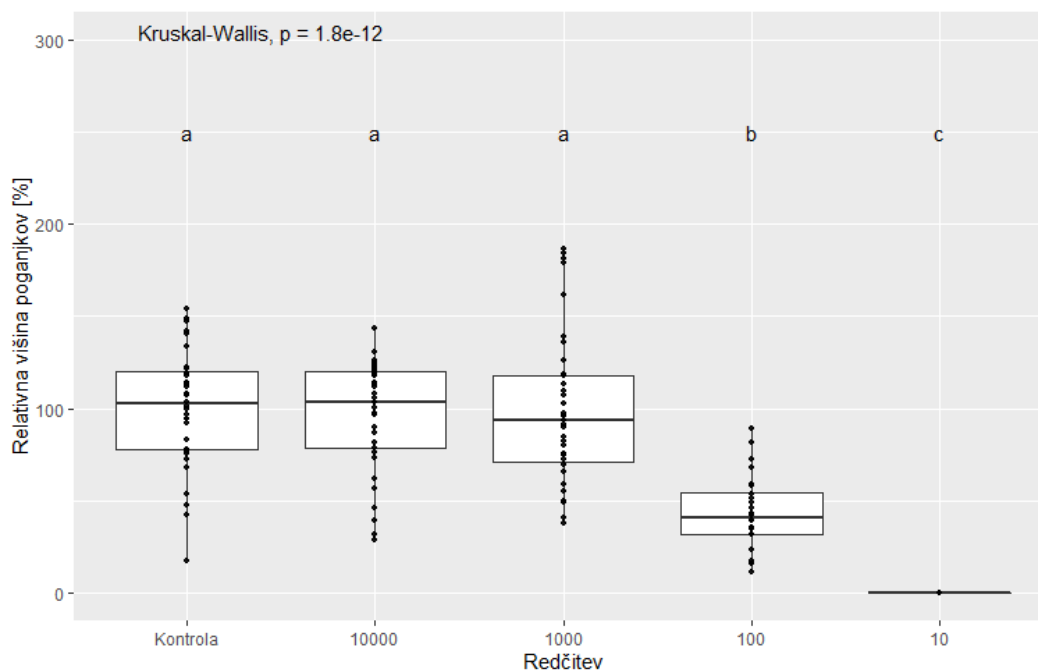
Tabela 4 Kaljivost semen po redčitvah

	Redčitev	Frekvenca	Delež	Odstotek [%]
1	Kontrola	32	0,64	64
2	10000	33	0,66	66
3	1000	35	0,70	70
4	100	24	0,48	48
5	10	10	0,20	20

Višina poganjkov

Štetju semen je sledilo merjenje višine poganjkov in izračun relativne višine poganjka, ki je prikazana na Sliki 3. Vidimo, da relativne dolžine poganjkov pri kontroli obsegajo vrednosti med 20% in 160%. Pri 10000-kratni in 1000-kratni redčitvi ni vidne očitne razlike v relativni višini poganjka. Pri 100-kratni je vidna inhibicija rasti, medtem ko pri 10-kratni redčitvi ni bilo rasti poganjkov.

Pri stopnji značilnosti 0,05 trdimo, da porazdelitev podatkov ni normalna ($p= 0.03003$), zato smo uporabili neparametrične teste. Na podlagi povzetka modela in izpisane p vrednosti ($p=1.844e-12$) smo ničelno hipotezo zavrnil: opazili smo, da so med skupinami statistično značilne razlike. Statistično značilne razlike so bile med 100-kratno in 10-kratno redčitvijo s kontrolo. Prav tako je bila statistično značilna razlika med višino poganjkov pri 100-kratni in 10-kratni redčitvi.

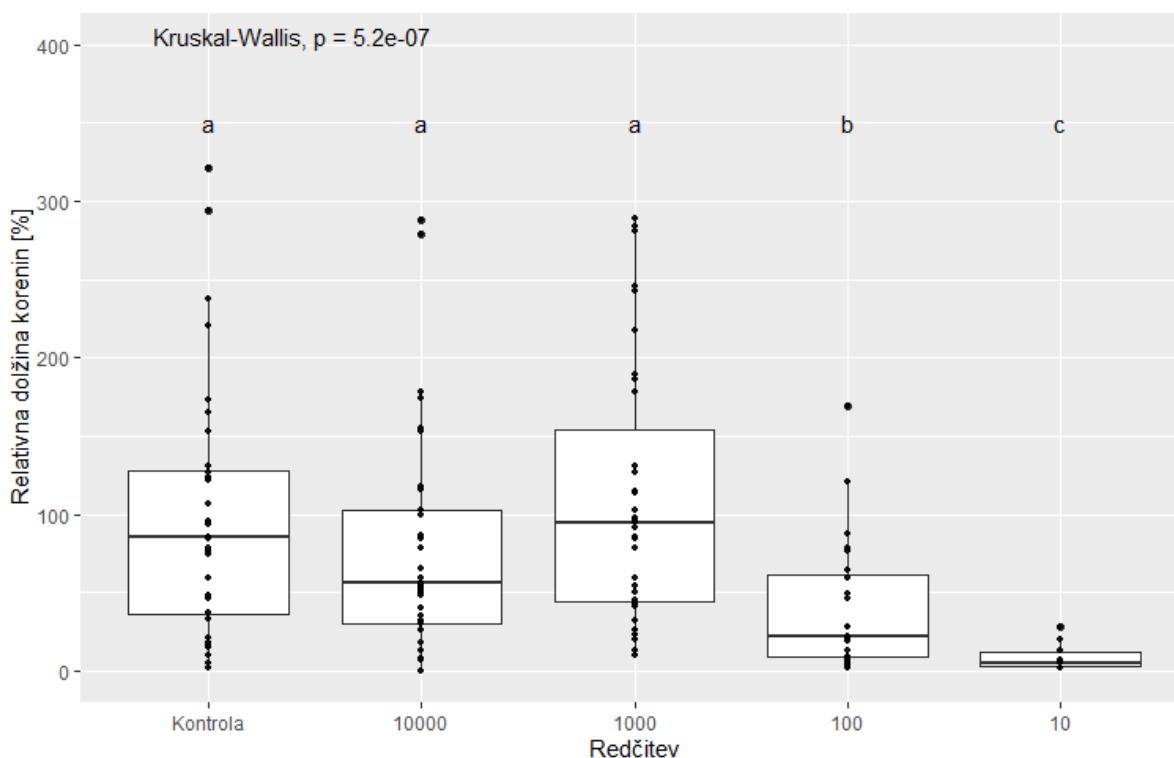


Slika 15 Relativna dolžina poganjkov pri posamezni redčitvi. Za vsako skupino je prikazan okvir z ročaji in posamezne relativne višine poganjkov.

Dolžina korenin

Enako smo izmerili tudi korenine in izračunali relativno dolžino, ki je prikazana na Sliki 5. Relativne dolžine korenin so pomaknjene proti 0 z nekaj izjemami, ki dosegajo visoke relativne dolžine korenin. Padajoč trend je razviden pri 100-kratni in 10-kratni redčitvi. .

Pri stopnji značilnosti 0,05 trdimo, da porazdelitev podatkov ni bila normalna ($p=3.381e-10$), zato smo uporabili neparametrične teste. Na podlagi Kruskal-Wallis test in izpisane p vrednosti ($p=5.164e-07$) smo zaključili, da so bile med redčitvami statistično značilne razlike. Statistično značilne razlike so bile med 100-kratno in 10-kratno redčitvijo s kontrolo. Prav tako je bila statistično značilna razlika v relativni dolžini korenin med 100-kratno in 10-kratne redčitvijo z 10000-kratno in 1000-kratno. Statistično značilna razlika v relativni dolžini je bila tudi med 100-kratno in 10-kratno redčitvijo.

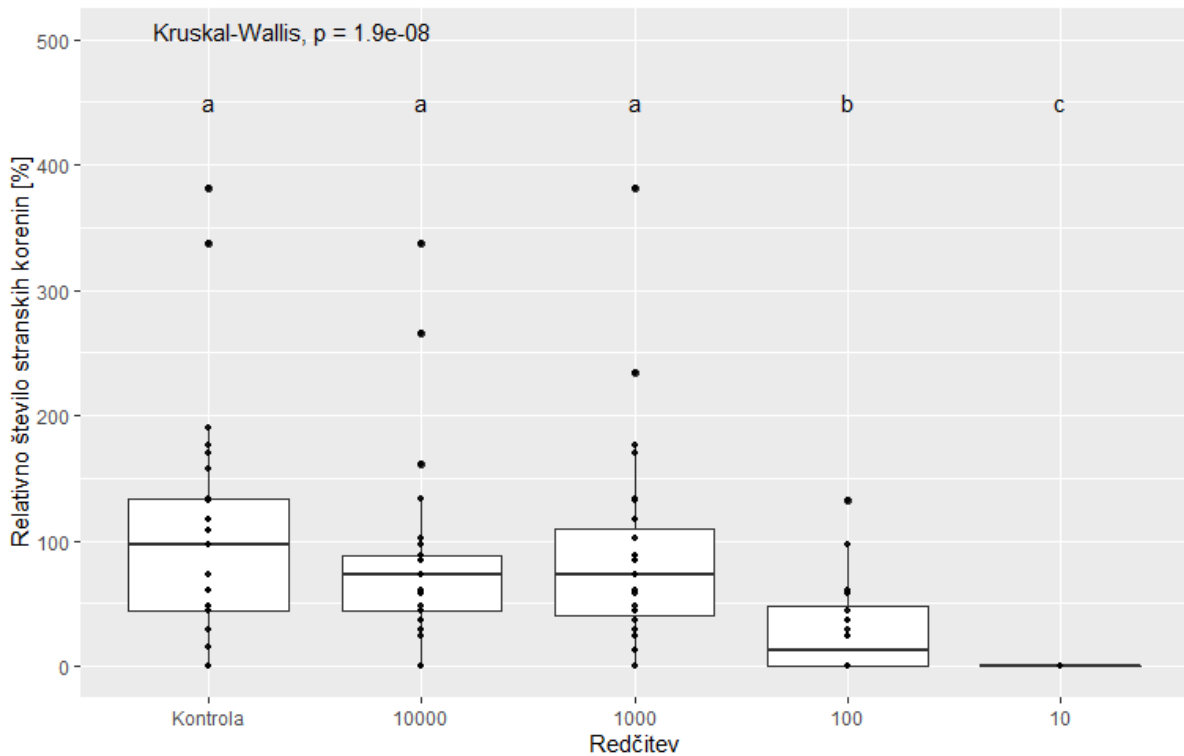


Slika 16 Relativna dolžina korenin pri posamezni redčitvi. Za vsako skupino je prikazan okvir z ročaji in posamezne relativne dolžine korenin. S črkovnim prikazom so prikazane razlike med redčitvami.

Število stranskih korenin

Poleg dolžine korenin smo prešteli še število stranskih korenin in vrednosti ponovno normalizirali. Na Sliki 7 je razvidna velika variabilnost v številu stranskih korenin, ki se ujema z relativno dolžino stranskih korenin. Pri nekaterih so bile popolnoma odsotne, na drugih koreninah pa so bile prisotne v zelo velikem številu. Izjema so bile korenine pri najvišji koncentraciji detergenta, kjer ni bilo rasti stranskih korenin.

Pri stopnji značilnosti 0,05 trdimo, da porazdelitev podatkov ni bila normalna ($p=3.381e-10$), zato smo uporabili neparametrične teste. Na podlagi Kruskal-Wallis test in izpisane p vrednosti ($p= 1.915e-08$) smo zaključili, da so bile med redčitvami statistično značilne razlike. Statistično značilne razlike so bile med 100-kratno in 10-kratno redčitvijo s kontrolo. Prav tako je bila statistično značilna razlika med 100-kratno in 10-kratno redčitvijo z 10000-kratno in 1000-kratno. Število stranskih korenin je bilo prav tako različno med 10-kratno in 100-kratno redčitvijo.



Slika 17 Relativno število stranskih korenin pri posamezni redčitvi. Za vsako skupino je prikazan okvir z ročaji in posamezna relativna števila stranskih korenin. S črkovnim prikazom so prikazane razlike med redčitvami.

Diskusija

Naši rezultati kažejo, da lahko pralni prašek vpliva na rast in kalitev ajde. Pri najvišji koncentraciji detergenta je bila kaljivost 20 % in ni padla na nič, kot smo pričakovali, zato lahko zavrnemo hipotezo, da semena pri najvišji koncentraciji ne bodo kalila (H1). Kljub temu lahko trdimo, da se rastline pri najvišji koncentraciji ne bi mogle razviti do odrasle rastline, saj je bila rast poganjka pri vseh semenih, ki so kalila, odsotna. Odstotek kaljivosti pri posameznih koncentracijah je podoben kot pri izpostavitvi ajde osmotskemu stresu, kjer je pri nizki koncentraciji viden porast v kaljivosti in upad pri višjih koncentracijah (Lim in sod. 2012). Med eksperimentom smo opazili, da so semena pri 10000-kratni redčitvi rasla hitreje v primerjavi s kontrolo.

O inhibiciji kaljivosti in zgodnje rasti pri *Amaranthus viridis* zaradi Citronellola poroča Vaid (2015), ki predlaga vpliv na mitozo mladih seljank kot mehanizem delovanja. Pri pšenici *T. aestivum* je v mikromolarnih koncentracijah izzval peroksidacijo lipidov in povečanje puščanja elektrolitov skozi membrano in tako zavrl rast (Kaur s sod. 2011). Ker natančne koncentracije

Citronellola v pralnem prašku ne poznamo, ne moremo z gotovostjo trditi, da je odgovoren za zavrtje rasti, vendar bi lahko pojasnilo naša opažanja.

Pri višini poganjkov je bila statistično značilna razlika pri 100-kratni in 10-kratni redčitvi, zato lahko zaključimo, da je prisotnost detergenta vplivala na rast poganjkov in lahko potrdimo drugo hipotezo (H2). Popolno odsotnost rasti poganjkov pa smo opazili pri 10-kratni redčitvi, kar kaže na hude poškodbe poganjkov. Ker niso bili vidni nobeni ostanki poganjkov, sklepamo, da je bila rast zavrtja že v zgodnjih fazah.

Tudi za rast korenin je veljalo enako, pri dolžini in številu korenin so obstajale statistično značilne razlike pri 100-kratni in 10-kratni redčitvi. Hipotezi H3 in H4 lahko potrdimo, saj detergent vpliva na razvoj korenin. Iz grafičnih prikazov je razvidno, da je dolžina korenin pri višji koncentraciji detergenta bila krajša v primerjavi z nižjimi koncentracijami. Podobno velja za število stranskih korenin, kjer je bilo pri 100-kratni redčitvi očitno znižano število stranskih korenin, pri 10-kratni pa stranskih korenin sploh ni bilo. Pri koreninah (Slika 4 in Slika 5) je bila vidna veliko večja variabilnost in število osamelcev. Del eksperimentalne napake lahko zagotovo pripišemo merjenju, saj so se nekatere korenine prepredale skozi plasti kartona in so se lahko odlomile, ko smo jih poskusili izmeriti. Neenakomernost v zalivanju in dostopnosti kisika bi prav tako lahko vodile v neenakomerno porazdelitev dolžine korenin, saj pri večini skupin vidimo ekstremne vrednosti, ki močno odstopajo. Del variabilnosti pa je moč pripisati tudi razlikam v sadilnem materialu.

Naši rezultati so primerljivi z rezultati Guo in sod.(2010). Navajajo, da koncentracija soli negativno vpliva na rast poganjkov in korenin. Še bolj izrazit vpliv na rast ima alkalen pH. Zaradi rahle bazičnosti detergenta lahko tudi sklepamo na alkalni stres, kjer je značilen učinek že na nivoju kaljenja rastlin. Pri pšenici *T. aestivum* je odziv podoben kot pri osmotskem stresu, kjer pride do kopičenja ogljikovih hidratov, povišanja Na^+ na račun K^+ , NO_3^- , H_2PO_4^- v vakuolah in kopičenja osmolitov. Pojavi se še povišana koncentracija kalcija in sinteza polimerov fruktoze, vendar se kljub temu rastlina ne more zaščititi pred zelo povišanim pH, kar vodi v okrnjeno rast (Guo s sod. 2010). Zavrtja rast bi bila lahko posledica porabe ATP za črpanje protonov iz celice, kot so to pokazali pri *Arabidopsis* (Xu s sod. 2012).

Literatura

ARSO (2019) PODATKI O KAKOVOSTI VODA.

http://www.arso.gov.si/vode/podatki/arhiv/kakovost_arhiv2019.html. Accessed 28 May 2020

Bajpai D, Tyagi VK (2007) Laundry detergents: an overview. *J Oleo Sci* 56:327–340.

<https://doi.org/10.5650/jos.56.327>

Guo R, Shi LX, Ding XM, et al (2010) Effects of saline and alkaline stress on germination, seedling growth, and ion balance in wheat. *Agron J* 102:1252–1260.

<https://doi.org/10.2134/agronj2010.0022>

Kaur S, Rana S, Singh HP, et al (2011) Citronellol disrupts membrane integrity by inducing free radical generation. *Zeitschrift fur Naturforsch - Sect C J Biosci* 66 C:260–266.

<https://doi.org/10.1515/znc-2011-5-609>

Kogawa AC, Cernic BG, do Couto LGD, Salgado HRN (2017) Synthetic detergents: 100 years of history. *Saudi Pharm J* 25:934–938. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2017.02.006>

Lim JH, Park KJ, Kim BK, et al (2012) Effect of salinity stress on phenolic compounds and carotenoids in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) sprout. *Food Chem* 135:1065–1070. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.068>

Procter & Gamble (2020) P&G Info. <https://www.info-pg.com/slv/variants/Slovenija?prodForm=257>

Smulders E, Rähse W, von Rybinski W, et al (2001) Laundry Detergents. *Laund Deterg.*

<https://doi.org/10.1002/3527600450>

Uzma S, Khan S, Murad W, et al (2018) Phytotoxic effects of two commonly used laundry detergents on germination, growth, and biochemical characteristics of maize (*Zea mays* L.) seedlings. *Environ Monit Assess* 190:. <https://doi.org/10.1007/s10661-018-7031-6>

Vaid S (2015) Phytotoxicity of Citronellol Against *Amaranthus Viridis* L. *Int J Eng Appl Sci* 2:257763

Xu W, Jia L, Baluška F, et al (2012) PIN2 is required for the adaptation of *Arabidopsis* roots to alkaline stress by modulating proton secretion. *J Exp Bot* 63:6105–6114.

<https://doi.org/10.1093/jxb/ers259>

Priloge

PRILOGA A

P-vrednosti Wilcoxon testa za relativno višino poganjkov

	Kontrola	10000	1000	100
10000	0.84	-	-	-
1000	0.60	0.70	-	-
100	8.1e-07	9.9e-07	8.1e-07	-
10	3.5e-06	3.5e-06	3.5e-06	6.8e-06

P-vrednosti Wilcoxon testa za relativno dolžino korenin

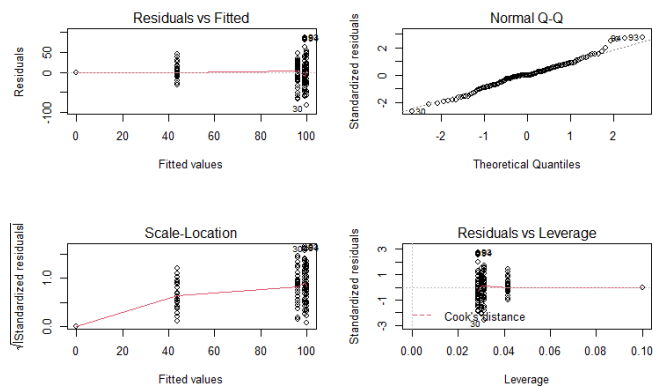
	Kontrola	10000	1000	100
10000	0.28177	-	-	-
1000	0.55940	0.10722	-	-
100	0.00340	0.02239	0.00019	-
10	0.00019	0.00019	7,00E-05	0.00953

P-vrednosti Wilcoxon testa za relativno število stranskih korenin

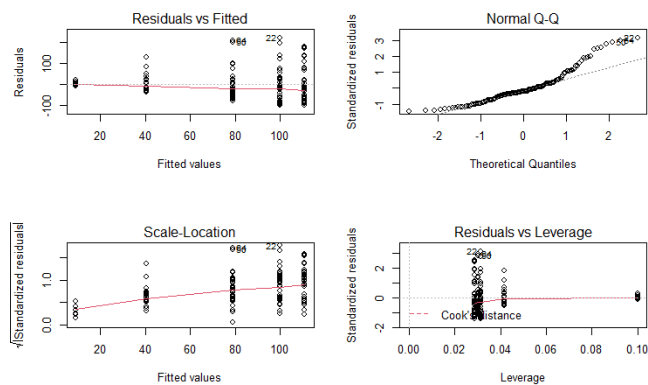
	Kontrola	10000	1000	100
10000	0.27379	-	-	-
1000	0.33282	0.92646	-	-
100	0.00015	0.00015	0.00017	-
10	8.9e-05	3.4e-05	3.0e-05	0.01203

PRILOGA B

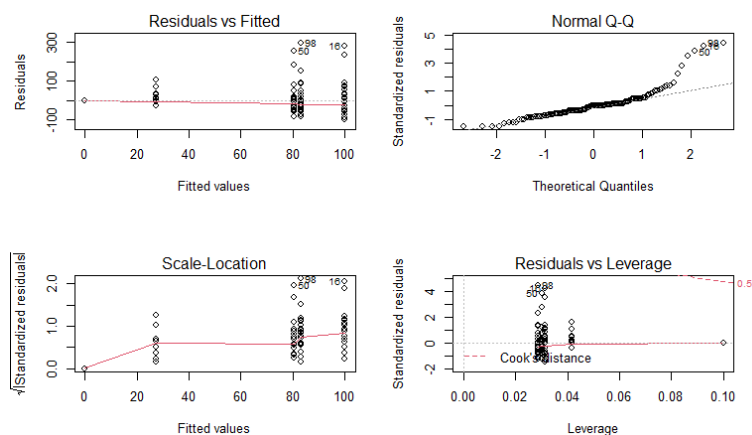
Diagnostični grafi analize variance za relativno višino poganjkov



Diagnostični grafi analize variance za relativno dolžino korenin



Diagnostični grafi analize variance za relativno število stranskih korenin



Vidne so razlike v varianci. Porazdelitev ni normalna, ampak je pomaknjena proti višjim vrednostim.

VPLIV RAZMAŠČEVALCA »Cillit Bang« NA KALITEV IN RAST FIŽOLA

Avtorja: Kristina Matijašić in Marija Zaharieva

Izvleček

Naš namen je bil določiti vpliv razmaščevalca na kalitev in rast korenin ter poganjkov fižola. Pričakovali smo, da bo imel razmaščevalec negativen vpliv na kalitev in rast fižola in da bodo pri večji koncentraciji negativni učinki večji. Semena smo izpostavili razmaščevalcu v različnih koncentracijah ($0,1 \text{ g l}^{-1}$, $0,01 \text{ g l}^{-1}$ in $0,001 \text{ g l}^{-1}$), ter spremljali kalitev. Po osmih dneh, ko so bili poganjki kontrolne skupine (voda) veliki približno 5 cm, smo poskus ustavili. Določili smo odstotek kalitve in izmerili dolžino glavnih korenin ter poganjkov. Prešteli smo tudi število stranskih korenin. V našem poskusu nismo dokazali negativnega vpliva razmaščevalca na kaljivost semen. Dokazali smo negativen vpliv višjih koncentracij ($0,1 \text{ g l}^{-1}$) na rast poganjkov in že nižjih koncentracij na rast korenin ($0,01 \text{ g l}^{-1}$ in $0,001 \text{ g l}^{-1}$). Pri dolžini glavnih korenin so bili negativni vplivi z naraščajočo koncentracijo večji, na razvejanost stranskih korenin pa koncentracija ni vplivala. Razmaščevalec je imel večji vpliv na rast in razvoj korenin, kot na rast poganjkov.

Uvod

V zadnjih desetih letih se vse več govori o onesnaževanju in posledicah le tega. Z razvojem tehnologije in modernega načina življenja je prišlo do nastanka velikih količin odpadkov, ki vsebujejo tudi toksične in nevarne kemikalije. Te imajo lahko kancerogene, imunosopresivne, druge nevarne in toksične učinke na organizme. Dokazano je, da se toksične snovi kopičijo v tkivih rastlin in živali in tako preko hrane lahko preidejo tudi na človeka. Zelo velik vir tega onesnaženja so gospodinjska sredstva, kot so pralni praški, mehčalci, mila, kozmetika, zobna pasta, šamponi in različna čistilna sredstva. Glavne sestavine teh so surfaktanti, baze, encimi, aktivna kisikovih belila, antimikrobne snovi, mehčalci tkanin, dišave, konzervansi in hidrotopi. Velik problem predstavlja tudi vsebnost fosfatov in pa embalaža teh sredstev. Danes je zaradi toksičnosti v nekaterih državah prepovedana uporaba sredstev, ki vsebujejo fosfate. Vse te kemikalije končajo v kanalizaciji, odpadnih vodah. Problem je ta, da te odpadne vode niso ustrezno prečiščene in sproščene v okolje. Tako pristanejo v rekah, morju, oceanih in tleh, kjer imajo posledice na kakovost življenja in rušenje mikrobnih, rastlinskih in živalskih

ekosistemov. V morskih površinah se poruši ekosistem, pride do zastrupitve ali kopičenja teh snovi v tam živečih organizmih. Pogosto povzročijo eutrofikacijo, to je proces večanja količine biomase v vodi, kot posledica povečane koncentracije anorganskih hranil v ekosistemu (Mousavi in Khodadoost 2019). V tla pridejo preko onesnažene vode in z gnojenjem, kjer imajo negativen učinek na rast rastlin. Visoke koncentracije soli in surfaktantov v tleh povečajo pH, kar povzroči separacijo talnih komponent in poslabšanje strukture tal ter uničenja združb mikroorganizmov in gliv. Poleg tega se v tleh, onesnaženih s kemikalijami poveča električni upor, to pa povzroči izpiranje snovi in zmanjšanje zadrževalne kapacitete tal. Posledično tla z velikimi porami in visokim električnim uporom omogočijo vstop onesnažilom in s tem pride tudi do povečanja onesnaženja podzemnih vod. V takih tleh pride do zmanjšane kalitve in razvoja rastlin, kar je posledica tako zgoraj omenjene spremembe strukture tal, kot tudi toksičnih učinkov samega onesnažila (Anwar 2011).

V našem poskusu smo preverjali vpliv razmaščevalca Cilit Bang na kalitev in rast poganjkov in korenin fižola. Glavna sestavina omenjenega razmaščevalca je neionski surfaktant, ki spada med površinsko aktivne snovi. To so snovi, ki zmanjšajo površinsko napetost med dvema tekočinama (npr. olje in voda) ali med tekočino in trdno snovjo. Zaradi svoje amfifilne narave (imajo tako hidrofilne, kot tudi lipofilne lastnosti) in ostalih fizikalno-kemijskih lastnosti se na široko uporabljajo v gospodinjskih sredstvih in industriji (npr. v detergentih za odstranjevanje madežev z oblačil). Problematičen je njihov toksičen učinek na organizme, katerega molekularno in biološko ozadje še ni znano. Znano pa je, da se lahko vežejo na proteine in ostale celične komponente in jih modificirajo ali inaktivirajo (Cserhádi s sod.. 2002).

Naše hipoteze so bile:

- Dodatek razmaščevalca bo negativno vplival na kaljivosti fižola.
- Dodatek razmaščevalca bo negativno vplival na dolžino poganjkov, korenin in števila stranskih korenin fižola.
- Pri večjih koncentracijah razmaščevalca bodo (negativni) učinki večji.

Material in metode

Material

-Semena fižola tetovca

-Razmaščevalec Cillit Bang

-Karton

-Folija za živila

Metode

Priprava založne raztopine detergenta

Pripravili smo serijo redčitev razmaščevalca v koncentracijah $0,1 \text{ g l}^{-1}$, $0,01 \text{ g l}^{-1}$ in $0,001 \text{ g l}^{-1}$. Za prvo redčitev smo prenesli 50 ml razmaščevalca v 450 ml vode. Naslednji dve redčitvi smo naredili po enakem postopku.

Kalilnik

Pripravili smo štiri kalilnike, enega za kontrolo, ostale tri pa za redčitve razmaščevalca. Na folijo za živila smo pričvrstili karton velikosti 50x30 cm, ga namočili z raztopino, nanj položili 25 semen in tesno zvalili. Kalilnik smo postavili pokonci na okensko polico. Za ohranjanje primerne vlažnosti ga dnevno zalivali z ustrežno raztopino. Poskus smo izvajali v dveh paralelkah.

Statistična obdelava

Pridobljene podatke smo zbrali v programu Microsoft Excel in jih statistično obdelali v programu R-commander, kjer smo uporabili Tukey post hoc test ($p < 0,05$).

Rezultati

Tekom poskusa smo vizualno spremljali kaljivost fižola. Fižol je vzkli že po nekaj dneh. Po osmih dneh, ko so bili poganjki kontrolne skupine veliki približno 5 cm, smo poskus zaključili.

Iz **slik 1-4** so razvidne razlike v rasti fižola, izpostavljenega različnim raztopinam. Pri kontrolnih rastlinah smo opazili dolge, razvejane korenine in na videz zdrave poganjke. Pri največji koncentraciji razmaščevalca smo opazili nazadovanje v razvoju. Poganjki so bili krajši kot pri kontroli. Korenine so bile krajše, bilo jih je manj in bile so odebeljene.



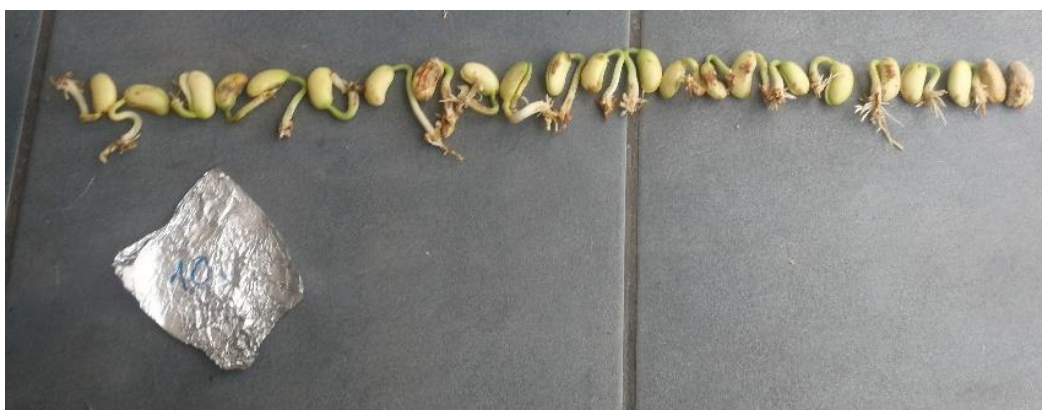
Slika 20: Fižol, izpostavljen vodi, po koncu poskusa.



Slika 21: Fižol, izpostavljen 1000-kratni redčitvi razmaščevalca, po koncu poskusa.



Slika 19: Fižol, izpostavljen 100-kratni redčitvi razmaščevalca, po koncu poskusa.



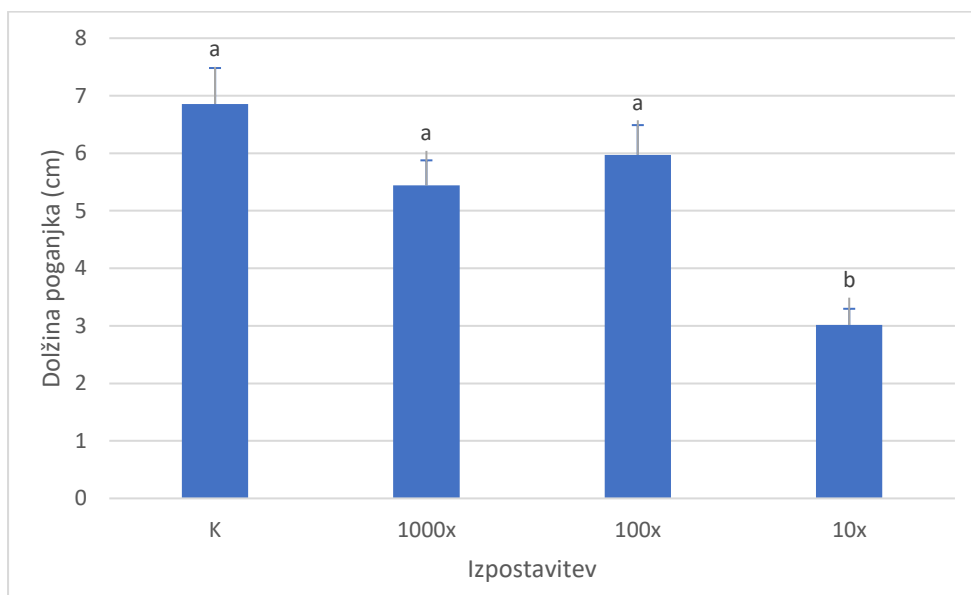
Slika 18: Fižol, izpostavljen 10-kratni redčitvi razmaščevalca, po koncu poskusa.

Po koncu poskusa smo ocenili kaljivost fižola. Iz **preglednice 1** je razvidno, da je bila kaljivost semen pri vseh izpostavitvah nad 70%.

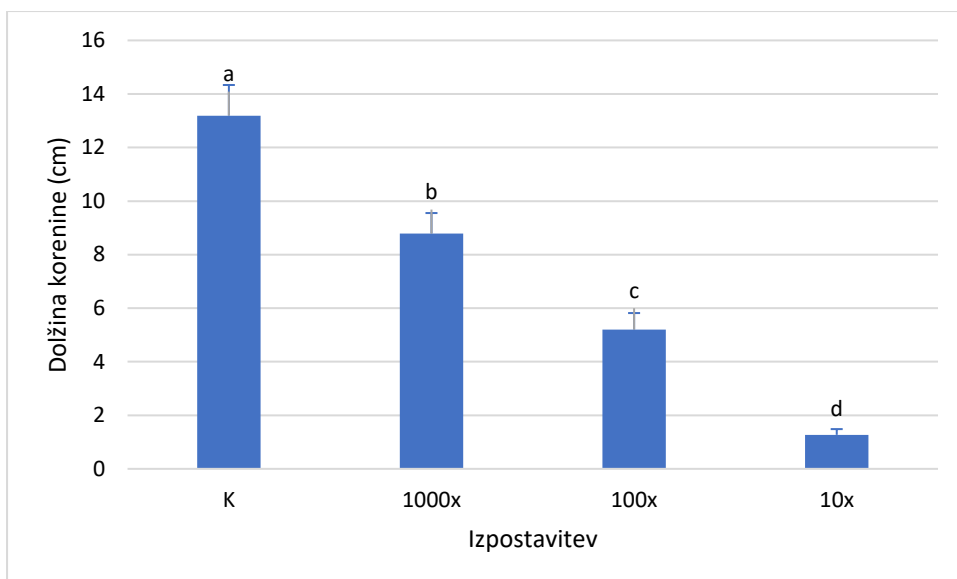
Preglednica 1: Kaljivost semen fižola, izpostavljenim vodi (K) in različnimi koncentracijami razmaščevalca (10x, 100x, 1000x).

Izpostavitev	Kaljivost (%)
K	88
1000x redčitev	72
100x redčitev	80
10x redčitev	94

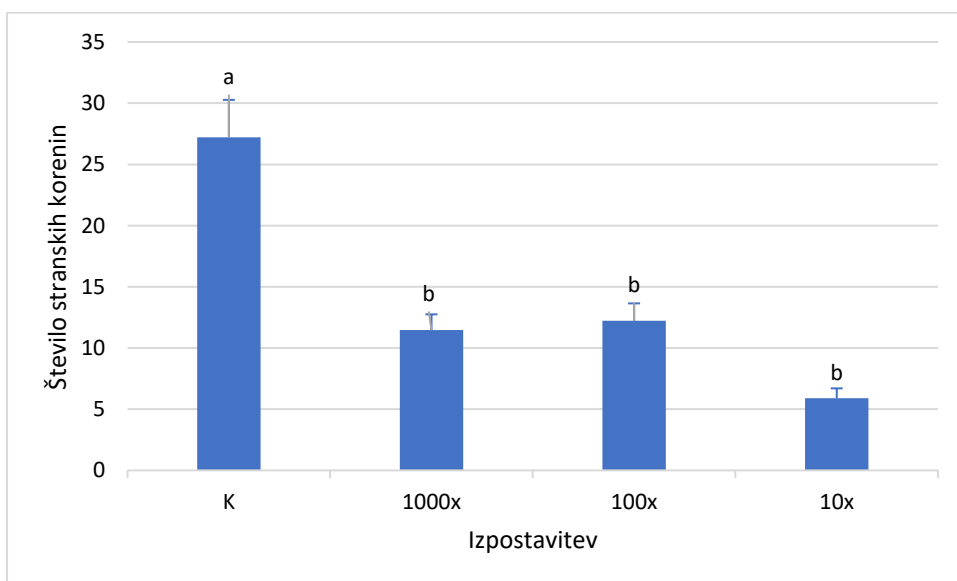
Nato smo izmerili dolžine poganjkov, dolžine korenin in prešteli število stranskih korenin vseh rastlin fižola. Na **sliki 5** lahko vidimo, da se dolžina poganjkov fižola, ki smo jih izpostavili raztopini 10x redčenega razmaščevalca statistično razlikuje od tistih, ki smo jih tretirali z ostalimi raztopinami. Med ostalimi skupinami ni bilo opaženih statistično značilnih razlik. Iz **slike 6** je razvidno, da se povprečna dolžina glavne korenine fižola statistično razlikuje med vsemi izpostavitvami. Iz **slike 7** je razvidno, da se povprečno število stranskih korenin semen, izpostavljenih razmaščevalcu statistično značilno razlikuje od kontrolne skupine. Med ostalimi skupinami ni bilo opaženih statistično značilnih razlik.



Slika 22: Dolžina poganjkov (cm) rastlin, izpostavljenih vodi (K) in različnimi koncentracijami razmaščevalca (10x, 100x, 1000x) (SV+SE, N=50). Različne črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike (Tukey test, $p < 0,05$).



Slika 23: Dolžina glavnih korenin (cm) rastlin, izpostavljenih vodi in (K) in različnimi koncentracijam razmaščevalca (SV+SE, N=50). Različne črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike (Tukey test, $p < 0,05$).



Slika 24: Število stranskih korenin po izpostavitvi vodi (K) in različnim koncentracijam razmaščevalca (SV+SE, N=50). Različne črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike (Tukey test, $p < 0,05$).

Diskusija

Povečane koncentracije gospodinjskih detergentov v vodi in tleh dokazano vodijo v slabšo kaljivost in rast rastlin. Issayeva in sod. (2015) so v 14-dnevnem poskusu tretiranja fižola z različnimi koncentracijami različnih detergentov (milo, prašek in gel) opazili, da je povečana koncentracija detergenta zavirala kalitev semen. Zmanjšana kaljivost je lahko posledica povečanja oksidativnega stresa, ki povzroči peroksidacijo maščob in poveča prepustnost membrane za toksične ione (Heidari, 2013). Pred začetkom našega poskusa smo predvideli, da bo kaljivost fižola z dodatkom kemikalije upadla. Iz rezultatov je razvidno, da je kaljivost v vseh skupinah višja od 70% in, da so razlike v kaljivosti fižola med skupinami majhne. Zaradi nizkega števila semen, ki niso skalila, statistična obdelava ni bila smiselna. Najvišjo kaljivost fižola (95%) smo opazili pri 10x redčitvi kemikalije, kar se ne sklada z našimi predvidevanji. Tak rezultat je najverjetneje le posledica premajhnega vzorca ali pa samega položaja semen v kalilniku. Do razlik v kaljivosti je lahko prišlo tudi zaradi zalivanja z različnimi volumni raztopin.

Dobro je znano tudi, da prisotnost gospodinjskih kemikalij vpliva na dolžino poganjka in korenine pri rastlinah. Sawadogo in sod. (2014) so testirali vpliv detergenta na rast solate in s povečanjem koncentracije detergenta opazili zmanjšanje suhe biomase korenin in poganjkov. Zaviralni učinek na rast rastlin se je pokazal pri koncentracijah nad 1 mg l^{-1} . Issayeva in sod. (2015) so pri uporabi 5% detergenta opazili slabšo rast rastlin fižola. V našem poskusu smo najdaljše poganjke izmerili pri kontrolnih rastlinah fižola, kar je pričakovano. Na rast poganjkov je negativno vplival le razmaščevalec v koncentraciji 1 g l^{-1} . Da bi potrdili hipotezo, da se vpliv z naraščanjem koncentracije veča, bi morali preizkusiti še bolj koncentriran razmaščevalec. To hipotezo pa smo potrdili pri dolžini glavnih korenin, kjer so se vse izpostavitve med seboj statistično značilno razlikovale. Tu je, za razliko od opaženega pri poganjkih, že najmanjša preizkušena koncentracija razmaščevalca negativno vplivala na dolžino. Podobno smo opazili pri številu stranskih korenin, s to razliko, da med skupinami, izpostavljenimi razmaščevalcu, ni bilo značilnih razlik.

Ena možna razlaga zmanjšane rasti in nenormalnega razvoja poganjkov in korenin ob prisotnosti kemikalije je, da rastlina ob prisotnosti kemikalije aktivira obrambni in zaščitni sistem in energijo namesto v rast usmerja v obrambo. Rastlina zmanjša število stranskih korenin in jih zadebeli, ter s tem zagotovi zmanjšan privzem (tudi) toksičnih snovi. Posledično se absorbira tudi manj rastlini nujno potrebnih snovi (hranil), zato se upočasni rast poganjkov. Nenormalen razvoj korenin in poganjkov pa je verjetno tudi posledica že absorbiranih

surfaktantov v rastlini, ki interagirajo s proteini v celični membrani in vplivajo na številne fiziološke in biokemijske procese v celici (Uzma in sod., 2018). Tudi dvig ROS, kot posledica prisotnosti surfaktanta v celici, vodi v poškodbe celične membrane. Eden od vzrokov zavrtne rasti je tudi preprečen privzem vode okoli semen, zaradi prisotnosti kemikalije okoli le teh (Sharifzadeh in sod., 2006). Kemikalija ima večji vpliv na rast korenin, kot na rast poganjkov, kar so dokazali že Uzma in sod.(2018) in zaključili, da bi to lahko bila posledica tega, da so korenine, za razliko od poganjkov, v direktnem kontaktu s kemikalijo.

Da bi potrdili dobljene rezultate, bi morali narediti več ponovitev, vse bi morala narediti ista oseba, poleg tega pa bi morali zalivati z enako količino vode oziroma razredčenega detergenta. Zaradi priprave raztopin doma, je lahko prišlo tudi do napak v pripravi redčitev, za kar bi mogli v prihodnje uporabiti primerne merilne pripomočke (merilni valj). Opazili smo tudi problem pri samem razmaščevalcu, ki se zaradi prisotnosti kemikalij peni in je tako težko natančno odmeriti željen volumen, kar bi tudi lahko pripomoglo k razlikam med vzorci posameznega tretmaja. Tekom ponovnega poskusa bi morali tudi uporabljati enake založne raztopine tekom celega poskusa. Če bi pri ponovno izvedenem eksperimentu dobili podobne rezultate, ki bi bili statistično značilni, bi lahko naredili še dodatne raziskave. Zanimal bi nas transportni sistem v rastlini in obrambni mehanizem, kot tudi mehanizmi odstranjevanja toksičnih snoveh. Preučevali bi sisteme, s katerimi rastlina toksične kemikalije črpa izven celic in načine, s katerimi rastlina prepreči skladiščenje le teh v tkivih. Za bolj natančne rezultate bi lahko uporabili še metode merjenja suhe in mokre mase poganjkov in korenin.

Potrebno bi bilo narediti dodatne raziskave, da bi ugotovili, kako tak s kemikalijami onesnaženi fižol vpliva na zdravje ljudi. To bi vključevalo analizo vseh snovi, ki nastajajo v takem fižolu in narediti bi morali primerjavo z neonesnaženim fižolom. Kot nadaljevanje našega poskusa predlagamo dokončno gojenje fižola in ekstrakcijo proteinov, maščob, sladkorjev in ostalih komponent, ter njihovo analizo s pomočjo HPLC, MS in/ali ostalih tehnik.

Literatura

- Anwar AHMF (2011) Effect of Laundry Greywater Irrigation on Soil Properties. *J Environ Res Dev* 5:863–870
- Cserháti T, Forgács E, Oros G (2002) Biological activity and environmental impact of anionic surfactants. *Environ Int* 28:337–348. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(02\)00032-6](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(02)00032-6)
- Heidari H (2013) Effect of Irrigation with Contaminated Water by Cloth Detergent on Seed Germination Traits and Early Growth of Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Not Sci Biol* 5:86–89. <https://doi.org/10.15835/nsb519003>
- Issayeva AU, Zh SE, Zhymadullayeva AI, Balgabekova A (2015) The Effect of Detergents on the Anatomical Changes in the Roots of Beans. 2:18–22
- Mousavi SA, Khodadoost F (2019) Effects of detergents on natural ecosystems and wastewater treatment processes: a review. *Environ Sci Pollut Res* 26:26439–26448. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05802-x>
- Sawadogo B, Sou M, Hijikata N, et al (2014) Effect of detergents from grey water on irrigated plants: Case of Okra (*Abelmoschus esculentus*) and Lettuce (*Lactuca sativa*). *J Arid L* 24:117–120

VPLIV ČISTILA »Mr. Muscle« NA KALIVOST IN RAST KALIC JEČMENA (*Hordeum vulgare*)

Avtorja: Klavdija Fortuna in Tena Janežič

Izvleček

Namen vaje je bil ugotoviti vpliv čistila »Mr. Muscle« na kalivost semen ječmena, na rast poganjkov in korenin ter razvoj sekundarnih korenin. Po 25 semen ječmena smo naložili v kalilnike iz kartona in jih postavili v koncentrirano raztopino čistila, ter v 10x, 100x in 1000x redčene raztopine čistila. Kot kontrolo smo uporabili vodo. Po 7-ih dneh smo ovrednotili učinek čistila na kalivost in rast ječmena. Kalivost semen je bila občutno nižja pri koncentriranem čistilu (36 %), medtem ko pri ostalih redčitvah ni bistveno odstopala od kontrole (92 - 98 %), pri kateri je bila kalivost semen 100 %. Povprečna dolžina poganjkov in korenin se je z naraščajočo koncentracijo čistila manjšala. Pri koncentriranem čistilu je bil razvoj sekundarnih korenin zavrt, prav tako je bilo veliko deformiranih kalic. Potrdili smo hipotezo, da čistilo Mr.Muscle negativno vpliva na kalivost in rast ječmena.

Uvod

Potrebe po oskrbi s pitno vodo in visokokakovostno hrano brez onesnažil se povečujejo, pritisk potrošnikov na proizvajalce in dobavitelje pa je vsak dan večji. Redna in množična uporaba različnih čistilnih sredstev v gospodinjstvih povečuje onesnažila v tleh, vodnih virih in hrani ter predstavlja resno nevarnost za zdravje ljudi in živali. Čistilna sredstva kot so mila in tekoči geli, ki se uporabljajo za umivanje rok, obraza ali telesa, detergenti v prahu ali gelu za pranje perila, gospodinjska čistila za čiščenje pohištva, stekla, plastičnih predmetov, kuhinjske posode in kopalnice, se uporabljajo v gospodinjstvih vsak dan. Skupne sestavine vseh teh čistilnih sredstev so maščobe, baze, glicerini, površinsko aktivne snovi, močne kemikalije za kemično čiščenje, belila, amonijak, barvila in arome. V glavnem odstranjujejo mastne snovi in umazanijo. Te potencialno nevarne snovi preko odtokov ali odvržene embalaže prehajajo neposredno v ekosisteme, preko onesnažene vode pa v rastline in tako vplivajo na njihovo rast in razvoj. Nenehna uporaba teh sredstev negativno vpliva tudi na tla in s tem neposredno na kalivost semen in rast rastlin v naravi. Lahko se spremeni pH tal, poveča se slanost tal, spremeni se številčnost in

raznolikost mikrobnih združb, sestava hranil in s temi rodovitnost tal (Vanitha et al. 2017).

Številne študije so pokazale negativen vpliv detergentov, kot so natrijev dodecil sulfat in sintetičnih detergentov na diatomeje (Aizdaicher in Reunova 2002) ter izgubo encimske aktivnosti (Srinivasan s sod. 1992) in nastanek kloroz pri beli murvi (Park s sod. 2004). Zaradi izpostavljenosti rastlin čistilnim sredstvom (detergentom) najpogosteje pride do izgube metabolne aktivnosti (Brandt s sod. 2001), spremembe biofizikalnih lastnosti membran (Behzadipou s sod. 2001), zaviranja rasti celic in blokad v sintezi klorofila (Reunova in Ayzdaycher 2003). Prisotnost natrijevega sulfata, dušika in njegovih oksidov ter fosfatov v detergentih, povzroči draženje korenin, saj iz njih odstranjujejo vodo in prispevajo k slabšemu razvoju plodov in tudi k slabši kalivosti (Jogerson 1979).

Namen: Preučiti vpliv čistila »Mr. Muscle« na kalivost ter rast kalic ječmena, pregledati literaturo na tem področju ter iz tega posredno sklepati na to, kakšen vpliv ima konkretno čistilo na okolje in na človeka.

Hipoteze: Predvidevava, da se bo z naraščajočo koncentracijo čistila »Mr. Muscle« velikost poganjkov zmanjševala, korenine bodo krajše in manj številčne, ter da bo negativen učinek čistila bolj opazen pri koreninah. Meniva tudi, da bo s povečevanjem koncentracije čistila odstotek kalivih semen padal.

Materiali in metode

Materiali

- Karton
- Aluminijska folija za živila
- Voda
- Stekleni kozarci
- Čaša za merjenje volumna
- pH lističi (MColorpHast™ pH 0-14 - Merck, Darmstadt)
- Semena ječmena
- Ravnilo
- Kuhinjska brisačka
- Kuhinjska tehtnica
- Steklenice za pripravo redčenih raztopin
- Čistilo Mr. Muscle - sestavine: - voda

- **Natrijev hipoklorit (NaOCl):** Bakteriocid, ki je v čistilo dodan z namenom odstranjevanja mikroorganizmov, ki bi lahko v ceveh tvorili biofilme.
- **Natrijev hidroksid (NaOH):** Alkalna tekočina, ki je dodana predvsem z namenom razgradnje maščob na glicerol in maščobne kisline, produkti so vodotopni in se lahko odstranijo z vodo.
- **Alkil dimetil amin N-oksid:** Ne-ionski surfaktant, ki pomaga pri raztapljanju maščob v vodi. Uporablja se ga tudi v številnih šamponih in vodnih kopelih. Gre za ogljikovodike, ki vsebujejo 10-16 ogljikovih atomov, povezani so z dušikom, na katerega sta vezani dve metilni skupini (CH₃) in kisikov atom.
- **Natrijeva sol dekanajske kisline:** Anionski detergent, njegova naloga je dispergiranje maščobe.
- **Natrijev laurat:** Anionski surfaktant, ki spreminja površinsko napetost in pomaga pri dispergiranju maščob.
- **Natrijev silikat:** Tvorba gela, prepreči rjavenje kovinskih materialov v kopalnici.
- **Polinatrijev stirensulfat:** Material, ki pomaga pri tvorbi gela, veže tudi nekatere dvovalentne katione (npr. Ca²⁺), ki problem predstavljajo predvsem na področjih z veliko karbonatno trdoto vode.
- **Trietilfosfat:** Topilo, ki topi predvsem organsko snov, ki maši odtok.

Metode

Priprava raztopin

S kuhinjsko tehtnico smo zatehtali 50 g čistila in dodali 450 mL vode. Tako smo dobili 10x redčeno raztopino čistila. 50 mL 10x redčene raztopine smo prenesli v novo steklenico in dodali še 450 mL vode, da smo dobili 100x redčeno raztopino čistila. 50 mL 100x redčene raztopine smo prenesli v novo steklenico in dodali 450 mL vode. Tako smo dobili 1000x redčeno raztopino čistila. Za kontrolo smo uporabili vodovodno vodo. Pri pripravi raztopin smo si pomagali s tabelo 1 (priloga A). Raztopinam smo s pomočjo pH lističev izmerili pH.

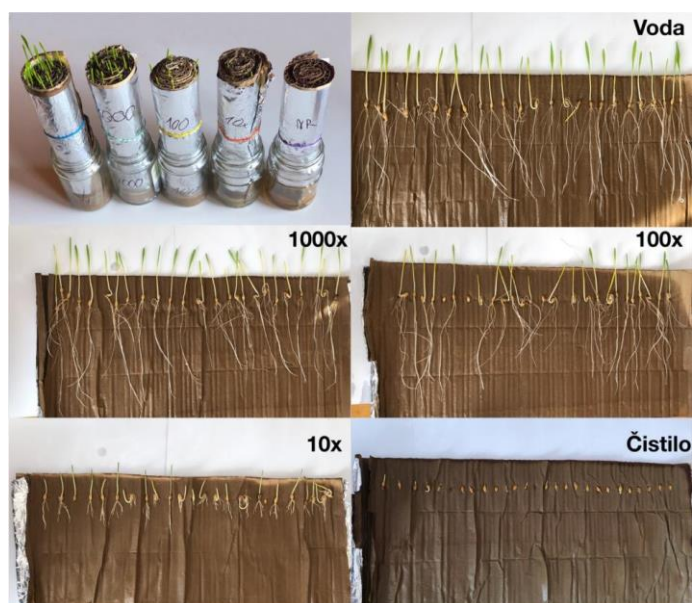
Priprava kalilnikov

Karton smo narezali v obliki pravokotnikov v velikosti 50 x 25 cm. Na ravno površino smo položili aluminijasto folijo, nanjo karton in ga navlažili z ustrezno raztopino. 2 cm od zgornjega roba kartona smo v vrsto razporedili 25 semen ječmena. Čez semena smo položili z ustrezno raztopino navlažene papirnate brisačke. Karton smo skupaj s folijo zvili v rolo. Role smo ustrezno označili, zatisnili z elastiko in jih postavili v kozarec z ustrezno raztopino, tako da je bila višina tekočine vsaj 5 cm. Kalilnike smo postavili na

svetlo mesto (okenska polica). Vsak dan smo opazovali in spremljali potek kalitve. Poskus smo končali, ko so poganjki pri kontrolni raztopini dosegli velikost približno 5 cm. Role smo nato razvili, določili odstotek kalivih semen, izmerili dolžine poganjkov, korenin in prešteli število stranskih korenin. Rezultate smo statistično obdelali tako, da smo s pomočjo ANOVE in Turkey-evega HSD testa (program R Commander) primerjali povprečja med skupinami ter ugotovili med katerimi pari je prišlo do statistično značilnih razlik. Grafe smo izdelali s pomočjo Excelovega dodatka Toolbox.

Rezultati

Tabela 2 (priloga B) prikazuje povprečja dolžin poganjkov, korenin, števila stranskih korenin, standardne deviacije in pH vrednosti raztopin v katerih so kalice rasle. Iz tabele je razvidno, da je čistilo »Mr.Muscle« močno bazično, saj je bil pH čistila 10.5, z redčenjem pa je pH raztopin padal. Kalivost semen v vodi je bila 100 %, pri 1000x, 100x in 10x redčitvi se je odstotek kalivosti nekoliko zmanjšal, občuten padec kalivosti pa je bil opažen pri koncentriranem čistilu, kjer je kalivost semen ječmena znašala le 36 %. Kot je vidno na slikah 1 in 2, so bile dolžine poganjkov in korenin največje pri kontrolni raztopini, z naraščajočo koncentracijo čistila so se zmanjšale. Standardne deviacije so pri koreninah približno 2x večje kot pri poganjkih, kar pomeni, da so meritve korenin znotraj posameznih skupin bolj variirale. Najnižje standardne deviacije so pri številu korenin, kjer v številu korenin znotraj skupin ni bilo bistvenih razlik, prav tako ni bilo razlik med povprečnim številom korenin med kontrolo in vsemi tremi redčenimi raztopinami, je bil pa občutno zavrt razvoj sekundarnih korenin pri samem čistilu.

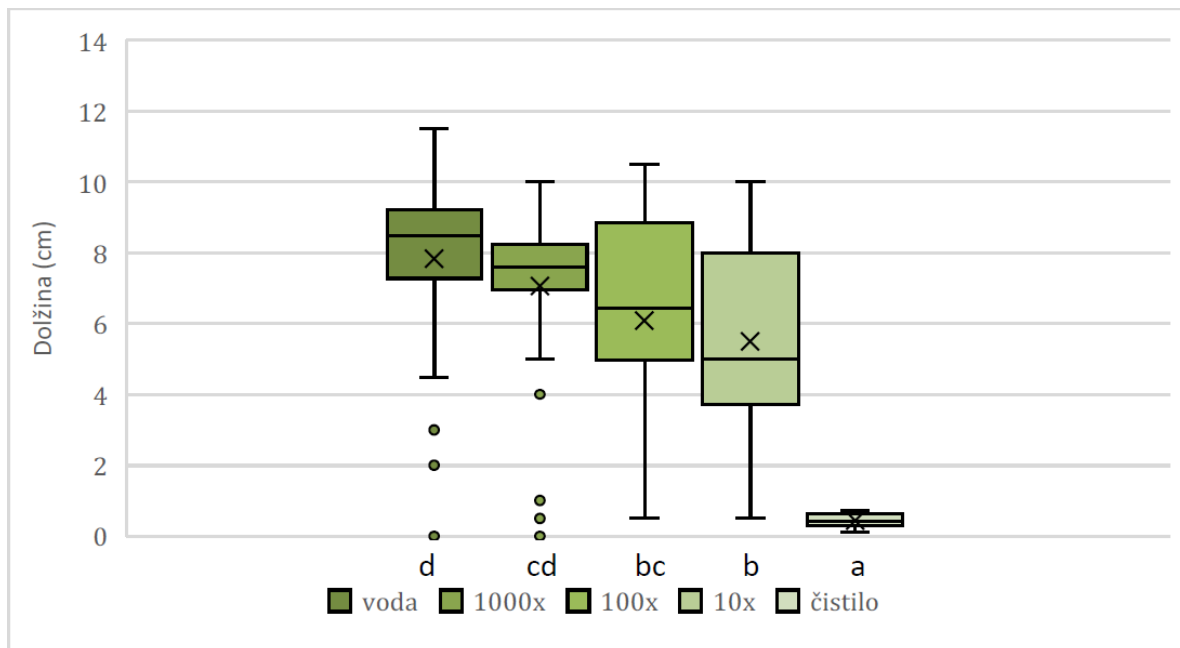


Slika 1: V zgornjem levem kotu je prikazana rast klic v kalilnikih po sedmih dneh, tik preden smo zaključili poskus. Ostale slike pa prikazujejo kalitev semen, rast poganjkov in korenin po 7ih dneh kalitve v posameznih raztopinah (voda, 1000x, 100x, 10x, čistilo).



Slika 2: Primerjava klic ječmena med posameznimi raztopinami po sedmih dneh in pH posameznih raztopin.

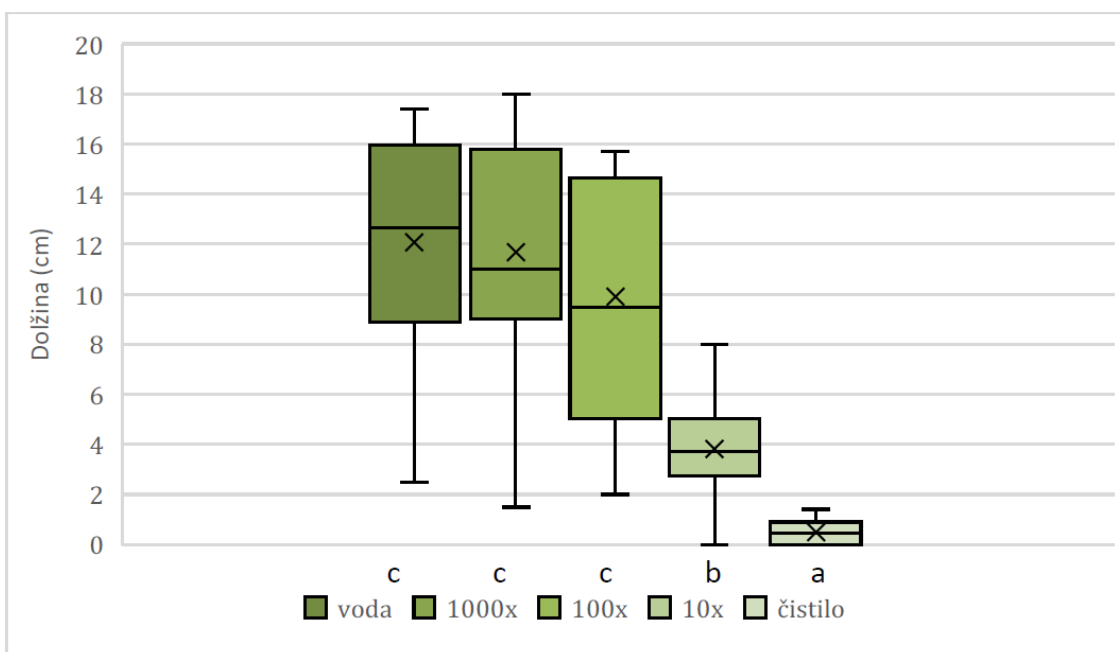
Poganjki



Slika 3: Grafični prikaz meritev dolžine poganjkov ponazorjen s škatlami z brki. Slika prikazuje kvartilni diagrame (škatle z brki) za meritve dolžine poganjkov pri posameznih koncentracijah čistila. Iz slike so razvidni kvartilni razmiki (kamor spada 50 % meritev), variacijski razmik (oba brka), mediana (vodoravna črta v okvirju), povprečje (križec v okvirju) in pa osamelci za posamezni tretma. Črke na spodnjem delu grafa prikazujejo med katerimi skupinami so se pojavljale statistično značilne razlike.

Iz povzetka modela (priloga C), kjer smo ugotavljali, ali je med skupinami statistično značilna razlika, je razvidno, da je vrednost p za tretmaje manjša od 0,05 ($p < 0,05$). To pomeni, da obstaja statistično značilna razlika vsaj med dvema obravnavanoma - vsaj med dvema skupinama obstaja statistično značilna razlika v velikosti poganjkov. Analizo nadaljujemo s primerjavo povprečij. Naredili sva test primerjave povprečij (priloga C) Statistično značilne razlike lahko opazimo med vsemi skupinami, razen med skupinami 4-3, 3-2 in 2-1, kjer statistično značilnih razlik nismo zaznali ($p > 0,05$). Do enakega sklepa lahko pridemo, tudi če pogledamo izpise s črkami. Na spodnjem delu slike 3 so prikazane črke (a b c in d), ki prikazujejo statistično značilne razlike med določenimi skupinami. Če sta pri dveh skupinah črki enaki, to pomeni da med njima ni statistično značilnih razlik, če pa sta črki različni pa pomeni, da se med dvema skupinama pojavljajo statistično značilne razlike. Torej, 1. skupina ima črko d, kar pomeni da se statistično značilne razlike pojavijo povsod, kjer se ne pojavi črka d, torej, 1. skupina se razlikuje od 3.,4. In 5. Skupina 2 ima črki c in d, kar pomeni, da ni statistično značilnih razlik med 2. in 1. skupino, prav tako ne med 2. in 3. skupino, saj si z 3. skupino deli črko c. 4. skupina se razlikuje od 1., 2. in 5. skupine. Samo 5. skupina ima črko a, kar pomeni, da se 5. skupina statistično razlikuje od vseh ostalih skupin.

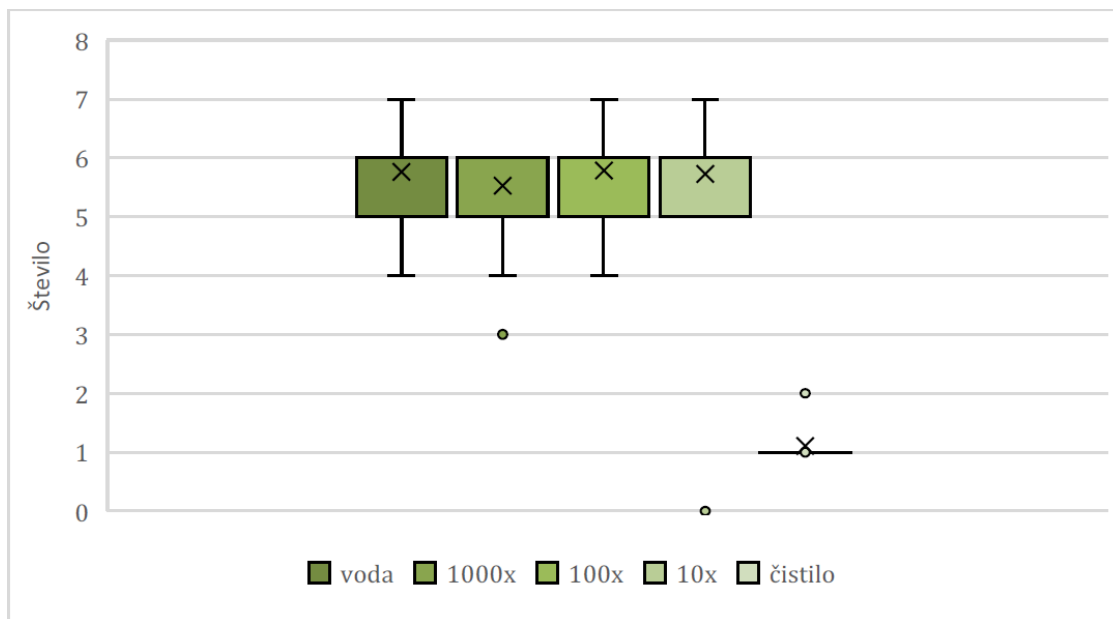
Korenine



Slika 4: Grafični prikaz meritev dolžine korenin ponazorjen s škatlami z brki. Slika prikazuje kvartilne diagrame za meritve dolžine korenin pri posameznih koncentracijah čistila. Iz slike so razvidni kvartilni razmiki (kamor spada 50% meritev), variacijski razmik (oba brka), mediana (vodoravna črta v okvirju), povprečje (križec v okvirju) za posamezno tretiranje. Črke na spodnjem delu grafa prikazujejo med katerimi skupinami so statistično značilne razlike.

Iz povzetka modela (priloga D), kjer smo ugotavljali, ali je med skupinami statistično značilna razlika, je razvidno, da je vrednost p za tretmaje manjša od 0,05 ($p < 0.05$). To pomeni, da obstaja statistično značilna razlika vsaj med dvema obravnavanjema - vsaj med dvema skupinama obstaja statistično značilna razlika v dolžini korenin. Analizo nadaljujemo s primerjavo povprečij. Naredili smo test primerjave povprečij (priloga D). Med skupinami so statistično značilne razlike, in sicer v primerjavi 5. skupine z ostalimi skupinami (1., 2., 3., in 4.) in v primerjavi 4. skupine z ostalimi (1., 2., 3. in 5.). Do enakega sklepa pridemo tudi, če razberemo spodnjo vrstico, kjer so pod vsako skupino navedene črke (a, b ali c) in izvemo, da se med 1., 2. in 3. skupino ne pojavljajo statistično značilne razlike v dolžini korenin, če pa primerjamo 4. ali 5. skupino s katerokoli drugo, pa opazimo statistično značilne razlike v dolžini korenin.

Število korenin



Slika 5: Grafični prikaz meritev števila korenin ponazorjen s škatlami z brki. Slika prikazuje kvartilni diagrame za meritve števila korenin pri posameznih koncentracijah čistila. Iz slike so razvidni kvartilni razmiki (kamor spada 50% meritev), variacijski razmik (oba brka), mediana (vodoravna črta v okvirju), povprečje (križec v okvirju), in pa osamelci za posamezen tretma. Črke na spodnjem delu grafa prikazujejo med katerimi skupinami so statistično značilne razlike.

Ker med prvimi štirimi skupinami ni bilo opaznih večjih razlik, se za nadaljnjo statistično obdelavo nisva odločili. Iz rezultatov pa je razvidno, da je v nasprotju s pričakovanji, povprečno kalica imela v 1000x redčeni raztopini manj korenin, kakor tiste kalice iz 100x redčene in 10x redčene raztopine.

Diskusija

Namen raziskave je bil preučiti vpliv čistila »Mr. Muscle« na kalivost ter rast kalice ječmena ter njegov vpliv na okolje in človeka. V hipotezi smo predvideli, da bo z naraščajočo koncentracijo čistila Mr.Muscle padala kalivost semen ječmena, da se bo velikost poganjkov zmanjševala, korenine pa bodo krajše in manj razvejane, ter da bo negativen učinek čistila bolj opazen pri koreninah. Hipoteza glede kalivosti se je le delno potrdila, saj je bila kalivost semen občutno nižja le pri koncentriranem čistilu (36 %), medtem ko pri ostalih redčitvah ni bistveno odstopala od kontrole, pri kateri je bila kalivost semen 100%. Padec kalivosti z večanjem koncentracijo čistila v raztopini ni bil tako izrazit, kot smo predvidevali. Povprečna dolžina poganjkov in korenin se je z naraščajočo koncentracijo čistila nekoliko zmanjševala, bolj opazno pri koreninah kot pri poganjkih, saj so korenine zaradi črpanja hranil bolj direktno obremenjene s čistilom in zato najbolj podvržene stresu, kar potrjuje našo hipotezo. Ker so bil poganjki in korenine najdaljši pri kontroli, lahko rečemo, da pri poskusu ni prišlo do hormoneze, pri kateri se rastlina s pospešeno rastjo odziva na to, da bi razredčila kemikalijo in bi nizka koncentracija onesnažil dejansko stimulirala rast rastlin. Vendar pa je bil naš poskus usmerjen le na začetno fazo kaljenja semena in rasti poganjka in korenin, zato mogoče ti učinki ne predstavljajo dejanskega stanja pri kalitvi ter rasti in razvoju rastlin v naravi, kjer so rastline izpostavljene še drugim neugodnim dejavnikom in stresu. Za natančnejši vpliv onesnažil oz. v našem primeru čistila »Mr.Muscle« na rast rastlin pa bi morali s poskusom nadaljevati dalj časa, poskus bi lahko izvedli v zemlji, tako pa bi proučili vpliv kemikalije v daljšem časovnem obdobju in ne le v fazi kalitve. Primerno bi bilo tudi obravnavati večje število semen, saj bi bili rezultati še bolj reprezentativni. Poskus bi bilo smiselno izvesti tudi v bolj kontroliranih pogojih, na primer z uporabo rastne komore, kjer lahko natančno reguliramo temperaturo ter dnevno/nočni cikel, saj so se med ponovitvama kazale razlike, ki so bile najverjetneje posledica prav tega. Za standardizacijo poskusa bi bilo potrebno uporabiti kalilnike izdelane iz enakega materiala, saj je najverjetneje vplival tudi sam karton, njegova debelina in vpojnost (kapilarni vlek). Nevarne snovi v gospodinjskih čistilih preko odtokov ali odvržene embalaže prehajajo v ekosisteme. Čistilo »Mr. Muscle« vsebuje kar nekaj nevarnih snovi tako za okolje kot človeka. Zaradi vsebnosti natrijevega hidroksida je čistilo močno korozivno in povzroča opekline na tkivih s katerimi pride v stik in povzroči bazičnost tal. Natrijev hipoklorit v raztopini razpade na več komponent kot so kisik, klor in Cl⁻ ion. Eden izmed vmesnih produktov je klorova (I)

kislina (HClO), ki je močan oksidant, zato je hipoklorit močno belilo in dezinfekcijsko sredstvo, ima pa tudi citotoksičen efekt, ki lahko povzroči kromosomske nepravilnosti. Surfaktanti, dispergatorji maščob, silikati, stirensulfati so organska onesnaževala, po navadi so v obliki natrijevih soli, kar še dodatno povečuje slanost v okolju. Preveč natrija v prehrani lahko pri ljudeh povzroči povišan krvni tlak, bolezni srca in kap. Prav tako lahko povzroči zmanjšanje kalcija v organizmu, kar vodi v osteoporozo (Salazar s sod. 2020; He s sod. 2013).

Ker so potrebe po proizvodnji hrane zaradi naraščajočega prebivalstva vsak dan večje, se za povečanje pridelave hrane uporabljajo štiri glavne strategije: uporaba mineralnih gnojil, pesticidi, genske transformacije rastlin in namakanje. Prav namakanje povzroča vedno večjo slanost tal, saj se voda izgublja s kombinacijo izhlapevanja in transpiracije (evapotranspiracije), sol pa ostaja v tleh. Kadar namakalna voda vsebuje visoke koncentracije topljencev, lahko sol hitro doseže koncentracije, ki škodujejo rastlinam občutljivim na sol. Prav slanost tal najbolj vpliva na rastne procese rastlin. Soli za rast nujno potrebujejo le halofiti, za večino rastlin pa večja koncentracija soli predstavlja t.i. solni stres. Ekstremni solni stres se kaže kot zavrta rast korenin, zakasnjeno odpiranje popkov, pritlikavi poganjki, majhni listi. Poleg tega celice odmirajo, nastajajo nekroze na popkih, listnih robovih in konicah poganjkov. Listi postanejo rumeni in suhi, na koncu pa se posušijo še poganjki. Na vse to vplivajo rastlinski rastni regulatorji (hormoni), saj se ob stresu se zmanjša nivo citokininov, poveča pa se količina etilena in abscizinske kisline. Voda vstopa v rastlino preko osmoze. Ker je v slanih tleh koncentracija soli večja, postane voda za rastline manj dostopna, še posebej v primeru vodnega stresa (suše). Fotosinteza je eden od pomembnejših procesov, ki poteka v rastlinah in je v veliki meri odvisna od zunanjih dejavnikov. Prekomerna slanost tal negativno vpliva na fotokemično učinkovitost (manjši maksimalni kvantni izkoristek FS II) rastlin in s tem tudi na rast. Detergenti lahko povzročijo denaturacijo reakcijskih centrov fotosistemov (Liu s sod. 2006), drastično spremenijo fluorescenčne lastnosti kompleksov za pridobivanje svetlobe fotosistema II (Moya s sod. 2001), pri nizki koncentraciji lahko nasičijo centre fotosintetskih reakcij (Ivanov s sod. 2007) in prizadenejo sprostitveno dinamiko fotosistema II (Tang s sod. 1991).

Presežki soli, predvsem Na^+ in Cl^- lahko v rastlinah povzročijo porušenje ionskega ravnotežja, motnje v sintezi encimov, proteinov in membran, zmanjšano rast, zmanjšano sposobnost fotofosforilacije, zmanjšano asimilacijo nitrata in zmanjšan vnos K^+ in Ca^{2+} .

Pojavi se problem pri kalitvi, ki je najboljša pri majhni slanosti ali brez prisotnosti soli. Ob močnem solnem stresu pride do trajnih nepravilnosti in poškodb, do zaviranja fotosinteze (zaradi zapiranja listnih rež in akumuliranja soli v kloroplastih), dihanje se lahko poveča ali zmanjša (najbolj prizadeta sta glikoliza in Krebsov cikel) (Tavakkoli s sod. 2010; Carter 1980; Papadopoulos 1984). Kislost substrata ima velik vpliv na dostopnost hranil. Na splošno velja, da so vsa glavna hranila najbolj dostopna v nevtralnem pH območju, elementi v sledovih pa v kislem pH območju. Pri pH vrednostih nad 7 je moten sprejem nekaterih mikro hranil (npr. bor), prav tako je že moten sprejem fosforja, ki je pomemben za razrast korenin, in kalija, ki ima pomembno vlogo pri kvaliteti pridelka (sladkorji) in predvsem odpornosti rastlin. Previsok pH ima tudi pomemben vpliv na razgradnjo organske snovi v humus, preperevanje mineralov, torej tudi na tvorbo rodovitnega dela prsti (Gentili s sod. 2018).

Fosfor je esencialen makro element za rastline. Dostopnost P za rastline je odvisna od sproščanja karboksialtov, pH-ja rizosfere, razvejanosti, površine in dolžine korenin in mikoriznih gliv (Abdolzadeh s sod. 2009). Čeprav je fosfor močno absorbiran v tleh, pa velike koncentracije fosforja v vodi povečajo eutrofikacijo v rekah in jezerih (zmanjšanje raztopljenega kisika v vodi in vodnih organizmih zaradi povečanja mineralnih in organskih snovi) (Fei s sod. 2011). Fosfor je za ljudi esencialno hranilo, ki je potrebno za kritične biološke reakcije, ki ohranjajo normalno homeostazo celice. Je pomemben sestavni del različnih celičnih struktur, vključno z nukleinskimi kislinami in celičnimi membranami. Ustrezno ravnovesje fosforja je ključnega pomena za ohranjanje osnovnih celičnih funkcij, od energijskega metabolizma do signalizacije celic. Poleg tega veliko znotrajceličnih poti uporablja fosfatne ione za pomembne celične reakcije, zato je homeostatska kontrola fosfata eden najbolj občutljivih bioloških procesov. Oslabljeno ravnovesje fosforja lahko vpliva na funkcionalnost skoraj vsakega dela človeškega sistema, vključno z mišično-skeletnim in kardiovaskularnim sistemom. Humane in eksperimentalne študije so pokazale, da je občutljivo ravnovesje med dejavniki, kot so vitamin D, PTH (obščitnični hormon) in FGF23 (faktor rasti fibroblasta 23) nujno za uravnavanje fiziološkega ravnovesja fosfata. Nedavne študije so pokazale, da lahko zaviranje sistema FGF23-klotho privede do hiperfosfatemije z obsežnimi poškodbami tkiv, ki jih povzroči fosfatna strupenost (Razzaque 2012).

Zaključki

Dejstvo je, da gospodinjska čistila vsebujejo mnoge nevarne snovi, zato je smiselno njihovo uporabo čim bolj omejiti in če je le mogoče, uporabljati ekološka oziroma biorazgradljiva čistila, ki so sicer po navadi nekoliko dražja, vendar ne obremenjujejo okolja. Za čiščenje pa se lahko uporabi tudi povsem naravne snovi, ki jih najdemo v vsakem gospodinjstvu, kot so limona, kis in soda bikarbona.

Literatura

- A study on the effects of cleaning agents (Household) on seed germination. https://www.researchgate.net/publication/328430821_A_study_on_the_effects_of_cleaning_agents_Household_on_seed_germination. Accessed 27 May 2020
- Aizdaicher NA, Reunova YA (2002) Effects of detergents on in vitro growth of diatom alga *Thalassiosira pseudonana*. *Russ J Mar Biol* 28:324–328. <https://doi.org/10.1023/A:1020907501713>
- Brandt KK, Hesselsøe M, Roslev P, et al (2001) Toxic Effects of Linear Alkylbenzene Sulfonate on Metabolic Activity, Growth Rate, and Microcolony Formation of *Nitrosomonas* and *Nitrosospira* Strains. *Appl Environ Microbiol* 67:2489–2498. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.6.2489-2498.2001>
- Carter M (1980) Effects of sulphate and chloride soil salinity on growth and needle composition of Siberian larch. *Can J Plant Sci* 60:903–910. <https://doi.org/10.4141/cjps80-132>
- Effects of phosphorus supply on growth, phosphate concentration and cluster-root formation in three *Lupinus* species. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2826247/>. Accessed 3 June 2020
- Fei L, Zhao M, Chen X, Shi Y (2011) Effects of phosphorus accumulation in soil with the utilization ages of the vegetable greenhouses in the suburb of Shenyang. In: *Procedia Environmental Sciences*. Elsevier B.V., pp 16–20
- Gentili R, Ambrosini R, Montagnani C, et al (2018) Effect of Soil pH on the Growth, Reproductive Investment and Pollen Allergenicity of *Ambrosia*

artemisiifolia L. *Front Plant Sci* 9:1335.

<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01335>

- He FJ, Li J, Macgregor GA (2013) Effect of longer-term modest salt reduction on blood pressure. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2013
- Ivanov BN, Ignatova LK, Romanova AK (2007) Diversity in forms and functions of carbonic anhydrase in terrestrial higher plants. *Russ. J. Plant Physiol.* 54:143–162
- Jogerson S. E. 1979. *Industrial wastewater management*, Elsevier Scientific Company, New York, pp 387.
- Jovanic BR, Bojovic S, Panic B, et al (2010) The effect of detergent as polluting agent on the photosynthetic activity and chlorophyll content in bean leaves. *Health (Irvine Calif)* 02:395–399.
<https://doi.org/10.4236/health.2010.25059>
- Moya, I., Silvestri, M., Vallon, O., Cinque, G., & Bassi, R. (2001) Time-resolved fluorescence analysis of the photosystem II antenna proteins in detergent micelles and liposomes. *Biochemistry*, 40(42), 12552–12561.
<https://doi.org/10.1021/bi010342x>
- Papadopoulos, I. (1984) Effect of sulphate waters on soil salinity, growth and yield of tomatoes. *Plant Soil* 81, 353–361 <https://doi.org/10.1007/BF02323050>
- Park J, Gu Y, Lee Y, et al (2004) Phosphatidic Acid Induces Leaf Cell Death in Arabidopsis by Activating the Rho-Related Small G Protein GTPase-Mediated Pathway of Reactive Oxygen Species Generation. *Plant Physiol* 134:129–136.
<https://doi.org/10.1104/pp.103.031393>
- Razzaque MS (2011) Phosphate toxicity: New insights into an old problem. *Clin. Sci.* 120:91-9
- Reunova, Y.A. and Ayzdaycher, N.A. (2003) Effects of detergent on chlorophyll a content and quantity dynamics of microalga *Chroomonas salina* (Wils.) Butch. (Cryptophyta). *International Journal on Algae*, 5, 106-110. - References - Scientific Research Publishing.
[https://www.scirp.org/\(S\(vtj3fa45qm1ean45vffcz55\)\)/reference/referencespapers.aspx?referenceid=33546](https://www.scirp.org/(S(vtj3fa45qm1ean45vffcz55))/reference/referencespapers.aspx?referenceid=33546). Accessed 27 May 2020
- Salazar Mercado SA, Maldonado Bayona HA (2020) Evaluation of the cytotoxic potential of sodium hypochlorite using meristematic root cells of *Lens culinaris* Med. Sci Total Environ 701: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134992>

- Srinivasan, Kayastha AM, Malhotra OP (1992) Substrate-induced stability of glyceraldehyde 3- phosphate dehydrogenase from mung beans (*Vigna radiata* L.). *Plant Physiol* 100:2109–2112. <https://doi.org/10.1104/pp.100.4.2109>
- Tang, D., Jankowiak, R., Seibert, M. et al. (1991) Effects of detergent on the excited state structure and relaxation dynamics of the photosystem II reaction center: A high resolution hole burning study. *Photosynth Res* 27, 19–29 <https://doi.org/10.1007/BF00029973>
- Tavakkoli, E., Rengasamy, P., & McDonald, G. K. (2010) High concentrations of Na⁺ and Cl⁻ ions in soil solution have simultaneous detrimental effects on growth of faba bean under salinity stress. *Journal of experimental botany*, 61(15), 4449–4459. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq251>
- Yildiz M, Er C (2002) The effect of sodium hypochlorite solutions on in vitro seedling growth and shoot regeneration of flax (*Linum usitatissimum*). *Naturwissenschaften* 89:259–261. <https://doi.org/10.1007/s00114-002-0310-6>
- Zhao X, Shi Y, Chen L, et al (2011) Secondary Structure Changes and Thermal Stability of Plasma Membrane Proteins of Wheat Roots in Heat Stress. *Am J Plant Sci* 02:816– 822. <https://doi.org/10.4236/ajps.2011.2609>

PRILOGA A

Tabela 1: Priprava raztopin čistila Mr. Muscle.

<i>Zap. št. raztopi ne</i>	<i>Raztopin a</i>	<i>Faktor redčenj a</i>	<i>Količina čistila (g)</i>	<i>Količina vode (g)</i>
5	Čistilo	1	500 g čistila	0
4	Raztopina 10x	10	50 g Razt. 5	450 g
3	Raztopina 100x	100	50 g Razt. 4	450 g
2	Raztopin a 1000x	1000	50 g Razt. 3	450 g
1	Kontrola - voda	-	0 g	500 g

PRILOGA B

Tabela 2: pH raztopin, povprečne dolžine poganjkov in korenin, povprečno število korenin in standardne deviacije.

<i>Zap. št. razt.</i>	<i>Redčitev</i>	<i>pH</i>	<i>Kalivost (%)</i>	<i>Dolžina poganjkov</i>		<i>Dolžina korenin</i>		<i>Število korenin</i>	
				<i>Povprečje (cm)</i>	<i>SD</i>	<i>Povprečje (cm)</i>	<i>SD</i>	<i>Povprečje (cm)</i>	<i>SD</i>
1	voda	6,5	100	7,84	2,40	12,06	4,39	5,76	0,59
2	1000x	7,0	98	7,06	2,26	11,66	4,53	5,53	0,71
3	100x	8,0	92	6,09	2,99	9,90	4,81	5,78	0,70
4	10x	8,5	96	5,49	2,59	4,63	5,94	5,73	1,03
5	čistilo	10,5	36	0,43	0,19	0,49	0,45	1,11	0,32

VPLIV ŠAMPONA »Narta« NA KALITEV IN RAST FIŽOLA

Avtorici: Marija Jovchevska in Vanja Kolar

Izvleček

Namen raziskave je določiti vpliv gospodinjskih kemikalij na rast in kalitev fižola. Za ta namen sva pripravili 4 kalilnike (25 semen/kalilnik). Za tri kalilnike sva pripravili različno koncentrirane raztopine šampona koprive ("0,1x", "0,01x" ter "0,001x"). Kalilnike sva po potrebi vsakodnevno zalili z izbrano raztopino. Četrty kalilnik je služil kot kontrola, pri tem sva za zalivanje semen fižola uporabili vodo. Po končanem kalitvenem testu sva rastlinam izmerili višino poganjkov, dolžino glavne korenine ter prešteli število stranskih korenine. Nato sva statistično obdelali podatke. Preučili sva sestavine šampona ter jih v skladu z literaturo o strupenosti predstavili v nalogi.

Uvod

V gospodinjstvu se srečujemo s številnimi kemikalijami, ki so lahko dostopne potrošnikom, le-te pa pogosto pristanejo v odpadnih vodah od koder prehajajo v vodne vire. Šampon Narta je uporabnikom na voljo v splošnih in specializiranih trgovinah, prav tako pa je precej priljubljen med prebivalci Republike Slovenije, saj je izdelek domačega proizvajalca. Za ta izdelek sva se odločili tudi zato, ker so ljudje vse bolj ozaveščeni o škodljivih izdelkih za telo ter onesnaževanju narave, med drugim tudi onesnaževanju voda. Uporaba naravnih kozmetičnih izdelkov je tako vse večja, posledično pa tudi vse bolj prisotna v naravi, predvsem v vodah.

Hipoteza: V večjih koncentracijah bo šampon negativno vplival na rast in razvoj rastlin, v manjših pa negativnega vpliva ne bo.

Materiali in metode

Sestavine šampona (izpis deklaracije)

Aqua, sodium laureth sulfate, sodium chloride, cocamidopropyl betaine, glycol distearate, cocamide mea, sodium citrate, urtica dioica extract, propylene glycol, parfum, citric acid, 2-bromo-2-nitropropane-1,3-diol, coumarin, ci 42051, ci 47005

Sestavine	Učinek	Podatki o strupenih učinkih sestavin iz obstoječe literature
Natrijev laurilsulfat	Anionski detergent in surfaktant. Je zelo poceni in se lahko peni. Je derivat kokosovega ali palminega olja. Pri človeku in živalih lahko povzroči iritacije.	Neškodljiv za vodno rastlino <i>Hydrilla verticillata</i> . Test je bil opravljen na 25 rastlinah, kjer so testirali 5 različnih koncentracij natrijevega laurilsulfata. V rastlinah se je zmanjšala vsebnost klorofila, prišlo je do inhibicije sinteze proteinov (celice v stiku s surfaktantom povišajo koncentracijo ROS). Po 9 dneh, je večina rastlin propadlo. Po 11 dneh so zabeležili propad vseh 25 rastlin (Kosswig, 2000).
Natrijev klorid	Izsuši rastline, vpliva na osmotsko ravnovesje, zamenja ali nadomesti minerale v tleh. Poveča se sinteza ROS, moti proces fotosinteze in sintezo klorofila. Razbarvanje rastlin, zmanjšan turgor, manjši listi in cveti, poganjki se razvijajo počasneje.	Poznan je učinek soli na osmotske procese in vpliv na izotoničnost rastlinskih celic. Na rastlinah pistacije (<i>Pistacia vera</i> L.) pri uporabi relativno visokih koncentracij (150 Mm) povzroča nekrozo in izgubo klorofila, najbolj s bili prizadeti spodnji listi, pri nekaterih rastlinah so odpadli vsi listi (Flowers et al., 2014).
Kokamidopropil betain	Detergent in surfaktant	Kokamidopropil betain je toksičen za morsko makroalga <i>Ulva lactusa</i> . V poskusu (Vonlanthen et al., 2011) so največjo citotoksičnost zaznali pri koncentraciji 10 mg/L in več, kadar je bila alga izpostavljena surfaktantu za 120 ur. Pri izpostavitvi koncentraciji 40 mg/L je prišlo do poškodbe membrane, puščanja ionov že v 48 urah izpostavitve.
Glikol distearat	Diester stearične kisline in etilen glikola. Uporablja se za perlascentne efekte na milu.	Nima odkritih negativnih učinkov na rastline.
Kokamid mea	Stabilizator pene, poveča kapaciteto penjenja	Nima odkritih negativnih učinkov na rastline Mertens in sod., 2016 poročajo o alergijskem kontaktnem dermatitis, predvsem pri bolnikih z oslABLJENO kožno bariero zaradi predhodnega kontaktnega dermatitisa.
Natrijev citrat	Stabilizacija pH	Znano je, da dodatek natrijevega citrata zniža pH v MS gojišču, pri spremljanju puferske kapacitete.

Urtica dioica ekstrakt (ekstrakt koprive)	Vonj	Različni ekstrakti vplivajo na <i>Bacillus</i> , <i>E. coli</i> DM, <i>L. monocytogenes</i> SCOTT A, <i>S. aureus</i> ATCC 25923, <i>S. thermophilus</i> , <i>P. fluorescens</i> in <i>Y. enterocolitica</i> O:3 P 41797. Ekstrakt koprive ni pokazal nobenega protimikrobnega učinka (Erdogru., 2002).
Propilen glikol	Pomaga pri zadrževanju vlažnosti	Na človeku lahko povzroči iritacije.
Parfum	Vonj	Na deklaraciji ni navedeno ime parfuma.
Citronska kislina	dodaja se v šamponih za znižanje pH na 5,5	Rastlinam izpostavljenim slanemu in alkanemu stresu, so dodali citrsko kislino in te rastline so imele boljšo odpornost, povečal se je odgovor na stres, imele so več antioksidativnih encimov, boljšo fotosintezo in rast v primerjavi s kontrolo (Sun in Hong.,2010).
2-bromo-2-nitropropan-1,3-diol	Protimikrobna spojina	Pri koncentraciji 28. 80 umol/l pri izpostavitvi za 24 ur so poročali o potencialni toksičnosti za alge <i>Chlorella pyrenoidosa</i> in tudi o toksičnem učinku na <i>Vibrio fischeri</i> (morska gram negativna bakterija, ki oddaja bioluminiscenco) (Cui in sod., 2011).
Kumarin	Vonj po sveže košeni travi	10 ⁻¹ M koncentracija kumarina zavre podaljševanje koleoptil pri ovsu (<i>Avena sativa</i>) in grahu (<i>Pisum sativum</i>) preko sulfhidrilnega enzima (Thimann in Bonner, 1949).
ci 42051	Modro barvilo	V Avstraliji in ZDA je to barvilo prepovedano za otroke - povzroča alergijske reakcije, srbenje, hipotenzije, anafilaktični šok (Barthelmes in sod., 2010).
ci 47005	Rumeno barvilo	Nima citotoksičnih učinkov, ni strupen ali rakotvoren,

Potek poskusa

Kalitveni poskus sva začeli 23. aprila 2020. Najprej sva narezali folijo in karton primerne velikosti ter pripravili kalilnike, pri katerih sva uporabili tri različne koncentracije šampona Narta (proizvajalec Ilirija) in kontrolo (brez šampona). Najprej sva suh karton zvali v rolo, da sva ga mehansko pripravili za lažje zvijanje. Z raztopino sva navlažili rolo kartona, ga razvili

in nanj položili 25 semen fižola, 2 cm od zgornjega roba. Preko semen sva položili navlaženo papirnato brisačo, da sva pričvrstili semena. Nato sva karton zvalili nazaj v rolo. Kalilnike sva postavili v lončke, s semeni na zgornjem robu, obrnjenimi navzgor ter jih ustrezno označili. Raztopina "0" je predstavljala kontrolo, raztopina "0,1 x" je predstavljala 50g šampona, ki sva ga zmešali z 500g vode; za raztopino "0,01 x" sva uporabili 50g raztopine "0,1 x" in 500g vode; za raztopino "0,001 x" sva zmešali 50g predhodno pripravljene raztopine "0,01 x" in dolili 500g vode. Kalitveni poskus sva končali 3. maja 2020, ko sva rastlinam (10 dni kaljene) izmerili dolžino glavne korenine, višino poganjkov in število stranskih korenin.

Statistična obdelava

Podatke sva obdelali z enosmerno ANOVO in uporabili Fisherjev LSD post hoc test ($p < 0,05$).

Fisherjev LSD (least significant difference) test se uporablja, kadar zavrnilno ničelno hipotezo kot rezultat testov hipoteze. S pomočjo LSD izračunamo najmanjšo statistično značilno vrednost med dvema različnima parametroma. Najprej sva izračunali t-kritično vrednost (Formula 1), kjer je v števcu ulomka razlika dveh populacij (i in j) ter v imenovalcu koren iz srednje kvadratne napake (MSE, iz ANOVE) pomnoženo z ulomkov, v katerem " n_i " in " n_j " predstavljata velikost vzorca posamezne skupine. Nato sva za izračun LSD (najmanjša statistično značilna vrednost med dvema različnima parametroma) vstavili izračunane vrednosti v formulo 2, kjer " $t_{\alpha/2}$ " predstavlja kritično t-vrednost, kjer je $\alpha=0,05$ in " df " je stopnja prostosti (ang. degree of freedom). Uporabili sva funkcijo T.INV.2T(t-kritična vrednost);(stopnja prostosti). ANOVO sva izvedli s pomočjo programa Excel, ostalo statistično analizo sva izvedli ročno, s primerjavo števil v tabelah, brez dodatne programske opreme.

Formula 1: kritična t-vrednost

$$t = \frac{\bar{x}_i - \bar{x}_j}{\sqrt{\text{MSE} \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)}}$$

Formula 2: LSD (najmanjša signifikantna vrednost med dvema različnima parametroma).

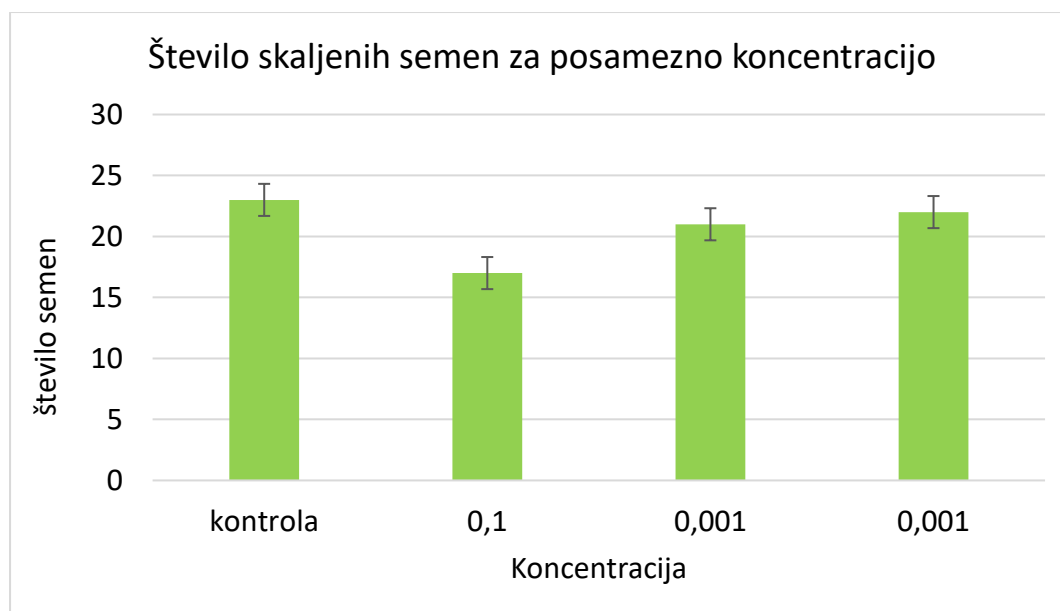
$$\text{LSD} = t_{\alpha/2} \sqrt{\text{MSE} \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)}$$

Rezultati

Statistična obdelava (ANOVA) je pokazala, da je izpostavitve rastlin koprivnemu šamponu statistično značilno vplivala ($p < 0,05$) na dolžino glavne korenine ($p = 0,00$) in višino poganjkov ($p = 0,00$), kar pomeni, da šampon koprive vpliva na rast in razvoj rastlin. Statistično pomembnih razlik nisva potrdili v primeru analize števila stranskih korenin, kjer je bila p vrednost 0,26.

Število skaljenih semen

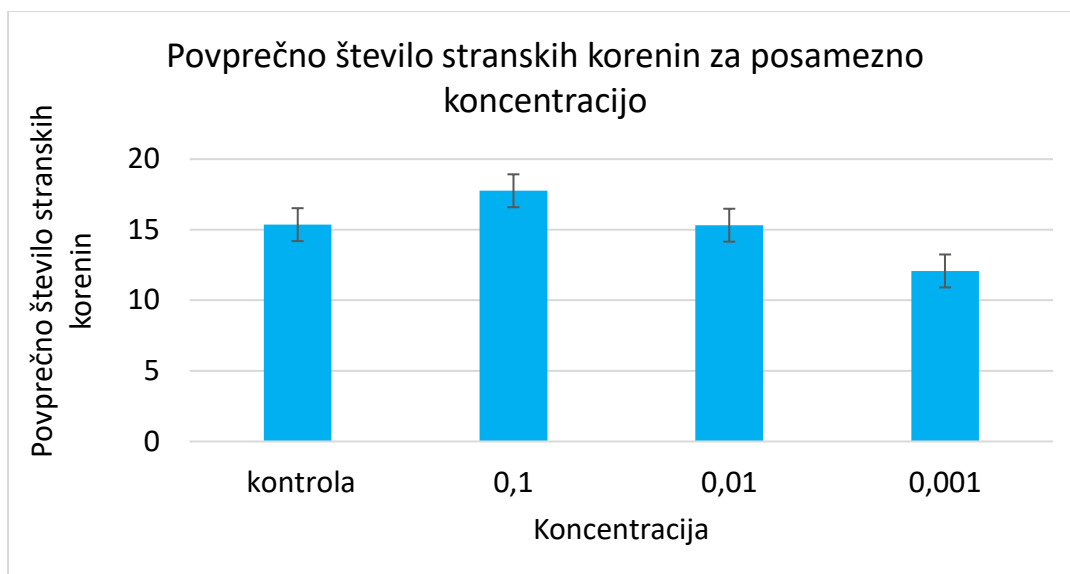
Za vsako izpostavitve je bilo uporabljenih 25 semen fižola. V primeru kontrole sta dve semeni splesneli, zato sva upoštevali samo 23 semen ($n=23$), v primeru koncentracije "0,1x" je skalilo samo 17 semen ($n=17$), najmanj od vseh izpostavitve, pri koncentraciji "0,01 x" sva zabeležili 21 semen ($n=21$) ter pri 0,001 22 semen ($n=22$) (Slika 1 v Prilogah).



Slika 1: Vpliv različnih koncentracij koprivnega šampona na kaljivost semen fižola. Kontrola (samo voda) in tri koncentracije ("0,1 x", "0,01 x" in "0,001 x").

Povprečno število stranskih korenin

Največ stranskih korenin sva zabeležili pri koncentraciji "0,1 x", najmanj korenin je bilo pri rastlinah z uporabljeno koncentracijo "0,001 x". Koncentracija "0,01" se je glede na število stranskih korenin najbolj približa kontroli (Slika 2 v Prilogah).



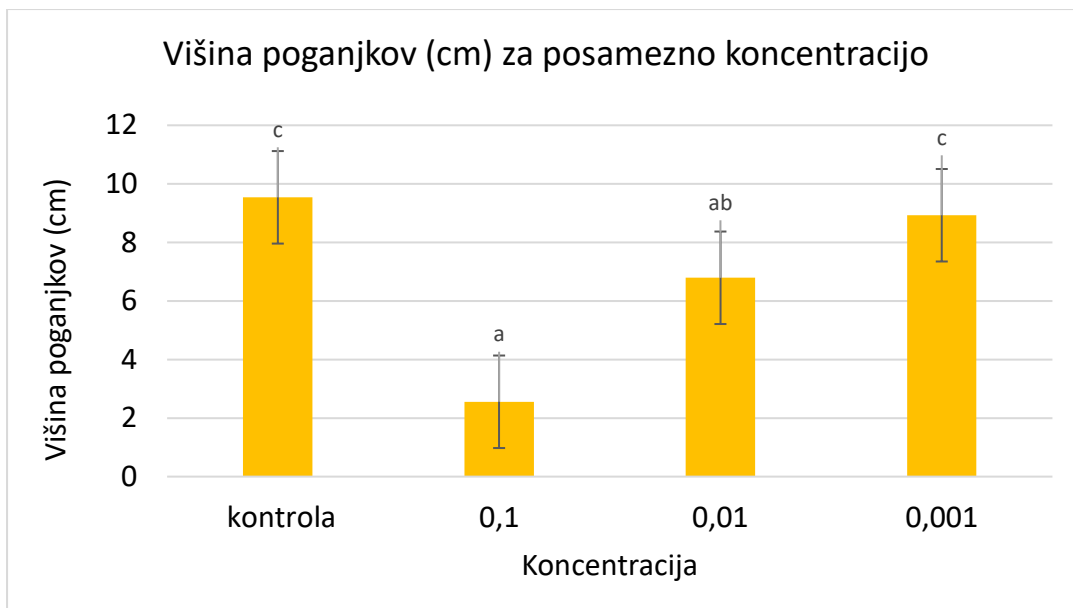
Slika 2: Vpliv različnih koncentracij koprivnega šampona na število stranskih korenin v primerjavi.

Višina poganjkov

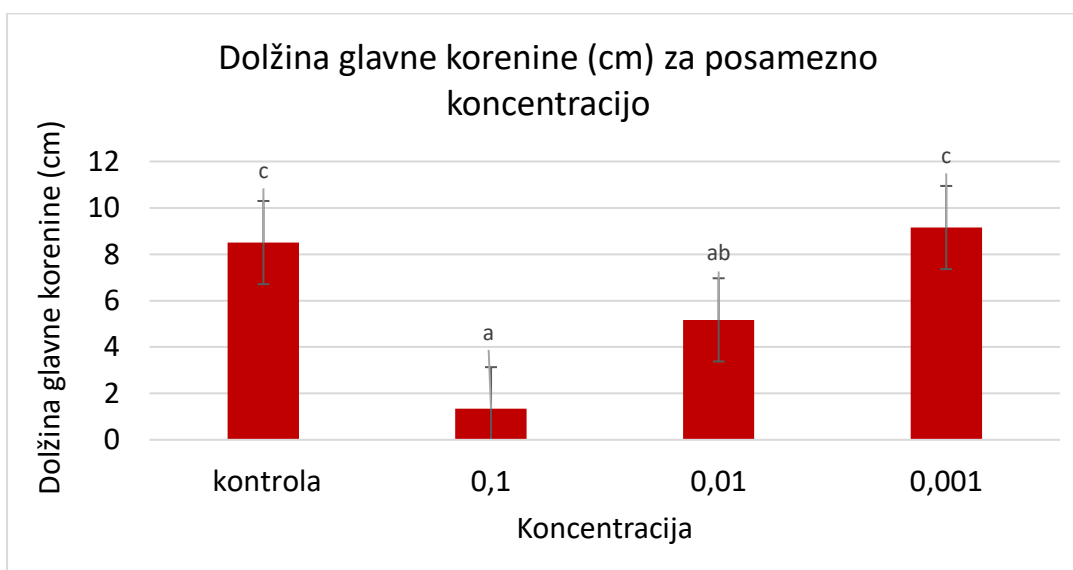
Najvišji so bili poganjki pri kontroli, nekoliko nižje so zrastle rastline pri uporabi koncentracije "0,001 x" in "0,01 x". Najnižje rastline smo zabeležili pri koncentraciji "0,01 x", kjer je bila povprečna vrednost višine poganjkov nižja 3 cm (Slika 3 v Prilogah).

Dolžina glavne korenine

Najdaljšo glavno korenino so imele rastline pri koncentraciji "0,001 x". Nekoliko krajšo so bile korenine kontrole. Pri koncentraciji "0,01 x" je bila glavna korenine dolga približno 5 cm. Najkrajšo korenino sva zabeležili pri koncentraciji "0,1 x", kjer je bila glavna korenina krajša od 2 cm (Slika 4 v Prilogah).



Slika 3: Vpliv različnih koncentracij koprivnega šampona na višino poganjkov (cm). Različne črke označujejo statistično značilno razliko med vzorci, ugotovljeno s Fisherjevim LSD post hoc testom ($p < 0,05$).



Slika 4: Vpliv različnih koncentracij koprivnega šampona na dolžino glavne korenine (cm) v primerjavi s kontrolo. Različne črke označujejo statistično značilno razliko med vzorci, ugotovljeno s Fisherjevim LSD post hoc testom. ($p < 0,05$).

Diskusija

Uporabljene kemikalije (koprivni šampon) za človeka niso nevarne ob pravilni in zmerni uporabi. Predhodnih raziskav o vplivu teh kemikalij na rastline je zelo malo in morda bi bilo, glede na vsesplošno uporabo teh kemikalij, smotno opraviti več raziskav na tem področju.

Šamponi in mila imajo podobno sestavo, zato lahko predpostavimo, da imajo različne znamke zanemarljive razlike v vplivu na kalitev in rast. Letna poraba produktov za higieno las v EU znaša 16,5 milijarde eur v 2020 in se iz leta v leto povišuje. Vse te kemikalije se nabirajo v odpadnih vodah in zato meniva, da je to področje potrebno še krepko raziskati.

Rezultati so pokazali, da šampon nima drastičnega vpliva na rast fižola v primeru koncentracije "0,01 x", predvsem pa ne pri koncentraciji "0,001 x". Iz grafov (Slika 3 in Slika 4 v Prilogah) lahko razberemo, da višina poganjkov in dolžina korenin sovpadata, saj sta grafa zelo podobna. Prav tako lahko iz grafov (Slika 2, 3 in 4 v Prilogah) razberemo, da je bilo največ stranskih korenin pri rastlinah, ki imajo najkrajšo glavno korenino ter najnižji poganjek.

Rastline, ki so bile izpostavljene nižjim koncentracijam niso kazale zavrte rasti. Negativni učinek sva potrdili le v primeru višje koncentracije. S tem sva potrdili najino hipotezo.

Literatura

- Agathokleous, E., Kitao, M., & Calabrese, E. J. (2019). Hormesis: A Compelling Platform for Sophisticated Plant Science. *Trends in Plant Science*. doi:10.1016/j.tplants.2019.01.004
- Barthelmes, L., Goyal, A., Newcombe, R. G., McNeill, F., & Mansel, R. E. (2010). Adverse reactions to patent blue V dye – The NEW START and ALMANAC experience. *European Journal of Surgical Oncology*, 36(4), 399–403. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2009.10.007>
- Cui, N., Zhang, X., Xie, Q., Wang, S., Chen, J., Huang, L., Qiao, X., Li, X., & Cai, X. (2011). Toxicity profile of labile preservative bronopol in water: The role of more persistent and toxic transformation products. *Environmental Pollution*, 159(2), 609–615. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.09.036>
- Erdogrul, Ö. T. (2002). Antibacterial Activities of Some Plant Extracts Used in Folk Medicine. *Pharmaceutical Biology*, 40(4), 269–273. doi:10.1076/phbi.40.4.269.8474
- Flowers, T. J., Munns, R., & Colmer, T. D. (2014). Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes. *Annals of Botany*, 115(3), 419–431. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu217>
- Kosswig, K. (2000). Surfactants. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. doi:10.1002/14356007.a25_747

- Kagalwala, A., Kavitha K. (2012). Effects of surfactant (sodium lauryl sulphate) on *Hydrilla verticillate*. *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*
- Leifert, C., Pryce, S., Lumsden, P. J., & Waites, W. M. (1992). Effect of medium acidity on growth and rooting of different plant species growing in vitro. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 30(3), 171–179. doi:10.1007/bf00040019
- Mertens, S., Gilissen, L., & Goossens, A. (2016). Allergic contact dermatitis caused by cocamide diethanolamine. *Contact Dermatitis*, 75(1), 20–24. <https://doi.org/10.1111/cod.12580>
- Sun, Y.-L., & Hong, S.-K. (2010). Effects of citric acid as an important component of the responses to saline and alkaline stress in the halophyte *Leymus chinensis* (Trin.). *Plant Growth Regulation*, 64(2), 129–139. doi:10.1007/s10725-010-9547-9
- Thimann, K. V., & Bonner, W. D. (1949). Inhibition of Plant Growth by Protoanemonin and Coumarin, and Its Prevention by Bal. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 35(6), 272–276. <https://doi.org/10.1073/pnas.35.6.272>
- Vonlanthen, S., Brown, M. T., & Turner, A. (2011). Toxicity of the amphoteric surfactant, cocamidopropyl betaine, to the marine macroalga, *Ulva lactuca*. *Ecotoxicology*, 20(1), 202–207. <https://doi.org/10.1007/s10646-010-0571-3>

PRILOGE



Slika 1: Material uporabljen za pripravo kalilnika



Slika 2: Priprava kalilnika



Slika 3: Primerjava rasti fižola pri uporabi različnih koncentracij šampona



Slika 4: Kalitev in rast fižola kontrole



Slika 5: Kalitev in rast fižola pri koncentraciji "0,1 x"



Slika 6: Kalitev in rast fižola pri koncentraciji "0,01x"



Slika 7: Kalitev in rast fižola pri koncentraciji "0,001 x"

VPLIV RAZMAŠČEVALCA »Meglio« NA KALJENJE IN RAST VODNE KREŠE (*Nasturtium officinale L.*)

Avtorici: Gabrijela Lorenčič in Anja Rutar

Izveček

Namen dela je bil ugotoviti vpliv izbranega čistilnega sredstva - detergenta Meglio Lemon na kaljivost kreše pri izbranih ustreznih koncentracijah razmaščevalca (kontrola-0; 0,1; 0,01; 0,001-kratna koncentracija). Eksperimentalno delo je potekalo v dveh paralelkah, ob zagotavljanju čim bolj podobnih pogojev gojenja. Izvajalo se je ob istem času in se ob istem času tudi prekinilo. Uporabljeni materiali so zagotovili ustrezno rast izbrane rastline pri sobni temperaturi in dnevno-nočnem ritmu, s kapilarnim vlekrom vode/razredčine po kartonu. Metode interpretiranja rezultatov eksperimenta so temeljile na statističnih obdelavah ANOVA, post-hoc testu (Holm-Šidak) in t-testih. Stopnja kaljivosti in rast poganjkov ter korenin so bile najmanjše pri 0,1-kratni koncentraciji, kljub temu, da smo ob pregledu literature predpostavili, da pri tej koncentraciji ne bo prišlo do kalitve. Rezultati statistične obdelave z ANOVA so pokazali, da lahko predpostavimo enake variance za dolžino korenin in poganjkov v obeh paralelkah. Rezultati post-hoc testa so pokazali, da prihaja do statistično značilnih razlik le v primeru 0,1-kratne koncentracije v primerjavi s kontrolo pri poganjkih in koreninah (Anja – prva ponovitev), ter pri koreninah (Gabrijela – druga ponovitev). Prav tako je prišlo do statistično značilnih razlik pri 0,01-kratni koncentraciji v primerjavi s kontrolo pri povprečni dolžini poganjkov (Anja). T-test je pokazal na statistično značilne razlike med kontrolo in 0,1-kratno koncentracijo, za dolžino korenin in poganjkov pri obeh paralelkah, ter med kontrolo in 0,01-kratno koncentracijo za dolžino korenin (Gabrijela). Do zaviralnega učinka čistila na rast korenin in poganjkov je prišlo samo v primerih, kjer so testi pokazali statistično značilne razlike.

Uvod

Vodna kreša (*Nasturtium officinale L.*) je trajnica, ki spada v družino *Brassicaceae*, in je v sorodu z redkvico, hrenom, gorčico in vsemi kapusnicami – brokolijem, ohrovtom, repo idr. Spada med listnato zelenjavo, ki jo najdemo rasti blizu vode. Listi imajo okus po popru, zaradi česar vodno krešo uporabljajo predvsem kot dodatek solatam. V naravi naseljuje zahodno Azijo, Indijo, Evropo in Afriko, kjer je pomemben del vodnih ekosistemov. Zaradi vsebnosti različnih snovi ima pomembno mesto tudi v prehrani. Pigmenti, kot so karotenoidi in klorofil, imajo antioksidativni potencial, katerih terapevtska sposobnost je zaviranje raka, preprečevanje

srčno-žilnih boleznih, krepitev delovanja imunskega sistema, boj proti oksidativnemu stresu in protivnetno delovanje. Vodna kreša je prav tako vir glukozinolatov, žveplovih spojin, ki imajo oster vonj, grenak okus in aromo po žveplu. Znani so predvsem zaradi svojega anti-kancerogenega učinka. Ekstrakti kreše ščitijo pred genotoksini v različnih fazah napredovanja raka, za kar so odgovorne številne fenolne spojine, ki jih ta vsebuje (Voutsina et al., 2016).

V projektu smo preverjali učinek razmaščevalca »Meglio Lemon« na kaljivost semen vodne kreše. Meglio je univerzalno čistilo visoke koncentracije z visokim razmaščevalnim učinkom. Vsebuje <5% kationskih in anionskih površinsko aktivnih snovi, fosfate, parfume in limonen.

Surfaktanti oz. površinsko aktivne snovi so eden izmed sestavnih delov mnogih detergentov za čiščenje v gospodinjstvih ter izdelkih za osebno nego. Če pride do razlitja v vodovodne sisteme iz gospodinjstev in industrije lahko vplivajo na rast in razvoj rastlin (če se npr. odpadna voda uporablja za namakanje). Površinsko aktivne snovi so pogosto prisotne tudi v pesticidih, kot dodatki za topnost, suspenzijo ali dispergiranje aktivnih sestavin pesticida, ko se le-ta nanaša na ciljno rastlino. Prav tako se uporabljajo kot dodatki v semenskih oblogah, kot način za obdajanje semen z inertnimi materiali, s ciljem optimizacije setve s homogenizacijo velikosti semen in njihovo zaščito pred vlago, svetlobo in mehanskimi poškodbami. Čeprav naj bi bile sestavine prevleke inertne, ima prisotnost surfaktantov v relativno visokih koncentracijah lahko negativen vpliv, saj motijo integriteto membrane. Anionsko in kationsko površinsko aktivne snovi se lahko vežejo na različne membranske proteine, s tem pa spremenijo njihovo topnost in strukturo ter tako zavirajo aktivnost rastlinskih encimov. Zaradi motenj v integriteti membrane, surfaktanti povečajo uhajanje elektrolitov, prav tako pa zmanjšajo vsebnost klorofila in povzročijo spremembe v strukturi rastlinskih celic. V splošnem, visoke koncentracije surfaktantov zavrejo kalitev semen, medtem ko nižje ne vplivajo na semena (Gálvez et al., 2019). Podobno so ugotovili tudi Rinallo in sodelavci (1988), ki so pokazali, da nizke koncentracije anionskega surfaktanta in kratek čas tretiranja na rast rastlin vplivajo stimulatorno, medtem ko visoke koncentracije in daljši čas izpostavitve kažejo fitotoksičen vpliv (Rinallo et al., 1988). Vpliv surfaktantov je odvisen predvsem od njihove konfiguracije in naboja polarnih skupin, kot tudi strukture hidrofobnega dela molekule. Kationski detergent CTAB je negativno vplival na rast korenin in poganjkov, medtem ko sta imela ne-ionski in anionski detergent stimulatoren vpliv (Mishustina et al., 1991). Vpliv na kalitev semen in rast poganjkov ter korenin je torej odvisen od vrste surfaktanta, koncentracije in časa tretiranja, ter tudi rastlinske vrste.

Prav tako je lahko v razmaščevalcu Meglio Lemon toksičen limonen, ki je alifatski ogljikovodik. Je glavna komponenta olja pridobljenega iz sveže lupine limone (*Citrus limonum*). Je bistra blede rumena do zelenkasto-rumena tekočina z značilnim vonjem, ki čistilom daje aromo. Limonen lahko draži kožo, oči in pljuča ter je nizko toksičen za okolje, predvsem vodne organizme (Fung et al., 2018).

Fosfor je eden izmed esencialnih elementov za rastline. Rastline ga preko več kemijskih reakcij vključijo v organske molekule, vključno z DNA in RNA, fosfoproteini, fosfolipidi, encimi, ATP-jem in drugimi. Kot del ATP in ADP igra pomembno vlogo pri vseh procesih v rastlini, ki zahtevajo energijo. Večje količine fosforja najdemo v semenih, saj je ključen za razvoj letih. Vpliva na razvejanost korenin in s tem na privzem hranil. Pomanjkanje fosforja povzroči manjše število in površino listov, zmanjša rast poganjkov in korenin ter zmanjša sposobnost izkoriščanja ogljikovih hidratov, kar vodi v pojav temnih listov. Skupaj s kalijem in dušikom fosfor predstavlja pomembno determinanto, ki vpliva na rast rastlin in njihovo produktivnost (Høgh-Jensen et al., 2002; Razaq et al., 2017; Taliman et al., 2019).

Hipoteze

1. Stopnja kaljivosti semen bo najvišja v kontroli.
2. Najvišja koncentracija čistila bo popolnoma zavrla kalitev semen.
3. Vse tri koncentracije (0,1-kratna, 0,01-kratna in 0,001-kratna koncentracija) čistila bodo zavirale rast poganjkov in korenin.

Cilji

Cilj projekta je ugotoviti kako različne koncentracije raztopine čistila Meglio (Slika 1) vplivajo na kalitev semen vodne kreše ter dolžino poganjkov in korenin.

Materiali in metode

- doma narejen kalilnik iz kartona
- papirnate brisače
- aluminij folija
- elastika za živila
- pinceta
- 200 semen vodne kreše

- čistilo Meglio
- digitalna tehtnica
- plastične platenke
- čopič/zelo mehka kuhinjska gobica
- plastične posode (kamor postavimo kalilnik)

S poskusom smo preverjali vpliv različnih koncentracij čistila Meglio na kalitev semen ter rast poganjkov in korenin. Pripravili smo deset, sto in tisočkrat razredčene raztopine. Redčitve smo pripravili tako, da smo v plastično platenko zatehtali 50 g čistila in 450 g vode iz pipe (10x redčitev). Nato smo zatehtali 50 g dobljene 10x redčitve, kateri smo ponovno dodali 450 g vode iz pipe (dobili smo 100x redčitev). Na enak način smo pripravili še 1000x. Kot kontrolo smo uporabili vodo iz pipe.

Sledila je priprava kalilnika. Karton smo narezali na dimenzije približno 20 x 50 cm, prav tako aluminij folijo, ki smo jo položili pod karton (Slika 2). Za kontrolo in za vsako redčitev smo uporabili po 25 semen. Karton smo s pomočjo čopiča/gobice navlažili z ustrezno raztopino. S pomočjo pincete smo v vsak karton narahlo izdoblili 25 luknjic, približno 3-4 cm od roba kartona. Semena vodne kreše so izjemno majhna, zato smo si pomagali s pinceto in tako dosegli, da so se semena na kartonu obdržala. Semena smo nato prekrili s papirnato brisačko, ki smo jo ponovno navlažili z ustrezno raztopino. Karton smo previdno zvili in ga na spodnjem robu zatesnili z elastiko za živila ter postavili v kozarec z ustrezno raztopino. Med kaljenjem smo opazovali rast poganjkov in korenin ter po potrebi vlažili karton (Slika 3). Kaljenje smo ustavili po točno dveh tednih, ko je bila povprečna dolžina poganjkov pri kontroli dolga približno 5 cm. Po končanem poskusu smo prešteli semena, ki so skalila, ter izmerili dolžine glavne korenine in poganjkov. Rezultate smo statistično obdelali z ANOVA, post-hoc testom in t – testom. Z ANOVA testom smo ugotavljali ali obstajajo razlike med različnimi koncentracijami. Izvedli smo enosmerno analizo variance z vtičnikom XL Toolbox in preverili ali podatki ustrezajo osnovni predpostavki o homogenosti variance. V statistično obdelavo smo vključili le podatke semen, ki so vzkalila. ANOVA nam poda splošno informacijo o tem, ali obstajajo pomembne razlike med skupinami podatkov. Post-hoc testi so dodatni testi, s katerimi ugotovimo katera od primerjav, ki so možne v našem naboru podatkov, je pomembna. S post-hoc testi smo pregledali, med katerimi skupinami prihaja do statistično značilnih razlik. Uporabili smo Holm-Šidak verzijo post-hoc testa, ki uporablja isti algoritem kot Bonferroni-Holm test, le da je bolj konzervativen (Stata in Park, 2005).



Slika 1: Detergent Meglio.



Slika 2: Kreša in delovni material.



Slika 3: Kreša med kaljenjem v kalilniku.

Rezultati

V poskusu smo nastavili kalilnike s semeni vodne kreše in pri tem uporabili kontrolo (vodovodno vodo) ter različne koncentracije raztopin razmaščevalca Meglio Lemon (0,1-; 0,01- in 0,001-kratna koncentracija) z namenom, da ugotovimo, kako čistilo Meglio Lemon vpliva na kaljenje in rast ter razvoj semen vodne kreše. Prve razlike med raztopinami so bile opazne po 3-4 dneh namakanja semen. Semena v 0,1-kratni koncentraciji so imela nagubano semensko ovojnico in so bila zelo dotrajana in drugačne, temnejše rumeno-rjave barve. Poganki niso bili zdravega izgleda, bili so ukrivljeni, njihova barva je bila rumeno-rjava (slika 7). Medtem so semena v kontroli, 0,01-kratni in 0,001-kratni koncentraciji čistila imela bolj gladko ovojnico in niso bila tako temno rumene barve (slike 4, 5 in 6). Predvidevamo, da je to posledica koncentracije uporabljenega čistila, učinkovin, ki jih vsebuje. Raztopin med namakanjem nismo mešali. Raztopina je ostala v vseh primerih enakomerno, rahlo rumeno obarvana, najbolj pri 0,1-kratni koncentraciji. Ob vizualnem pregledu kalilnikov sva ob zaključku poskusa ugotovili, da pri 0,1-kratni (slika 7) in 0,01-kratni koncentraciji (slika 5) večina semen ni pokukala iz kartona v primerjavi s kontrolo (slika 4) in 0,001-kratno koncentracijo (slika 5) (Gabrijela). Na prvi pogled je bila velikost poganjkov in korenin med kontrolo in 0,01-kratno koncentracijo zelo podobna (Gabrijela, Anja). Razvoj delov rastlin pa je bil pri višjih koncentracijah (0,1-kratna koncentracija), močno zavrt, v Anjinem primeru sta skalili le dve semeni (slika 5, slika 9).

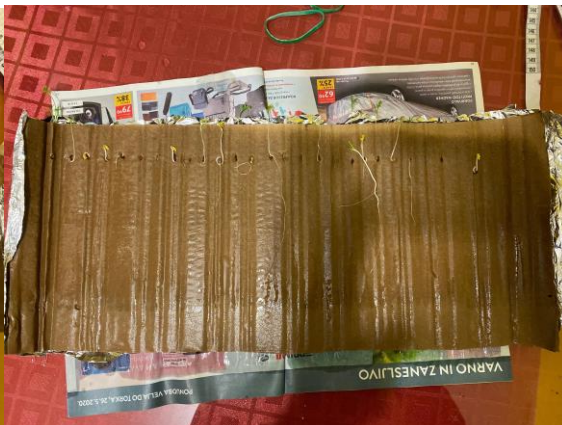
Po končanem eksperimentu smo prešteli vzkaljena semena, ter pridobljene podatke statistično obdelali. Ugotovili smo, da je bila kaljivost semen najnižja pri najmanjši redčitvi (0,1-kratna

koncentracija) v obeh paralelkah. Pri 0,01-kratni koncentraciji lahko opazimo, da je bila kaljivost višja kot pri 0,001-kratni v obeh primerih. Prav tako smo opazili, da je bila povprečna dolžina korenin (Anja) in dolžina poganjkov (Gabrijela) večja pri 0,01-kratni koncentraciji (slika 6, slika 10) kot pri 0,001-kratni koncentraciji (slika 5, slika 11).

Slike Gabrijela



Slika 4: Kontrola



Slika 5: 1000x redčitev



Slika 6: 100x redčitev



Slika 7: 10x redčitev

Tudi v Anjinem primeru so bili poganjki pri 0,1-kratni koncentraciji nezdravega izgleda, rahlo rumenkasti in zelo majhni. Korenine pri tej koncentraciji niso zrastle (slika 9). Že po vizualnem pregledu je bilo možno opaziti, da so korenine v povprečju najdaljše pri 0,01 koncentraciji (slika 10), medtem ko so bili poganjki podobne rasti pri kontroli in 0,001-kratni koncentraciji (slika 8, slika 11).

Slike Anja



Slika 8: Kontrola



Slika 9: 10x redčitev



Slika 10: 100x redčitev

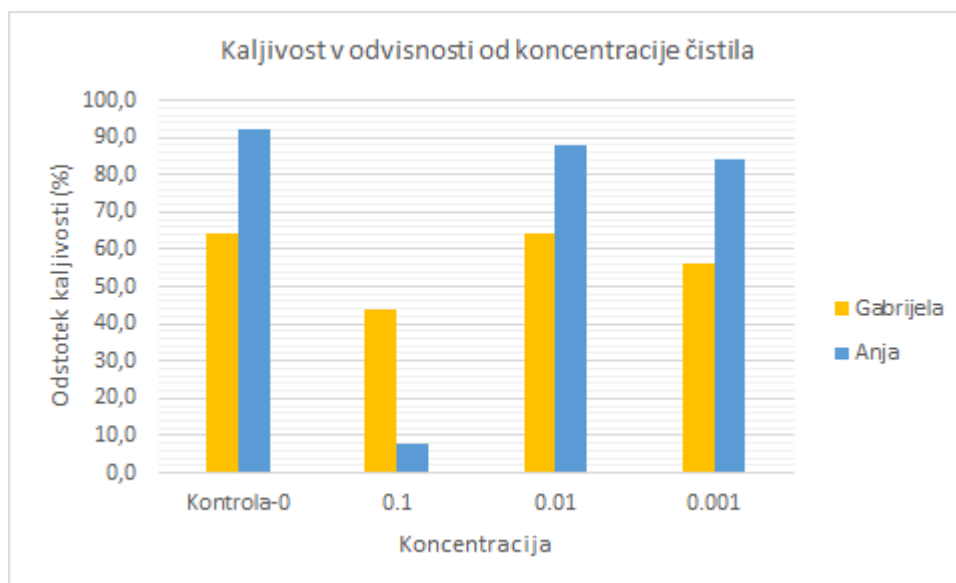


Slika 11: 1000x redčitev

	Anja	Gabrijela
Koncentracija čistila Meglio	Kaljivost	Kaljivost
Kontrola- 0	92%	64%
0.1	8%	44%
0.01	88%	64%
0.001	84%	56%

Tabela 1: Odstotek kaljivosti (izračun)

Tabela 1 prikazuje odstotke kaljivosti semen pri posameznih izpostavitvah različnim koncentracijam čistila. Kaljivost smo izračunali v Excelu, tako da smo delili število vzkaljenih semen s številom vseh semen pri vsaki redčitvi. Kaljivost smo izrazili v odstotkih. Vidimo, da je v obeh primerih kaljivost največja pri kontroli, v Gabrijelinem primeru je ista tudi pri 0,01-kratni koncentraciji. V obeh paralelkah je najnižja pri 0,1-kratni koncentraciji. Zanimivo je, da kaljivost zopet rahlo pade v obeh primerih pri 0,001-kratni koncentraciji, v primerjavi s 0,01-kratno koncentracijo. Rezultati kaljivosti so prikazani v grafu 1.



Graf 1: Kaljivost kreše v odstotkih v dveh ponovitvah

Statistična analiza

Name	Count		Average (n)		SD	
	Anja	Gabrijela	Anja	Gabrijela	Anja	Gabrijela
KONTROLA-0	23	15	2,386957	5,1	1,729242	4,424768
0,1	2	11	0	1,3	0	1,218195
0,01	22	15	3,25	2,48	3,784649	2,359843
0,001	20	13	2,615	3,615385	2,856806	3,834024

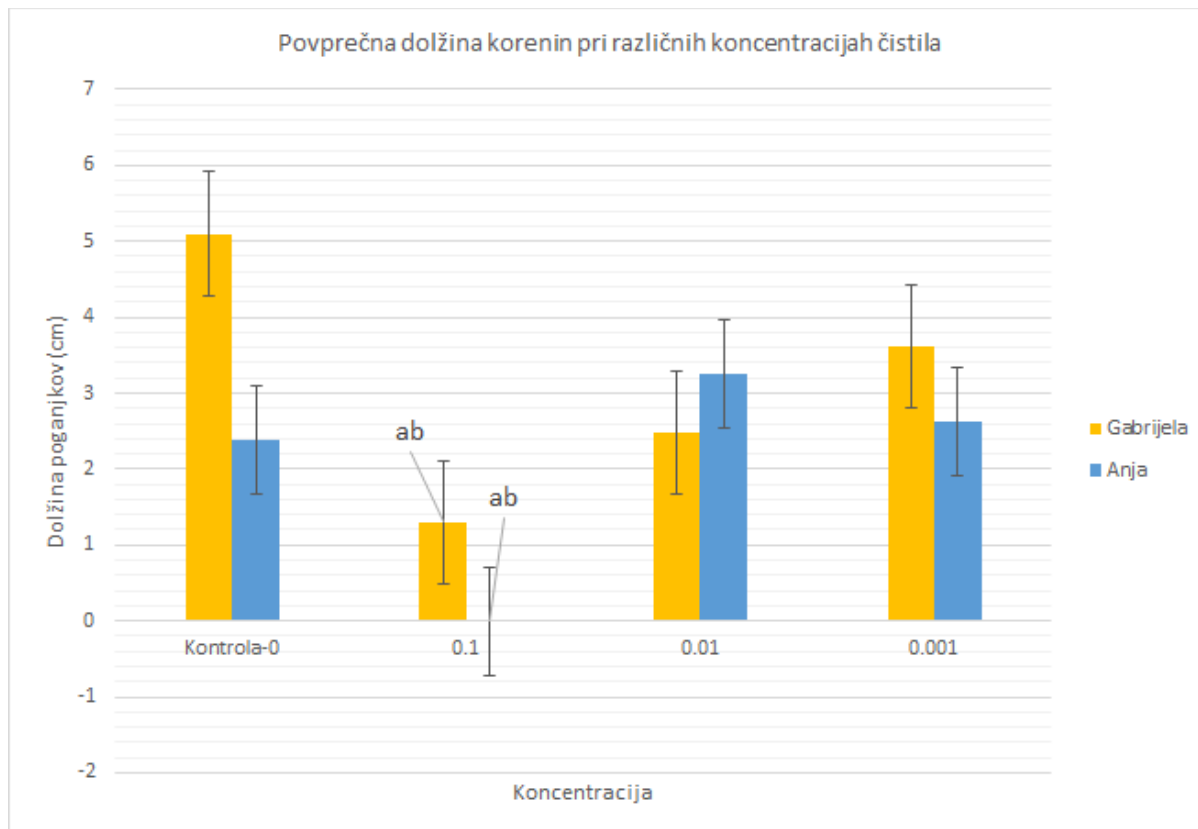
Tabela 2: Število vzkaljenih semen, povprečne dolžine korenin in standardne deviacije.

Tabela 2 prikazuje število vzkaljenih semen (count), katerih dolžine korenin smo uporabili za statistično analizo. Prikazana je še povprečna dolžina korenin za vsako izpostavitvev ter standardne deviacije. Opazimo lahko, da je povprečna dolžina korenin najmanjša pri 0,1-kratni koncentraciji, v Anjinem primeru pa korenine sploh niso zrasle. Pri Anji je največja povprečna dolžina korenin v primeru 0,01-kratne koncentracije, pri Gabrijeli pa v primeru kontrole. Zanimivo je, da so korenine daljše pri 0,01-kratni koncentraciji v primerjavi z 0,001-kratno (Anja), pri Gabrijeli pa je opazen ravno obraten učinek. Povprečne dolžine korenin in standardne deviacije so prikazane v grafu 2.

Name	Count		Average (n)		SD	
	Anja	Gabrijela	Anja	Gabrijela	Anja	Gabrijela
Kontrola-0	23	15	4,091304	3,766667	1,950504	2,1619
0.1	2	11	0,25	2,272727	0,353553	1,472475
0.01	22	16	3,777273	3,90625	2,098737	2,215241
0.001	21	13	4,128571	2,884615	2,113325	1,792971

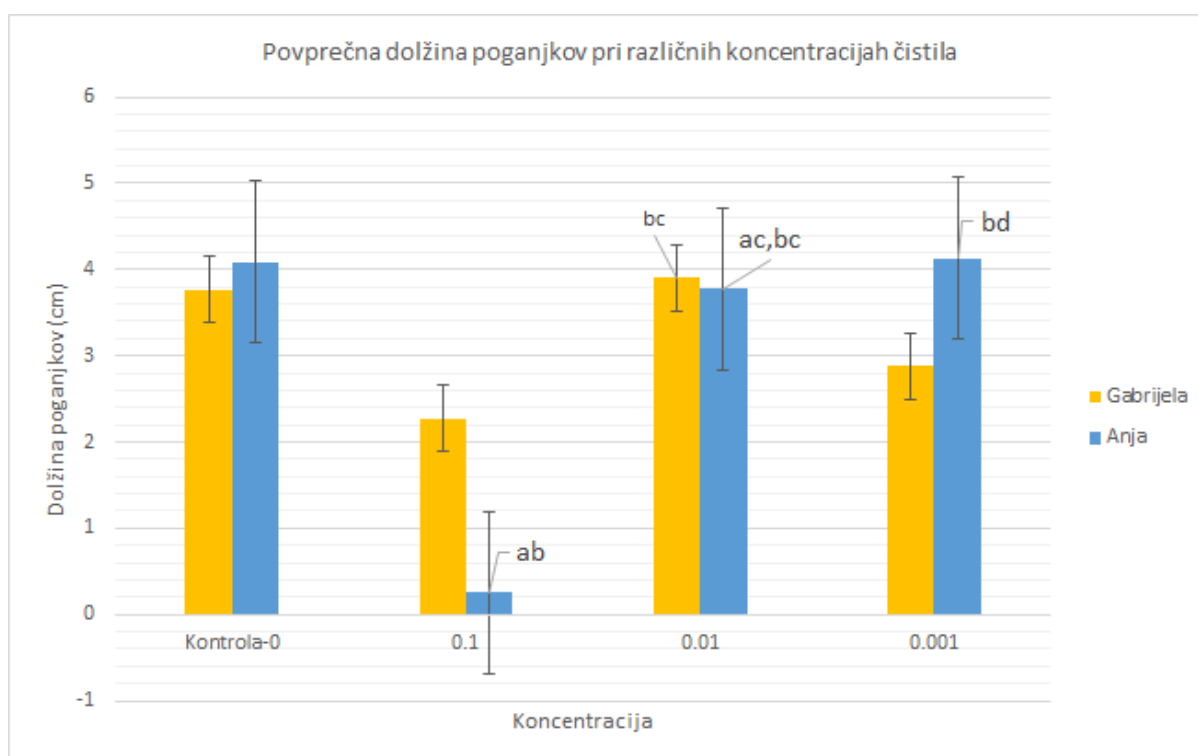
Tabela 3: Število vzkaljenih semen, povprečne dolžine poganjkov in standardne deviacije.

Tabela 3 prikazuje število vzkaljenih semen (count), katerih dolžine poganjkov smo uporabili za statistično analizo, povprečno dolžino poganjkov in standardne deviacije. Opazimo lahko kar nekaj razlik med paralelkama. Najdaljša povprečna dolžina poganjkov v Anjinem primeru je bila pri 0,001-kratni koncentraciji, pri Gabrijeli pa pri 0,01-kratni. V obeh paralelkah je bila povprečna dolžina poganjkov najmanjša pri 0,1-kratni koncentraciji. Zopet se pojavijo razlike med 0,01-kratno in 0,001-kratno koncentracijo med paralelkama. Pri Anji so korenine daljše pri manjši koncentraciji, pri Gabrijeli pa ravno obratno. Povprečne dolžine korenin in standardne deviacije so prikazane v grafu 3.



Graf 2: Povprečna dolžina korenin v dveh ponovitvah pri različnih redčitvah (ANOVA) Vrednosti predstavljajo povprečje (n - glej tabelo 2), in standardno deviacijo povprečja (glej tabelo 2). Različne črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike med posameznimi izpostavitvami (Holm-Šidak post-hoc test, $p < 0,05$). Črke pomenijo sledeče: a=kontrola, b=0,1-kratna koncentracija, c=0,01-kratna koncentracija, d=0,001-kratna koncentracija; ab torej pomeni da je prišlo do statistično značilnih razlik med kontrolo in 0,1-kratno koncentracijo.

Graf 2 prikazuje povprečne dolžine korenin v dveh ponovitvah in standardne deviacije pri različnih koncentracijah čistila (za vrednosti glej tabela 2). S črkami a, b, c in d smo označili različne koncentracije (glej naslov grafa 2) in s kombinacijami črk označili med katerimi koncentracijami pride do statistično značilnih razlik v rasti korenin glede na rezultate Holm-Šidak post-hoc testa (glej tabelo 5). Opazimo lahko, da je prišlo do statistično značilno različnih razlik pri 0,1-kratni koncentraciji v primerjavi s kontrolo v obeh paralelkah. Tu lahko rečemo, da je dejansko prišlo do zaviralnega učinka čistila na rast korenin.



Graf 3: Povprečna dolžina poganjkov v dveh ponovitvah pri različnih redčitvah (ANOVA) Vrednosti predstavljajo povprečje (n - glej tabelo 3), in standardno deviacijo povprečja (glej tabelo 3). Različne črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike med posameznimi izpostavitvami (Holm-Šidak post hoc test, $p < 0,05$). Črke pomenijo sledeče: a=kontrola, b=0,1-kratna koncentracija, c=0,01-kratna koncentracija, d=0,001-kratna koncentracija; ab torej pomeni da je prišlo do statistično značilnih razlik med kontrolo in 0,1-kratno koncentracijo.

Graf 3 prikazuje povprečne dolžine poganjkov v dveh ponovitvah in standardne deviacije pri različnih koncentracijah čistila (za vrednosti glej tabela 3). S črkami a, b, c in d smo označili različne koncentracije (glej naslov grafa 3) in s kombinacijami črk označili med katerimi koncentracijami pride do statistično značilnih razlik v rasti poganjkov glede na rezultate Holm-Šidak post-hoc testa (glej tabelo 5). Opazimo lahko, da je prišlo do statistično značilno različnih razlik pri 0,1-kratni in 0,01-kratni koncentraciji v primerjavi s kontrolo, kar nas najbolj zanima (Anja). Prav tako je prišlo do statistično značilnih razlik med 0,1-kratno in 0,01-kratno ter 0,001 kratno koncentracijo čistila. V Gabrijelinem primeru je prišlo do statistično značilnih razlik le med 0,1-kratno in 0,01-kratno koncentracijo.

- **STATISTIČNA OBDELAVA Z ANOVA TESTOM**

Rezultati ANOVA testa so pokazali, da lahko predpostavimo enake variance tako za dolžino poganjka, kot tudi za dolžino korenine pri obeh ponovitvah poskusa.

ANOVA test (P vrednosti)	Gabrijela	Anja
Dolžina poganjka	0,620	0,277
Dolžina korenine	0,065	0,095

Tabela 4: P vrednosti pridobljene s testom ANOVA

- **POST-HOC TEST**

Tabela 5 prikazuje rezultate post-hoc testa (Holm-Šidak). Z odebeljenim tiskom so označene $p < 0,05$, kjer je prišlo do statistično značilnih razlik. Ker nas zanima zaviralni učinek čistila, so zanimive predvsem vrednosti, ki so v primerjavi s kontrolo. Opazimo lahko, da pride statistično značilnih razlik med kontrolo in 0,1-kratno koncentracijo pri povprečni dolžini poganjkov in korenin (Anja) ter korenin (Gabrijela). Prav tako je prišlo do statistično značilnih razlik med kontrolo in 0,01-kratno koncentracijo pri povprečni dolžini poganjkov (Anja). S 0.05 stopnjo prostosti lahko trdimo, da v primeru 0,1-kratne koncentracije pride do statistično značilnega zaviralnega vpliva čistila na rast poganjkov in korenin (Anja) ter rast korenin (Gabrijela), ter v primeru 0,01-kratne koncentracije na rast poganjkov (Anja).

Skupina 1	Skupina 2	Gabrijela		Anja	
		Vrednost P		Vrednost P	
		Poganjek	Korenine	Poganjek	Korenina
0	0.1	0,059835	0,01092	0,011952	0,06808
0	0.01	0,86045	0,052663	0,019072	0,327145
0	0.001	0,255072	0,355254	0,95178	0,749563
0.1	0.01	0,042638	0,143672	0,029529	0,246695
0.1	0.001	0,376579	0,068323	0,019072	0,219945
0.01	0.001	0,190687	0,346912	0,587476	0,546086

Tabela 5: P vrednosti pridobljene s post-hoc testom

- KORELACIJSKI T-TEST:

Statistično pomembne razlike smo testirali s korelacijskimi t-testi. Predpostavili smo, da lahko glede na analizo homogenosti variance z ANOVO, med skupinami predpostavimo enako varianco. Izvedli smo t-test: Two-Sample Assuming Equal Variances. V vseh analizah smo izbrali $\alpha = 0,05$, kar pomeni, da bomo lahko s 95 % zaupanjem trdili, da je ali pa ni prisotna signifikantna razlika med vzorci.

	Anja		Gabrijela	
	P – dvostranski		P – dvostranski	
Primerjava	Poganjek	Korenina	Poganjek	Korenina
Kontrola – 0,1	0,0119523	0,0680799	0,0581001	0,0150714
Kontrola – 0,01	0,6055864	0,3271445	0,8604498	0,0750792
Kontrola – 0,001	0,9517798	0,7495633	0,1393528	0,4437821

Tabela 6: P vrednosti pridobljene s t-testom (dvostranski)

	Anja		Gabrijela	
	P – enostranski		P – enostranski	
Primerjava	Poganjek	Korenina	Poganjek	Korenina
Kontrola – 0,1	0,00598	0,03404	0,02905	0,00754
Kontrola – 0,01	0,30279	0,16357	0,43023	0,03754
Kontrola – 0,001	0,47589	0,37478	0,06968	0,22190

Tabela 7: P vrednosti pridobljene s t-testom (enostranski)

Tabeli 6 in 7 predstavljata rezultate izvedenih t-testov za posamezne pare - kontrolo in posamezno redčitev. Z odebeljenim tiskom so označeni pari, kjer so bile ugotovljene statistično pomembne razlike ($p < 0,05$). Osredotočili smo se na enostranski test, rezultati katerega kažejo, da so bile ugotovljene statistično značilne razlike pri paru kontrola in 0,1-kratna koncentracija tako za poganjke, kot tudi korenine (Anja, Gabrijela), ter pri paru kontrola in 0,01-kratna koncentracija za korenine (Gabrijela). S t-testom tako ovrgemo našo ničelno hipotezo, ki pravi da različne koncentracije ne vplivajo na rast, saj nam rezultati kažejo, da obstajajo statistično značilne razlike ter da različne koncentracije vplivajo na rast. Tudi dejansko smo v primeru 0,1-kratne koncentracije opazili precej zmanjšano rast korenin in poganjkov v primerjavi s kontrolo. Prav tako je Gabrijela opazila precej zmanjšano rast korenin v primeru 0,01-kratne koncentracije v primerjavi s kontrolo. Statistično značilne razlike pa niso bile ugotovljene pri paru kontrola in 0,001-kratna koncentracija, tako za korenine, kot tudi poganjke (Gabrijela, Anja), ter pri parih kontrola in 0,01-kratna koncentracija za korenine in poganjke (Anja) ter za poganjke (Gabrijela). V teh primerih ničelno hipotezo potrdimo - porazdelitev je enaka kot pri kontroli, statistično značilnih razlik v teh primerih ni.

Diskusija

Po končanem eksperimentu smo prešteli vzkaljena semena ter pridobljene podatke statistično obdelali. Glede na prvo hipotezo smo prišli do naslednjih sklepov: stopnja kaljivosti semen je bila najvišja v primeru kontrole in 0,01-kratne koncentracije (Graf 1) (Gabrijela), zato zavrnamo prvo hipotezo, ki pravi, da je stopnja kaljivosti najvišja le v primeru kontrole. V Anjinem primeru, bi prvo hipotezo potrdili, saj je bila stopnja kaljivosti najvišja v primeru

kontrole (Anja). Zavrtnemo še drugo hipotezo, ki pravi, da bo najvišja koncentracija čistila popolnoma zavrla kalitev semen (Anja in Gabrijela).

Izvedli smo statistično obdelavo podatkov z ANOVA (post-hoc test Holm-Šidak) ter t-test. V statistično obdelavo podatkov smo vključili le podatke semen, ki so vzklila. Izvedli smo enosmerno analizo variance z vtičnikom XL Toolbox, rezultati katere pravijo, da lahko predpostavimo enake variance tako za dolžino poganjkov, kot tudi korenin, v obeh ponovitvah poskusa. Zato smo se nadalje tudi odločili za izvedbo t-testa: Two-Sample Assuming Equal Variances, kjer smo osredotočili na enostranski test. Rezultati ANOVA testa kažejo, da lahko tako za dolžine korenin, kot tudi poganjkov predpostavimo enako varianco.

Rezultati post-hoc testa so pokazali, da je prišlo do statistično značilnih razlik med kontrolo in 0,1-kratno koncentracijo pri povprečni dolžini poganjkov in korenin (Anja) ter korenin (Gabrijela). Prav tako je prišlo do statistično značilnih razlik med kontrolo in 0,01-kratno koncentracijo pri povprečni dolžini poganjkov (Anja). Z 95% zaupanjem lahko trdimo, da v primeru 0,1-kratne koncentracije pride do statistično značilnega zaviralnega vpliva čistila na rast poganjkov in korenin (Anja) ter rast korenin (Gabrijela) ter v primeru 0,01-kratne koncentracije na rast poganjkov (Anja) (Glej tabelo 5). Tako lahko glede na post-hoc test zavrtnemo tretjo hipotezo (glej poglavje HIPOTEZE), da vse tri koncentracije (0,1-kratna, 0,01-kratna in 0,001-kratna koncentracija) čistila zavirajo rast poganjkov in korenin.

Glede na vizualni pregled in rezultate povprečnih dolžin korenin in poganjkov s testom ANOVA bi sicer lahko sklepali na pojav hormoneze, a rezultati niso bili statistično značilno različni. Hormeza je pojav, kadar ima toksična snov v majhnih koncentracijah stimulatorni učinek na organizem, visoke koncentracije pa so za rastlino toksične. Pri rastlinah je hormoneza odziv na stres, s katerim se odzovejo s povečano rastjo, z namenom, da bi razredčile količino toksina v svojih tkivih (Poschenrieder et al., 2013). Če bi prišlo do statistično značilnih razlik, sklepamo, da bi hormonezo v našem primeru lahko inducirali kationsko in anionsko površinsko aktivne snovi ter morda tudi limonen. To se sklada tudi z raziskavami drugih raziskovalcev, ki so pokazali, da visoke koncentracije surfaktantov inhibirajo kalitev semen, medtem ko nižje ne vplivajo signifikantno ali pa na rast rastlin delujejo celo stimulatorno (Gálvez et al., 2019; Rinallo et al., 1988; Fung et al., 2018).

Rezultati enostranskega t-testa delno potrdijo rezultate testa ANOVA in pravijo, da obstajajo statistično značilne razlike pri 0,1 redčitvi v primerjavi s kontrolo, tako za dolžino poganjkov, kot tudi korenin v obeh primerih. S tem ovržemo ničelno hipotezo, saj smo ugotovili, da 0,1-

kratna koncentracija vpliva na rast poganjkov in korenin v obeh ponovitvah poskusa. Statistično značilna razlika pa je bila opažena tudi pri 0,01-kratni koncentraciji v primerjavi s kontrolo v primeru korenin (Gabrijela). Tudi v tem primeru ovržemo ničelno hipotezo. Statistično značilne razlike pa niso bile ugotovljene pri paru kontrola in 0,001-kratna koncentracija, tako za korenine, kot tudi poganjke (Gabrijela, Anja), ter pri parih kontrola in 0,01-kratna koncentracija za korenine in poganjke (Anja) ter za poganjke (Anja). S tem potrdimo ničelno hipotezo, ki pravi, da različne koncentracije ne vplivajo na rast.

Rezultati t-testa se delno skladajo tudi z rezultati post-hoc testa in z dejanskimi ugotovitvami, saj lahko glede na povprečne dolžine korenin in poganjkov glede na rezultate ANOVA testa (glej grafe) vidimo, da so razlike v dolžinah v primerjavi s kontrolo največje ravno pri parih, kjer smo s t-testom in post-hoc testom ugotovili statistično značilne razlike. Tudi glede na rezultate t-testa zavržemo tretjo hipotezo, saj so bile statistično značilne razlike opazne le pri 0,1-kratni koncentraciji v primerjavi s kontrolo, tako za korenine kot tudi poganjke, ter pri 0,01-kratni koncentraciji v primerjavi s kontrolo za korenine (Gabrijela), ne pa tudi pri drugih koncentracijah, torej vse koncentracije čistila ne delujejo zaviralno na rast in razvoj rastline.

S pregledom literature in na podlagi naših rezultatov lahko zaključimo, da imajo sestavine v čistilu Meglio Lemon v višji (0,1-kratni koncentraciji) zaviralen učinek, medtem ko učinek pri nižjih koncentracijah (0,01-kratni koncentraciji; 0,001-kratni koncentraciji) ni statistično značilen, torej ne prihaja do inhibicije rasti.

Literatura

- Fung, E. S., Drechsel, D. A., Towle, K. M., Hoang, M. T., Novick, R. M., Poteete, C., Paustenbach, D. J., & Monnot, A. D. (2018). Screening-level safety assessment of personal care product constituents using publicly available data. *Cosmetics*.
<https://doi.org/10.3390/cosmetics5020038>
- Gálvez, A., López-Galindo, A., & Peña, A. (2019). Effect of different surfactants on germination and root elongation of two horticultural crops: implications for seed coating. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*.
<https://doi.org/10.1080/01140671.2018.1538051>
- Høgh-Jensen, H., Schjoerring, J. K., & Soussana, J. F. (2002). The influence of phosphorus deficiency on growth and nitrogen fixation of white clover plants. *Annals of Botany*.

<https://doi.org/10.1093/aob/mcf260>

MISHUSTINA, N. E., VAKHMISTROV, D. B., ZVERKOVA, O. A., & KOROLEVA, E. Y. (1991). *The Effect of Non-Ionic & Ionic Detergents on the Growth of Cucumber Seedlings*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-89104-4.50067-0>

Razaq, M., Zhang, P., Shen, H. L., & Salahuddin. (2017). Influence of nitrogen and phosphorous on the growth and root morphology of Acer mono. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171321>

Rinallo, C., Bennici, A., & Cenni, E. (1988). Effects of two surfactants on Triticum durum Desf. plantlets. *Environmental and Experimental Botany*. [https://doi.org/10.1016/0098-8472\(88\)90061-5](https://doi.org/10.1016/0098-8472(88)90061-5)

Stata, A. U., & Park, H. M. (2005). Comparing Group Means : The T-test and One-way. *The Trustees of Indiana University*.

Taliman, N. A., Dong, Q., Echigo, K., Raboy, V., & Saneoka, H. (2019). Effect of phosphorus fertilization on the growth, photosynthesis, nitrogen fixation, mineral accumulation, seed yield, and seed quality of a soybean low-phytate line. *Plants*. <https://doi.org/10.3390/plants8050119>

Voutsina, N., Payne, A. C., Hancock, R. D., Clarkson, G. J. J., Rothwell, S. D., Chapman, M. A., & Taylor, G. (2016). Characterization of the watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.; Brassicaceae) transcriptome using RNASeq and identification of candidate genes for important phytonutrient traits linked to human health. *BMC Genomics*. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2704-4>

SPLETNE POVEZAVE ZA VEČ INFORMACIJ:

<http://herbgardening.com/growingwatercress.htm#:~:text=Seed%20Germination%20Period,Rapid%20Rooters%2C%20or%20Grodan%20Stonewool>

<https://trgovina.mercator.si/market/izdelek/5075727/razmascevalec-meglio-750-ml>

<https://www.ewg.org/skindeep/ingredients/702113-limonene/>

VPLIV BIOLOŠKEGA ČISTILA »Frosch« NA KALITEV IN RAST PŠENICE

Avtorja: Lara Beden in Petra Jelovšek

Izveleček

- Detergent za posodo Frosch Ecological Balsam Lemon v koncentracijah 0,1%; 0,01% in 0,001% ni vplival na kaljivost semen pšenice (*Triticum aestivum* L.).
- Detergent za posodo Frosch Ecological Balsam Lemon v koncentracijah 0,1%; 0,01% in 0,001% ni imel vpliva na dolžino poganjkov, dolžino glavne korenine ter število stranskih korenin.
- Za boljše rezultate bi morali preveriti kaljivost in rast pšenice (*Triticum aestivum* L.) pri višjih koncentracijah detergenta Frosch Ecological Balsam Lemon ter povečati število semen vključenih v poskus.

Uvod

Detergente za ročno pomivanje posode uporablja vsako gospodinjstvo. Ob tem se redko kdo vpraša, ali detergenti za posodo puščajo škodljive vplive v okolju? S kolegico sva aktivni pri skavtih in tabornikih, kjer na taborih pogosto nimamo vodovoda in zato posodo pomivamo kar v bližnjih rekah in potokih. Porajalo se nama je vprašanje, ali s svojim početjem škodujemo okolju ter ali je detergent Frosch Ecological Balsam Lemon, ki ga na taborih uporabljamo res dovolj varen za naravo, predvsem za rastline. Odločili sva se, da preveriva primernost in vpliv detergenta Frosch Ecological Balsam Lemon na rast in razvoj poganjkov pšenice (*Triticum aestivum* L.) v kalilnikih. Detergent za posodo Frosch Ecological Balsam Lemon je produkt nemškega podjetja Frosch. Koncept podjetja je produkcija okolju prijaznih gospodinjskih čistil ter trajnostni razvoj v celotni verigi izdelave čistil. Površinsko aktivne snovi, ki jih uporabljajo v čistilih temeljijo na rastlinskih surovinah, pridelanih v Evropi (npr. oljna ogrščica, sončnice, oljke, ...). Vsi izdelki imajo certifikate kot so »veganom prijazno«, »brez mikroplastike, fosfatov ter parabenov«. (Werner & Mertz GmbH, 2020). Detergent za posodo Frosch Ecological Balsam Lemon ima nevtralen pH in vsebuje rastlinske površinsko aktivne snovi z dodatkom ekstrakta limone. Mešanica zagotavlja optimalno moč raztapljanja maščob in umazanije ter sijoč, čist in svetleč lesk posode. Sestavine detergenta so evropskega porekla.

Detergent je nežen do kože rok, primeren veganom, plastika je narejena iz 100% reciklirane plastike in ne vsebuje mikroplastike. (Werner & Mertz GmbH,2020).

Po podatkih iz literature sva zasledili primer testiranja toksičnosti detergenta Frosch (Warner & Mertz, FRG). V raziskavi so avtorji preverjali ali je detergent res varna gospodinjska kemikalija, kot se trži. Raziskavo so izvedli na leči (*Lens culinaris*) po principu fito-bio testa in merjenja dolžin poganjkov. Semena leče so enakomerno razporedili na filter papir v petrijevkah v 10 ponovitvah. Ugotovili so, da detergent v koncentraciji 0,25 mL/L vode zavira rast poganjkov leče za približno 50%. Glede na pridobljene podatke se detergent Frosch ne bi smel tržiti kot okolju prijazen detergent (Ostroumov 2016).

Po drugi strani pa pakistanski znanstveniki opisujejo, da detergenti naj ne bi imeli bistvenega vpliva na kalitev koruze (*Zea mays*). Opazili so pospešeno rast v prvih 72 urah po začetku poskusa, ter nobenega zaviralnega vpliva na rast korenin. Opazil so manjšo stimulacijo rasti korenin pri višjih koncentracijah, ostale spremembe pa niso bile statistično značilne. V tej raziskavi so poleg testa kalitve izvedli še teste prepustnosti membrane in kvantifikacijo fotosinteznih pigmentov ter analizirali celokupno število proteinov. (Uzma s sod. 2020)

Starejše raziskave, ki so raziskovale vpliv surfaktantov ABS in Citowett v spreju na *Triticum durum*, so prav tako pokazale, da ti nimajo nobenega očitnega vpliva na kalitev semen. Po drugi strani pa so se pokazali zaviralni učinki na rast poganjkov in korenine. Opazili so tudi negativne vplive na voske v kutikuli in morfološke spremembe (Bennici in Rinallo, 1990).

Cilji: Ugotovitev primernosti biološkega detergenta Frosch Ecological Balsam Lemon pri pomivanju posode v naravi, glede na vpliv koncentracije detergenta Frosch Ecological Balsam Lemon na kaljenje, rast poganjkov ter korenin pšenice *Triticum aestivum* L. v kalilniku.

Hipoteze:

- Detergent Frosch Ecological Balsam Lemon nima vpliva na kalitev pšenice pri koncentracijah 0,1%; 0,01% in 0,001%.
- Detergent Frosch Ecological Balsam Lemon nima vpliva na št. stranskih korenin pšenice pri koncentracijah 0,1%; 0,01% in 0,001%.
- Detergent Frosch Ecological Balsam Lemon nima vpliva na dolžino poganjkov pri koncentracijah 0,1%; 0,01% in 0,001%.

- Detergent Frosch Ecological Balsam Lemon nima vpliva na dolžino glavne korenine pri koncentracijah 0,1%; 0,01% in 0,001%.

Metode in materiali

V poskusu so bila uporabljena semena pšenice *Triticum aestivum* L. proizvajalca Semenarna Ljubljana d. o. o.. Poskus spremljanje vpliva kaljivosti in rasti pšenice (*Triticum aestivum* L.) pri različnih koncentracijah detergenta Frosch Ecological Balsam Lemon je potekal med 3

Materiali:

- Semena pšenice (*Triticum aestivum* L.) (25 semen pšenice / 1 kalilnik → 2 ponovitvi)
- 4 kalilniki na 1 ponovitev poskusa (kartonasti kalilniki zaviti v alu-folijo in postavljeni v lončke z raztopinami)
- detergent Frosch Ecological Balsam Lemon (koncentracija detergenta: 0,1; 0,01; 0,001)
- voda (kontrola)

Sestavine detergenta Frosch Ecological Balsam Lemon: Voda, Natrijev lavret sulfat, Natrijev klorid, Natrijev lavrilsulfat, Natrijev benzoat, Kokamidopropil betain, N-Acil, N-Metil Glukamin, Koko-glukozid, Propilen glikol, Glicerin, Mlečna kislina, Glikol distearat, Dipropilen glikol, Amid poliglikol eter, parfumi, limonovo olje, barvilo (Werner & Mertz GmbH, n.d.).

Sestavine detergenta Frosch Ecological Balsam Lemon zapisane na embalaži: 5 – 15% anionsko površinske aktivne snovi, < 5% neionske površinske aktivne snovi, amfoterične površinske aktivne snovi, konzervansi (mlečna kislina), parfumi. Druge sestavine. Limonovo olje, barvilo. pH= 5,5.0. 4. in 8. 5. 2020 v dveh ponovitvah. Kalilniki so bili postavljeni na okenskih policah v hiši.

Metode:

Priprava raztopin:

Detergent Frosch Ecological Balsam Lemon sva pripravili v treh različnih koncentracijah:

Koncentracija detergenta	Količina detergenta	Količina vode
0,1 (50g/500g vode = 0,1)	5 žlic	0,5L
0,01 (50g*0,1/500g =0,01)	5 žlic 0,1raztopine	0,5L
0,001 (50g*0,01/500g = 0,001)	5 žlic 0,01raztopine	0,5L

Pripravili sva tudi kontrolno raztopino, ki je vsebovala vodo. V eni ponovitvi sva imeli vodovodno vodo v drugi ponovitvi pa vodo iz zajetja.

Izdelava kalilnika:

Pripravili sva 4 kartone velikosti 20 cm x 50cm, ki sva jih na spodnji strani obložili s slojem alu- folije. Karton s folijo sva nekajkrat zvili, da se je omehčal. Nato sva karton navlažili z raztopino, kot je prikazano na sliki 1. Približno 2cm od zgornjega roba in 2cm narazen sva na karton naložili semena pšenice. Preko semen sva položili papirnato brisačko in vse skupaj navlažili z raztopino. Kalilnik sva na rahlo zavili, pritrdili elastiko ter jih postavili v lončke z raztopino, tako da so bila semena pšenice na vrhu kalilnika (slika 2).



Slika 1 izdelava kalilnika.



Slika 2 Izdelani kalilniki.

Kaljenje in rast pšenice



Slika 3 in 4: Rast pšenice na dan 5.5. 2020.

Kalilnike sva izdelali 30. 4. 2020. Opazovanje rasti pšenice sva zaključili v petek, 8. 5. 2020, ko so v vseh kalilnih bile dolžine poganjkov večje od 5 centimetrov. Tekom poskusa sva vzdrževali enako količino raztopin v vseh kalilnikih (5 centimetrov raztopine v lončku kalilnikov) kot prikazujeta slika 3 in slika 4. Karton namreč vleče raztopino navzgor in oskrbuje semena s količino raztopine, da se ta ne izsušujejo. Alu-folija, ki je ovita okoli kalilnikov pa skrbi, da se kalilniki ne bi izsušili.

Meritve

V petek 8. 5. 2020 sva zaključili opazovanje rasti pšenice. Vsak kalilnik sva previdno razvili ter prešteli število kaljivih semen, izmerili dolžine poganjkov, dolžine glavnih korenin ter prešteli stranske korenine. Vsak kalilnik sva poslikali (glej preglednico 2). Rezultate sva beležili v tabelo.

PONOVITEV 1

KONTROLA 1



0,1



0,01

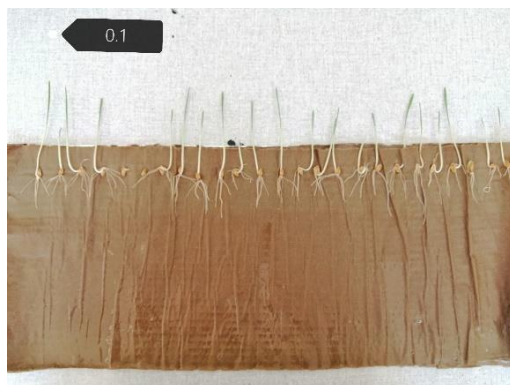


PONOVITEV 2

KONTROLA 2



0,1



0,01



0,001



0,001



Preglednica 2 Prikaz fotografij rezultatov kalilnikov pšenice ob koncu poskusa.

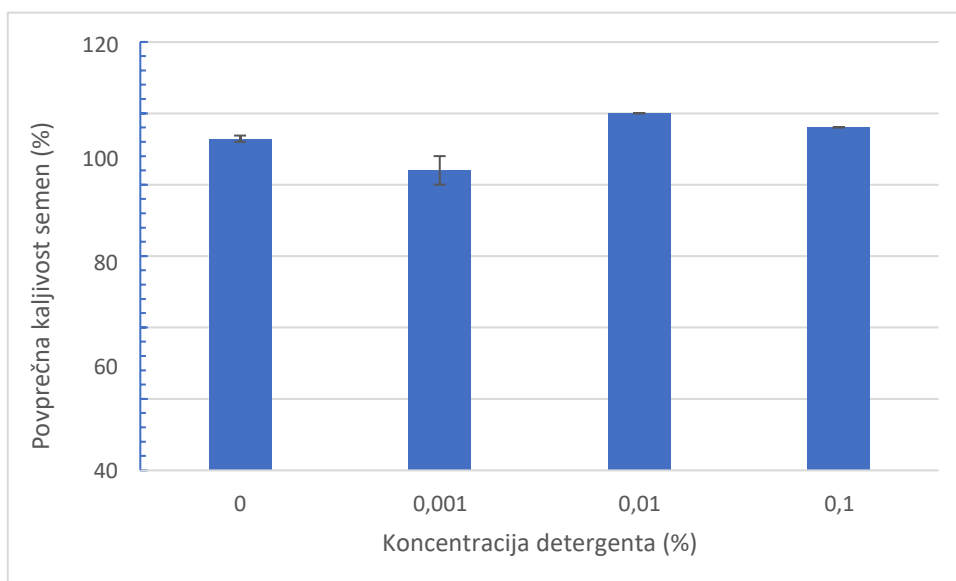
Statistična obdelava podatkov:

Izračunali sva odstotek kaljivosti semen ter opravili meritve višine poganjka, dolžine glavnih korenin in število stranskih korenin statistično obdelali (ANOVA, POST-HOC TEST). Uporabili sva program Microsoft Excel 2016 z vtičnikom Daniel's XL Toolbox NG (Kraus D., 2014). Uporabljen je bil Holm-Sidak test za post-hoc analizo v okviru vtičnika Daniel's XL Toolbox NG. Uporabljena je bila vrednost $\alpha=0.05$ pri Studentovem t-testu.

	Koncentracija detergenta (%)			
	0	0,001	0,01	0,1
št. poganjkov nad kartonom	41	41	49	32
št. vseh semen (začetek)	48	50	51	52
št. kaljivih semen	45	40	51	50
% kaljivost	94	80	100	97

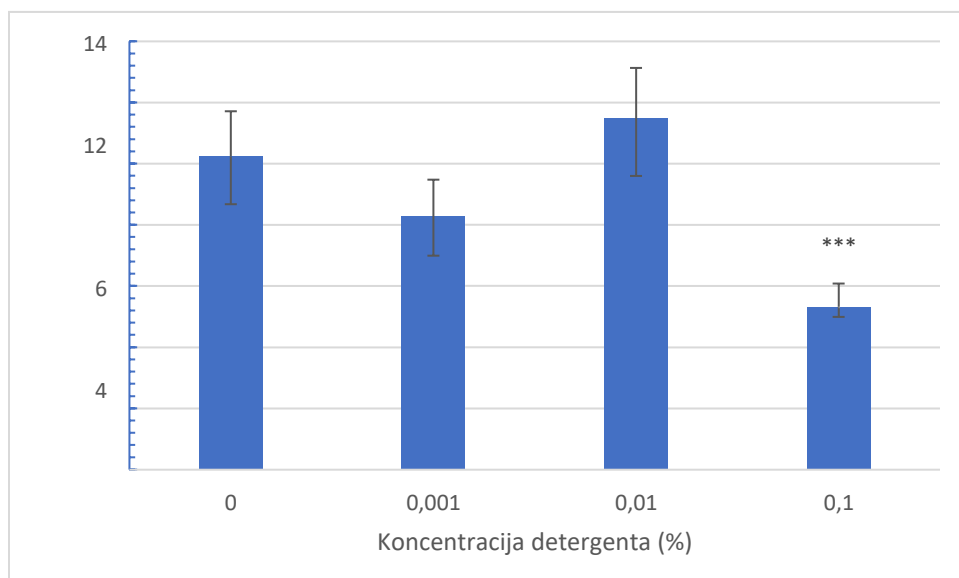
Rezultati

Iz grafa 1 je razvidno, da detergent kaljivosti pšenice ni bistveno zmanjšal. Kaljivost se je na prvi pogled zmanjšala pri koncentraciji 0,001 % ($M=84$, $SD= 5,7$) ($t(2)=-0.64$, $p= 0.64$), a to ni statistično značilna sprememba. Pri koncentraciji 0,01% so skalila vsa semena. Pri koncentracijah 0% in 0,1% sprememba prav tako ni bila statistično značilna.



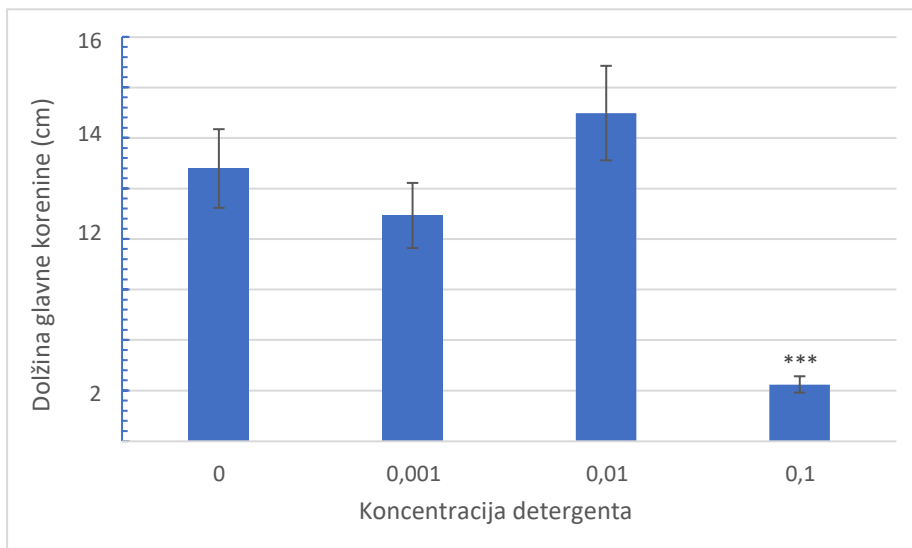
Graf 1: Odstotek kaljivosti semen pšenice v odvisnosti od koncentracije detergenta.

Na grafu 2 vidimo, da je povprečna dolžina poganjkov pri 0,1% raztopini detergenta ($M=5$, $SD=2.5$) manjša od ostalih raztopin. Manjša je tudi glede na kontrolo ($t(48)=5.9$, $p<.001$). Pri raztopini 0,001% ($M=8.3$, $SD=4.9$) so se poganjki zmanjšali a ne statistično značilno ($t(48)=1.8$, $p=0.07$). Pri raztopini 0,01% ($M=11.4$, $SD=2.9$) so bili poganjki daljši, kot pri kontroli, a zopet ne statistično značilno ($t(48)=-1.8$, $p=0.08$).



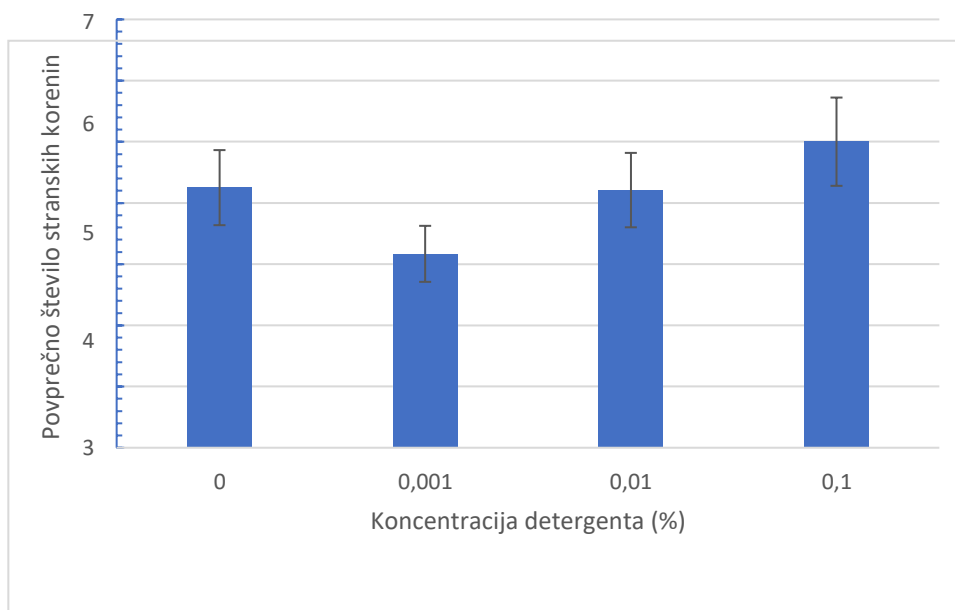
Graf 2: Dolžina poganjka pšenice. v odvisnosti od koncentracije detergenta.

Graf 3 prikazuje povprečne dolžine glavne korenine pšenice. Najdaljše korenine so v povprečju zrastle pri koncentraciji 0,01%, najkrajše pa pri 0,1% raztopini detergenta. Raztopina 0,001% ($M=8.9$, $SD=6.7$) ni imela statistično značilnega vpliva na rast poganjkov ($t(48)=1.6$, $p=1.7$). Raztopina 0,01% ($M=12.9$, $SD=2.9$) ni imela vpliva na dolžino glavne korenine. Dolžina se je sicer povečala glede na kontrolo, a razlika ni bila statistično značilna. Največji vpliv na rast glavne korenine je imela raztopina z 0,1% detergenta ($M=2.2$, $SD=1.4$). Dolžina poganjkov se je zmanjšala glede na kontrolo ($t(48)=13.1$, $p<.001$).



Graf 3: Povprečna dolžina glavne korenine pšenice v odvisnosti od koncentracije detergenta.

Graf 4 prikazuje povprečno število stranskih korenin pšenice v odvisnosti od koncentracije detergenta. Pri raztopini 0,001% (M=3, SD=2) se je število stranskih korenin zmanjšalo ($t(48)=2.7$, $p=0.009$). Pri raztopini 0,01% (M=4.25, SD=1.9) je število poganjkov ostalo v povprečju enako kontroli (M=4.25, SD=1.8) ($t(48)=0.17$, $p=0.89$). Pri raztopini s koncentracijo 0,1% (M=5, SD= 1.7) se je število stranskih korenin v primerjavi s kontrolo povečalo, a ne statistično značilno ($t(48)=-2.4$, $p= 0.02$).



Graf 4: Povprečno število stranskih korenin pšenice v odvisnosti od koncentracije detergenta.

Diskusija

V poskusu sva s kolegico opazovali vpliv detergenta za posodo Frosch lemon balzam, ki naj bi bil po navedbah proizvajalca, okolju prijazno čistilo. Iz rezultatov je razvidno, da nimajo vse koncentracije čistila enakega vpliva na kalitev in rast pšenice (*Triticum aestivum* L.). Statistično značilnega vpliva na kalitev semen ni bilo. Navidezno zmanjšano kaljivost pri nekaterih koncentracijah detergenta bi pripisali tudi naključnemu izboru semen za poskus. Proizvajalec namreč ne zagotavlja 100% kaljivosti vseh semen, zato je možno, da sva izbrali ravno taka, ki so že v začetku imela manjšo kaljivost. To pa v končnem nima statistično značilnega vpliva na rezultate poskusa. Pri koncentraciji 0,001% ni bilo opaziti statistično značilne razlike, prav tako ne pri koncentraciji 0,01%. Najbolj statistično značilno je na kalitev in rast pšenice vplivala raztopina s koncentracijo 0,1% detergenta. Povprečna dolžina poganjkov je bila manjša, prav tako tudi dolžina glavne korenine. Zanimivo je, da na kalitev semen ta raztopina ni bistveno vplivala.

V začetku poskusa sva si zastavili štiri hipoteze in sicer, da detergent ne bo imel vpliva na kaljivost; ne bo imel vpliva na dolžino poganjkov; ne bo imel vpliva na dolžino glavne korenine in ne bo imel vpliva na število stranskih korenin. Iz rezultatov ki sva jih dobili, lahko sklepava, da detergent v različnih koncentracijah različno vpliva na opazovane parametre. Statistično značilne razlike pri več kot enem parametru je bilo opaziti samo pri 0,1% koncentraciji detergenta. Zato lahko potrdiva hipoteze, da detergent Frosch nima vpliva na kalitev in nima vpliva na število stranskih korenin. Detergent Frosch prav tako nima vpliva na dolžino glavne korenine, razen pri koncentraciji 0,1% ter nima vpliva na dolžino poganjkov, razen pri koncentraciji 0,1%. Glede na literaturo o raziskavi vpliva detergenta Frosch Ostroumova 2016 sklepava, da bi tudi pri najinem poskusu dobili bolj značilne razlike vpliva koncentracije na dolžine poganjkov, glavne korenine ter število stranskih korenin, če bi uporabili višje koncentracije raztopin (npr. 0,25; 0,5) ter poskus izvedli v še več ponovitvah, da bi imeli več semen. Glede na raziskave Bennici in Rinallo, 1990 ter Uzma in sod., 2020 pa se najini rezultati skladajo z njihovimi ugotovitvami glede kaljivosti semen v prisotnosti surfaktantov. Detergent je imel vpliv na rast korenine samo pri koncentraciji 0,1 %, pri ostalih koncentracijah pa ni imel nobenega vpliva na rast poganjkov in korenin, kar so opisali tudi Uzma in sod., 2020.

Literatura

- Bennici A, in Rinallo C. 1990. "Effects of Surfactant Sprays on Triticum Durum Plantlets." *Phytopathologia Mediterranea* 29, (2): 76–80. <https://www.jstor.org/stable/42685734>.
- Kraus, D. 2014 Consolidated data analysis and presentation using an open-source add-in for the Microsoft Excel® spreadsheet software. *Medical Writing*, 23, 25-28. DOI: 10.1179/2047480613Z.000000000181
- Ostroumov, S. A. 2016. "Toxicity Testing of Chemicals without Use of Animals." *Russian Journal of General Chemistry* 86 (13): 2933–41. <https://doi.org/10.1134/S1070363216130028>.
- Rebello, Sharrel, Aju K. Asok, Sathish Mundayoor, and M. S. Jisha. 2014. "Surfactants: Toxicity, Remediation and Green Surfactants." *Environmental Chemistry Letters* 12 (2): 275–87. <https://doi.org/10.1007/s10311-014-0466-2>.
- Uzma, Syeda, Sarzamin Khan, Waheed Murad, Nadia Taimur, and Azizullah Azizullah. 2018. "Phytotoxic Effects of Two Commonly Used Laundry Detergents on Germination, Growth, and Biochemical Characteristics of Maize (*Zea Mays* L.) Seedlings." *Environmental Monitoring and Assessment* 190 (11). <https://doi.org/10.1007/s10661-018-7031-6>.
- Werner & Mertz GmbH. n.d. "Frosch." <https://frosch.de/Produkte/Spülen.html>.

VPLIV DETERGENTA »Finish Powerball All In One« (tablete za strojno pomivanje posode) NA KALITEV IN RAST KUMAR

Avtorja: Miha Bajc in Anja Trupej

Izvelek

S poskusom smo želeli preveriti morebitni toksični učinek detergenta za strojno pomivanje posode na kalitev semen kumare. Uporabili smo tablete Finish Powerball All In One ameriškega proizvajalca Finish in semena kumare vrste *Cucumis sativus L.*, zgodnja solatna kumara, katere pakira Semenarna Ljubljana. Za preučitev potencialno škodljivega učinka detergenta na kalitev semen smo pripravili kalilnike. Osnova kalilnika je bila podloga iz aluminijaste folije in kartona. Karton smo pred položitvijo semen, omočili s pripravljenimi raztopinami (voda – kontrola in 4 redčitve detergenta – A, B, C in D). Semena smo nato utrdili z omočenimi papirnatimi brisačami in vse skupaj zvali v valj. Pripravljene kalilnike smo postavili v steklene kozarce z raztopinami in jih postavili na okensko polico pri sobni temperaturi (19 °C – 22 °C). Vpliv detergenta za strojno pomivanje posode na semena kumare je bil opazen pri največji koncentraciji (vzorec A), in sicer je bil opazen tako vpliv na dolžino korenine (povprečna dolžina korenine pri vzorcu A je bila manjša za 91,5 % od povprečne dolžine korenine kontrolne skupine) in na dolžino poganjka (povprečna dolžina poganjka pri vzorcu A je bila manjša za 99,5 % od povprečne dolžine poganjka kontrolne skupine). Kljub razlikam vrednosti povprečnih dolžin korenin in poganjkov pri ostalih vzorcih statistično značilnih razlik v primerjavi s kontrolno skupino ni bilo. Opazili smo tudi razliko v kaljivosti semen (vzorci B, C in D so imeli za 4,1 % boljšo kaljivost od kontrolne skupine, vendar ne moreva določiti, ali je to posledica izpostavitve preučevani snovi ali gre zgolj za odstopanje zaradi narave poskusa).

Uvod

Dandanes detergenti predstavljajo enega izmed najpomembnejših čistilnih izdelkov in jih tipično uporabljamo v pralni industriji, kot aditive gorivom, za sintezo bioloških molekul, kot izdelke za osebno nego in gospodinjska čistila. Opravljene okoljevarstvene študije so poudarile negativni vpliv detergentov na okolje na račun njihove akumulacije v organizmih, odpornosti na biorazgradnjo in višjo vsebnost trdnih snovi v primerjavi z drugimi čistilnimi sredstvi (Giagnorio s sod. 2017).

Prvotna naravna mila so vsebovala okolju prijazne sestavine za čiščenje, vendar so se zaradi javnega zdravja in industrijskega razvoja čistilna sredstva tako kvalitativno kot tudi kvantitativno skozi leta uporabe izboljšala. Težava sedimentacije splošno uporabljenih mil v trdi vodi je vodila do razvoja sintetičnih organskih kemikalij, katere imajo podobne strukturne karakteristike kot naravna mila, a drugačne kemijske značilnosti (možnost penjenja). Glavna sestavina in vloga čiščenja v detergentih je surfaktant, poleg njega pa so v detergentu še prisotna belila, sredstvo za penjenje, stabilizator, parfumi, encimi in barvila (povzeto po Mousavi in Khodadoost, 2019).

Surfaktante v vodnih čistilnih napravah odstranimo z visoko učinkovitostjo (95 – 99 %), ostanek detergenta pa neposredno ali posredno privzame vodno okolje. Skrb za zaščito vodnega okolja (morskih in sladkovodnih voda) se iz leta v leto povečuje zaradi problemov povezanih s kopičenjem nevarnih substanc do zelo toksičnih koncentracij, ki povzročajo nepredvidljive in dolgotrajne (potencialno nepovratne) posledice. Poleg različnih vplivov na naravni ekosistem, kot so eutrofikacija, zmanjšanje količine dostopnega kisika in prepustnosti za svetlobo v vodi, detergenti vplivajo tudi na kakovostne lastnosti svežih voda, saj spreminjajo njeno pH vrednost in slanost. Najpomembnejša okoljska vprašanja v zvezi s surfaktanti so možnost tveganja neposredne toksičnosti, biorazgradnja, bioakumulacija in biomagnifikacija. Voda, onesnažena s fosfati in surfaktanti, je toksična tako za ljudi kot za vodne organizme (Jackson s sod. 2015, povzeto po Mousavi in Khodadoost, 2019).

Cilj naloge:

Raziskati vpliv različno koncentriranih raztopin detergenta za strojno pomivanje posode na kaljenje semen kumare in na rast skaljenih rastlin.

Hipoteze:

- Najvišji odstotek kaljivosti bodo imela semena kumare v kalilniku z vodovodno vodo (kontrola).
- Najnižji odstotek kaljivosti bodo imela semena kumare vzorca A.
- Najdaljše korenine rastlin kumare pričakujemo v kalilniku kontrole.
- Najdaljše poganjke rastlin kumare pričakujemo v kalilniku kontrole.
- Najkrajše korenine rastlin kumare pričakujemo v kalilniku vzorca A.
- Najkrajše poganjke rastlin kumare pričakujemo v kalilniku vzorca A.
- Semena v kalilniku vzorca A ne bodo razvila kličnih listov.

Metode in materiali

Kalitev semen kumare vrste *Cucumis sativus L.* iz Semenarne Ljubljana smo opravili v doma narejenih kalilnikih. Za eksperiment smo uporabili tablete Finish Powerball All In One za strojno pomivanje posode znamke Finish. Pripravili smo 4 različne koncentracije (Tabela 1). Kot kontrolo smo uporabili vodovodno vodo. Najbolj koncentrirana raztopina je vsebovala 10 g razdrobljene tablete v 0,5 L vode.

Tabela 5: Oznake vzorcev z redčitvenim faktorjem in končno koncentracijo detergenta v raztopini

Oznaka vzorca	Redčitveni faktor	Koncentracija detergenta v raztopini [g/L]
KONTROLA	/	0
A	0	20
B	0,1	2
C	0,01	0,2
D	0,001	0,02

Za preprečitev prevelikega izhlapevanja vode v kalilnikih smo karton dolžine 50 cm in širine 20 cm položili na aluminijasto folijo in ga dobro omočili z raztopinami detergenta oziroma vode. Nato smo 2 cm od zgornjega roba kartona položili 24 ali 23 semen z medsebojnim razmikom 2 cm. Semena smo utrdili s papirnatimi brisačkami, katere smo prav tako zmočili, in nastalo podlago zvili v podolgovati valj. Kalilnike smo nato postavili v steklene oz. plastične kozarce z redčitvami detergenta oziroma vodo in jih hranili na okenski polici pri sobni temperaturi (19 °C – 22 °C). Semena so bila na zgornjem delu kalilnika in ne v neposrednem stiku z vodo. Kaljenje semen je trajalo 10 dni, dan postavitve kalilnika štejemo kot ničti dan. Ves čas smo skrbeli za zadostno količino raztopin v kozarcih in tako preprečili morebitno izsušitev kalilnika.

Rezultati

V nadaljevanju poročila so predstavljeni rezultati Anjinega poskusa, ker sta bili obe paralelni izvedbi (Miha) neuspešni (tako prva izvedba, kot ponovitev poskusa). Po 10 dnevih je bila

kaljivost semen v vseh vzorcih zelo slaba (kalilo je manj kot 9 semen od 23 na vzorec), hkrati pa se je na kartonu pojavila plesen (slika 1). Za tako slabe rezultate kalitve predvidevamo naslednje možne vzroke:

- Slaba kakovost semen (podobno se je dogajalo pri drugih študentih, ki so poročali o težavah s kalivostjo tudi drugih rastlin npr. fižol) in predhodna okuženost semen s plesnijo (bodisi na polju, bodisi v skladiščenju oz. postopku pakiranja)
- Prenizka temperatura in temperaturna nihanja (v starejših hišah je običajno temperatura nižja in je hkrati kljub kurjenju ob določenih dnevih težko vzdrževati stalno temperaturo)
- Slaba kvaliteta vode (na kraških tleh v sušnem obdobju vodostaj podtalnice močno pade, kar lahko povzroči močno kalnost vode, hkrati pa močni spomladanski nalivi hitro spirajo v podtalnico vsa gnojila, insekticide in ostale odplake. To je pogosto razlog za slabšo kvaliteto vode, hkrati pa je zaradi uporabe zemljišč v lastne namene, in ne industrijske, nadzor nad količino in vrsto gnojil in pesticidov zelo slab/pomanjkljiv; pogost pojav je tudi izlivanje greznice po poljih, kar še dodatno poslabša kvaliteto pitne vode).



Slika 25: Pojav plesni na kartonu (Miha).



Slika 26: Semena kumare *Cucumis sativus* L. v vodovodni vodi (kontrola) po 10 dneh (Anja).



Slika 27: Semena kumare *Cucumis sativus* L. v raztopini A po 10 dneh (Anja).



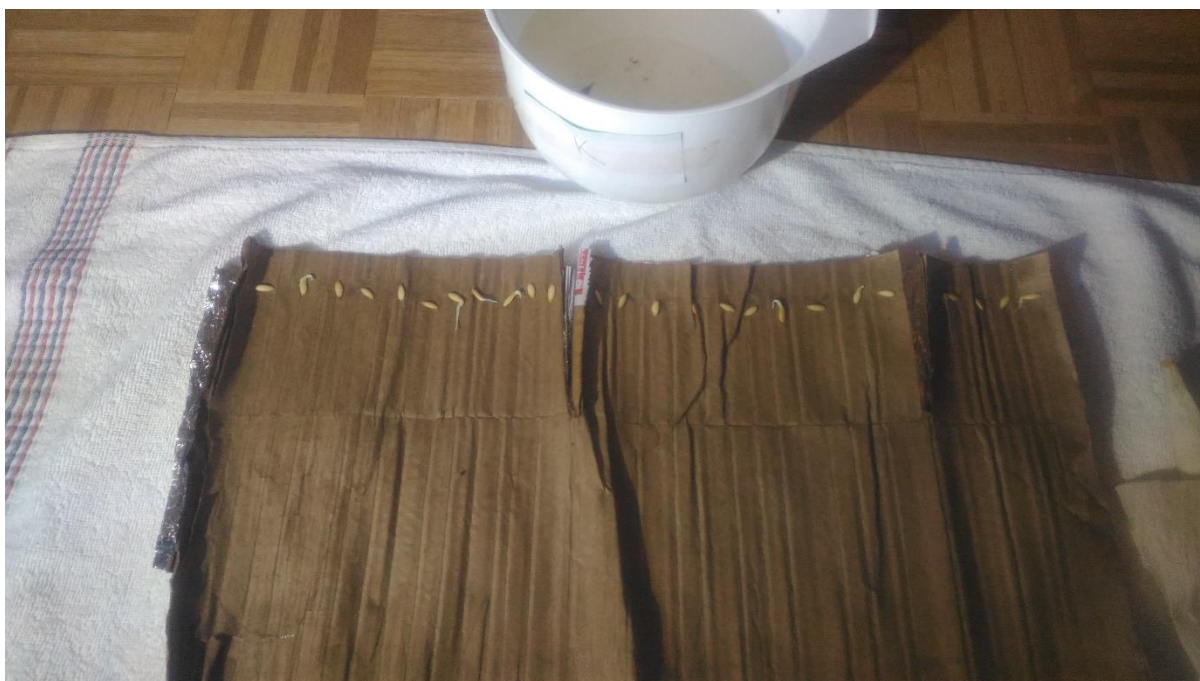
Slika 28: Semena kumare *Cucumis sativus* L. v raztopini B po 10 dneh (Anja).



Slika 29: Semena kumare *Cucumis sativus* L. v raztopini C po 10 dneh (Anja).



Slika 30: Semena kumare *Cucumis sativus* L. v raztopini D po 10 dneh (Anja).



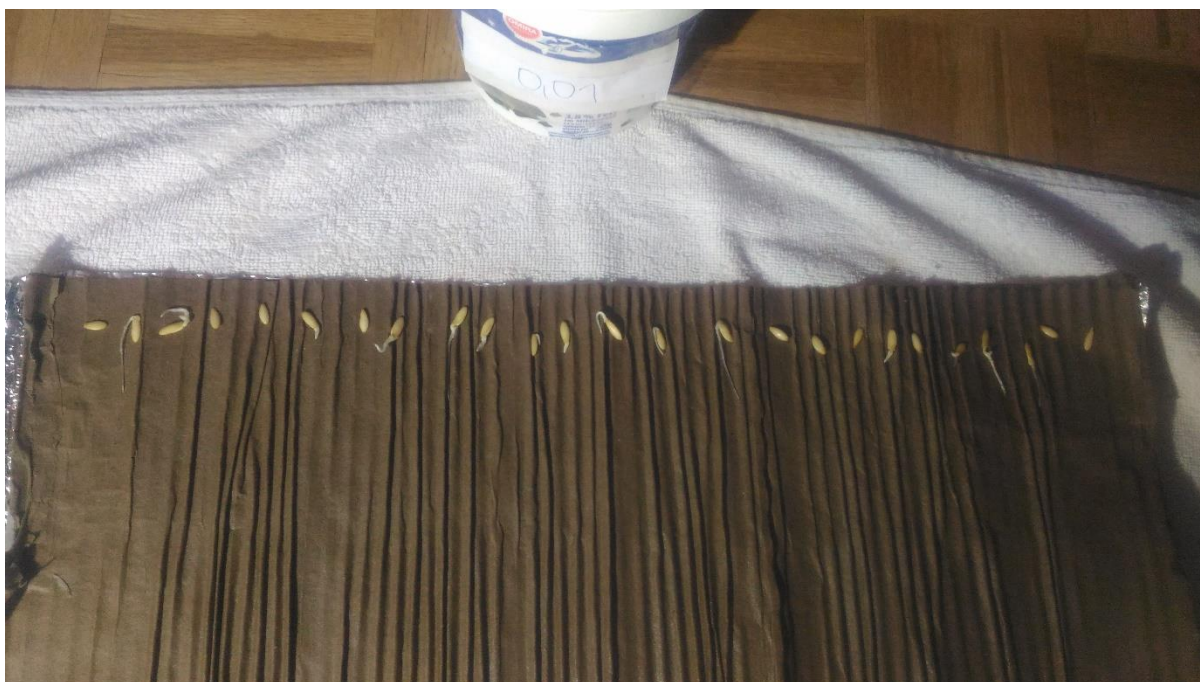
Slika 31: Semena kumare *Cucumis sativus* L. v vodovodni vodi (kontrola) po 10 dneh (Miha).



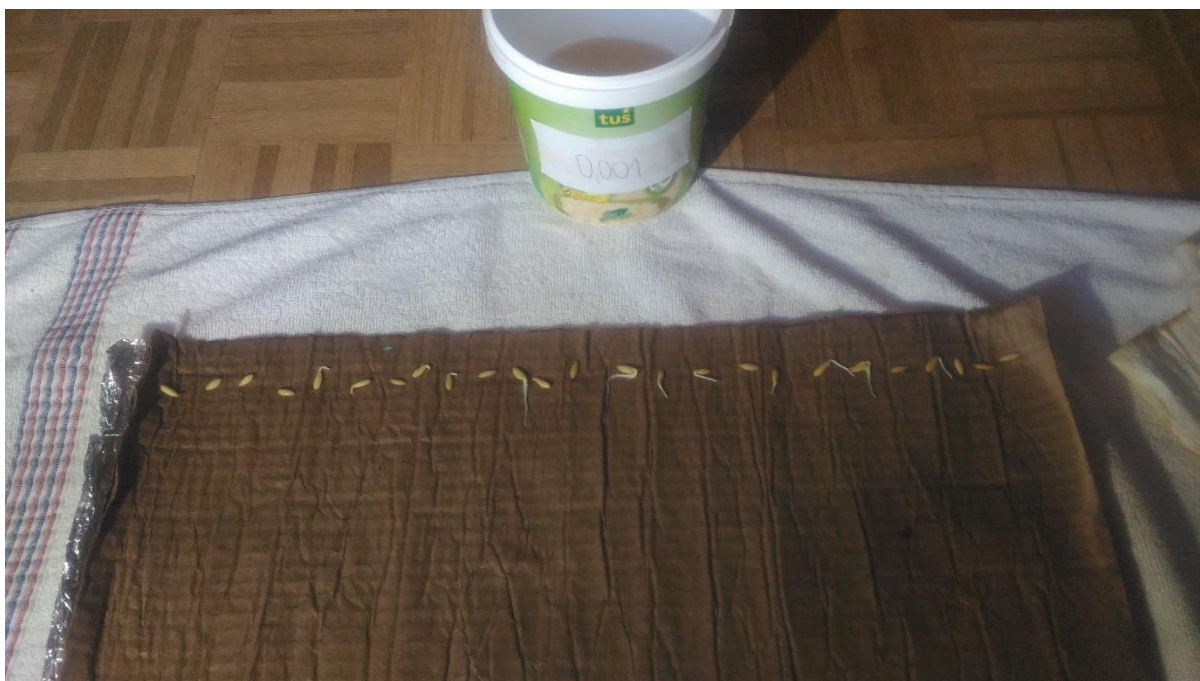
Slika 32: Semena kumare *Cucumis sativus* L. v raztopini A po 10 dneh (Miha).



Slika 33: Semena kumare *Cucumis sativus* L. v raztopini B po 10 dneh (Miha).



Slika 34: Semena kumare *Cucumis sativus* L. v raztopini C po 10 dneh (Miha).



Slika 35: Semena kumare *Cucumis sativus* L. v raztopini D po 10 dneh (Miha).

Kaljivost semen

Po 10 dneh izpostavitve določeni koncentraciji detergenta za strojno pomivanje posode smo prešteli odstotek semen, ki so vzknila. Seme se je štelo kot vzknilo, če smo opazili poganjek, korenino ali poganjek in korenino. Semena, ki niso imela razvitega ne poganjka, ne korenine, smo šteli kot nevzklita (tabela 2 in slika 2 – 6).

Tabela 6: Odstotek kaljivosti semen *kumare Cucumis sativus L.* po 10 dnevih izpostavitve različnim koncentracijam detergenta za strojno pomivanje posode (100% predstavlja 23 semen).

Vzorec	Kaljivost [%]
KONTROLA	91,7
A	91,7
B	95,8
C	95,8
D	95,8

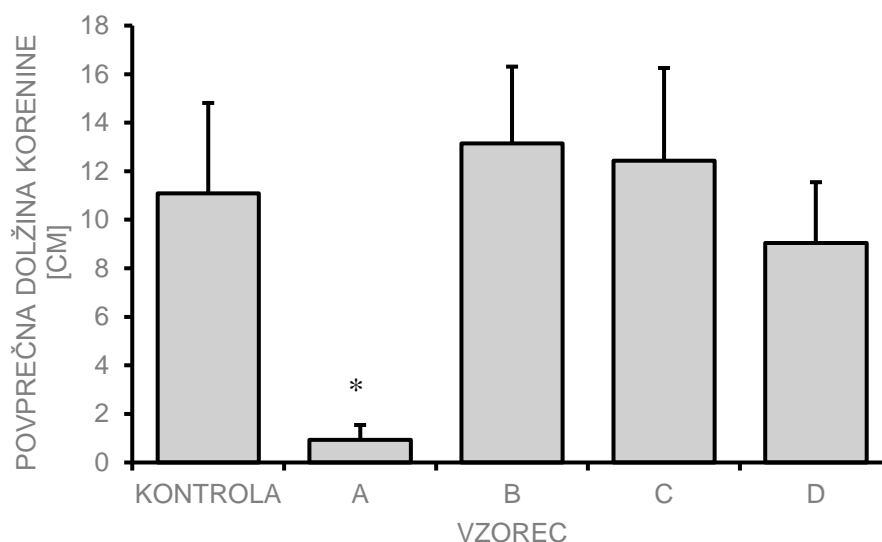
Po tabeli 2 vidimo, da je večina uporabljenih semen vzknila, najvišji odstotek kaljivosti pa so imeli vzorci B (slika 4), C (slika 5) in D (slika 6) in sicer 95,8 %. Že ob 2. dnevu so bile opazne spremembe v klitju in sicer pri vzorcu A (slika 3) so bili zametki korenin najmanjši v primerjavi s skaljenimi semeni v ostalih raztopinah. Prve stranske korenine so se pojavile 4. dan, najbolj opazne so bile pri vzorcu B (slika 4) in stranskih korenin ni bilo možno opaziti pri vzorcu A (slika 3). Klični listi in stebila so se razvila na 5. dan, največ kličnih listov je bilo pri vzorcu C (slika 5), nobenega kličnega lista pa pri vzorcu A (slika 3).

Dolžina poganjkov in korenin ter število stranskih korenin

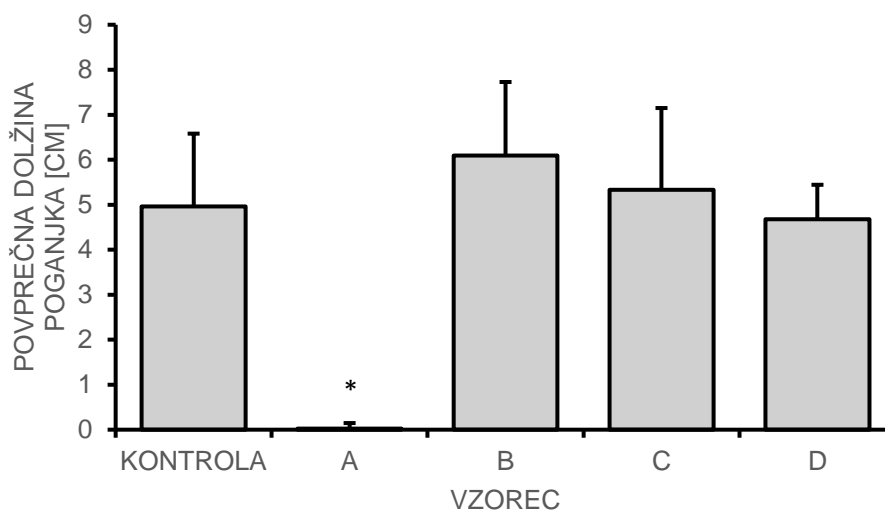
Po končani 10 dnevni izpostavitvi je bila opravljena meritev dolžin korenin, poganjkov in preštelo stranske korenine. Upoštevala so se semena, pri katerih je bil prisoten poganjek, korenina ali poganjek in korenina. Semena, ki niso razvila ne poganjka, ne korenine, se niso upoštevala pri izračunu nadaljnjih vrednosti (slika 2 – 6).

Iz slike 12 in 13 vidimo, da je v povprečju imel vzorec B najdaljše korenine (13,14 cm) in prav tako najdaljšo dolžino poganjka (6,10 cm) (Slika 4). Sledil je vzorec C (slika 5), kontrola (slika 2) in vzorec D (slika 6). Najkrajše korenine je imel vzorec B (1,07 cm) (slika 4), prav tako tudi najkrajše steblo (0,6 cm) in ob koncu poskusa te rastline niso razvile kličnih listov. Najvišje

število razvitih stranskih korenin je imel vzorec D (Slika 6), sledil je vzorec C (slika 5), kontrola (slika 2) in vzorec B (slika 4). Zopet pri najbolj koncentriranemu vzorcu ni bilo opaziti rasti stranskih korenin (Slika 3). Po subjektivni oceni so bile korenine rastlin v vzorcih C in D (sliki 5 in 6) večje in gostejše v primerjavi s kontrolo in vzorcem A (slika 3). Kakor zapisano zgoraj, je bilo najmanj prisotnih stranskih korenin pri vzorcu B (slika 4 in tabela 3) in le-te so bile tudi najkrajše in najredkejše.



Slika 36: Povprečna dolžina korenin *kumare Cucumis sativus L.* po 10 dnevih izpostavitve različnim koncentracijam detergenta za strojno pomivanje posode s standardnimi odkloni. Oznaka z * označuje statistično značilno razliko Holm-Sidak post hoc testa pri $p < 0,05$ (glede na kontrolo).



Slika 37: Povprečna dolžina poganjkov *kumare Cucumis sativus L.* po 10 dnevih izpostavitve različnim koncentracijam detergenta za strojno pomivanje posode s standardnimi odkloni. Oznaka z * označuje statistično značilno razliko Holm-Sidak post hoc testa pri $p < 0,05$ (glede na kontrolo).

Ne glede na razlike v izračunanih povprečjih, se je od kontrolne skupine (in hkrati od ostalih vzorcev) edini statistično razlikoval vzorec A, in sicer je povprečna dolžina korenine v primerjavi s kontrolno skupino manjša za 11,1 cm oz. 91,5%, povprečna dolžina poganjka v primerjavi s kontrolno skupino pa manjša za 5,4 cm oz. 99,5%. Ostale dolžine korenin in poganjkov se od kontrolne skupine niso statistično značilno razlikovale.

Tabela 7: Povprečno število stranskih korenin kumare *Cucumis sativus L.* po 10 dneh izpostavitve različnim koncentracijam detergenta za strojno pomivanje posode.

Vzorec	Povprečno število stranskih korenin
KONTROLA	17,23
A	0,00
B	10,74
C	17,30
D	17,48

Diskusija

S pridobljenimi rezultati lahko komentiramo na začetku postavljene hipoteze:

- Najvišji odstotek kaljivosti bodo imela semena kumare v kalilniku z vodovodno vodo (kontrola) – **zavržemo** hipotezo; kaljivost semen kontrolne skupine je bila, skupaj z vzorcem A, celo najmanjša, vendar ne moremo trditi, da je razlog izpostavitve detergentu za strojno pomivanje posode.
- Najnižji odstotek kaljivosti bodo imela semena kumare v kalilniku z raztopino A – **zavržemo** hipotezo; enako kot pri prejšnji alineji se je izkazalo ravno obratno, vendar zaradi majhne razlike (4,1 %) ne moremo trditi, da je razlika v kaljivosti posledica izpostavitve preučevani snovi.
- Najdaljše korenine rastlin kumare pričakujemo v kalilniku kontrole – **zavržemo** hipotezo; povprečna dolžina korenin kontrolne skupine se ne razlikuje statistično značilno od ostalih vzorcev, razen od A.
- Najdaljše poganjke rastlin kumare pričakujemo v kalilniku kontrole – **zavržemo** hipotezo; povprečna dolžina poganjkov kontrolne skupine se ne razlikuje statistično značilno od ostalih vzorcev, razen od A.

- Najkrajše korenine rastlin kumare pričakujemo v kalilniku z raztopino A – **potrdimo** hipotezo; zaradi zelo slabega razvoja korenin pri vzorcu A lahko trdimo, da izpostavitve semen kumare *Cucumis sativus* L. tabletki za strojno pomivanje posode v koncentraciji 20 g/L negativno vpliva na dolžino korenin rastline.
- Najkrajše poganjke rastlin kumare pričakujemo v kalilniku z raztopino A - **potrdimo** hipotezo; podobno kot pri prejšnji alineji lahko trdimo, da izpostavitve semen kumare *Cucumis sativus* L. tabletki za strojno pomivanje posode v koncentraciji 20 g/L negativno vpliva na dolžino poganjkov rastline.
- Semena v kalilniku z raztopino A ne bodo razvila kličnih listov – **potrdimo** hipotezo; kot je vidno na sliki 3, rastline pri vzorcu A niso razvile kličnih listov in lahko trdimo, da izpostavitve semen kumare *Cucumis sativus* L. tabletki za strojno pomivanje posode v koncentraciji 20 g/L negativno vpliva na razvoj kličnih listov rastline.

Glede na zgoraj zapisane karakteristike detergentov lahko zaključimo, da imajo le-ti škodljiv učinek na rastline. Poleg vpliva na kopenske rastline, imajo detergenti tudi negativen učinek na vodne rastline. V raziskavi z rastlinama *Azolla pinnata* in *Hydrilla verticillata*, ki so ju tretirali s tremi detergenti različnih koncentracij, so opazili pri najvišjih koncentracijah slabšo rast in rjavo obarvane liste. Pri nižjih koncentracijah detergenta pa je bila dolžina rastline, število listov in biomasa višja v primerjavi s kontrolo (povzeto po Mousavi in Khodadoost, 2019).

Slabo očiščena ali onesnažena voda prav tako vstopa v ekosisteme in ima negativne vplive na rastline. Visoka koncentracija soli in surfaktantov lahko vodi do postopnega uničenja strukture tal in ima negativni doprinos na zdravje rastlin in njihovo kalitev. Z vstopom detergentov v zemljo se pH vrednost le-te poviša ali zniža odvisno od sestave detergenta. Primerna pH vrednost tal za rastline je v območju od 5 do 9, a naraščanje in upadanje teh vrednosti lahko spremeni biološko aktivnost tal in povzroči spiranje organskih snovi. Primanjkovalje organskih sestavin pa skozi daljše obdobje povzroči slabšo rast rastlin. Prav tako se z naraščanjem vsebnosti detergentov v tleh povečuje električna prevodnost tal in ta lahko vodi do zmanjšane sposobnosti shranjevanja vode v tleh. V študiji z rastlinskima vrstama *Abelmoschus esculentus* in *Lactuca sativa* so preučevali vpliv detergentov na njuno rast in parametre tal kot so električna prevodnost, pH vrednost in količino topnih soli. Rezultati so pokazali pozitivno korelacijo med koncentracijo detergenta in težo suhe biomase poganjkov in korenin ter spremembe v lastnostih tal (povzeto po Mousavi in Khodadoost, 2019).

Jovanic in sod. (2010) so opravili raziskavo z namenom analize vpliva detergenta kot onesnažila na fotosintezno aktivnost in vsebnost klorofila v listih fižola. Rastline so vsakodnevno zalivali z raztopino pralnega detergenta in opazili obratnosorazmerno razmerje med dnevi zalivanja in fotosintezno aktivnostjo in sicer z naraščajočimi dnevi zalivanja je prišlo do eksponentnega upadanja fotosintezne aktivnosti. Sprememba koncentracije klorofila pa je naraščala ne linearno v listih rastline.

Z zgoraj navedenimi študijami o vplivu detergenta na rast rastlin se lahko tudi sama strinjava z nekaj ključnimi spoznanji oziroma dejstvi. Z naraščajočo koncentracijo detergenta se povečuje delež škodljivih sestavin kot so surfaktanti in različna belila, ki pa imajo zaviralni učinek na kalitev in rast rastlin. Za boljšo in natančnejšo preučitev vpliva detergenta bi bilo potrebno podaljšati čas poskusa vsaj do razvoja pravih listov, ki vršijo fotosintezo, in uporabiti več različnih detergentov. Poleg trenutno opravljenih analiz bi dodala še nekatere druge metode za spremljanje fotosintezne aktivnosti listov, meritve koncentracije klorofila in oceno morfološke značilnosti rastline (npr. barva in oblika listov, cvetov).

Literatura

- Giagnorio, M., Amelio, A., Grüttner, H., & Tiraferri, A. (2017). Environmental impacts of detergents and benefits of their recovery in the laundering industry. *Journal of Cleaner Production*, 154, 593–601. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.04.012>
- Jackson, M., Eadsforth, C., Schowanek, D., Delfosse, T., Riddle, A., & Budgen, N. (2016). Comprehensive review of several surfactants in marine environments: Fate and ecotoxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35(5), 1077–1086. <https://doi.org/10.1002/etc.3297>
- Jovanic, B. R., Bojovic, S., Panic, B., Radenkovic, B., & Despotovic, M. (2010). The effect of detergent as polluting agent on the photosynthetic activity and chlorophyll content in bean leaves. *Health*, 02(05), 395–399. <https://doi.org/10.4236/health.2010.25059>
- Mousavi, S. A., & Khodadoost, F. (2019). Effects of detergents on natural ecosystems and wastewater treatment processes: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(26), 26439–26448. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05802-x>

Priloge/slike



Slika 38: Zaključek 10 – dnevne kalitve semen kumare *Cucumis sativus* L. (Anja)



Slika 39: Zaključek 10 – dnevne kalitve semen kumare *Cucumis sativus* L. (Miha). Ruleta je zagrnjena da je bilo možno slikanje.

Tabela 8: Rezultat t-testa izvedenega v MS excel s pomočjo XL Toolbox NG vtičnika za vzorce kontrole in A kumare *Cucumis sativus L.* za povprečno dolžino korenin po 10 dnevni izpostavitvi detergentu za strojno pomivanje posode.

t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances		
	KONTROLA	A
Mean	12,09545455	1,022727
Variance	2,428073593	0,311364
Observations	22	22
Pooled Variance	1,369718615	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	42	
t Stat	31,3787231	
P(T<=t) one-tail	4,40498E-31	
t Critical one-tail	1,681952357	
P(T<=t) two-tail	8,80996E-31	
t Critical two-tail	2,018081703	

Tabela 9: Rezultat t-testa izvedenega v MS excel s pomočjo XL Toolbox NG vtičnika za vzorce kontrole in A kumare *Cucumis sativus L.* za povprečno dolžino poganjkov po 10 dnevni izpostavitvi detergentu za strojno pomivanje posode.

t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances		
	KONTROLA	A
Mean	5,409090909	0,027272727
Variance	0,324675325	0,016363636
Observations	22	22
Pooled Variance	0,170519481	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	42	
t Stat	43,22533459	
P(T<=t) one-tail	9,45779E-37	
t Critical one-tail	1,681952357	
P(T<=t) two-tail	1,89156E-36	
t Critical two-tail	2,018081703	

VPLIV TEKOČEGA MILA »Ombia« NA KALJIVOST SEMEN TER RAST POGANJKOV IN KORENIN VRTNE KREŠE

Avtorja: Katja Jamnik in Manca Furlan

Izvleček

Namen poskusa je bil ugotoviti, kako tekoče milo vpliva na kaljivost semen vrtno kreše. Pripravili sva preproste kalilnike iz kartona in raztopine tekočega mila z različnimi koncentracijami (0.001, 0.01, 0,1) in kontrolo (voda) ter v pripravljene raztopine postavili kalilnike. Spremljali sva rast rastlin in po trinajstih dneh zaključili poskus, tako da sva odprli kalilnike in z ravnilom izmerili dolžino poganjkov in korenin ter izračunali kaljivost semen. Višje koncentracije mila (0,01 in 0,1) so negativno vplivale na kaljivost semen in tudi na rast poganjkov in korenin.

Uvod

V današnjem času se tudi iz gospodinjstev v okolje vnašajo številne kemikalije, ki jih lahko najdemo v čistilih, milih, šamponih. Te snovi lahko v povišanih koncentracijah vplivajo na številne žive organizme v naravi. Tako šamponi kot tudi tekoča mila so pogosto narejeni kot mešanica surfaktantov, na primer SLS (sodium lauryl sulfate) ali SLES (sodium laureth sulfate), ko-surfaktantov in vode, da tvorijo gosto, viskozno tekočino. Dodane so tudi nekatere druge snovi kot so soli in parfumi (Naeem et al. 2015). Različni detergenti imajo pogosto negativen vpliv na rast in razvoj rastlin, zavrejo lahko rast, spremenijo lastnosti celičnih membran, vplivajo na metabolno aktivnost in sintezo klorofila (Jogerson, 1979).

V poskusu, ki sva ga naredili, sva želeli preveriti, kako različne koncentracije mila vplivajo na kaljivost semen vrtno kreše ter na rast korenin in poganjkov. Postavili sva hipotezo, da bodo višje koncentracije mila negativno vplivale na kaljivost, rast korenin in poganjkov vrtno kreše.

Metode in materiali

Metode

Uporabili sva bio semena kreše dveh različnih dobaviteljev, Kiepenkerl in Valentin. Najprej sva pripravili raztopine, da bi lahko spremljali njihov vpliv na kaljivost. Odločili sva se, da preizkusiva vpliv tekočega mila za roke. Izbrali sva Hoferjevo milo podjetja Ombia. Milo vsebuje natrijev lauret sulfat (penjenje), kokamidopropil betain (penjenje), natrijev klorid (sol), glicerin (veže vodo), PEG 7 gliceril kokoat (penjenje, surfaktant), parfum, citronsko kislino, tetranatrijev EDTA, natrijev hidroksid, natrijev benzoat, kalijev sorbat, linalol, benzil salicilat in dve barvili, CI 42090 in CI 17200. Pripravili sva kontrolo (vodo) in 3 različno redčene raztopine mila, 0,1; 0,01 in 0,001. Poskus sva izvajali s pomočjo kalilnika, ki sva ga pripravili tako, da sva na karton, podložen s folijo, nanесли semena in jih prekrili s papirnato brisačko. Karton sva navlažili z ž prej pripravljenimi raztopinami, nato pa sva navlažili še papirnate brisačke, da sva učvrstili seme. Nato sva karton zavili in ovili z elastiko. Semena sva postavili približno 2 cm narazen na vrhu 2 cm od roba namočenega kartona. Kartone sva omočili s 4 različnimi tekočinami: kontrolo z vodo ter ostale s 0,1, 0,01 in 0,01 raztopino tekočega mila. Ob koncu poskusa sva kalilnike vzeli iz raztopin, jih razvili in z ravnilom izmerili dolžine poganjkov in korenin. Kalilnik sva naredili dne 29. 4. 2020. Poskus sva končali 11. 5. 2020.

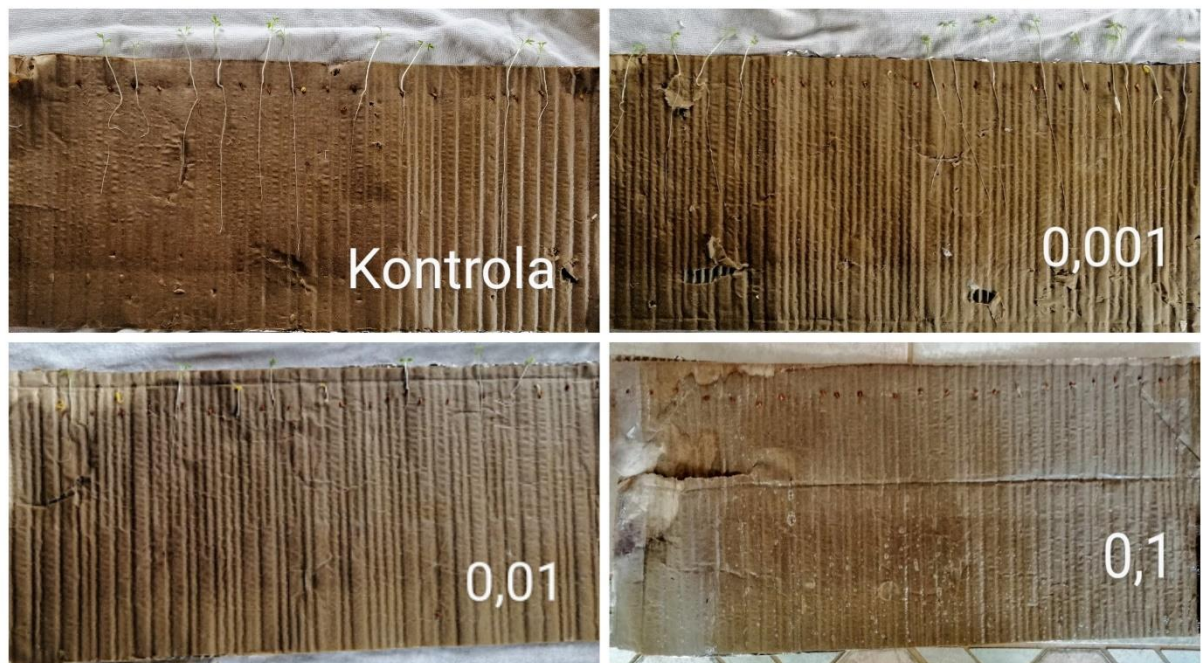
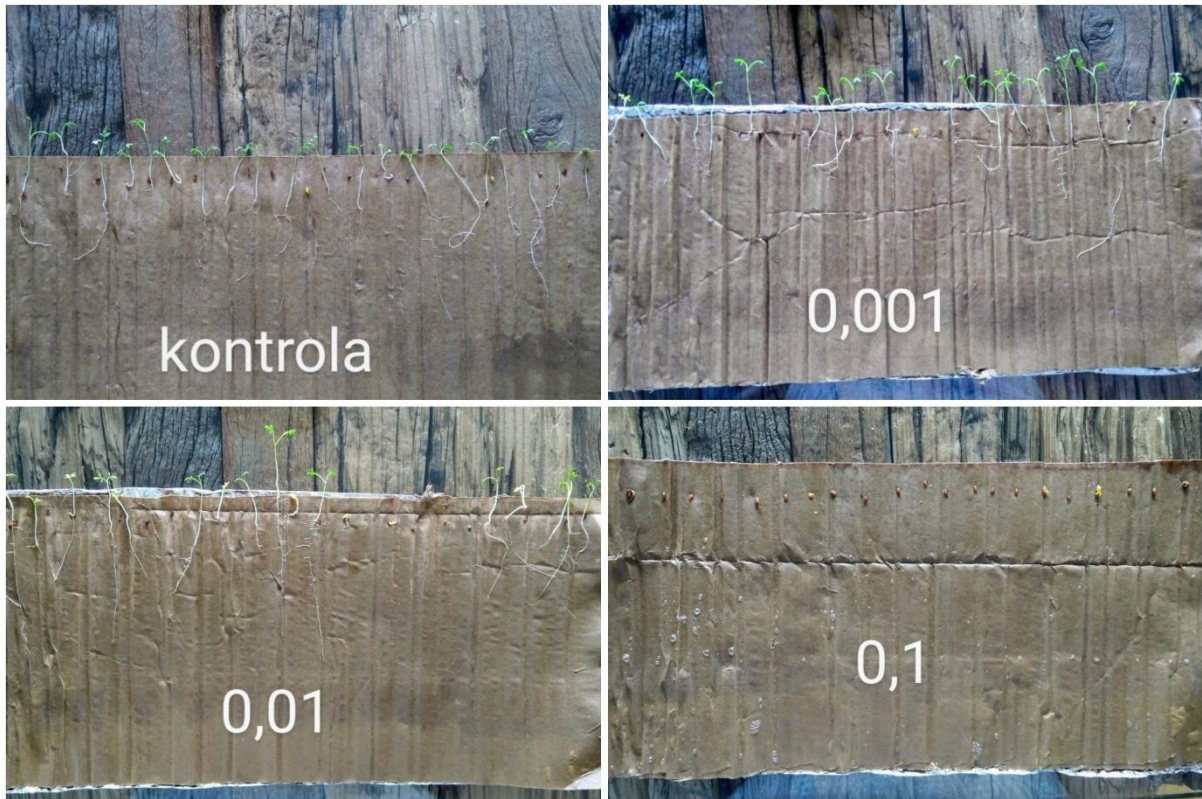
Statistično analizo sva izvedli v programu Excel s pomočjo dodatka XL Toolbox. S funkcijo ANOVA sva izvedli analizo variance in posthoc teste, s katerimi sva preverili, med katerimi skupinami podatkov obstajajo statistično pomembne razlike. Uporabili sva Holm-Šidak posthoc test.

Materiali

Za poskus sva potrebovali semena kreše (slika 1B), tekoče milo Ombia (slika 1C), karton (slika 1A), aluminijasto folijo, steklene kozarce, papirnate brisačke, kuhinjsko tehtnico, žlico in elastike.



Slika 1: Fotografije materialov, A- omočen karton s semeni, B- paket semen kreše, C- sestavine tekočega mila Ombia, D- kalilnik (Manca Furlan), E- kalilnik (Katja Jamnik)



Slika 2: Fotografije zaključnega poskusa, zgoraj odvit kalilnik Mance Furlan, spodaj kalilnik Katje Jamnik

Rezultati

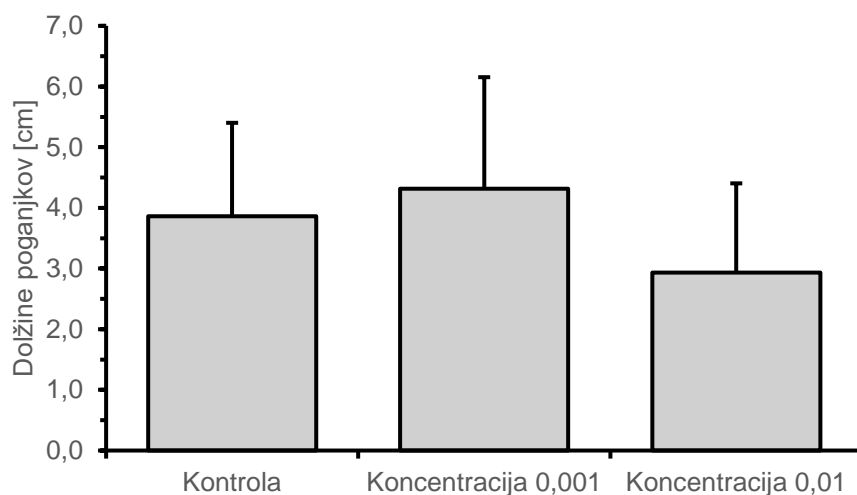
Meritve dolžin poganjkov in korenin ter določanje kaljivosti

Podatki o meritvah dolžin poganjkov in korenin ter podatki o kaljivosti semen pri različnih raztopinah so navedeni v prilogi.

Statistična analiza združenih podatkov - ANOVA

Dolžine poganjkov

Povprečno so imele najdaljše poganjke rastline, ki so rastle v raztopini koncentracije 0,001, vendar je bil najvišji tudi standardni odklon izmerjenih višin. Povprečno najmanj pa so zrastle rastline v raztopini koncentracije 0,01, standardni odklon izmerjenih višin pa je bil pri tej koncentraciji najmanjši (Slika 3).

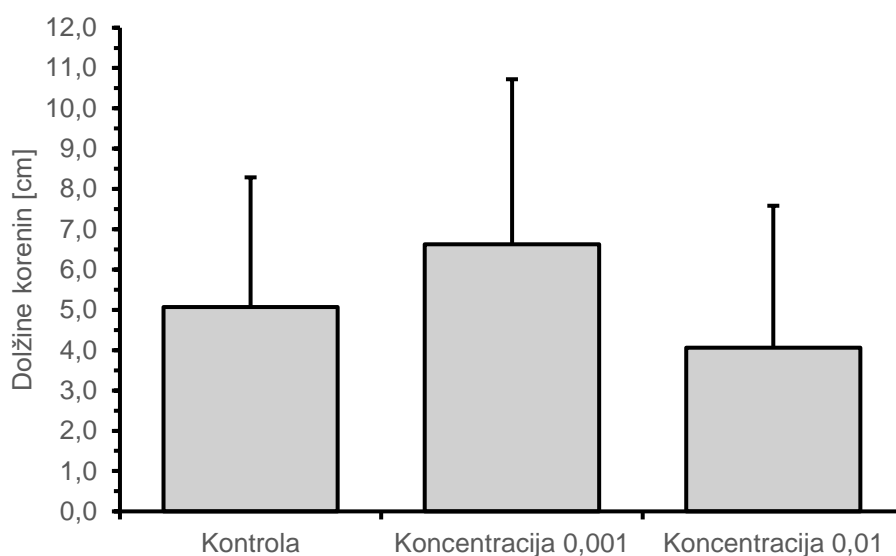


Slika 3: Prikaz povprečnih dolžin in standardnih odklonov dolžin poganjkov (kontrola: n=38, Koncentracija 0,001: n=37, Koncentracija 0,01: n=32)

Rezultati testa enakosti varianc kažejo, da variance med skupinami niso velike, zato lahko predpostavimo enakost varianc ($p > 0,05$). Analiza variance je pokazala, da med populacijskimi aritmetičnimi sredinami obstaja razlika in da je varianca med skupinami je večja od variance znotraj skupine ($F > 1$). Rezultati posthoc testa nakazujejo, da so statistično najpomembnejše razlike med raztopino koncentracije 0,01 in raztopino koncentracije 0,001 ter med kontrolo in raztopino koncentracije 0,01. Rezultati teh primerjav so statistično značilni, rezultat primerjave med kontrolo in raztopino koncentracije 0,001 pa ni statistično značilen.

Dolžine korenin

Povprečno so imele najdaljše korenine rastline, ki so rastle v raztopini koncentracije 0,001, vendar je bil najvišji tudi standardni odklon izmerjenih višin. Povprečno najmanj pa so zrastle korenine v raztopini koncentracije 0,01, standardni odklon izmerjenih višin pa je bil najmanjši pri kontroli (Slika 4).



Slika 4: Prikaz povprečnih dolžin in standardnih odklonov dolžin korenin (kontrola: n=38, Koncentracija 0,001: n=37, Koncentracija 0,01: n=32)

Rezultati testa enakosti varianc kažejo, da variance med skupinami niso velike, zato lahko predpostavimo enakost varianc ($p > 0,05$). Analiza variance je pokazala, da med populacijskimi aritmetičnimi sredinami obstaja razlika in da je varianca med skupinami je večja od variance znotraj skupine ($F > 1$). Rezultati posthoc testa nakazujejo, da so statistično najpomembnejše razlike med raztopino koncentracije 0,01 in raztopino koncentracije 0,001, rezultat primerjave med slednjima raztopinama je statistično značilen, rezultati ostalih primerjav med skupinami pa niso statistično značilni.

Primerjava poskusov

Vsaka je izvedla svoj poskus in na koncu sva primerjali rezultate. V obeh poskusih je bil viden negativen vpliv višjih koncentracij mila na kaljivost semen in na rast poganjkov. Pri koreninah je bila pri poskusu 1 (Katja Jamnik) statistično značilna razlika med dolžino korenin pri

kontroli in raztopini 0,01, medtem ko so pri poskusu 2 (Manca Furlan) korenine v raztopini 0,01 v povprečju celo nekoliko daljše kot pri kontroli, vendar razlika ni statistično značilna. V obeh poskusih je bilo povprečje dolžine korenin največje pri koncentraciji 0,001, a v primerjavi s kontrolo razlike niso statistično značilne. Pri poskusu 1 je statistična analiza pokazala statistično značilne razlike med kontrolo in raztopino 0,01 tako v dolžini poganjkov kot tudi v dolžini korenin.

Opazili sva tudi, da so bila semena v poskusu 1 veliko slabše kaljiva kot pri drugem poskusu, v prvem poskusu je namreč kalilo 60 % semen, v poskusu 2 pa je kalilo 92 % semen.

Diskusija

Tekoče milo je vplivalo na kaljivost semen kreše. Semena so najboljše kalila v kontroli in v 0,001 raztopini. Pri višji koncentraciji, 0,01, je kalilo manj semen, rastline pa so povprečno imele tudi krajše poganjke in korenine. Pri najvišji koncentraciji, 0,1, je bila rast zavrta, šele po odpiranju kalilnika sva opazili, da je par rastlinic prodrlo semensko ovojnico, vendar niso uspele rasti.

Vecstaudza in sod. (2015) so ocenjevali toksičnost površinsko aktivnih snovi (detergentov) z različnimi metodami. Preverili so kaljivost in zgodnjo rast semen kreše. Ugotovili so, da je višina poganjkov vrtno kreše naraščala z zmanjševanjem koncentracije raztopine detergentov. Kaljivost semen v 0,2 % raztopini je bila primerljiva s kaljivostjo v kontroli, kar sovпада z rezultati, ki sva jih pridobili sami. V nasprotju z najinimi meritvami pa so raziskovalci poročali o mnogo manjši relativni višini poganjkov v 0,2 % raztopini površinsko aktivnih snovi kot v kontroli. Preizkusili so tudi 0,4 %, 0,6 % in 0,8 % raztopine in ugotovili, da je bila kaljivost semen v 0,4 % raztopini 53 %, v 0,6 % in 0,8 % raztopini pa je bila kaljivost zelo nizka. Relativna višina poganjkov v 0,2 % raztopini je bila med najvišja med raztopinami, ki so vsebovale detergent, vendar je znašala samo 28 ± 8 % kontrole. Minimalna inhibitorna koncentracija detergenta je bila za krešo in pšenico signifikantno višja kot za ostale preizkušene testne organizme, alge in bakterije.

V drugi raziskavi vpliva kemikalij v gospodinjstvu so spremljali vpliv tekočega mila na kaljivost in rast zelenega mungo fižola. V raztopini koncentracije 0,1 semena niso kalila, kar

so potrdili tudi najini rezultati. Pri koncentraciji 0,01 pa je bila v nasprotju z najinimi rezultati kaljivost 100 % (Surender, 2018).

Ehilen in sod. (2017) so preverjali vpliv detergentov na kaljivost in rast dveh rastlinskih vrst, *Amaranthus hybridus* in *Solanum lycopersicon*. Višje koncentracije detergentov v raztopini so negativno vplivale tako na kaljivost kot tudi na rast poganjkov pri obeh rastlinskih vrstah, vendar pa so bila semena *Amaranthus hybridus* na detergente bolj občutljiva kot semena rastline *Solanum lycopersicon*. Rezultati te raziskave se sicer skladajo z rezultati najinega poskusa, kjer so višje koncentracije prav tako negativno vplivale na kaljivost in rast poganjkov.

Številne predhodne raziskave so dokazale raznolik vpliv detergentov, kot so SDS ter gospodinjski sintetični detergentski, na razvoj rastlin. Vpliv detergentov na rastline se razlikuje glede na način izpostavitve rastline sredstvu. Lahko zavrejo rast rastlin, povzročijo izgubo metabolne aktivnosti, spremenijo biofizikalne lastnosti membran, zavrejo rast celic in blokirajo sintezo klorofila. Tekoče milo, ki sva ga uporabili, vsebuje natrijev sulfat. Prisotnost natrijevih sulfatov, dušika in njegovih oksidov ter fosfatov v detergentih vpliva na razvoj korenin, ker jim odvzamejo razpoložljivo vodo. Prav tako lahko prispevajo k slabšemu razvoju plodov in manjši kaljivosti (Jogerson, 1979).

Na dobro rast rastlin pri zelo nizki koncentraciji mila bi lahko vplivala sprememba površinske napetosti semen zaradi površinsko aktivnih snovi. V milu so površinsko aktivne snovi, ki znižujejo površinsko napetost ter stabilizirajo emulzijo in peno. Prisotnost hidrofilnih in hidrofobnih delov povzroči združevanje molekul na meji dveh faz, ki se ne mešata. Akumulacija površinsko aktivnih snovi na meji med trdno fazo (karton, papirnata brisačka, semenska ovojnica) in tekočo fazo zmanjšuje medfazno napetost in vpliv kapilarnih sil. Posledično bi lahko kalček lažje predril semensko ovojnico. Dodajanje površinsko aktivnih snovi lahko pozitivno vpliva na kaljivost in rast rastlin, saj imajo te proti glivne, proti bakterijske in proti virusne učinke (Krawczyńska in sod., 2012).

Literatura

- Agathokleous E., Kitao M., Calabrese E.J. 2019. Hormesis: A Compelling Platform for Sophisticated Plant Science. *Trends in Plant Science*, 24, 4: 318–327
- Ehilen, O E. , Obadoni, B.O., Imade, F.N., Eseigbe, D. and Mensah J.K. 2017. The Effect of Detergents on the Germination and Growth of *Amaranthus hybridus* L. and *Solanum lycopersicon* L. *Nigerian Annals of Natural Sciences*, 16, 1: 100–108
- Jogerson S. E. 1979. *Industrial wastewater management*, Elsevier Scientific Company, New York, pp 387.
- Krawczyńska M., Kołwzan B., Rybak J., Gediga K., Shcheglova N.S. 2012. The influence of biopreparation on seed germination and growth. *Polish Journal of Environmental Studies*, 21, 6: 1697–1702
- Naeem F., Ahmed F., Kanwal M., Murad W., Azizullah A. 2015. Phytotoxicity evaluation of some commonly used shampoos using *Brassica napus* L. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 19: 15164–15170
- Surender V. 2018. A study on the effects of cleaning agents (Household) on seed germination. *International journal of advanced research in science and engineering*, 6, 1:198-203
- Vecstaudza D., Klavins M., Muter O., Rutkis R. 2016. Toxicity Evaluation of Surface Cleaning Preparation Using Different Test Methods / Virsmu tīršanas līdzekļa toksiskuma novērtēšana, izmantojot dažādas testa metodes. *Materials Science and Applied Chemistry*, 32, 1. doi: 10.1515/msac-2015-0014

Priloge

Meritve dolžin poganjkov in korenin, kaljivost semen in rezultati statistične analize podatkov (Katja Jamnik)

Meritve dolžin poganjkov, korenin ter kaljivost semen

Kontrola - Kaljivost: 60,0 % (kalilo je 15 od 25 semen)

	Dolžina poganjka (cm)	Dolžina korenine (cm)
1	3,7	4,2
2	5	7,5
3	4,6	9
4	4,7	6
5	3,6	4,6
6	5,1	11,4
7	4,8	12,6
8	4,9	5,9
9	4,3	3,4
10	4,8	4,2
11	2,4	2,9
12	4,5	11,8
13	0,2	1,4
14	0,6	1,2
15	4,2	7,3
Povprečna dolžina	3,8	6,2

Tabela 1: Meritve dolžin poganjkov in korenin kontrole (Katja Jamnik)

Koncentracija 0,001 - Kaljivost: 65,2 % (kalilo je 15 od 23 semen)

	Dolžina poganjka (cm)	Dolžina korenine (cm)
1	4,8	4,4
2	3,8	9,1
3	5,3	8,7
4	3,2	7,2
5	5	7,4
6	5,4	9,1

	Dolžina poganjka (cm)	Dolžina korenine (cm)
7	5,4	10,1
8	5,1	11,2
9	3,8	5,6
10	5,2	12
11	4,7	12,3
12	2,9	3,4
13	5,1	7,4
14	0,5	1
15	0,3	0
Povprečna dolžina	4,0	7,3

Tabela 2: Meritve dolžin poganjkov in korenin raztopine koncentracije 0,001 (Katja Jamnik)

Koncentracija 0,01 - Kaljivost: 48,0 % (kalilo je 12 od 25 semen)

	Dolžina poganjka (cm)	Dolžina korenine (cm)
1	4,2	3,3
2	3,1	5,1
3	2,1	0,3
4	3,2	3,1
5	1,2	0,4
6	2,5	3
7	3,7	6,8
8	3,2	2,2
9	0,5	0,9
10	1,2	0
11	0,9	0
12	0,8	0,2
Povprečna dolžina	2,2	2,1

Tabela 3: Meritve dolžin poganjkov in korenin raztopine koncentracije 0,01 (Katja Jamnik)

Koncentracija 0,1 - Kaljivost: 43,5 % (pri 10 od 23 semen je kalček predril semensko ovojnico). Ni rasti poganjkov in korenin.

Statistična analiza

Dolžina poganjkov

	Število rastlin	Povprečje	SD	Povprečje glede na kontrolo
Kontrola	15	3,83	1,50	
0,001	15	4,03	1,62	105%
0,01	12	2,22	1,21	58%

Tabela 4: Statistična analiza dolžin poganjkov (Katja Jamnik)

Dolžina korenin

	Število rastlin	Povprečje	SD	Povprečje glede na kontrolo
Kontrola	15	6,2	3,5	100%
0,001	15	7,3	3,6	117%
0,01	12	2,1	2,1	34%

Tabela 5: Statistična analiza dolžin korenin (Katja Jamnik)

Meritve dolžin poganjkov in korenin, kaljivost semen in rezultati statistične analize podatkov (Manca Furlan)

Kontrola Kaljivost: 92,0 % (kalilo je 23 od 25 semen)

	Dolžina poganjka (cm)	Dolžina korenine (cm)
1	3	8
2	5,6	6
3	5	4,5
4	5,7	5,8
5	3,2	1,5
6	4,7	3,6
7	3,4	2
8	5,2	6
9	4	3,1
10	4,5	6
11	5,5	6,8
12	0,5	0,5
13	4,3	2,5
14	4,6	5,8
15	2	0
16	0,3	0
17	3,5	9,5

	Dolžina poganjka (cm)	Dolžina korenine (cm)
18	5,5	6,3
19	4,5	1,8
20	4,6	6
21	5	8
22	3,2	2
23	1,5	3,5
Povprečna dolžina	3,9	4,3

Tabela 6: Meritve dolžin poganjkov in korenin kontrole (Manca Furlan)

Koncentracija 0,001 - Kaljivost: 88,0 % (kalilo je 22 od 25 semen)_Kaljivost glede na kontrolo: 95,7 %

	Dolžina poganjka (cm)	Dolžina korenine (cm)
1	4	1
2	3	2
3	4,2	3
4	5	4
5	5,2	6,5
6	5	11,3
7	3	3,5
8	3,5	4,5
9	6	7
10	5	4,3
11	5,3	11,3
12	0,3	0
13	4	7,5
14	5	12
15	5	9
16	6	11
17	8	12
18	2	0,5
19	7	3,5
20	6	12
21	6,5	10,5
22	0,2	0

	Dolžina poganjka (cm)	Dolžina korenine (cm)
Povprečna dolžina	4,5	6,2

Tabela 7: Meritve dolžin poganjkov in korenin raztopine koncentracije 0,001 (Manca Furlan)

Koncentracija 0,01 - Kaljivost: 80,0 % (kalilo je 20 od 25 semen). Kaljivost glede na kontrolo: 87,0 %

	Dolžina poganjka (cm)	Dolžina korenine (cm)
1	3,2	4,5
2	5	5,8
3	5	6
4	3	6,3
5	4	7
6	0,8	0,2
7	0,5	0
8	1	1
9	4	11
10	2	2,3
11	5	10,5
12	3,5	5,5
13	3	0
14	5,5	6
15	3	4
16	4,2	7
17	3	5
18	3	1
19	3,5	10,5
20	5	11
Povprečna dolžina	3,4	5,2

Tabela 8: Meritve dolžin poganjkov in korenin raztopine koncentracije 0,01 (Manca Furlan)

Koncentracija 0,1 - Kaljivost: 28,0 % (pri 7 od 25 semen je kalček predril semensko ovojnico)

Kaljivost glede na kontrolo: 30,4 % (Vsi kalčki so bili krajši od 1 cm.)

Statistična analiza

Dolžina poganjkov

	Število rastlin	Povprečje	SD	Povprečje glede na kontrolo	SD glede na kontrolo
Kontrola	23	3,882609	1,566018		
Koncentracija 0,001	22	4,509091	1,952997	116,1 %	124,7 %
Koncentracija 0,01	20	3,36	1,446011	86,5 %	92,3 %

Tabela 9: Statistična analiza dolžin poganjkov (Manca Furlan)

Dolžina korenin

	Število rastlin	Povprečje	SD	Povprečje glede na kontrolo	SD glede na kontrolo
Kontrola	23	4,313043	2,719175		
Koncentracija 0,001	22	6,2	4,336665	143,8 %	159,5 %
Koncentracija 0,01	20	5,23	3,682119	121,3 %	135,4 %

Tabela 10: Statistična analiza dolžin korenin (Manca Furlan)

Analiza združenih podatkov

Dolžine poganjkov

	Število rastlin	Povprečje	SD	Povprečje glede na kontrolo	SD glede na kontrolo
Kontrola	38	3,860526	1,541067		
Koncentracija 0,001	37	4,316216	1,837648	111,8%	119,2 %
Koncentracija 0,01	32	2,93125	1,47264	75,9 %	95,6 %

Tabela 11: Statistična analiza dolžin poganjkov

Dolžine korenin

	Število rastlin	Povprečje	SD	Povprečje glede na kontrolo	SD glede na kontrolo
Kontrola	38	5,068421	3,219292		
Koncentracija 0,001	37	6,62973	4,092803	130,8 %	127,1 %
Koncentracija 0,01	32	4,059375	3,524281	80,1 %	109,5 %

Tabela 12: Statistična analiza dolžin korenin

Dolžine poganjkov

Test for equal variance

* predstavlja stat. značilne razlike med izpostavitvijo in kontrolo.

F	DFn	DFd	P
2,388250587	2	104	0,480368
PASS - equal variance may be assumed ($p > 0,05$).			

Tabela 13: Test enakosti varianc meritev dolžin poganjkov

Analysis of variance

* predstavlja stat. značilne razlike med izpostavitvijo in kontrolo.

	SS	DF
Between	33,76738652	2
Within	276,6698097	104
F	6,346569221	
P	0,002508286 **	

Tabela 14: Analiza variance meritev dolžin poganjkov

Posthoc test: Holm-Sidak

* predstavlja stat. značilne razlike med izpostavitvijo in kontrolo.

Group 1	Group 2	Critical	P	Significant?
Koncentracija 0,001	Koncentracija 0,01	0,016952	0,001078 *	Yes
Kontrola	Koncentracija 0,001	0,025321	0,012544 *	Yes
Kontrola	Koncentracija 0,01	0,05	0,247881	No

Tabela 15: Posthoc test meritev dolžin poganjkov

Dolžine korenin

Test for equal variance

* predstavlja stat. značilne razlike med izpostavitvijo in kontrolo.

F	DFn	DFd	P
2,388250587	2	104	0,096808
PASS - equal variance may be assumed ($p > 0,05$).			

Tabela 16: Test enakosti varianc meritev dolžin korenin

Analysis of variance

* predstavlja stat. značilne razlike med izpostavitvijo in kontrolo.

	SS	DF
Between	116,7088305	2
Within	1371,53659	104
F	4,424861305	
P	0,014312248 *	

Tabela 17: Analiza variance meritev dolžin korenin

Posthoc test: Holm-Sidak

* predstavlja stat. značilne razlike med izpostavitvijo in kontrolo.

Group 1	Group 2	Critical	P	Significant?
Koncentracija 0,001	Koncentracija 0,01	0,016952	0,007195 *	Yes
Kontrola	Koncentracija 0,001	0,025321	0,069993	No
Kontrola	Koncentracija 0,01	0,05	0,215217	No

Tabela 18: Posthoc test meritev dolžin korenin

VPLIV ZOBNE PASTE »Sensodyne Repair & Protect« NA RAST IN KALJENJE FIŽOLA (*Phaseolus vulgaris*)

Avtorja: Ana Markež in Anja Pavlin

Izvleček

Cilj in namen poskusa je bil preveriti vpliv zobne paste Sensodyne Repair & Protect (Powered By Novamin) na kaljenje in razvoj semena fižola sorte 'Češnjevec'. Izdelali smo kalilnike in pripravili raztopine različnih koncentracij izbrane zobne paste (0,1%, 1% in 10%) za kontrolo smo uporabili vodovodno vodo. Odstotek kaljivosti je bil za malenkost večji pri 0,1 % raztopini kot pri kontroli. Kaljivosti pri 1% in 10% raztopini skoraj ni bilo. Povprečna dolžina korenin in poganjkov je z naraščanjem koncentracije raztopine zobne paste padala. Izbrana zobna pasta pri višjih koncentracijah zaviralno vpliva na kaljenje in razvoj semena fižola.

Uvod

Sprva zobne paste niso imele sposobnosti zaježitve boleznih zob in dlesni. Ustvarjenih je bilo veliko formul s strani različnih podjetji (Ramirez, 1990). Zaradi natrpanega trga in velike konkurenčnosti je znani oglaševalec Claude Hopkins za povečanje prodaje in uporabe našel razlog, ki je utemeljil uporabo zobne paste na dnevni ravni (Duhigg, 2012). Razlog se je skrival v vsakodnevnem odstranjevanju filma na zobeh, kar naj bi nas naredilo bolj privlačne. Uporaba zobnih past je s tem postala mamljiva. Uporabljajo se že desetletja ter danes predstavljajo normativo (Ramirez, 1990). V zadnjih letih se je prodaja izdelkov za ustno higieno močno povečala (Menard in sod., 2016). Poleg preventive pred boleznimi so se razvile tudi različne formule kot so na primer formule za beljenje zob, za občutljive zobe in za obnovo zob. V Evropi se zobne paste uvršča med kozmetične produkte. Po Evropski Uredbi morajo biti produkti take vrste na trgu varni za zdravje ljudi, kadar se uporabljajo v normalnih ali razumno predvidljivih pogojih. Za oceno primernosti produktov so potrebni toksikološki podatki o posameznih sestavinah v končnem produktu (SCCS, 2015). Poleg aktivnih snovi, ki so potrebne za zdrave zobe, vsebujejo paste tudi druge snovi, ki ne doprinesejo k temeljnemu učinku. Slednje sestavine uvrščamo med neaktivne, sem sodijo sladila, umetna barvila, arome in drugi dodatki, ki omogočijo enostavnejšo uporabo zobne paste. Komponente zobnih past so lahko potencialno nevarne, če se preseže priporočen dnevni vnos, kar predstavlja predvsem velik problem pri otrocih (Food and Drug Administration [FDA], 2010). Raziskave so namreč

pokazale, da verjetno otroci zaužijejo do polovico nanešene paste na ščetki, kar predstavlja tveganje za bioakumulacijo (Delorenzo in sod., 2008; Ethier in sod., 2012). Na nekaterih embalažah najdemo slike, ki so kontradiktorne priporočeni količini uporabljene zobne paste. Uporabnike to pogosto zavede v misel, da je zobna pasta povsem varna ali celo namenjena uživanju, oziroma jo smatrajo za prehranski izdelek (Centers for Disease Control [CDC], 2013). Pomembno je omeniti tudi, da se večina posameznikov ne zaveda izvora in/ali možnih tveganj, povezanih s posameznimi sestavinami zobne paste (Nicole, 2013).

Za poskus smo se odločili, da bomo testirali zobno pasto Sensodyne Repair & Protect (Powered By Novamin), saj je Sensodyne ena od najbolj priljubljenih blagovnih znamk zobnih past, ki cilja predvsem na občutljive zobe in jo zdravniki kot prvo priporočajo pri tovrstnih problemih (Bhasin, 2018). Ob pregledu deklaracije smo presenetljivo opazili, da ima pasta priložena tudi navodila v katerih piše, da se pasta uporablja dva krat na dan in ne več kot trikrat na dan in da jo naj minimalno požiramo ter da ni primerna za otroke pod 12 let. Po pregledu literature smo ugotovili, da imajo različne zobne paste zelo različne sestavine. Večina raziskav, ki obravnava zobne paste in njihov vpliv na okolje se osredotoča predvsem na vsebnost mikroplastike. V nadaljevanju so predstavljene komponente preučevane zobne paste, ki so bile navedene na embalaži in njihovi potencialni vplivi na okolje ter zdravje ljudi.

NATRIJEV FLUORID je anorganska fluoridna sol v obliki belih kristalov, ki so topni v vodi. Predstavlja aktivno sestavino zobne paste. Je vir fluoridnih ionov, ki remineralizirajo in krepijo oslABLJENO sklenino ob nastopu kariesa. Ima baktericidne in bakteriostatične lastnosti. Sodeluje v boju s plaki in preprečujejo gingivitis (vnetje dlesni). Tvori tudi zaščitno mineralno bariero nad izpostavljeno zobovino in tako prepreči občutljivost na kislo, vročo ali hladno tekočino in hrano. Smatra se za ne kancerogeno in ne toksično za okolje. Ob stiku z očmi povzroči rdečenje in draženje. Redke, ampak možne so tudi resne alergijske reakcije (srbenje, otekline, oteženo dihanje) (Pharmacy Times, 2014; ENCYCLOPEDIA.COM, 2020; PubChem, 2020).

GLICERIN ali glicerol je poliol. Pri sobni temperaturi je viskozna brezbarvna tekočina, ki je rahlo sladkega okusa. Sestavina je topna v vodi in dobro veže vodo. V zobni pasti ima funkcijo vlažilnega sredstva. Zadržuje vodo in preprečuje, da bi se zobna pasta v tubi izsušila. Med ščetkanjem izboljšuje mazljivost in preprečuje suhost v ustih. Pomaga lahko zmanjšati aktivnosti bakterij z zmanjšanjem razpoložljive vodne, zato ima zaščitno delovanje pred zobno gnilobo. Glicerol ne poškoduje dlesni ali zobne sklenine. Predvidevajo, da ni toksičen za okolje. Označen je kot splošno varen pri omejeni uporabi v hrani. Pri oralni uporabi zelo velike

koncentracije kažejo na zelo majhno akutno toksičnost, ki jo mogoče tolerirati (EWG's Skin Deep, 2020; PubChem, 2020).

PEG-8 je osem povezanih molekul etilen glikola. Je dobro topen v vodi. V zobni pasti se uporabljajo kot vlažilno sredstvo, topilo in stabilizatorji. V majhnih koncentracijah povzročajo draženje oči in pljuč, pri izpostavljenosti večjim koncentracijam pa lahko pride do poškodb centralnega živčnega sistema, jeter in ledvic. Nekateri ljudje so nanj alergični. Na njegovo varnost poleg velikosti odmerkov vpliva tudi čistot. Med samo proizvodnjo se lahko kontaminira s potencialno strupenimi nečistočami, kot je 1,4-dioksan (meje dovoljene koncentracije so točno določene). Opažen je bil tudi negativen vpliv na v vodi živeče organizme (EWG's Skin Deep, 2020; PubChem, 2020).

HIDRIRAN SILICIJEV DIOKSID je fin, bel ali skoraj bel prah, ki je netopen v vodi in mineralnih kislinah (izjema fluorovodikova kislina). V zobnih pastah se uporablja kot abrazivno sredstvo za beljenje in čiščenje zob. Fini delci pomagajo mehansko očistiti nečistoče. V nizkih koncentracijah poznan je kot varen za uporabo. Lahko se prične bioakumulirati v okolju in organizmih (EWG's Skin Deep, 2020; PubChem, 2020).

NOVAMIN je sintetičen prah. Sestavljajo ga oksidi silicija, kalcija, natrija in fosforja. Ob stiku z vodo in slino v ustih, tvori hidroksiapatitu podobne kristale. Ti lahko začasno kompenzirajo poškodbe sklenine, hkrati pa lajša občutljivost zob in preprečuje nastanek novega kariesa na izpostavljenih delih. Je varen za uporabo in je netoksičen. Podatkov o vplivov na okolje nismo našli (Bitcon, 2018; EWG's Skin Deep, 2020; Kumar in sod, 2015; PubChem, 2020).

KOKAMIDOPROPIL BETAİN je surfaktant iz mešanice sorodnih organskih spojin, pridobljenih iz kokosovega olja in di-metil-amino-propilamina. Sestavina se v zobni pasti uporabi kot emulgator, stabilizator in kot sredstvo za penjenje. Povzročajo lahko draženje oči in kože. Možne so tudi alergične reakcije, ki pa so posledica nečistoč, zato na njegovo varnost poleg velikosti odmerkov vpliva tudi čistost. Med samo proizvodnjo se lahko kontaminira s potencialno strupenimi nečistočami, kot je 3-dimetilaminopropilamin. Sumijo, da je za okolje toksičen (EWG's Skin Deep, 2020; PubChem, 2020).

SODIUM METHYL COCOYL TAURATE (ni ustreznega prevoda) je sol amida kokosove maščobne kisline N-metiltavrina. V pasti se uporablja kot surfaktant in sredstvo za penjenje. Povzročajo lahko draženje oči. Podatkov o vplivov na okolje nismo zasledili (MakingCosmetics, 2015; Putacy, 2020).

TITANOV DIOKSID je oksid titana, prah bele barve in brez vonja, ki ni topen v vodi. V pasti se uporablja kot belilo in tudi pasti daje belo barvno. Pri ljudeh ni zadostnih dokazov o rakotvornosti. Dovolj dokazov o rakotvornosti je bilo zabeleženih pri živalih. Sodeč iz tega ga smatrajo za verjetno kancerogenega za ljudi. Za okolje predvidevajo, da ni toksičen (EWG's Skin Deep, 2020; PubChem, 2020).

KARBOMER je sintetični polimer akrilne kisline. Najdemo ga v obliki belega, puhastega, higroskopskega prahu. Topen je v vodi, alkoholu in glicerolu. V pasti se uporablja kot sredstva za zgoščevanje, emulgiranje, stabiliziranje in regulacijo viskoznosti. Zaradi pomanjkanja podatkov, ga ni mogoče uvrstiti med rakotvorne snovi za ljudi. Za okolje predvidevajo, da ni toksičen (EWG's Skin Deep, 2020; PubChem, 2020).

NATRIJEV SAHARIN je izredno sladko umetno sladilo (300-krat slajši kot saharoza). Dodan je v majhnih količinah za izboljšanje okusa. Prav tako tudi njega zaradi pomanjkanja podatkov ni mogoče uvrstiti med rakotvorne snovi za ljudi. Za okolje predvidevajo, da ni toksičen (EWG's Skin Deep, 2020; PubChem, 2020).

LIMONEN je alifatski ogljikovodik in je glavna komponenta olja pridobljenega iz sveže lupine limone (*Citrus limonum*). Je bistra blede rumena do zelenkasto-rumena tekočina z značilnim vonjem. V zobni pasti se uporablja predvsem za aromo. Limonen lahko draži kožo, oči in pljuča ter je nizko toksičen za okolje, predvsem za v vodi živeče organizme (EWG's Skin Deep, 2020; PubChem, 2020).

AROMA v deklaraciji je navedena skupaj z ostalimi komponentami, vendar ni točno definirana.

CILJ: Cilj našega poskusa je bil ugotoviti, kako različne koncentracije zobne paste Sensodyne Repair & Protect (Powered By Novamin) vplivajo na kaljenje in rast semen fižola (*Phaseolus vulgaris*) sorte 'Češnjevec'.

HIPOTEZA: Ob pregledu literature smo predpostavili, da bo ob prisotnosti zobne paste zmanjšana kaljivost oz. razvoj rastline in da pri največji koncentraciji (10 %) ne bo prišlo do kalitve.

Material in metode

MATERIALI



Slika 40: Material za pripravo raztopi in semena izbrane sorte fižola **Slika 41:** Pripravljene raztopine za izvedbo poskusa

Karton

Papirnate brisačke

Alu folija

Škarje

Vrvica

Ravnilo

Elastike

Merilna posoda

Tehtnica

Žlica

Kozarci za vlaganje

Vodovodna voda

Seme fižola sorte »Češnjavec«

Zobna pasta Sensodyne Repair & Protect
(Powered By Novamin)

Kuhinjska tehtnica

Alkoholni flumaster

METODE

Pripravili smo tri različne koncentracije raztopin zobne paste in kontrolo:

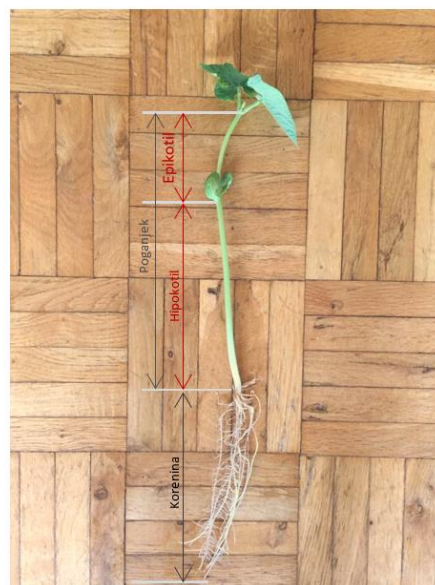
1. Vodovodna voda – kontrola,
2. 10 % (50 g zobne paste v 500g vodovodne vode),
3. 1 % (5 g zobne paste v 500g vodovodne vode) in
4. 0,1 % (0,5 g zobne paste v 500g vodovodne vode).

Potrebno maso zobne paste smo zatehtali in jo prenesli v kozarce za vlaganje v katerih je bilo predhodno 500g vode ter dobro premešali. Nato smo v posamezne raztopine dodali po 25 semen in jih namakali 8 ur. Medtem smo izdelali štiri kalilnike. Pripravili smo karton in alu folijo velikosti 50 cm x 20 cm. Na karton smo 2 cm od roba (stranice 50 cm) in v razmaku 2

cm naredili oznake za mesta semen. Karton smo zvili, da se je omehčal. Po osmih urah smo karton navlažili z izbrano raztopino in nanj položili semena na označena mesta. Semena smo prekrili s slojem papirnatih brisačk, ki smo jih ravno tako navlažili z ustrezno raztopino. Tako pripravljen kalilnik smo skupaj z alu folijo zvili v rolo in jo obdali z elastiko. V posamezne lončke smo nalili raztopine in vanje postavili kalilnike, tako da so bila semena na vrhu in ne v raztopini. Skozi poskus so bili kalilniki namočeni minimalno 5 cm v ustrezno raztopino. Vse kalilnike oz. testirane koncentracije raztopin smo naredili v dveh ponovitvah (vsak študent svojo ponovitev, v našem primeru ponovitvi Markež in Pavlin). Poskus smo ustavili 3 dni po tem, ko smo prvič opazili rastle pri kontroli. Po končanem poskusu smo kalilnike razdrli in prešteli vzkaljena in ne vzkaljena semena. Pri vzkaljenih semenih smo izmerili dolžino korenine in dolžino poganjka. Podatke meritev smo nato obdelali v programu Excel. Izvedli smo dva statistična testa in sicer enosmerno analizo variance (ANOVA) in korelacijske t-teste. Analizo ANOVA smo izvedli z dodatkom XL Toolbox. Rezultati posameznih analiz so predstavljeni v nadaljevanju in sicer ločeno za dolžine korenin in dolžine poganjkov, podatki so bili obdelani v centimetrih, upoštevali smo samo vzkaljena semena.



Slika 3: Pripravljeni kalilniki, prvi dan



Slika 4: Prikaz merjenja dolžin posameznih delov rastlin

Rezultati

Po osmih urah namakanja smo semena vzeli iz pripravljenih raztopin. Opazili smo, da so bila semena iz raztopin za odtenek temnejše barve od semen, ki so bila namakana zgolj v vodi. Semena v 10 % raztopini so imela močno nagubano semensko ovojnico, medtem ko so imela semena namakana v vodi in 0,1% ter 1% raztopini gladko (slika 5).



Slika 42: Semena izbrane sorte fižola po osmih urah namakanja v različnih koncentracijah raztopine zobne paste. Raztopine od leve proti desni si sledijo: kontrola (vodovodna voda), 0,1%, 1% in 10%

Slika 6 prikazuje končne rezultate poskusa pri ponovitvi Pavlin. Iz slike je jasno opaziti bolj uspešno kalitev in rast ter razvoj tako korenin kot poganjkov pri kontroli in 0,1 % raztopini kot pa pri 1% in 10 % raztopini. Pri kontroli so vzkli vsa semena pri 0,1 % raztopini pa opazimo, da jih nekaj ni vzknilo. Ko primerjamo poganjke so ti pri kontroli daljši kot pri 0,1 % raztopini, ko primerjamo korenine pa ni vidnih večjih razlik. Pri 1 % raztopini je razvidno, da ni prišlo do razvoja poganjkov in da je le malo semen razvilo korenine, ki pa so precej krajše kot pri kontroli in 0,1 % raztopini. Pri 10 % raztopini semena niso vzknila.



Slika 43: Končan poskus ponovitve – Pavlin, prikazani končni rezultati kalitve izbrane sorte fižola kaljenega v vodovodni vodi (kontrola) in različnih koncentracijah raztopin zobne paste. Posamezne koncentracije raztopin so označene v spodnjih desnih kotih.

Na sliki 7 so prikazani končni rezultati poskusa pri ponovitvi Markež. Iz slike je ravno tako kot pri ponovitvi Pavlin dobro razvidno bolj uspešno kaljenje in rast ter razvoj tako korenin kot poganjkov pri kontroli in 0,1 % raztopini v primerjavi z raztopinama koncentracije 1 % in 10 %. Sama dolžina poganjkov in korenin se pri kontroli in 0,1 % raztopini na pogled ne razlikuje. Pri 1 % raztopini je vzkaljeno seme razvilo le korenino. Pri 10 % raztopini sta pričeli kaliti dve semeni, vendar sta razvila le majhno korenino, ne pa tudi poganjka.



Slika 44: Končan poskus ponovitve - Markež, prikazani rezultati kalitve izbrane sorte fižola namakanega v vodovodni vodi (kontrola) in različnih koncentracijah raztopin zobne paste. Posamezne koncentracije raztopin so označene v spodnjih desnih kotih.

Eksperiment je bil v ponovitvi Pavlin zaključen po 11-ih dneh od začetka. V ponovitvi Markež je bil eksperiment zaključen po 10-ih dneh. Za primerjavo med obema ponovitvama (Pavlin, Markež) smo najprej izvedli t-test: Two-Sample Assuming Equal Variances kontrolnih kalilnikov. V spodnji tabeli so prikazani rezultati. Po pregledu in primerjavi pridobljenih rezultatov meritev v sklopu obeh ponovitev poskusa (Pavlin, Markež) za kontrolne kalilnike, smo ugotovili, da med podatki ni opaznih statistično značilnih razlik, gledano na p vrednost dvostranskega testa (v tabeli 1 označeno odebeljeno in podčrtano). Podatki so med seboj bili

primerljivi. Sledeč iz te ugotovitve smo se odločili, da bomo analize v nadaljevanju izvedli z združenimi podatki iz obeh ponovitev (Pavlin in Markež).

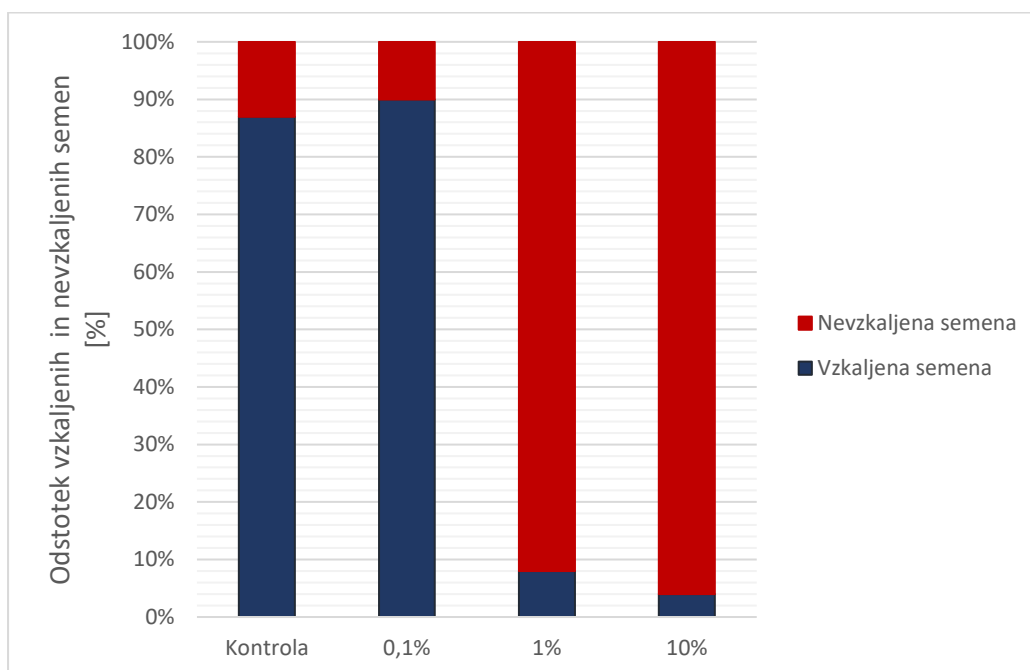
Tabela 1: Rezultati t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances kontrolnih kalilnikov izvedenih ponovitev (Pavlin in Markež). Oznaki: P – dolžine poganjkov, K – dolžine korenin

	Kontrola Pavlin - P	Kontrola Markež - P	Kontrola Pavlin - K	Kontrola Markež - K
Povprečje	11,39	12,62	12,48	11,89
Varianca	25,13	20,57	6,46	6,48
Število meritev	24	19	24	19
Stopnje prostosti	41		41	
t vrednost	-0,83		0,74	
p vrednost (enostranski test)	0,20		0,23	
t "Critical" enostranski	1,68		1,7	
p vrednost (dvostranski test)	<u>0,41</u>		<u>0,46</u>	
t "Critical" dvostranski	2,02		2,02	

Tabela 2 prikazuje združene podatke kaljivosti obeh ponovitev (Pavlin in Markež). Skupno je bilo za vsako raztopino in kontrolo (vodovodna voda) v kalilnikih uporabljeno 50 semen. Razvidno je, da je največji odstotek kaljivosti opažen pri raztopini zobne paste koncentracije 0,1% in kontroli. Pri raztopinah višjih koncentracij, torej 1% in 10% odstotek kaljivosti močno pade. Podatki iz zgornje tabele so grafično prikazani z grafom 1 (glej spodaj). Odstotek vzkaljenih in ne vzkaljenih semen pri različnih raztopinah zobne paste in kontroli je prikazan na grafu 1. Pri 0,1 % raztopini je odstotek vzkaljenih semen za 10 % večji kot pri kontroli (80 %). Odstotka vzkaljenih semen sta drastično nižja pri 1 % (8 %) in 10 % raztopini (4 %).

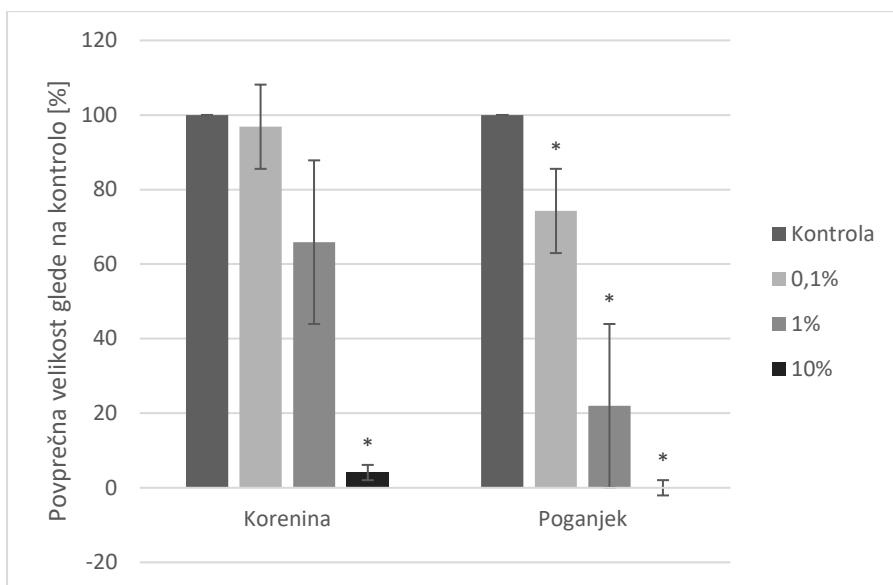
Tabela 2: Prikaz števila vzkaljenih in ne vzkaljenih semen, ter delež glede na vsa semena za obe ponovitvi skupaj (Pavlin in Markež)

	Kontrola	0,1%	1%	10%
Vsa semena	50	50	50	50
Vzkaljena	44	45	4	2
Procent [%]	80	90	8	4
Nevzkaljena	6	5	46	48
Procent [%]	12	10	92	96



Graf 1: Delež vzkaljenih in nevzkaljenih semen pri različnih koncentracijah zobne paste. Združeni podatki obeh poskusov Pavlin in Markež

Na grafu 2 je prikazana povprečna dolžina korenin in poganjkov glede na kontrolo pri združenih podatkih ponovitev (Pavlin in Markež). Meritve povprečnih vrednosti dolžin poganjkov in korenin smo za vsako raztopino normalizirali glede na povprečje kontrole. Normalizirana povprečja dolžin smo podali v obliki odstotkov gledano na kontrolo (ta predstavlja 100 %), saj je bila tako primerjava bolj nazorna. Razvidno je, da v povprečne vrednosti dolžin korenin in poganjkov padajo z naraščanjem koncentracije zobne paste v raztopini. Pri koreninah je največja povprečna velikost korenin glede na kontrolo pri 0,1 % raztopini, ki se tesno približa kontroli s 97 %. Sledi ji 1 % raztopina z 66 %. Pri poganjkih je največja povprečna velikost poganov glede na kontrolo pri 0,1 % raztopini (74 %), sledi 0,1 % raztopina s slabimi 22 %. Potrebno je omeniti, da sta pri 10 % raztopini vzklili dve semeni, ki sta razvili le majhno korenino, poganjka pa ne.

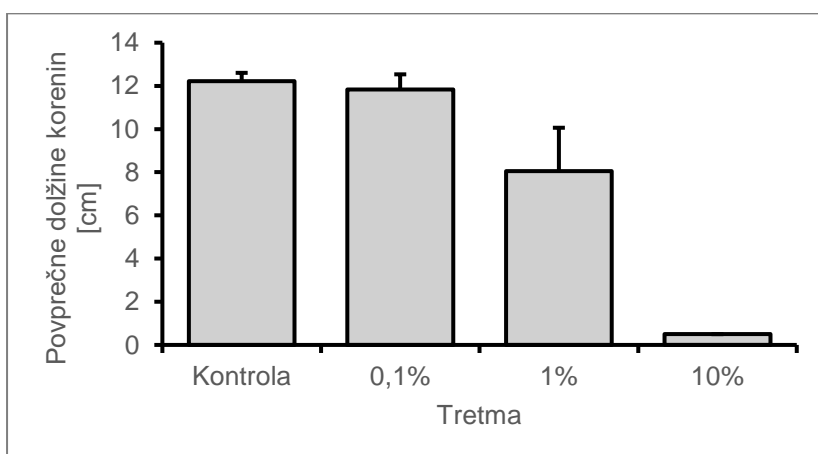


Graf 2: Povprečna dolžina korenin in poganjkov glede na kontrolo (izražena v %) – skupno s prikazanimi standardnimi deviacijami. Oznaka * predstavlja signifikantno razliko med označenim tretiranjem in kontrolo (dvostranski t-test, $p < 0,05$)

KORENINE

Enosmerna analiza variance (ANOVA):

Iz priloge 1 in grafa 3 so razvidne lastnosti meritev za posamezne tretmaje, podano je število vzkaljenih semen, povprečne vrednosti dolžin korenin, standardne deviacije in standardne napake. Opazamo, da se z večanjem koncentracije raztopine zobne paste manjša število vzkaljenih semen in tudi povprečje dolžin korenin. Opazna je zelo majhna razlika v povprečni dolžini korenin med kontrolo in 0,1% raztopino zobne paste. Podatki iz zgornje tabele so grafično uprizorjeni na spodnjem grafu.



Graf 3: Povprečna dolžine korenin z dodanimi standardnimi deviacijami

Izvedli smo analizo homogenosti variance. Test iz priloge 2 nam je pokazal, da med skupinami ni mogoče predpostaviti enake variance ($p < 0,05$), kar sva upoštevala pri t-testih v

nadaljevanju. Statistično pomembne razlike so se pokazale (priloga 3) med kontrolo in raztopinama višjih koncentracij zobne paste 1 % in 10 % ter med 0,1 % in 10 %. Med kontrolo in najnižjo koncentracijo 0,1 % statistično značilne razlike ni bilo opaziti. Iz tega lahko sklepamo, da so tretmaji z višjimi koncentracijami raztopine zobne paste (1 % in 10 %) vplivali na razvoj in rast korenin fižola.

Korelacijski t- testi:

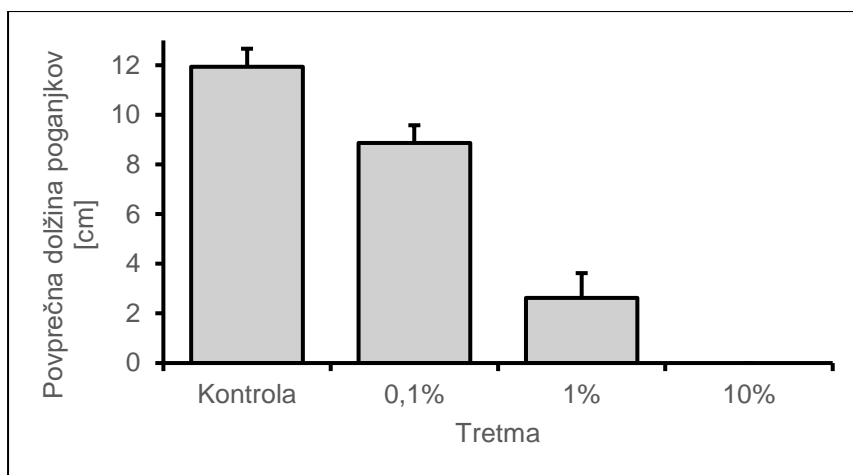
Statistično pomembne razlike smo testirali tudi s korelacijskimi t-testi. Sledeč iz analize homogenosti variance pri analizi ANOVA, da med skupinami ni mogoče predpostaviti enake variance ($p < 0,05$) smo izvedli naslednje t-teste: Two-Sample Assuming Unequal Variances. V vseh analizah smo izbrali $\alpha = 0,05$, kar pomeni, da smo lahko z 95 % gotovostjo trdili, ali je prisotna statistično značilna razlika med vzorci. Osredotočili smo se na dvostranske teste.

Priloga 4 predstavlja združene rezultate izvedenih t-testov za posamezne pare. Statistično značilne razlike so tako pri enostranskem kot tudi pri dvostranskem testu bile opažene pri istih parih, ti pari so: kontrola in 10 % raztopina zobne paste, 0,1 % raztopina zobne paste in 10 % raztopina zobne paste ter 1 % raztopina zobne paste in 10 % raztopina zobne paste. Mi smo se osredotočili na dvostranske teste. V primerjavi z rezultati post hoc testa Holm-Šidak pri prejšnji analizi tukaj ni bilo opažene statistično značilne razlike med parom kontrola in 1 % raztopina, bila pa je opažena razlika med 1 % raztopino in 10 % raztopino, ki je pri prejšnji analizi ni bilo.

POGANJKI

Enosmerna analiza variance (ANOVA):

Iz priloge 5 in grafa 4 so razvidne lastnosti meritev za posamezne tretmaje, podano je število vzkaljenih semen, povprečne vrednosti dolžin poganjkov, standardne deviacije in standardne napake. Opažamo, da z večanjem koncentracije raztopine zobne paste se močno manjša število vzkaljenih semen in tudi povprečje dolžine poganjkov, vzkaljena semena iz 10 % raztopine zobne paste niso razvila poganjkov. Podatki iz zgornje tabele so grafično uprizorjeni na spodnjem grafu.



Graf 4: Povprečna dolžine poganjkov z dodanimi standardnimi napakami.

Izvedli smo analizo homogenosti variance. Priloga 6 nam je povedal, da med skupinami ni mogoče predpostaviti enake variance ($p < 0,05$), kar smo upoštevala pri t-testih v nadaljevanju. Statistično pomembne razlike so se pokazale (priloga 7) med kontrolo in vsemi raztopinami zobne paste. Statistično značilne razlike se odražajo tudi med raztopinama 0,1 % in 10 % ter raztopinama 0,1 % in 1 %. Med primerjavo 1 % in 10 % raztopine signifikantnih razlik ni bilo. Iz tega lahko sklepamo, da so tretmaji vseh koncentracij raztopin zobne paste vplivali na razvoj in rast poganjkov fižola.

Korelacijski t-testi:

Statistično pomembne razlike smo testirali tudi s korelacijskimi t-testi. Sledeč iz analize homogenosti variance pri analizi ANOVA, da med skupinami ni mogoče predpostaviti enake variance ($p < 0,05$) smo izvedli naslednje t-teste: t-Test: Two-Sample Assuming Unequal Variances. V vseh analizah smo izbrali $\alpha = 0,05$, kar pomeni, da smo lahko z 95 % gotovostjo trdili, ali je prisotna statistično značilna razlika med vzorci. Osredotočili smo se na dvostranski test.

Priloga 8 predstavlja združene rezultate izvedenih t-testov za posamezne pare. Statistično značilne razlike so tako pri enostranskem kot tudi pri dvostranskem testu bile opažene pri istih parih, ti pari so bili: kontrola in 0,1 % raztopina zobne paste, kontrola in 1 % raztopina zobne paste, kontrola in 10 % raztopina zobne paste ter med 0,1 % in 1 % raztopino zobne paste, 0,1 % in 10 % raztopino zobne paste. Pri enostranskem testu se je statistično značilna razlika pokazala tudi med 1 % in 10 % raztopino, tega pa nismo opazili pri dvostranskem testu in pri rezultatih Post hoc testa Holm – Šidak pri prejšnji analizi. Mi smo se osredotočili na dvostranske teste.

Diskusija

V poskusu smo nastavili kalilnike s semeni fižola sorte 'Češnjevec' in pri tem uporabili kontrolo (vodovodno vodo) ter različne koncentracije raztopin zobne paste Sensodyne Repair and Protect (Powered By Novamin) (0,1 %, 1 % in 10 %) z namenom, da ugotovimo kako zobna pasta vpliva na kaljenje in rast ter razvoj semen fižola. Prve razlike med raztopinami so bile opazne že po osem urnem namakanju semen (slika 5) pred postavitvijo kalilnika. Semena v 10 % raztopini so imela nagubano semensko ovojnico medtem ko so semena namakana v kontroli, 0,1 % raztopini in 1% raztopini imela gladko. Predvidevamo, da je to posledica izvedbe namakanja. Raztopin z fižolom med namakanjem nismo premešali, kar je za posledico imelo sedimentacijo snovi zobne paste med njimi tudi snovi, ki vežejo vodo (glicin). Najbolj opazno je to bilo ravno pri 10 % raztopini (slika 2). Med namakanjem smo opazil, da so se vsa semena nagubala, verjetno zaradi postopnega vstopanja vode v seme, ker pa so semena v 10 % raztopini ostala naguba, predvidevamo, da pasta vsebuje raztopljene soli, ki vplivajo na osmotski potencial. Ostala semena so se zadosti napolnila z vodo in tako se je semenska ovojnica napela oz. postala gladka. Ob vizualnem pregledu kalilnikov (slika 6 in 7) ob zaključku poskusa smo ugotovili, da pri 1 % in 10 % raztopini večina semen ni vzknila v primerjavi s kontrolo in 0,1 % raztopino. Na prvi pogled je bila velikost poganjkov in korenin med kontrolo in 0,1 % raztopino zelo podobna. Razvoj delov rastlin predvsem poganjkov pa je pri višjih koncentracijah (1% in 10%) bil močno inhibiran.

Ko smo prešteli vzkaljena in ne vzkaljena semena ter pridobljene podatke obdelali smo ugotovili, da je bila kaljivost semen za 10% (2,5 semena) večja pri 0,1% raztopini kot pri kontroli. S t-testom smo nato ugotovili (podatki niso prikazani), da razlika med njima ni statistično značilna, pa vendar le je lahko razlog za to prisotnost silicijevega dioksida v zobni pasti. Glede na seznam sestavin je naveden na tretjem mestu, ker so sestavine navedene po INCI (International Nomenclature for Cosmetic Ingredients) to pomeni, da predstavlja tretji največji delež sestavin zobne paste. Za silicij pa je bilo poročano, da pozitivno vpliva na indukcijo kaljenja semen pri bobu (Roohizadeh in sod., 2015), kumarah (Alsaedi in sod., 2019) in paradižniku (Manzer in sod., 2014). Pri raztopinah z večjo koncentracijo pa kljub povečanju prisotnosti silicija ni prišlo do kaljenja. Razlog bi lahko bil povečanje prisotnost preostalih sestavin, predvsem tistih, ki pa glede na rezultate zavirajo kaljenje oziroma so toksične za rastline. Ob pregledu literature, da bi odkrili te sestavine smo prišli do spoznanja, da je opravljeno le malo ali nič poskusov pri katerih bi preučevali vpliv posameznih sestavin na kaljenje ali rast in razvoj rastlin. Večinoma se testira cele izdelke. Sestavina, ki je do sedaj

bila raziskana je limonen. Zanj poročajo, da zavira kaljenje semen različnih rastlin (Duke in Olivia, 2002). Prav tako je bil raziskan titanov dioksid, za katerega pa poročajo, da na kaljenje ne vpliva (Yang in sod., 2015) ali pa ga celo inducira (Feizi in sod., 2013). Ker je na spletnih straneh »EWG's skin deep«, ki je spletna baza podatkov o sestavinah kozmetičnih izdelkov ter njihov vpliv na ljudi in okolje, in PubChem navedeno, da je kokamidopropil betain toksičen za okolje smo ga podrobneje raziskali in ugotovili, da o njegovi toksičnosti poročajo le pri vodnih živalih.

Po izvedbi t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances, kjer smo primerjali dolžine poganjkov in korenin med ponovitvama Pavlin in Markež za kontrolne kalilnike, je bilo ugotovljeno, da med ponovitvama ni bilo razlik. Iz tega smo sklepali, da so bili pogoji izvedbe obeh ponovitev medsebojno podobni in da ni bilo morebitnih drugih dejavnikov, ki bi lahko vplivali na sam potek eksperimenta. Na podlagi tega smo se odločili, da analize naprej izvedemo z združenimi podatki.

V nadaljevanju smo izračunali povprečno dolžino korenin in poganjkov glede na kontrolo pri združenih podatkih ponovitev (Pavlin in Markež). Povprečja dolžin smo nato normalizirali glede na povprečje dolžine kontrol (graf 2). Podatki kažejo, da se povprečne dolžine korenin, kot tudi poganjkov manjšajo z naraščanjem koncentracije zobne paste v raztopini.

Izvedli smo statistično obdelavo z ANOVA (post hoc test Holm-Šidak) in primerjalne t-teste za izmerjene dolžine korenin kot tudi poganjkov. Pri ANOVA testu za dolžine korenin je bila statistično značilna razlika opažena med kontrolo in 1 % ter 10 % raztopino zobne paste, kot tudi med 0,1 % ter 10 % raztopino zobne paste. Pri t-testu pa se rezultati v nekaterih primerih razlikujejo od rezultatov ANOVA testa. Pri obeh statističnih testih za dolžine poganjkov je bila statistično značilna razlika opažena med kontrolo in vsemi koncentracijami raztopin in v večini primerov, tudi med posameznimi koncentracijami. Po pregledu literature iz spleta je bilo ugotovljeno, da je za naše analize bolj primerna statistična obdelava z ANOVA testom, saj nam lahko t-test na način kot smo ga uporabili vrne napačne podatke za statistične razlike (Brienne, 2018; Surbhi, 2017). Pridobljeni rezultati nakazujejo, da zobna pasta Sensodyne nima vpliva na dolžino korenine pri 0,1% koncentraciji. Večji negativen vpliv je opazen pri 1 % in 10 % raztopini. Vpliv na rast poganjkov se odraža pri vseh koncentracijah zobne paste, torej ta deluje zaviralno oziroma toksično na njihov razvoj. Ob primerjavi rezultatov povprečnih dolžini korenin in poganjkov opazimo, da je imela zobna pasta večji vpliv na poganjke kot korenine, kar je zanimivo glede na to, da so korenine v neposrednem stiku z raztopinami. Tukaj je

potrebno v obzir vzeti tudi samo število vzkaljenih semen. Zakaj je prišlo do teh rezultatov je ravno tako kot pri kaljenju težko pojasniti, saj smo med literaturo našli ponovno samo vpliv limonena in titanovega dioksida. Limonen ima poleg zgoraj navedenega vpliva na kalitev tudi vpliv na slabši razvoj korenin in poganjkov (Duke in Olivia, 2002). Vplivi titanovega dioksida so odvisni od njegove koncentracije (v našem primeru je na produktu ni bilo navedene) in vrste rastline, saj pri različnih koncentracijah ali zavre ali spodbudi razvoj biomase (Feizi in sod., 2013; Yang in sod., 2015).

Z vsemi pridobljenimi rezultati lahko zastavljeno hipotezo le delno potrdimo. Hipoteza, ki smo si jo zastavili predpostavlja, da bo prisotnost zobne paste zmanjšana kaljivost in razvoj rastline in da pri največji koncentraciji (10 %) ne bo prišlo do kalitve. Iz rezultatov je razvidno, da so nekatera semena fižola uspela vzkaliti tudi pri najvišji koncentraciji raztopine zobne paste. Torej lahko del hipoteze, ki predpostavlja, da pri najvišji koncentraciji semena ne bodo vzkalila, ovržemo. Iz rezultatov pa je razvidno, da je z višanjem koncentracije raztopin kaljivost upadla, zelo močno pri 1 % in 10 % raztopini. Gledano iz vidika razvoja rastlin iz semen, ki so vzkalila pa so z višanjem koncentracije opazni zaviralni vplivi tako na korenine kot tudi poganjke, s tem lahko potrdimo prvi del hipoteze.

Pridobljeni rezultati, pregledana literatura in misel na količine zobne paste ter ostalih kozmetičnih izdelkov in čistilnih sredstev, ki se jih uporablja vsakodnevno nam vzbudijo zaskrbljujoče pomisleke. Res je, da se za kozmetične izdelke izvede toksikološke teste za ljudi, nikjer pa nismo zasledili, da bi bili prav tako obvezni toksikološki testi za okolje (rastline, živali). Glede na to, da je že zdaj poraba kozmetičnih izdelkov velika in da se njena uporaba kar naprej stopnjuje, saj vedno več ljudi strmi k perfektnemu izgledu, bi bili ti testi nujno potrebni. Še posebej nas skrbi, ko pomislimo, da kar nekaj stanovanjskih poslopji nima dostopa do javne kanalizacije in imajo zato greznice, ki lahko puščajo iz različnih razlogov, ali čistilne naprave s katerimi pa je potrebno pravilno rokovati, da učinkovito prečistijo vsebino in v okolje spustijo čim bolj očiščeno vodo.

Literatura

- [1] Alsaedi A.H., Elgarawany M.M., El-Ramady H., Alshaal T., AL-Otaibi A.O.A. 2019. Application of Silica Nanoparticles Induces Seed Germination and Growth of Cucumber

(Cucumis sativus). *Meteorology, Environment and Arid Land Agriculture Sciences Journal*, 28(1): 57-68

- [2] Bhasin H. 2018. Marketing91. Toothpaste Brands, <https://www.marketing91.com/toothpaste-brands/>
- [3] Bitcom T. 2018. The curious history of NovaMin toothpaste. Medium, <https://medium.com/@ravenstine/the-curious-history-of-novamin-toothpaste-620c6bef8881>
- [4] Brianne. 2018. T-TEST & ANOVA (ANALYSIS OF VARIANCE). Biostatistics & Bioinformatics, <https://raybiotech.com/learning-center/t-test-anova/>
- [5] Centers for Disease Control. 2013. Community water fluoridation, FAQs for dental fluorosis, http://www.cdc.gov/fluoridation/safety/dental_fluorosis.htm
- [6] Delorenzo M. E., Keller J. M., Arthur C. D., Finnegan M. C., Harper H. E., Winder V. L., Zdankiewicz D.L. 2008. Toxicity of the antimicrobial compound triclosan and formation of the metabolite methyltriclosan in estuarine systems. *Environmental Toxicology*, 23(2):224-232
- [7] Duhigg C. (2012). *The power of habit: why we do what we do in life and business*. New York: Random House.
- [8] Duke S.O. in Olivia A. 2002. Mode of action of phytotoxic terpenoids. *Allelopathy, Chemistry and Mode of Action of Allelochemicals*, CRC, Boca Raton, Florida: 201-216 str.
- [9] Ethier A. A., Muckle G., Bastien C., Dewailly É., Ayotte P., Arfken, C., Saint-Amour D. 2012. Effects of environmental contaminant exposure on visual brain development: A prospective electrophysiological study in school-aged children. *Neurotoxicology*, 33(5):1075-1085
- [10] ENCYCLOPEDIA.COM, <https://www.encyclopedia.com/science/academic-and-educational-journals/stannous-fluoride>
- [11] EWG's Skin Deep. 2020. <https://www.ewg.org/skindeep/>

- [12] Feizi H., Kamali M., Jafari L., Moghaddam P.R. 2013. Phytotoxicity and stimulatory impacts of nanosized and bulk titanium dioxide on fennel (*Foeniculum vulgare* Mill). *Chemosphere*, 91: 506-511
- [13] Food and Drug Administration. 2010. Overview of food ingredients, additives and colors, <http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/FoodAdditivesIngredients/ucm094211.htm>
- [14] Kumar A., Singh S., Thumar G., Mengji A. 2015. Bioactive Glass Nanoparticles (NovaMin®) for Applications in Dentistry. *Journal of Dental and Medical Sciences*, 14(8):30-35
- [15] Manzer H., Siddiqui iMohamed H., Al-Whaibi. 2014. Role of nano-SiO₂ in germination of tomato (*Lycopersicum esculentum* seeds Mill.). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21(1): 13-17
- [16] Nicole W. 2013. Secret ingredients: Who knows what's in your food? *Environmental Health Perspectives*, 121(6):A126-33
- [17] Poschenrieder C., Cabot C., Martos S., Gallego B., Barceló J. 2013. Do toxic ions induce hormesis in plants?. *Plant Science*, 212: 15-25
- [18] PubChem. 2020. National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [19] Ramirez A. 1990. All About/Toothpaste; Growth Is Glacial, but the Market Is Big, and So Is the Gross. *New York Times*, <http://www.nytimes.com/1990/05/13/business/all-about-toothpaste-growthis-glacial-but-the-market-is-big-and-so-is-the-gross.html?pagewanted=all>
- [20] Roohizadeh G., Majd A., Arbabian S. 2015. The effect of sodium silicate and silica nanoparticles on seed germination and some of growth indices in the *Vicia faba*. *Tropical Plant Research*, 2(2): 85-89
- [21] SCCS. 2015. The SCCS Notes of Guidance for the Testing of Cosmetic Ingredients and Their Safety Evaluation 9th Revision.
- [22] SM-Cocoyl Taurate Powder. Safety Data Sheet according to Federal Register. 2015. MakingCosmetics, <http://www.makingcosmetics.com/msds/sds-sodium-methyl-cocoyl-taurate-powder.pdf>

- [23] Sodium methyl cocoyl taurate. 2020. Putacy,
<https://ingredients.putacy.com/ingredient/sodium-methyl-cocoyl-aurate>
- [24] Surbhi S. 2017. Difference Between T-test and ANOVA. Key differences.
<https://keydifferences.com/difference-between-t-test-and-anova.html>
- [25] The Role of Stannous Fluoride in Maintaining Oral Health. 2014. Pharmacy Times,
https://www.pharmacytimes.com/publications/issue/2014/August2014/R648_August2014
- [26] Yang Z., Chen J., Dou R., Gao X., Mao C., Wang L. 2015. Assessment of the Phytotoxicity of Metal Oxide Nanoparticles on Two Crop Plants, Maize (*Zea mays* L.) and Rice (*Oryza sativa* L.). International Journal of Environmental Research and Public Health, 12: 15100-15109

PRILOGE

Priloga 1: Lastnosti meritev dolžin korenin združenih podatkov

Ime	Število	Povprečje [cm]	SD [cm]	SE [cm]
Kontrola	43	12,218605	2,530223	0,38585533
0,1%	45	11,833333	4,701934	0,70092291
1%	4	8,05	4,022023	2,01101135
10%	2	0,5	0	0

Priloga 2: Rezultati testiranja homogenosti variance narejeni z modificirano verzijo Levenovega testa za dolžine korenin

F	DFn	DFd	P
41,20112	3	90	$7,51 \times 10^{-17}$

Priloga 3: Rezultati Post hoc testa Holm-Šidak za dolžine korenin

Skupina 1	Skupina 2	Critical	P	Significant?
Kontrola	10%	0,0085124	$7,39 \times 10^{-8}$	Yes

0,1%	10%	0,0102062	0,001537	Yes
Kontrola	1%	0,0127415	0,004358	Yes
1%	10%	0,0169524	0,066561	No
0,1%	1%	0,0253206	0,126521	No
Kontrola	0,1%	0,05	0,635663	No

Priloga 4: Zbrani podatki vseh primerjanih parov za testiranje signifikantnosti razlik dolžin korenin s t-testi. Pari so navedeni v prvi vrstici. Oznaka K – je oznaka za kontrolo. Z odebeljeno rdečo črto je označen test na katerega smo se osredotočili.

Priloga 5: Lastnosti meritev dolžin poganjkov združenih podatkov

	1%	0,1%	10%	1%	10%							
Povprečje	12,22	11,83	12,22	8,05	12,22	0,5	11,83	8,05	11,83	0,5	8,05	0,5
Varianca	6,40	22,11	6,40	16,18	6,40	0	22,11	16,18	22,11	0	16,18	0
Število meritev	43	45	43	4	43	2	45	4	45	2	4	2
Stopnje prostosti	68	3	42	4	44	3						
t vrednost	0,48	2,04	30,37	1,78	16,17	3,75						
p vrednost (enostranski test)	0,32	0,07	$1,64 \times 10^{-30}$	0,08	$1,98 \times 10^{-20}$	0,02						
"t Critical" enostranski	1,67	2,35	1,68	2,13	1,68	2,35						
p vrednost (dvostranski test)	0,63	0,13	$3,28 \times 10^{-30}$	0,15	$3,96 \times 10^{-20}$	0,03						
"t Critical" dvostranski	2,00	3,18	2,02	2,78	2,02	3,18						
SD	2,530	4,70193	2,5302	4,0220	2,5302	0	4,7019	4,0220	4,7019	0	4,0220	0
SE	0,385	0,70092	0,3858	2,01101	0,38586	0	0,70092	2,01101	0,70092	0	2,01101	0

Ime	Število	Povprečje [cm]	SD [cm]	SE [cm]
Kontrola	43	11,934884	4,791604	0,7307128
0,1%	45	8,86222222	4,8253257	0,7193171
1%	4	2,625	1,9972898	0,9986449
10%	2	0	0	0

Priloga 6: Rezultati testiranja homogenosti variance narejeni z modificirano verzijo Levenovega testa za dolžine poganjkov

F	DFn	DFd	P
14,20797	3	90	$1,17 \times 10^{-7}$

Priloga 7: Rezultati Post hoc test Holm-Šidak za dolžine poganjkov

Skupina 1	Skupina 2	Critical	P	Significant?
Kontrola	1%	0,00851244	0,0004018	Yes

Kontrola	10%	0,01020622	0,0011487	Yes
Kontrola	0,1%	0,01274146	0,0035715	Yes
0,1%	10%	0,01695243	0,0135446	Yes
0,1%	1%	0,02532057	0,014246	Yes
1%	10%	0,05	0,1545869	No

Priloga 8: Zbrani podatki vseh primerjanih parov za testiranje signifikantnosti razlik med dolžinami poganjkov s t-testi. Pari so navedeni v prvi vrstici. Oznaka K – je oznaka za kontrolo. Z odebeljeno redečo črto je označen test na katerega smo se osredotočili.

	K	0,1%	K	1%	K	10%	0,1%	1%	0,1%	10%	1%	10%
Povprečje	11,93	8,86	11,93	2,63	11,93	0	8,86	2,625	8,86	0	2,625	0
Varianca	22,96	23,28	22,96	3,99	22,96	0	23,28	3,99	23,28	0	3,99	0
Število meritev	43	45	43	4	43	2	45	4	45	2	4	2
Stopnje prostosti	86		7		42		7		44		3	
t vrednost	3,00		7,52		16,33		5,07		12,32		2,63	
p vrednost (enostranski test)	0,002		6,73x10 ⁻⁵		4,20x10 ⁻²⁰		0,0007		3,68x10 ⁻¹⁶		0,04	
"t Critical" enostranski	1,66		1,89		1,68		1,89		1,68		2,35	
p vrednost (dvostranski test)	0,004		0,0001		8,40x10 ⁻²⁰		0,001		7,36x10 ⁻¹⁶		0,08	
"t Critical" dvostranski	1,99		2,36		2,02		2,36		2,02		3,18	
SD	4,79160	4,8253	4,7916	1,9972	4,791	0	4,8253	1,99729	4,82532	0	1,9972	0
SE	0,73071	0,7193	0,7307	0,9986	0,730	0	0,7193	0,9986	0,71931	0	0,9986	0

VPLIV USTNE VODICE »Listerine« NA KALITEV IN RAST BOŽIČNEGA ŽITA

Avtorja: Nuša Papler in Urša Šipec

Izveček

- Namen dela je bil testirati vpliv Listerina na kalitev in rast božičnega žita.
- Božično žito sva kalili v kartonskih kalilnikih, v različnih redčitvah Listerina (10x, 100x, 1000x redčen), neredčenem Listerinu in vodovodni vodi (kontrola).
- Za statistično obdelavo sva uporabili statistično orodje: Daniel's XL Toolbox, add-in for the Microsoft® Excel® spreadsheet software; izvedli sva enosmerno analizo variance (ANOVA).
- V 1000x redčitvi se rast poganjkov in korenin ni statistično značilno razlikovala od kontrole, medtem ko se pri 100x redčitvi je. Število korenin je bilo v 1000x redčitvi več, kot v kontroli in 100x redčitvi, medtem ko se kontrola in 100x redčitev v tem parametru nista statistično značilno razlikovali.

Uvod

Gospodinjske kemikalije predstavljajo še ne dovolj raziskan vir onesnaževanja okolja. Ljudje jih uporabljamo vsakodnevno, nekateri v večjih, drugi v manjših (bolj okolju prijaznih) količinah. Problem predstavljajo ob nekontroliranih izpustih v okolje (vsakodnevne kemikalije npr. v avtokampih), ali izpustih z odpadno vodo (npr. domače čistilne naprave).

Listerine je ustna vodica, poimenovana po dr. Joseph-u Lister-ju, slednji je znan po tem, da je uvedel razkuževanje kirurškega pribora, pred tem pa je prvi začel z razkuževanjem (kirurških) ran, podatki namreč segajo v leto 1865. Podatke o antiseptikih je objavil, tako sta izumitelja Listerina (dr. Joseph Joshua Lawrence, kirurg, in Robert Johnson, farmacevt) prišla do ideje o ustni vodici, ki zavira rast mikrobov in s tem preprečuje številne ustne bolezni. Listerine je na voljo od leta 1876, vendar je bil zaradi takrat visoke koncentracije etanola (>40%) dostopen le z receptom. Vsebnost alkohola so od takrat znatno znižali, vendar so točni podatki o razmerjih med sestavinami nedostopni. V več kot 140 letih prodaje Listerina so na trg sprostili tudi veliko različnih tipov le tega (LF 2018).

Za projekt sva si izbrali: Total Care Clean Mint, z alkoholom. Poleg slednjega pa vsebuje še sorbitol, Poloxamer 407, benzojsko kislino, cinkov klorid, eucalyptol, aromo, natrijev saharin, metil salicilat, timol, mentol, natrijev fluorid, natrijev menzoat, sukralozo, propilen glikol,

CI16035 in CI24090. V nadaljevanju so opisane posamezne sestavine, in njihova potencialna fitotoksičnost, ki jo s tem projektnim delom preverjava.

V Listerinu naj bi bilo razmerje alkohola proti vodi okoli 3,5:1 do 10:1, skupni volumen vode in alkohola pa naj bi predstavljal 80-99% celotnega volumna Listerina. Glede na patente za Listerine, ki sva jih našli sklepava, da je alkohol, ki je napisan na etiketi etanol (Ibsen et al. 1998). Etanol lahko toksično deluje na celično membrano, poveča namreč njeno fluidnost in lahko poruši ionska ravnovesja, višje koncentracije pa lahko denaturirajo proteine (Saini et al. 2018). Vendar pa se ravno ti učinki lahko tudi izkoriščajo za pospešeno kaljenje semen, kot so to poskusili pri kumarah. Etanol je namreč povečal fluidnost ovoja semena, tako je lahko kalček lažje predrl testo inostale ovire. Vendar pa so z etanolom seme tretirali krajše obdobje, ni bilo konstantno izpostavljeno tako kot v najinem primeru. (Sreenivasulu and Amritphale 1999). Ob konstantni izpostavljenosti semena etanolu pa so zabeležili zavrtje kaljenja. Etanol naj bi namreč podaljšal anoksično fazo kalitve v rastočem tkivu, v mitohondriju pa znižal raven fosforilacije ADP (Kern et al. 2009).

Sorbitol je Listerinu dodan kot sladilo (tudi sicer je to eno od umetnih sladil), saj nekatere druge sestavine močno povišajo grenkobo Listerina. Je sladkorni alkohol (poliol), ki ga med drugim producirajo tudi rastline (skupaj z manitolom spada med primarne fotosintetske produkte zrelih listov). V nekaterih primerih so opazili povečano produkcijo sorbitola med izpostavitvijo rastline suši (Noiraud et al. 2001). Sorbitol naj bi namreč v celicah deloval kot kompatibilni topljenec, ter tako osmoprotektant. (Bueno et al. 2017). Raziskave poročajo tudi o gojiščih s sorbitolom, kot izboljšanim načinom ohranjanja tkivnih kultur. Ko se sorbitol namreč doda v medij (v dovolj visoki koncentraciji, od 20 do 40 g/L) dovolj veže vodo, ki je tako manj dostopna tkivni kulturi, posledično je rast počasnejša, kar je v gojiščih za ohranjanje kultur zaželeno (El-Bahr et al. 2016). Uporablja se tudi pri tehniki osmopriminga. To je tehnika, kjer semena tretirajo z raztopino sladkorja (npr. sorbitol, manitol idr.). Aktivirajo se pred kalitveni metabolni procesi, vendar zaradi znižane dostopnosti vode do same kalitve ne pride. Ko se tako pre-tretirana semena poseje na polje, pride do hitrejše in enakomernejše kalitve (Ashraf and Foolad 2005). Sorbitol torej zaradi nižanja vodne aktivnosti predstavlja snov, ki pripomore k obvladovanju osmotskega stresa, vendar pa ga je v Listerinu relativno malo.

Poloxamer 407 je surfaktant. V ustnih vodih je po navadi surfaktantov manj kot 1% (Ibsen et al. 1998). So biokompatibilne molekule, sestavljene iz hidrofobnega in hidrofilnega dela

(surfaktanti) in kot take lahko vplivajo na celično membrano (Torcello-Gómez et al. 2014). Med študijami vpliva na okolje naj bi bil EC50 pri algah večji kot 970 mc/L (Spectrum, 2018).

Benzojska kislina je Listerinu dodana kot učinkovina s protimikrobnim delovanjem, po starejših podatkih naj bi je bilo manj kot 1%, vendar se z nižanjem alkohola v ustnih vodah povečuje deleže ostalih protimikrobnih snovi (Ibsen et al. 1998). Naravno se pojavlja v tleh zaradi rastlinske sinteze in razgradnje rastlinskega materiala. Fenolne spojine naj bi povzročale fitotoksičnost, kar so pokazali v raziskavi na kumarah, kjer so opazili zavrtje rasti po zaporedni uporabi zemlje. Kot vzrok zavrtja so identificirali benzojsko kislino in njene derivate. Kljub temu pa so v primeru testiranja kaljivosti zaznali povišan delež le te v primeru dodatka benzojske kisline (Maffei et al. 1999). Benzojska kislina naj bi povzročala lipidno peroksidacijo, prav tako so zaznali povišano aktivnost antioksidativnih encimov (se pravi je kislina sprožila obrambo rastline), znižano raven fotosinteze in pigmentov. Pri breskvah naj bi spremenila tudi ultrastrukturo korenin ob kalitvi. V koreninski kapici so tako z elektronskim mikroskopom opazili deformirane mitohondrije in podaljšane plastide (Zhu et al. 2017).

Cinkov klorid je sol, dobro topna v vodi, kjer disociira na Zn^{2+} in Cl^- . V ustne vodice se dodaja zaradi cinka, ki deluje protimikrobno (npr. proti bakteriji *Streptococcus mutans*, glavni povzročitelj kariesa) (Almoudi et al. 2018). Cinkovi ioni naj bi že sami po sebi zavirali kaljenje. Kjer ga samo malo, pa povzroča tudi kasnejše zavrtje rasti, morfološke spremembe in pogosto akumulacijo v različnih delih rastlin. Poveča se tudi aktivnost superoksid dismutaze, katalaze in podobnih encimov stresnih odgovorov. Pri višjih koncentracijah pa povzroča poškodbe DNA (Nanda and Agrawal 2016). Vendar pa ima denimo pšenica že sama po sebi kar visoko raven cinka v samem semenu (Lemmens et al. 2019), zato bi verjetno posledice povzročala višja koncentracija cinkovega klorida.

Metil salicilat v Listerinu služi kot dodatna protimikrobna učinkovina. (Ibsen et al. 1998). Je salicilna kislina z vezano metilno skupino. Salicilna (ter metil salicilna) kislina je rastlinska fenolna signalna molekula, prav tako pa ima vlogo rastnega regulatorja (sodeluje v različnih rastnih, metabolnih in obrambnih sistemih v rastlini) (Arif et al. 2020). Produkcija metil salicilata v rastlinah je pogost stresni odgovor. Rastline metil salicilat tako proizvajajo ob različnih abiotičnih (povečana slanost, težke kovine, suša, nizke in visoke temperature in UV stres) in biotičnih stresnih pogojih.

Veliko raziskav je bilo narejenih na tretiranju semen z metil salicilatom pred kaljenjem, ali pa dodajanjem le tega v substrat kjer so semena. Študije so usmerjene predvsem v povečanje

odpornosti semen pred in med kaljenjem, ter na začetku rasti. Tako so npr. pri rižu zaznali povečano rast korenin in poganjkov (v primerjavi z netretiranimi) ob tretiranju z metil salicilatom, če so semena in kasneje poganjke izpostavili osmotskemu stresu (slanemu okolju). Ta opažanja so sovpadala tudi z merjenjem količine amilaze v semenih na začetku kaljenja. Encim je namreč ključen v začetnih stopnjah kalitve, pri semenih z metil salicilatom pa so zaznali večje količine encima (Thi Thu et al. 2020).

Timol je naravni fenolni monoterpen, deluje protimikrobno, protivnetno in kot antioksidant. Je glavna komponenta esencialnih olj iz mnogih rastlin (Boye et al. 2020). Njegovo antioksidativno delovanje bi lahko uporabili v kmetijstvu na področju tehnologij za zaščito semen. Kalitev semena vključuje mnogo procesov, ko se membrana reorganizira in metabolizem se reaktivira, to vodi v povišano tvorbo ROS, ki lahko škodijo živosti semena (Ferreira Lima, Macedo, and Silva 2019). V raziskavi, kjer so preverjali vpliv timola na povišanje tolerance na slanost pri rižu, so ugotovili, da je timol blažil poškodbe celične membrane, oksidativni stres, akumulacijo ROS in celično smrt pri koreninah rastlin, ki so bile izpostavljene povišani slanosti. Poleg tega se je s tretiranjem s timolom znatno znižala vsebnost Na⁺ ionov v koreninskih celicah rastlin ob povišani slanosti (preko modulacije toka Na⁺ ionov v koreninske celice)(Cheng et al. 2020).

Esencialna olja, kot sta evkaliptol in mentol v Listerinu predstavljajo tudi aktivne snovi s protimikrobnim delovanjem (Ibsen et al. 1998). Evkalpitol je aromatska komponenta (mopnoterpen) mnogih rastlin, najbolj jo poznamo pri evkaliptusu. (Salehi et al. 2019). Monoterpeni so zelo hlapni, lipofilni in vseeno zmerno topni v vodi. Ravno zaradi lipofilnosti pa potencialno lahko vplivajo na delovanje membran (Rac 2019). Opravljene so bile tudi že raziskave, kjer so testirali evkaliptol kot potencialno protiglivno in herbicidno sredstvo, saj naj bi deloval že v zelo majhnih koncentracijah (Pojeć et al. 2019).

Mentol je ciklični monoterpenski alkohol, prisoten je kot ena izmed glavnih komponent esencialnih olj rastlin *Mentha canadensis* L. in *M. x piperita* L. (popriva meta). Naravno je mentol izoliran ekskluzivno iz rastline *Mentha canadensis*, lahko pa je tudi sintetiziran na industrijski ravni tekom različnih procesov. Uporablja se kot ojačevalec okusov in/ali kot molekula s hladilnim učinkom v farmacevtiki, kozmetiki, zobnih pastah, cigaretih, pesticidih idr. Rastline, ki proizvajajo mentol izkazujejo različne biološke značilnosti, kot so antimikrobna, protirakava in protivnetna aktivnost, te rastline se uporabljajo tudi kot repelenti insektov in fumiganti (Kamatou et al. 2013). V raziskavi, kjer so preverjali fitotoksičnost

različnih esencialnih olj, med drugim tudi esencialno olje poprove mete, ki vsebuje 48,23% mentola, so dokazali popolno zavrtje kalitve

L. multiflorum (mnogocvetna ljujka). Nizke doze esencialnih olj poprove mete bi lahko služile kot trajnostna alternativa sintetičnim agro-kemikalijam za zatiranje *L. multiflorum* (Ibáñez and Blázquez 2018).

Natrijev fluorid (NaF); Fluorid (F) je anion iz skupine halogenov, naravno se pojavlja v obliki natrijevega fluorida ali vodikovega fluorida (Lal et al. 2018). Fluor je neesencialen element za rastline. Fluorid in njegove spojine so najbolj fitotoksična onesnažila v zraku in tleh, zavirajo kalitev semen, rast rastlin, povzročajo nekrozo tkiv, klorozo, zavirajo fotosintezo in respiracijo (Dulska et al. 2019). V raziskavi, kjer so preverjali vpliv različnih koncentracij natrijevega fluorida na kalitev semen in razvoj kalčkov navadne pšenice, so ugotovili, da se z višanjem koncentracije NaF kažejo fitotoksični efekti na fizioloških in biokemičnih parametrih. NaF lahko vpliva na razvojne procese tekom kalitve, vplival naj bi na metabolizem ogljikovih hidratov (Bhargava et al. 2010). Do podobnih ugotovitev so prišli tudi v raziskavi, kjer so testirali vpliv različnih koncentracij NaF na kalitev in razvoj kalčkov pri čičeriki in ječmenu, večji vpliv NaF je bil zaznan pri čičeriki (Lal and Sachan 2018).

Natrijev benzoat (NaB) je spojina, ki se naravno pojavlja v rastlinah, kot so borovnice, jabolka, brusnice in cimet. Deluje antiseptično, fungicidno in baktericidno. Benzojska kislina in njeni derivati, kot je NaB se pogosto uporabljajo kot konzervansi v hrani in pijači. NaB je zelo lipofilna molekula in lahko prodira skozi celično membrano (Moschetto et al. 2019). Študija na primeru koruze je pokazala, da nizke koncentracije (3 g L⁻¹) NaB zavirajo razgradnjo in izgube klorofila, ohranja relativno visoko učinkovitost fotosinteze in zavira oksidativne poškodbe. Naslednja študija je pokazala, da NaB znatno poveča vsebnost topnih proteinov, prostega prolina in malondialdehida (MDA) v kalčkih pšenice in tako zvišal njeno odpornost na stres. Ampak nekatere študije kažejo, da NaB negativno vpliva na rast rastlin, npr. Zaviralni učinek na kalitev česna in graha ter genotoksičnost pri bobu (Liang et al. 2020). V študiji, kjer so preverjali vpliv NaB (koncentracija: 5mM in 10mM) na kalitev riža, so pokazali znižano raven kaljivosti, poleg tega so bile rastline manjše, z manj biomase (Moschetto et al. 2019). Ob stresu s potencialno strupenimi kovinami (Cu²⁺, Pb²⁺, in Cd²⁺; koncentracija 0.8 mmol kg⁻¹ v zemlji) na primeru pšenice, pa so pokazali pozitiven vpliv dodatka NaB (koncentracija 1.58– 3.27 g L⁻¹), povečala se je aktivnost korenin, SOD aktivnost, vsebnost topnih proteinov, prostega prolina in klorofila, kar je vodilo v bolj intenzivno rast pšenice (Liang et al. 2020).

Propilen glikol (PG) je pomirjujoča učinkovina in emulgator, ki ga najdemo v kozmetiki, zdravilih in hrani (Jacob, Scheman, and McGowan 2018). Poleg tega se uporablja tudi kot hladilna tekočina in sredstvo za odmrzovanje. Uporablja se tudi v napravah, namenjenim za vzdrževanje temperature okolja v rastnih komorah. Opravljene so bile laboratorijske študije toksičnosti PG, EG in dveh formuliranih glikolnih spojin, ki se uporabljata kot sredstvo za odmrzovanje pri letalih-ADAF (koncentracije 150, 75, 50 in 49 g L⁻¹). Testne rastline so bile solata, trpežna ljuljka, zelene alge in mala vodna leča, opazen je bil negativen vpliv na rast korenin in kalčkov tako pri PG, EG in ADAF, vendar je bila večja toksičnost opazna pri ADAF, kar kažena to, da vsebuje še dodatne komponente z bolj toksičnimi lastnostmi kot glikoli. V naslednji študiji, pa so opazili toksične lastnosti PG v plinastem stanju na koruzo in sojo. Tekoč PG je puščal iz sistema za hlajenje in se uplinil ter ostal ujet v polzaprti rastni komori. Na robovih listov koruze se je pojavila kloroza in kasneje vodila v nekrozo, pri soji so bili simptomi nekoliko drugačni, kloroza ni bila uniformno razporejena po vseh listih, nekateri listi so se nagrbančili, na drugih so se pojavile bele pike (Niu, McConnell, and Reddy 2005).

Cilj in hipoteze

Cilj: Testirati vpliv ustne vodice Listerine na kalitev in rast božičnega žita.

Hipoteze:

1. Listerine bo vplival na kaljenje semen, rast poganjkov in korenin.
2. Z višanjem koncentracije Listerine se bo kaljivost semen nižala.
3. Semena v kontroli (v vodi) bodo kalila v največji meri.
4. Korenine in poganjki bodo najdaljši v primeru kontrole.
5. V neredčenem Listerinu semena ne bodo kalila.
6. V 10x redčenem Listerinu semena ne bodo kalila.
7. V 100x redčenem Listerinu bodo semena kalila, vendar bodo korenine in poganjki značilno manjši v primerjavi s kontrolo.
8. V 1000x Listerinu bodo semena kalila, vendar bodo korenine in poganjki značilno manjši v primerjavi s kontrolo.

Metode in materiali

Metode

Za določanje vpliva ustne vodice Listerine na rast in kalitev rastlin sva izbrana semena božičnega žita (pšenica) gojili v prisotnosti različnih koncentracij Listerina, vodovodne vode in neredčenega Listerina.

Priprava različnih raztopin Listerina:

- za pripravo redčitev sva uporabili žlice (1 žlica predstavlja cca 10g),
- 0,1: 5 žlic Listerine + 0,5l vode (oznaka: 0,1),
- 0,01: 5 žlic 0,1 rtp. + 0,5l vode (oznaka: 0,01),
- 0,001: 5 žlic 0,01 rtp. + 0,5l vode (oznaka: 0,001).

Pripravljene redčitve smo uporabili za vlaženje kalilnikov (karton), poleg pripravljenih raztopin, smo karton vlažili tudi z vodovodno vodo (oznaka: Kontrola) in neredčenim Listerinom (oznaka: 1 (Listerine)).

Priprava kalilnika: Pripravili sva 5 kalilnikov, v dveh paralelkah in sicer tako, da sva narezali vsaka po 5 kartonov, v velikosti cca 50 cm x 20 cm. Semena sva razporedili vzdolž daljše stranice kartona (2 cm med semeni, 2 cm od zgornjega roba). Karton sva navlažili (čopič) z ustrežno raztopino, vodovodno vodo ali neredčenim Listerinom in čez semena položili papirnate brisačke (fiksacija semen). Kartone sva zavili (kalilnik) in jih prenesli v kozarce z ustrežno raztopino, vodovodno vodo ali neredčenim Listerinom (kalilnik namočen v vsaj 5 cm tekočine).

Kalilnike sva redno zalivali, tako da je bil kalilnik namočen v vsaj 5 cm ustrezne tekočine. Poskus je trajal od 27.4.2020 do 5.5.2020 (8 dni), tako da so poganjki segali vsaj 5 cm iz kalilnika.

Materiali

- karton
- aluminijasta folija
- papirnate brisačke
- gumice
- ravnilo

- škarje
- čopič
- kozarci
- merilna posoda
- žlica
- semena: Božično žito, Semenarna ljubljana
- -Listerine - Total Care Clean Mint (ustna voda za popolno zaščito zob 6 v 1)
- statistično orodje: Daniel's XL Toolbox, add-in for the Microsoft® Excel® spreadsheet software; izvedli sva enosmerno analizo variance (ANOVA)



Slika 1: Materiali za pripravo kalilnika



Slika 2: Pripravljeni kalilniki.

Rezultati

Slike kalilnikov

Že na prvi pogled je pri obeh kalilnikih (slika 3, slika 4) po 8 dneh opazna rast pri kontroli, 1000x redčenem in 100x redčenem Listerinu.



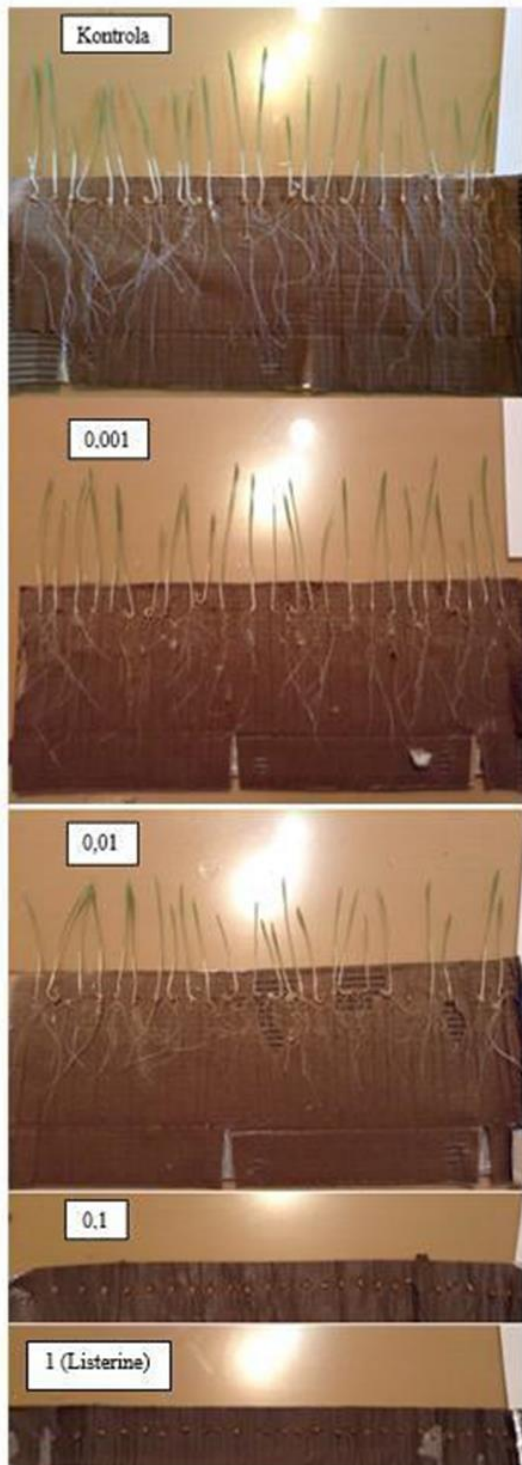
Slika 3: Kalilniki Urša po osmih dneh (priprava opisana v točki 4.1).

Kalilniki iz leve proti desni: kontrola, 1000x redčitev, 100x redčitev, 10x redčitev, neredčen Listerine.



Slika 4: Kalilniki Nuša po osmih dneh (priprava opisana v točki 4.1).

Kalilniki iz leve proti desni: neredčen Listerine, 10x redčen, 100x redčen, 1000x redčen, kontrola.

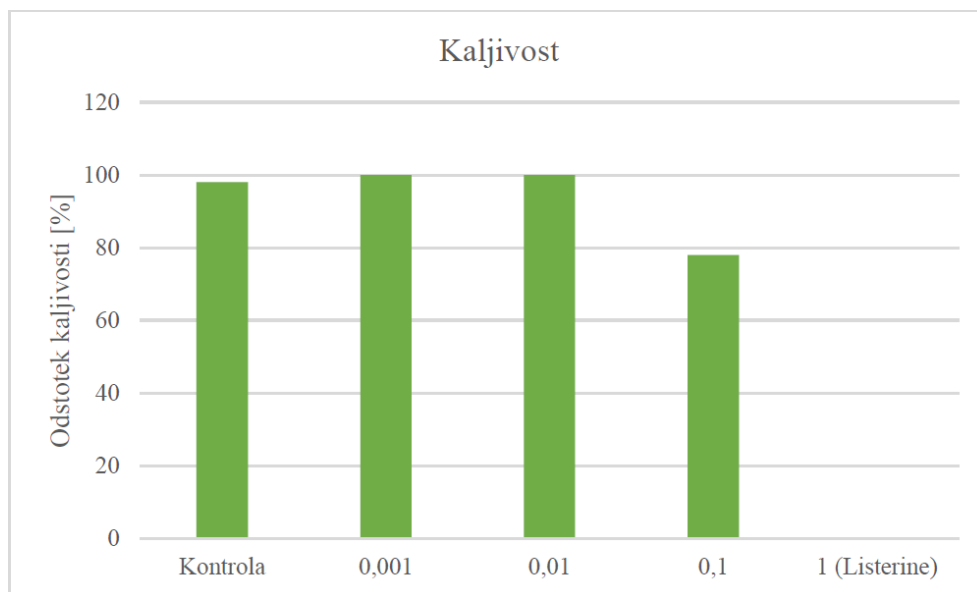


Slika 5: Prikaz rasti semen božičnega žita v različnih koncentracijah Listerina (redčitev: 10x, 100x in 1000x), vodovodni vodi in neredčenem Listerinu za kalilnike Urša.



Slika 6: Prikaz rasti semen božičnega žita v različnih koncentracijah Listerina (redčitev: 10x, 100x in 1000x), vodovodni vodi in neredčenem Listerinu za kalilnike Nuša.

Kaljivost



Graf 1: Odstotek kaljivosti semen za kontrolo in posamezne redčitve (združeni podatki kalilnikov).

	Kalilni ki - Nuša [%]	Kalilni ki - Urša [%]	Povpre čje [%]	Varian ca	Standar dn a napaka
Kontrola	100	96	98	4	2
0,001	100	100	100	0	0
0,01	100	100	100	0	0
0,1	100	56	78	484	22
1 (Listerine)	0	0	0	0	0

Tabela 1: Podatki za posamezne kalilnike in izračunana standardna napaka.

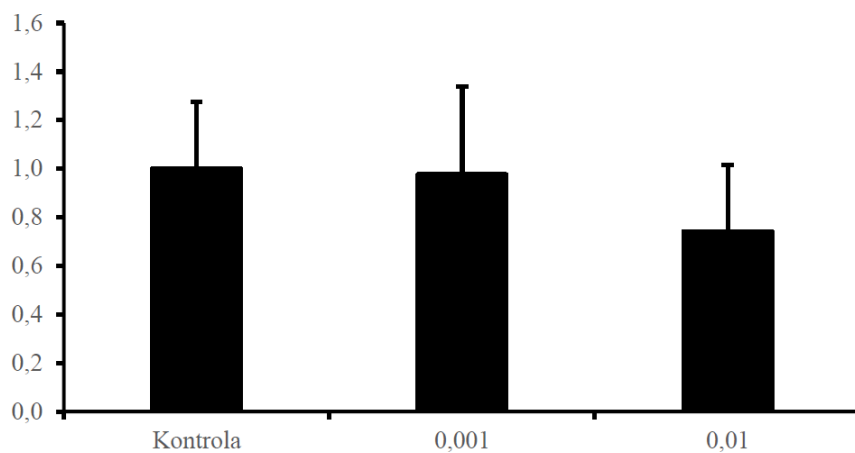
Pri kontroli ni kalilo le eno seme, pri 1000x in 100x redčitvi pa so kalila vsa semena. Pri 10x redčenem Listerinu se je kaljivost statistično značilno zmanjšala, pri neredčenem Listerinu pa ni kalilo nobeno seme.

Statistična analiza

Korenine: enosmerna analiza variance (ANOVA)

Name	Count	Avg.	SD
Kontrola	49	1	0,274337
0,001	50	0,976969	0,360516
0,01	50	0,742707	0,272139

Tabela 2: Število posameznih meritev, povprečja in standardni odkloni.



Graf 2: Povprečja dolžin korenin s standardnimi odkloni.

F	DFn	DFd	P
1,857908	2	14	0,1596
52		6	6
6			8

Tabela 3: Rezultati testa homogenosti variance.

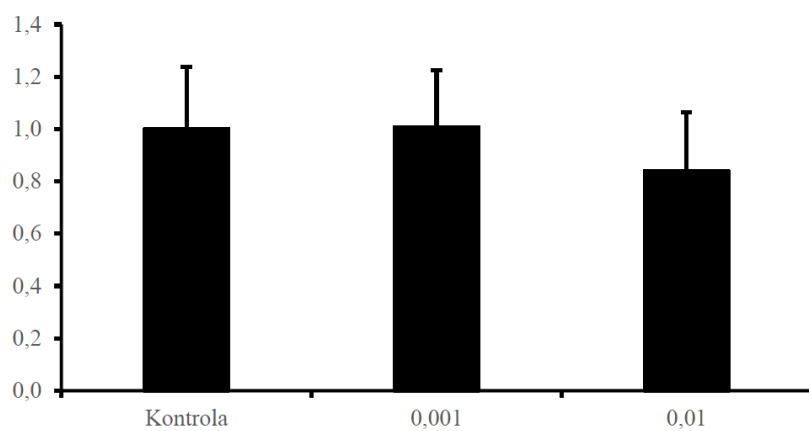
Group 1	Group 2	Critical	P	Significant ?
Kontrola	0,01	0,016952	9,14E-06	Yes
0,001	0,01	0,02531	0,00039	Yes
Kontrola	0,001	0,05	0,72173	No

Tabela 4: Rezultati testa Post-hoc (Holm-Šidak).

Poganjki: enosmerna analiza variance (ANOVA)

Name	Count		Avg.	SD
Kontrola	49	1	0,23720	3
0,001	50		1,00729	0,21632 3
0,01	50		0,83954	0,22481 5

Tabela 5: Število posameznih meritev, povprečja in standardni odkloni.



Graf 3: Povprečja dolžin poganjkov s standardnimi odkloni.

F		DFn	DFd	P
0,643823		2	14	0,5267
07			6	6
9				5

Tabela 6: Rezultati testa homogenosti variance.

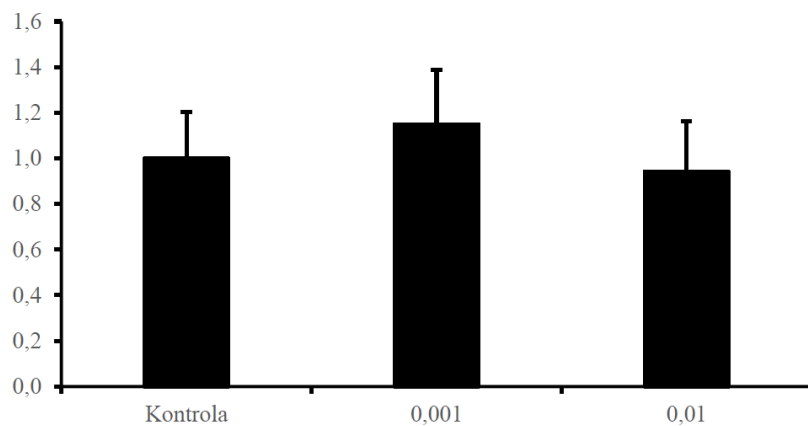
Group 1	Group 2	Critical	P	Significant ?
0,001	0,01	0,016952	0,00025	Yes
Kontrola	0,01	0,025321	0,00087	Yes
Kontrola	0,001	0,0055	0,87331	No

Tabela 7: Rezultati testa Post-hoc (Holm-Šidak).

Število korenin: enosmerna analiza variance (ANOVA)

Name	Count	Avg.	SD
Kontrola	49	1,020309	0,203029
0,001	50	1,14899	0,240139
0,01	50	0,942034	0,221166

Tabela 8: Število posameznih meritev, povprečja in standardni odkloni.



Graf 4: Povprečja števila korenin s standardnimi odkloni.

F	DFn	DFd	P
0,680342	2	14	0,5080
39		6	4
7			2

Tabela 9: Rezultati testa homogenosti variance.

Kontrola	0,001	0,0253	0,0012	Yes
		2	2	
		1	8	
Kontrola	0,01	0,0	0,1777	No
		5	0	
			5	

Tabela 10: Rezultati testa Post-hoc (Holm-Šidak).

Skupni komentar rezultatov statističnih analiz

Zgornji testi so pokazali, da med skupinami meritev (kontrola, redčitev 0,001 in redčitev 0,01), znotraj kategorije (korenine, poganjki, število korenin) lahko predpostavimo enake variance, p vrednost povsod presega 0,05 (tabele: 2,5 in 8). Tako lahko predpostaviva, da znotraj rezultatov ni statistično značilnih odstopanj, ki bi preprečevala zanesljivost nadaljnjih testov.

Rezultati Pot-hoc testa so v primeru kategorij korenine in poganjki pokazali statistično značilne razlike med skupinami meritev:

- Kontrola in 0,01 (tabeli: 4 in 7)
- 0,001 in 0,01 (tabeli: 4 in 7)

Na podlagi rezultatov lahko trdimo, da 1000x redčen Listerine na rast korenin in poganjkov ni statistično značilno vplival, medtem ko 100x redčen je, in sicer v negativno smer (korenine in poganjki so manjši). Rast korenin in poganjkov je bila tako statistično značilno zavrta od 100x redčitve naprej.

Rezultati Post-hoc testa v primeru kategorije števila korenin pa so pokazali statistično značilne razlike med skupinami meritev:

- Kontrola in 0,001 (tabela 10)
- 0,01 in 0,001 (tabela 10)

Na podlagi rezultatov lahko trdimo, da je na število korenin 1000x redčen Listerine vplival v pozitivnem smislu (večje število korenin), medtem ko večja koncentracija Listerina (100x redčen) ni.

Diskusija

Kaljivost semen pri višjih koncentracijah Listerina (1 in 0,1) je po pričakovanjih (glede na podatke iz literature, ki so opisani zgoraj) nižja. Sestavine Listerina so skupaj verjetno povzročile znatno znižano vodno aktivnost (sploh pri neredčenem), zato se mogoče sploh niso pričele prve stopnje kaljenja. V primeru 10x redčenega Listerina je glede na podatke o kaljivosti, do le te prišlo, vendar poganjki in korenine niso zrastle (seme se je le odprlo).

Pri analizi števila korenin se je pri 1000x redčenem Listerinu v primerjavi s kontrolo izkazalo da gre za statistično značilno razliko, in sicer je pri 1000x redčenem Listerinu v povprečju več korenin, kot pri kontroli. Predvidevava, da gre za hormezo, oziroma zgoraj opisan osmopriming s sorbitolom in ostalimi osmoprotektanti (Agathokleous, Kitao, and Calabrese 2019).

Analiza združenih podatkov (ANOVA) je pokazala statistično značilno znižanje rasti tako korenin kot poganjkov z višanjem koncentracije Listerina. Verjetno je imel največji doprinos k toksičnosti NaF (potencialna fitotoksičnost je opisana v literaturnem pregledu), ki je tudi sicer na embalaži Listerina naveden kot aktivna učinkovina. Prav tako je Listerine znižal vodno aktivnost, oziroma povzročal osmotski stres. O sinergističnem delovanju sestavin Listerina na bioto v splošnem nisva našli podatkov, vendar glede na količino hidrofobnih snovi in surfaktantov lahko predvidevava, da je Listerine v višjih koncentracijah vplival tudi na biološke membrane.

Z gojenjem božičnega žita v kalilnikih sva nadaljevali tudi po vseh opravljenih meritvah. Poganjki pri kontroli, 1000x in 100x redčitvi Listerina so rasli naprej, pri 10x redčitvi pa sva po 18 dnevih od pričetka poskusa (10 dni po uradnem zaključku poskusa) pri vsakem kalilniku opazili le en poganjek (se pravi sta zrasla 2 od 50). Opažanja v statistično obdelavo rezultatov nisva vključili, ker je do rasti poganjka prišlo po zaključenem poskusu.

Ovržene oziroma potrjene hipoteze

Listerine bo vplival na kaljenje semen, rast poganjov in korenin.	Potrjena.
Z višanjem koncentracije Listerine se bo kaljivost semen nižala.	Potrjena.
Semena v kontroli (v vodi) bodo kalila v največji meri.	Ovržena.
Korenine in poganjki bodo najdaljši v primeru kontrole.	Ovržena, ANOVA ni podala signifikantnih sprememb med kontrolo in 1000x redčitvijo.

V neredčenem Listerinu semena ne bodo kalila.	Potrjena.
V 10x redčenem Listerinu semena ne bodo kalila.	Ovržena.
V 100x redčenem Literinu bodo semena kalila, vendar bodo korenine in poganjki signifikantno manjši v primerjavi s kontrolo.	Potrjena.
V 1000x Literinu bodo semena kalila, vendar bodo korenine in poganjki signifikantno manjši v primerjavi s kontrolo.	Ovržena.

Tabela 11: Ovržene oziroma potrjene hipoteze.

Literatura

Agathokleous, Evgenios, Mitsutoshi Kitao, and Edward J. Calabrese. 2019. "Hormesis: A Compelling Platform for Sophisticated Plant Science." *Trends in Plant Science*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.01.004>.

Almoudi MM, Hussein AS, Abu Hassan MI, Mohamad Zain N (2018) A systematic review on antibacterial activity of zinc against *Streptococcus mutans*. *Saudi Dent J* 30:283–291. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2018.06.003>

Arif Y, Sami F, Siddiqui H, et al (2020) Salicylic acid in relation to other phytohormones in plant: A study towards physiology and signal transduction under challenging environment. *Environ Exp Bot* 175:104040. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104040>

Ashraf M, Foolad MR (2005) Pre-Sowing Seed Treatment-A Shotgun Approach to Improve Germination, Plant Growth, and Crop Yield Under Saline and Non-Saline Conditions. *Adv Agron* 88:223–271. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(05\)88006-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(05)88006-X)

Bhargava, Devika, Nagendra Bhardwaj, and Nagendra Bhardwaj Effect. 2010. "Of Sodium Fluoride on Seed Germination and Seedling Growth of *Triticum Aestivum* Var. Rajasthan. 4083." *Journal of Phytology* 2010 (4): 41–43. www.journal-phytology.com.

Boye, Alex, Justice Kwaku Addo, Desmond Omame Acheampong, Ama Kyeraa Thomford, Emmanuel Asante, Regina Elorm Amoaning, and Dominic Nkwantabisa Kuma. 2020. "The Hydroxyl Moiety on Carbon One (C1) in the Monoterpene Nucleus of Thymol Is Indispensable for Anti-Bacterial Effect of Thymol." *Heliyon* 6 (3). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03492>.

Bueno M, Lendínez ML, Aparicio C, Cordovilla MP (2017) Germination and growth of *Atriplex prostrata* and *Plantago coronopus*: Two strategies to survive in saline habitats. *Flora Morphol Distrib Funct Ecol Plants* 227:56–63. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2016.11.019>

Cheng, Yan Wei, Xian Wang Kong, Ning Wang, Ting Ting Wang, Jian Chen, and Zhi Qi Shi. 2020. “Thymol Confers Tolerance to Salt Stress by Activating Anti-Oxidative Defense and Modulating Na⁺ Homeostasis in Rice Root.” *Ecotoxicology and Environmental Safety* 188 (January). <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109894>.

Dulska, Justyna, Janusz Wasilewski, Piotr Androsiuk, Wioleta Kellmann-Sopyła, Katarzyna Głowacka, Ryszard Górecki, Katarzyna Chwedorzewska, and Irena Giełwanowska. 2019. “The Effect of Sodium Fluoride on Seeds Germination and Morphophysiological Changes in the Seedlings of the Antarctic Species *Colobanthus Quitensis* (Kunth) Bartl. And the Subantarctic Species *Colobanthus Apetalus* (Labill.) Druce.” *Polish Polar Research* 40 (3): 255–72. <https://doi.org/10.24425/ppr.2019.129673>.

El-Bahr MK, Abd EL-Hamid A, Matter MA, et al (2016) In vitro conservation of embryogenic cultures of date palm using osmotic mediated growth agents. *J Genet Eng Biotechnol* 14:363–370. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2016.08.004>

Bhargava, Devika, Nagendra Bhardwaj, and Nagendra Bhardwaj Effect. 2010. “Of Sodium Fluoride on Seed Germination and Seedling Growth of *Triticum Aestivum* Var. Rajasthan. 4083.” *Journal of Phytology* 2010 (4): 41–43. www.journal-phytology.com.

Boye, Alex, Justice Kwaku Addo, Desmond Omame Acheampong, Ama Kyeraa Thomford, Emmanuel Asante, Regina Elorm Amoaning, and Dominic Nkwantabisa Kuma. 2020. “The Hydroxyl Moiety on Carbon One (C1) in the Monoterpene Nucleus of Thymol Is Indispensable for Anti-Bacterial Effect of Thymol.” *Heliyon* 6 (3). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03492>

Cheng, Yan Wei, Xian Wang Kong, Ning Wang, Ting Ting Wang, Jian Chen, and Zhi Qi Shi. 2020. “Thymol Confers Tolerance to Salt Stress by Activating Anti-Oxidative Defense and Modulating Na⁺ Homeostasis in Rice Root.” *Ecotoxicology and Environmental Safety* 188 (January). <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109894>.

Dulska, Justyna, Janusz Wasilewski, Piotr Androsiuk, Wioleta Kellmann-Sopyła, Katarzyna Głowacka, Ryszard Górecki, Katarzyna Chwedorzewska, and Irena Giełwanowska. 2019. “The Effect of Sodium Fluoride on Seeds Germination and Morphophysiological Changes in the Seedlings of the Antarctic Species *Colobanthus Quitensis* (Kunth) Bartl. And the Subantarctic Species *Colobanthus Apetalus* (Labill.) Druce.” *Polish Polar Research* 40 (3): 255–72. <https://doi.org/10.24425/ppr.2019.129673>.

Ferreira Lima, Eduarda Lee, Willian Rodrigues Macedo, and Geraldo Humberto Silva. 2019. “Effect of Thymol on Soybean Seeds Germination: Physiological and Biochemical Analysis.” *Brazilian Archives of Biology and Technology* 62. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2019180251>.

Ibáñez, María Dolores, and María Amparo Blázquez. 2018. “Phytotoxicity of Essential Oils on Selected Weeds: Potential Hazard on Food Crops.” *Plants* 7 (4). <https://doi.org/10.3390/plants7040079>.

- Jacob, Sharon E., Andrew Scheman, and Maria A. McGowan. 2018. "Propylene Glycol." *Dermatitis* 29 (1): 3–5. <https://doi.org/10.1097/DER.0000000000000315>.
- Kamatou, Guy P.P., Ilze Vermaak, Alvaro M. Viljoen, and Brian M. Lawrence. 2013. "Menthol: A Simple Monoterpene with Remarkable Biological Properties." *Phytochemistry*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.08.005>.
- Kern KA, Pergo EM, Kagami FL, et al (2009) The phytotoxic effect of exogenous ethanol on *Euphorbia heterophylla* L. *Plant Physiol Biochem* 47:1095–1101. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2009.07.002>
- Lal, Nand, and Priti Sachan. 2018. "Effect of Sodium Fluoride on Germination, Seedling Growth and Photosynthetic Pigments in *Cicer Arietinum* L. and *Hordeum Vulgare* L." *MOJ Ecology & Environmental Sciences* 3 (4). <https://doi.org/10.15406/mojes.2018.03.00103>.
- Lemmens E, De Brier N, Spiers KM, et al (2019) Steeping and germination of wheat (*Triticum aestivum* L.). II. Changes in spatial distribution and speciation of iron and zinc elements using pearling, synchrotron X-ray fluorescence microscopy mapping and X-ray absorption near-edge structure imaging. *J Cereal Sci* 90:102843.
- LF V (2018) From Surgical Suite to Fresh Breath: The History of Listerine®. *Int J Dent Oral Heal* 4:1– 7. <https://doi.org/10.16966/2378-7090.263>
- LIANG, Pan pan, Chen ZHAO, Yuan LIN, Ji jia GENG, Yuan CHEN, De hua CHEN, and Xiang ZHANG. 2020. "Effects of Sodium Benzoate on Growth and Physiological Characteristics of Wheat Seedlings under Compound Heavy Metal Stress." *Journal of Integrative Agriculture* 19 (4): 1010–18. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62723-1](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62723-1).
- Maffei M, Margherita Berteà C, Garneri F, Scannerini S (1999) Effect of benzoic acid hydroxy- and methoxy- ring substituents during cucumber (*Cucumis sativus* L.) germination. I. Isocitrate lyase and catalase activity. *Plant Sci* 141:139–147. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(98\)00235-0](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(98)00235-0)
- Moschetto, Fernanda Augusto, Marina Fagundes Lopes, Bruno Pereira Silva, and Milton Costa Lima Neto. 2019. "Sodium Benzoate Inhibits Germination, Establishment and Development of Rice Plants." *Theoretical and Experimental Plant Physiology* 31 (3): 377–85. <https://doi.org/10.1007/s40626-019-00151-z>.
- Nanda R, Agrawal V (2016) Elucidation of zinc and copper induced oxidative stress, DNA damage and activation of defence system during seed germination in *Cassia angustifolia* Vahl. *Environ Exp Bot* 125:31–41. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.02.001>
- Niu, Genhua, Laura McConnell, and Vangimalla R. Reddy. 2005. "Propylene Glycol Vapor Contamination in Controlled Environment Growth Chambers: Toxicity to Corn and Soybean Plants." *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes* 40 (3): 443–48. <https://doi.org/10.1081/PFC-200047578>.

- Noiraud N, Maurousset L, Lemoine R (2001) Transport of polyols in higher plants. *Plant Physiol Biochem* 39:717–728. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(01\)01292-X](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(01)01292-X)
- Połeć K, Wójcik A, Flasiński M, et al (2019) The influence of terpinen-4-ol and eucalyptol – The essential oil components - on fungi and plant sterol monolayers. *Biochim Biophys Acta - Biomembr* 1861:1093–1102. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2019.03.015>
- Rac I (2019) Alelokemikalije in mehanizmi njihovega delovanja v kmetijstvu. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.36458.67520>
- Saini P, Beniwal A, Kokkiligadda A, Vij S (2018) Response and tolerance of yeast to changing environmental stress during ethanol fermentation. *Process Biochem* 72:1–12. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.07.001>
- Salehi B, Sharifi-Rad J, Quispe C, et al (2019) Insights into Eucalyptus genus chemical constituents, biological activities and health-promoting effects. *Trends Food Sci Technol* 91:609–624. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.08.003>
- Sreenivasulu Y, Amritphale D (1999) Membrane fluidity changes during ethanol-induced transition from dormancy to germination in cucumber seeds. *J Plant Physiol* 155:159– 164. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(99\)80002-9](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(99)80002-9)
- Thi Thu HP, Thu TN, Nguyen Thao ND, et al (2020) Evaluate the effects of salt stress on physico- chemical characteristics in the germination of rice (*Oryza sativa* L.) in response to methyl salicylate (MeSA). *Biocatal Agric Biotechnol* 23: 101470. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101470>
- Torcello-Gómez A, Wulff-Pérez M, Gálvez-Ruiz MJ, et al (2014) Block copolymers at interfaces: Interactions with physiological media. *Adv Colloid Interface Sci* 206:414–427. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2013.10.027>
- Zhu W, Liu J, Ye J, Li G (2017) Effects of phytotoxic extracts from peach root bark and benzoic acid on peach seedlings growth, photosynthesis, antioxidance and ultrastructure properties. *Sci Hortic (Amsterdam)* 215:49–58. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.12.004>

VPLIV RAZMAŠČEVALCA »Meglio« NA KALITEV IN RAST JERUZALEMSKEGA FIŽOLA

Avtorja: Matevž Rečnik in Marjeta Ulaga

Izvleček

Cilj poskusa je bil ugotoviti, kako različne koncentracije čistila Meglio vplivajo na kalitev semen *Phaseolus vulgaris* in rast poganjkov. Pripravili smo kalilnike z različnimi koncentracijami čistila Meglio. Pri višjih koncentracijah Meglo deluje zaviralno na kalitev semen, ter na rast korenin in poganjkov. V manjših koncentracijah čistila učinek na rast ni statistično značilen (kaže pa se celo možnost spodbujene kalitve in rasti).

Uvod

Meglio je komercialno dostopen razmaščevalac, ki se široko uporablja za čiščenje najrazličnejših površin, prav tako pa tudi kot sredstvo za odstranjevanje trdovratnih madežev iz oblek in drugega tekstila. Ker je široko oglaševan, je njegova uporaba zelo razširjena, kar pa predstavlja vprašanje, kako njegova prisotnost vpliva na rast in razvoj organizmov, prisotnih v okolici našega doma. Namen čistila je namreč topiti mastne madeže, ki pa niso omejeni na zaprte prostore. Ravno nasprotno, mastni madeži se velikokrat pojavijo tudi izven našega doma in tako ustvarijo potrebo po uporabi razmaščevalnega sredstva, ki tako lahko pride v neposreden stik z našim okoljem. Odpadna voda, ki nastane pri spiranju kemikalij in čiščenju zunanjih površin, se namreč večinoma nekontrolirano zliva v okolje in s tem predstavlja okoljevarstveni problem. Gospodinjske kemikalije tako namreč obidejo običajno pot skozi čistilne naprave, kamor se običajno stekajo komunalne vode. Tam bi se drugače prečistile in (po večini) odstranile iz vode, preden se ta izlije v okolje. V primeru zunanje uporabe pa pridejo direktno v stik z rastlinami in drugimi organizmi, ki živijo v zemlji. V primerih, ko je izlita količina majhna – na primer voda ki odteka pri čiščenju oken – je škodljiv vpliv na okolje verjetno zanemarljiv, problem pa se pojavi, ko so izlite količine večje. Primer tega bi bilo čiščenje zunanjih žarov, piknik prostorov, drugih sedalnih površin ali pa morda čiščenje mastnih madežev na zunanosti avta (ostanki mušic) ipd. To so le primeri uporabe razmaščevalca Meglio, ki sva jih našla s kratkim pregledom spletnih forumov (Tamara 2007; Nea 2005). Za takšna čiščenja se v večini porabijo večje količine čistila, ki pa se na koncu (v večini primerov) nedvomno znajde v okolju. Na podlagi tega sva se odločila, da bova preverila vpliv Meglia na rastline s kalitvenim testom, pri katerem bova opazovala vpliv različnih količin

tega čistila na kalitev in rast fižola. Uporabila bova vrsto jeruzalemskega fižola (*Phaseolus vulgaris*), ki se prodaja v večini trgovin in je v Sloveniji sorazmerno široko gojen.

Meglio od površinsko aktivnih snovi vsebuje etanolamin in pa 12,14-alkil-metil-amin-etoksilat-metil-klorid, ki sta tudi glavni molekuli, ki sodelujeta pri odstranjevanju madežev. Zaradi svoje aktivnosti na madeže sta to tudi molekuli, ki bi potencialno lahko škodili celicam organizmov, ki pridejo v stik z njimi. Etanolamin je organska molekula, z alkoholno (-OH) in amsko skupino (-N H₂), ki pa je v naravi prisotna v večini evkariontskih celic. Je prekurzor za izgradnjo fosfatidiletanolamina (PE), ki je drugi najbolj pogosti fosfolipid v človeškem telesu. PE je eden izmed gradnikov membrane, še posebej v izobilju pa ga najdemo v membrani mitohondrijev in plastidov. V industriji se ga največkrat uporablja kot pufersko sredstvo (pK_a=9,5 med tem ko je pH Meglia =11) ali pa kot sredstvo za pripravo emulzij – v Megliu je verjetno prisoten zaradi obeh namenov. Zaradi svoje široke prisotnosti v okolju ta molekula v nizkih koncentracijah verjetno ni nevarna za organizme v naravi, v visoki koncentraciji pa verjetno lahko privede do razpada membrane (Mana R. Ehlers and Rebecca M. Todd 2017).

12,14-alkil-metil-amin-etoksilat-metil-klorid pa spada v skupino kvartarnih amonijevih spojin, ki so splošno znani in uporabljeni biocidi. Delujejo na citoplazemsko membrano bakterij in tudi na lipidne ovojnice virusov. Vežejo se prav tako na določene znotrajcelične tarče, med drugim tudi na DNA. Zato so učinkoviti tudi pri uničevanju ne-lipidnih virusov in celo spor. Na bakterije delujejo tako, da se adsorbirajo na celično steno, jo penetrirajo, reagirajo z lipidi in proteini na citoplazmi in jo destabilizirajo, kar privede do izhajanja znotrajceličnih komponent, razpada proteinov in nukleinskih kislin in na koncu povzročijo tudi avtolizo celice, z avtolitičnimi encimi. Delujejo torej kot kationski detergent in so zato zelo učinkoviti pri odstranjevanju organskega materiala. So pa raziskave pokazale, da so večje količine kvartarnih amonijevih spojin lahko toksične za širok spekter vodnih organizmov, med njimi ribe, alge, protozoje in seveda tudi vodne mikroorganizme. To nakazuje, da imajo te molekule toksičen vpliv tudi na evkariontske celice. Dokazali so tudi efekt nekaterih kvartarnih amonijevih spojin na inhibicijo proizvodnje gibberalina (Cho et al. 1979), kar privede do pritlikavih rastlin. Prav tako se je pokazalo, da nekatere molekule te skupine s svojo prisotnostjo pospešujejo kalitev semen koruze in repnjakovca (*Arabidopsis*) (Gerba 2015; Zhang et al. 2015; Liu et al. 2019).

Najin cilj je bil ugotoviti, kako različne koncentracije čistila Meglio vplivajo na kalitev semen *Phaseolus vulgaris* in rast poganjkov. Na podlagi obstoječe literature predvidevava, da bodo semena jeruzalemskega fižola ob prisotnosti majhnih količin razmaščevalca Meglio (0,1% in

1%) vzknila nekoliko hitreje kot kontrola (kalilnik namočen v vodo). Predvidevava pa, da bo prisotnost čistila močno zavrla rast poganjkov, pri čemer bo efekt večjih koncentracij Meglia na rast še bolj očiten. Fižol v kalilniku, ki je namočen z 10% Megliom verjetno ne bo skalil, oziroma bo njegova rast močno omejena (ne bo dosegel več kot 2 centimetra).

Material in metode

Metode:

Za določanje vpliva gospodinjskih čistil na rast in kalitev rastlin smo izbrana semena gojili v prisotnosti različnih koncentracij teh kemikalij. Pripravili smo torej štiri kalilnike, ki smo jih vlažili z različnimi koncentracijami Meglia:

1. 0 % (vodovodna voda) – ta je služila kot kontrola z označbo 0
2. 9 % (50g Meglia v 500g H₂O) - označeno kot 0,1 Meglio
3. 0,8 % (50g mešanice 2 v 500g H₂O) – označeno kot 0,01 Meglio
4. 0,08 % (50g mešanice 3 v 500g H₂O) – označeno kot 0,001 Meglio

Te raztopine sva pripravila z mešanjem, količine pa sva tehtala (zaradi natančnosti). Kalilnike sva pripravila z zvijanjem kartona (približno 50 cm x 20 cm) po katerem sva vzdolž daljše stranice razporedila semena fižola (2 cm od zgornjega roba in 2 cm narazen) – preden sva kalilnik zvila, sva ga še navlažila z ustrezno raztopino in čez semena položila papirnate kuhinjske brisače, da sva jih fiksirala. Kalilnike sva nato zvila v role in jih prenesla v cvetlične lončke, kjer so bili neprestano namočeni v približno 5 cm ustrezne raztopine.

Vse kalilnike sva naredila v dveh ponovitvah, da sva lahko na koncu primerjala dvoje rezultatov za vsak vzorec. Poskus sva ustavila ko so bili poganjki kontrole veliki približno 5 cm.

Materiali:

- | | |
|-----------------------|-----------------------|
| 1. Karton | 8. Cvetlični lončki |
| 2. Alu folija | 9. Merilna posoda |
| 3. Papirnate brisačke | 10. Čistilo Meglio |
| 4. Škarje | 11. Kuhinjska tehnica |
| 5. Ravnilo | 12. Vodovodna voda |
| 6. Fižol | 13. Čopič |
| 7. Elastike | |



Slika 46: Fižol Jeruzalemski (*Phaseolus vulgaris*)



Slika 45: Čistilo Meglio



Slika 48: Priprava kalilnikov



Slika 47: Kalilniki (kontrola in tri različne koncentracije čistila Meglio)

Rezultati

Kalilniki – Ulaga (9 dni rasti)

Na sliki prve skupine kalilnikov (slika 5) je jasno opazna razlika med kontrolo in različnimi koncentracijami Meglia v rasti poganjkov in korenin. Pri skupini 0,001 je opazna največja rast poganjkov in korenin v primerjavi s kontrolo in ostalimi koncentracijami. Sledi skupina 0,01, kjer je še posebej opazna nekoliko zavrta rast korenin, poganjki pa na videz ostajajo enaki. Pri zadnjem kalilniku (0,1 Meglio) je rast še mnogo bolj zavrta, celo do te mere, da opazimo le nekatere poganjke, korenine so zelo kratke. Vredno je tudi omeniti, da so semena fižola tekom poskusa začela prej kaliti v vzorcih z dodanim Megliom, četudi je bila njihova rast kasneje zavrta. To sva ugotovila ko sva 5 dni po začetku poskusa odprla kalilnike in ocenila koliko semen je že skalilo.

Največja povprečna velikost korenin (slika 6) glede na kontrolo je pri skupini 0,001 (148 %), pri 0,01 je rast primerljiva kontroli (99 %), pri 0,1 Meglia pa sva beležila opazno zmanjšano velikost korenin v primerjavi s kontrolo, dosegle so namreč le 15 % dolžine.

Povprečna velikost poganjkov v primerjavi s kontrolo (slika 6) je spet opazno višja pri koncentraciji 0,001, kot pri kontroli. Rast poganjkov se je povečala kar za 39 %, kar nedvomno kaže na to, da majhna koncentracija Meglia pripomore k rasti poganjkov. Pri skupini 0,01 se je rast še povečala, kar na 142 % kontrole, kar je zanimiva razlika v primerjavi s koreninami. Nadzemni deli rastlin so očitno bolj odporni na čistilo. Pri zadnji skupini (0,1 Meglio) pa je rast poganjkov glede na kontrolo upadla za 17 %, kar nakazuje, da je mejna koncentracija Meglia, ki škodi poganjkom, nekje med 0,8 in 0,08 % (med 0,01 in 0,001 skupinama).

Kalilniki – Rečnik (13 dni rasti)

V tej skupini kalilnikov (slika 7) je opazen podoben efekt kot pri prejšnji. Z naraščanjem koncentracije Meglia se jasno krajša dolžina korenin, pri čemer je učinek najbolj očiten seveda pri skupini 0,1 Meglio (zadnji kalilnik na sliki 7). Opazi se tudi porjavelost korenin, ki je prav tako bolj očitna na nižjih slikah in je pri kontroli ne najdemo. Prav tako je tudi opazno, da je efekt Meglia na poganjke manjši, kot na korenine. Poskus je pri tej skupini kalilnikov tekel dlje (13 dni, v primerjavi z 9 dnevi) zato ker so bile temperature rasti očitno manj ugodne in so semena potrebovala dlje, da so vzkli in zrastle do te mere.

Povprečna velikost korenin glede na kontrolo v različnih koncentracijah čistila Meglio pada z višanjem koncentracije čistila (slika 8). Največja velikost korenin glede na kontrolo je pri

koncentraciji 0,001 (94 %), pri 0,01 je 84 %, pri koncentraciji 0,1 Meglia je opazna znatno manjša velikost korenin (le 35 %) v primerjavi z ostalimi (nižjimi) koncentracijami Meglia.

Povprečna velikost poganjkov v primerjavi s kontrolo je sicer višja pri koncentraciji 0,001 Meglia (slika 8), vendar samo za 3 %, kar je lahko pripisati variaciji meritev ali pa sami biološki variaciji. Ta majhna razlika je torej zanemarljiva. Je pa mogoče spet jasno opaziti kar smo videli že prej, da so poganjki manj občutljivi na prisotnost čistila. Pri višjih koncentracijah Meglia rast poganjkov v primerjavi s kontrolo upada, vendar nikakor tako ostro, kot smo to beležili pri koreninah. Pri 0,01 se rast zniža na 84 %, kar je še vedno primerljivo s koreninami, razlika pa se pokaže pri 0,1, kjer je povprečna rast poganjkov 78 % glede na kontrolo, med tem ko je pri koreninah le še 35 %.

Obdelava podatkov

Za nadaljevanje analiz sva združila podatke obeh kalilnikov. To zaradi različnih časov gojenja (in velikih razlik v končni velikosti tkiv) nisva mogla storiti direktno, zato sva podatke prvo pretvorila v odstotke rasti (glede na povprečje kontrole v posamezni skupini). Tako sva dobila za vsak podatek nek odstotek, ki je predstavljal koliko je ta tretma zrastle v odvisnosti na povprečje kontrole in te številke so bile med sabo primerljive tudi med skupinami. Sledeči grafi in analize so bili zato opravljeni s temi združenimi podatki.

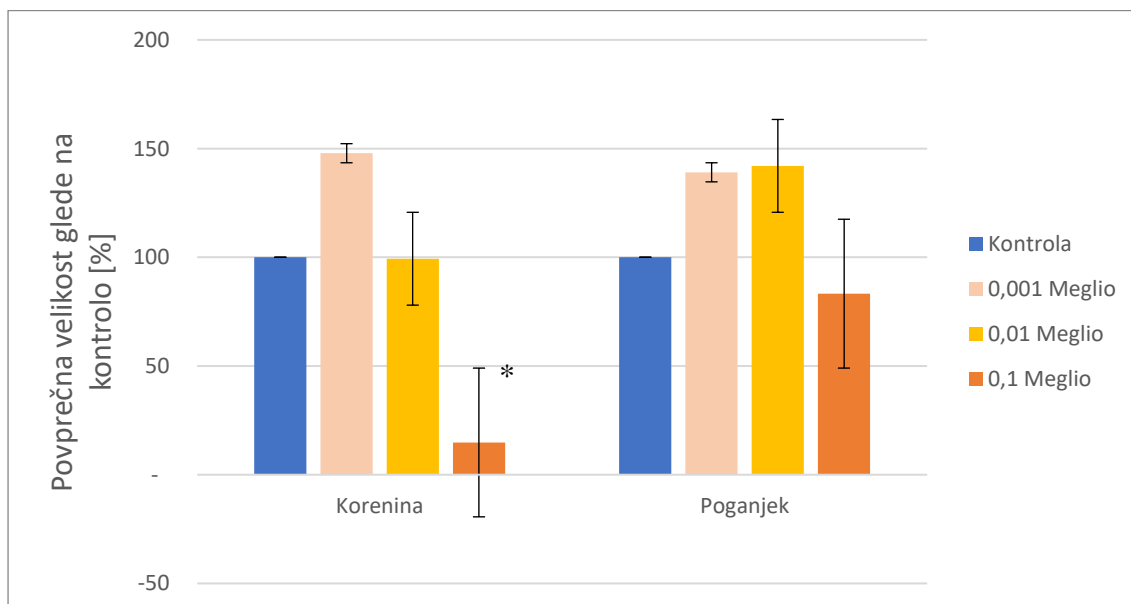
Povprečna rast organov (poganjkov in korenin) je najvišja pri 0,001 raztopini Meglia (slika 9). V primerjavi s kontrolo sta obe tkivi v prisotnosti 0,08 % Meglia (skupina 0,001) rastli v povprečju za 20 % bolje, kot tista ki so rastla v prisotnosti vodovodne vode. Z nadaljnjim višanjem koncentracije Meglia pa rast tkiv začne počasno upadati, kar je veliko bolj jasno pri koreninah. Rast poganjkov je zavrtja počasneje.

Na spodnjem grafu (slika 10) lahko opazimo, da je največ semen skalilo pri zadnji najbolj koncentrirani skupini (0,1 Meglio) in sicer 79,6 %. Sledila je skupina 0,001 (77,6 %), nato 0,01 (74 %). Najmanj semen pa je skalilo pri kontroli (73,5 %).

Slike in preglednice



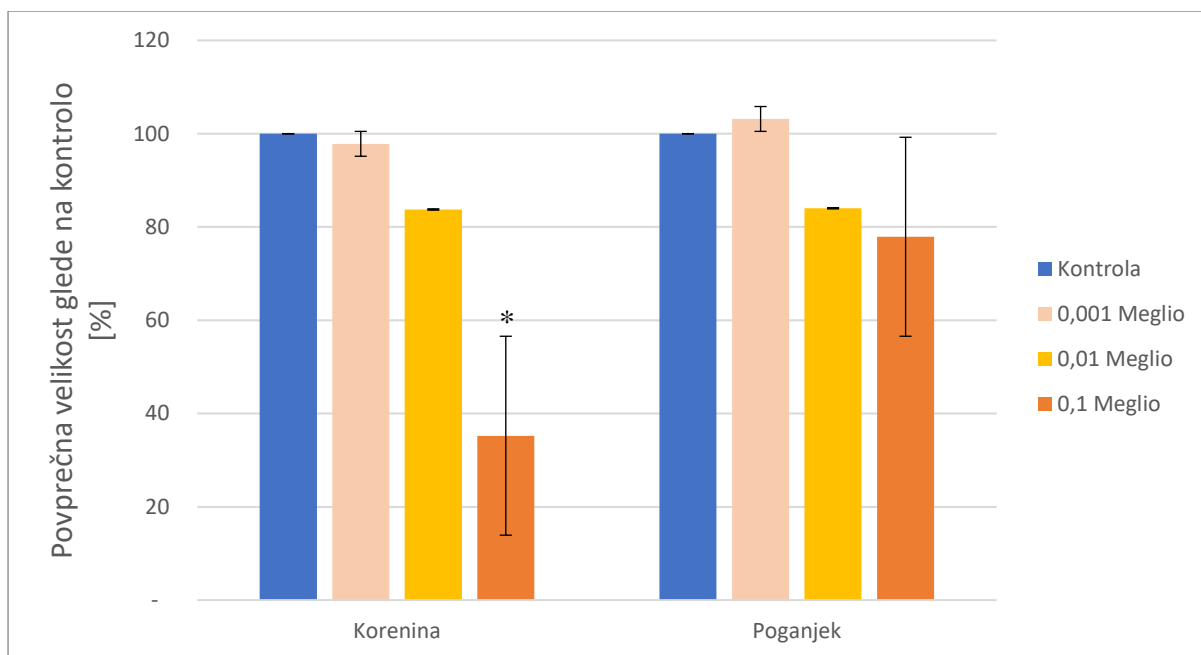
Slika 49: Končni rezultati kalitve jeruzalemskega fižola v vodovodni vodi (kontrola) in različnih koncentracijah čistila Meglio. Od zgoraj navzdol si sledijo: kontrola, 0,001 Meglio, 0,01 Meglio in 0,1 Meglio.



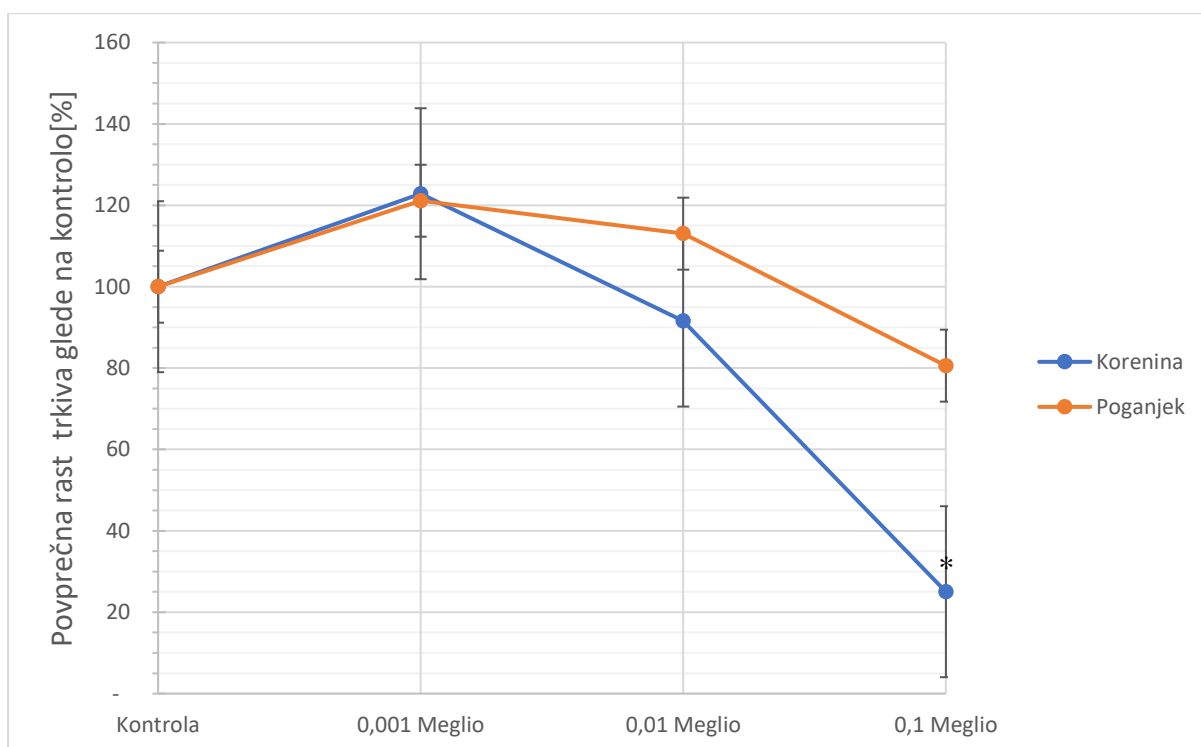
Slika 50: Povprečna velikost organov v različnih koncentracijah čistila Meglio – Ulega. Statistične razlike v primerjavi s kontrolo so označene z * (dvostranski t-test, $p < 0,05$).



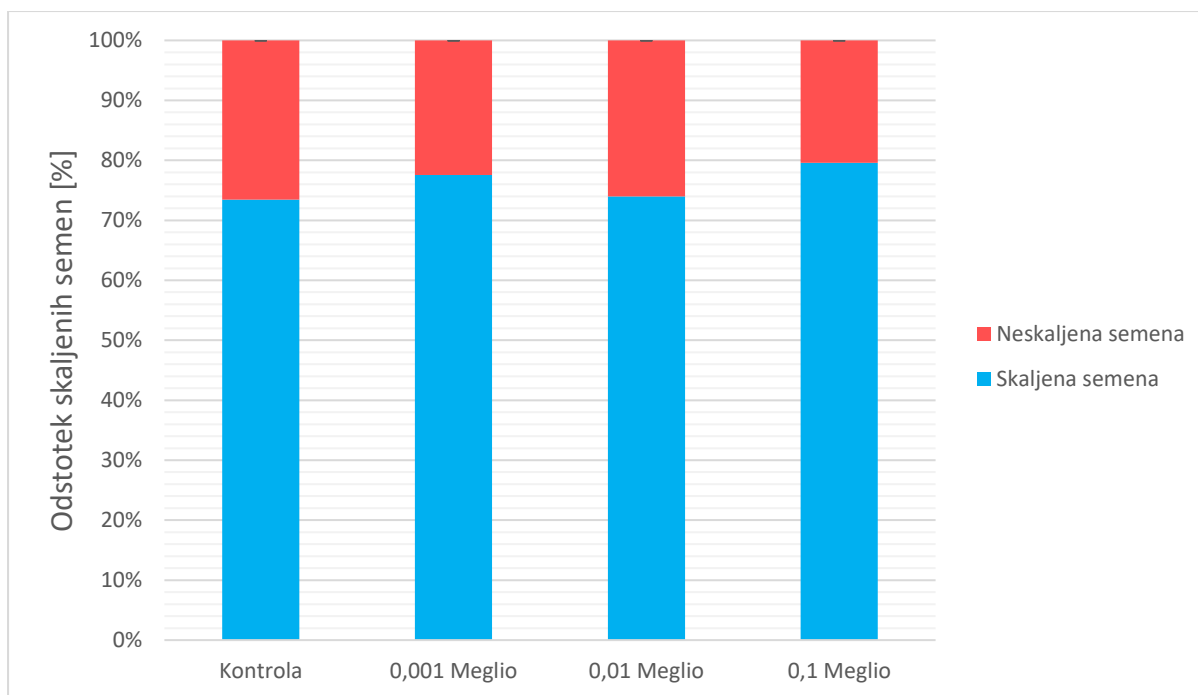
Slika 51: Končni rezultati kalitve jeruzalemskega fižola v vodovodni vodi (kontrola) in različnih koncentracijah čistila Meglio. Od zgoraj navzdol si sledijo: kontrola, 0,001 Meglio, 0,01 Meglio in 0,1 Meglio



Slika 52: Povprečna velikost organov v različnih koncentracijah čistila Meglio – Rečnik. Statistične razlike v primerjavi s kontrolo so označene z * (dvostranski t-test, $p < 0,05$).



Slika 53: Povprečna rast organov v odvisnosti od dodanega čistila Meglio. V primerjavi s kontrolo se je statistična razlika pokazala le pri vplivu najvišje koncentracije Meglia na korenine, pri poganjkih pa le med skupinama 0,001 in 0,1. Statistične razlike v primerjavi s kontrolo so označene z * (dvostranski t-test, $p < 0,05$).



Slika 54: Odstotek skaljenih semen pri različnih koncentracijah Meglia

Statistična obdelava

Razlike med nekaterimi skupinami so dokaj majhne (še posebej razlike med kontrolo in med najbolj razredčeno skupini 0,001 Meglio), zato naju je zanimalo, če so te le posledica napake pri meritvah (variacije rezultatov) ali pa so te razlike dejansko statistično značilno različne in pričajo o vplivu že tako tako majhne koncentracije Meglia (0,08 %) na kalitev in rast semen fižola. Da bi to ugotovila sva naredila dva statistična testa: enosmerno analizo variance (ANOVA) in korelacijske t-teste.

Enosmerna analiza variance (ANOVA)

Analizo ANOVA sva naredila s pomočjo vključka XL Toolbox, ki sva ga dodala programu Excel. Teste sva opravila v 2 skupinah (poganjki in korenine) in sicer iz združenih podatkov, pretvorjenih v odstotke glede na kontrolo vsakega eksperimenta. Upoštevala sva samo skaljena semena. S to analizo sva imela namen ugotoviti, ali obstajajo pomembne razlike med skupinami podatkov. Dobila sva sledeče rezultate:

Poganjki

Že s prve preglednice (slika 11) je razvidno, da so bile standardne deviacije za vsako skupino zelo velike (podatki so v odstotkih, torej napake obsegajo že pri kontroli približno 54,5 %). Standardna deviacija še naraste pri skupini 0,001, kjer sva beležila tudi najvišjo povprečje velikosti poganjkov (24,7 % višje kot pri kontroli). Ker naju je skrbelo, da je to posledica

združevanja rezultatov dveh poskusov, sva za vsak slučaj pogledala še kakšna bi bila ta vrednost če bi analizirala vsako skupino posebej, vendar sva hitro ugotovila, da so standardne deviacije zelo primerljive (skoraj enake) in sva zato nadaljevala kar s skupnimi podatki. Ponovno sva tudi narisala graf (Slika 11), ki je primerljiv s tistim na sliki 9, vendar z dodanimi standardnimi deviacijami podatkov.

Sledila je analiza homogenosti variance. Ali je mogoče med skupinami predpostaviti enako varianco naju je zanimalo predvsem zato, da sva lahko to upoštevala v t-testih, ki so sledili. Test variance (slika 12) nam je povedal, da med skupinami ni mogoče predpostaviti enake variance ($p < 0,05$), kar sva nato upoštevala pri t-testih.

Statistično pomembne razlike med skupinama so se pojavile pri koncentraciji 0,001 in 0,1 ter 0,01 in 0,1 Meglia (slika 13), kar pomeni, da so višje koncentracije čistila vplivale na spremembo rasti med različnimi koncentracijami čistila Meglio. Te razlike pa program ni uspel zaslediti med kontrolo in katero koli izmed skupin, zaradi načina, kako so se poganjki obnašali – odziv namreč ni bil linearen (tkiva so ob prisotnosti manjših količin Meglia bolje rastla, nato je njihova rast upadla, vendar ne dovolj, da bi zaznali statistično značilno razliko).

Korenine

Tudi tukaj so standardne deviacije pri meritvah korenin (izraženih v odstotkih glede na kontrolo, zaradi primerljivosti obeh poskusov) zelo velike (slika 14). Najvišja je pri skupini 0,001 ($SD = 68,5 \%$), kjer je prav tako kot pri poganjkih beleženo tudi najvišja povprečja velikosti korenin. Z višanjem koncentracije Meglia je povprečje velikosti padalo, prav tako seveda tudi standardni odklon.

Sledila je analiza homogenosti variance (slika 15), ki nam je povedal, da med skupinami ni mogoče predpostaviti enake variance ($p < 0,05$). To sva nato upoštevala pri t-testih. Statistično pomembne razlike med skupinama so se pojavile med skupino 0,1 in vsemi ostalimi tremi skupinami (slika 16). To nakazuje na to, da so se vsaj pri zadnji, najbolj koncentrirani raztopini Meglia pojavile razlike v rasti, ki so bile posledice dodanega čistila. Program med preostalimi skupinami ni uspel najti statistično značilnih razlik, prav tako verjetno zaradi zanimivega vpliva Meglia, ki ji pri nizkih koncentracijah celo spodbujal rast tkiv.

t - testi

Ker rezultati ANOVA testa niso bili prepričljivi, sva se odločila še z dodatno analizo z uporabo t-testov. Te sva opravila z razširitvijo "orodja za analizo", ki je prisotna že v Excelu, vendar jo

je potrebno predhodno vključiti. Teste sva spet opravila v 2 skupinah (poganjki in korenine) in sicer iz združenih podatkov, pretvorjenih v odstotke glede na kontrolo vsakega eksperimenta. Upoštevala sva samo skaljena semena. Teste sva opravila na vseh kombinacijah skupin znotraj vsake skupine (korenine in poganjki), kar pomeni da sva opravila dvakrat po 6 testov. Odločila sva se, da se bova osredotočila na rezultate dvostranskega testa, saj je povprečje rasti tretiranih vzorcev očitno lahko in tudi nižje (odvisno od koncentracije Meglia) od kontrolnih vzorcev. Tako sva predvidevala, da bo analiza bolj točna. Kot α sva vzela 0,05, kar pomeni da sva z 95 % gotovostjo lahko trdila, ali je prisotna statistično značilna razlika med vzorci.

Poganjki:

Dvostranski t-test je sicer potrdil to, kar sva ugotovila že z ANOVA analize (slika 17). Statistično značilne razlike se pojavljajo samo med skupinama 0,001 in 0,1, ter med 0,01 in 0,1 (številke so podčrtane v rdeče obkroženi vrstici). Med ostalimi skupinami, vključno s kontrolo, pa se ne kažejo statistično značilne razlike, kar pomeni, da majhne količine Meglia ne vplivajo na rast fižola. V premislek sva pregledala še rezultate enostranskega testa, ki so prav tako označeni na isti tabeli, ta je namreč nekoliko "manj strog" pri določanju statistično značilnih razlik in glede na nelinearno delovanje čistila (v majhnih količinah spodbuja rast, v velikih pa jo zavira) naju je zanimalo, kaj pokaže ta. Iz zgornje tabele je očitno, da pa enostranski t-test pokaže statistično značilno razliko še med dvema drugima skupinama: kontrola in 0,001, ter kontrola in 0,1 (številke so označene odebeljeno in podčrtano v neoznačeni vrstici). Te rezultati so načeloma bolj skladni z najinim opazovanjem, vendar sva zaradi točnosti interpretacije vseeno upoštevala kar rezultate dvostranskega t-testa.

Korenine:

Tukaj pa se je že pri dvostranskem testu pokazala razlika v rezultatih, v primerjavi z ANOVA analizo (slika 18). Za razliko od slednje so t-testi namreč pokazali statistično značilno razliko v štirih vzorcih: kontrola in 0,1; 0,001 in 0,01; 0,001 in 0,1; ter 0,01 in 0,1 (številke so podčrtane v rdeče označeni vrstici). Kot že omenjeno pri analizi razlik pri rasti poganjkov, sva se tudi tukaj odločila pregledati še rezultate enostranskega testa, ki je pokazal še dodatno razliko in sicer med kontrolo in 0,001. Te rezultati so se nekoliko bolj skladali z opazovanim stanjem, vendar sva zaradi želje po točnosti interpretacije vseeno upoštevala dvostranski t-test.

Diskusija

Opazovanje poskusa in prvotni pregled podatkov je kazal na to, da čistilo Meglio v majhnih koncentracijah pripomore h kaljivosti (tako hitrosti, kot tudi deležu skaljenih semen), rasti korenin in poganjkov fižola, medtem ko je bil pri višjih koncentracijah njegov učinek zaviralen. Po statistični analizi podatkov pa sva ugotovila, da ta spodbujevalni učinek (ki bi ga lahko pripisali hormonezi) ni statistično značilno različen, torej so majhne variacije v rezultatih lahko le posledica biološke variacije vzorcev. Sva pa potrdila statistično značilno razliko v rasti poganjkov med kontrolo in skupinami z višjo koncentracijo Meglia. Pri slednjih vzorcih je bila rast zavrta, kar je še posebej očitno pri koreninah, ki so bile v prisotnosti višjih koncentracij Meglia opazno manjše (slika 9) in tudi rjavkaste barve (slika 5 in 7). Zaradi različnih pogojev rasti, se je pojavilo tudi nekaj razlik med obema ponovitvama poskusov (Uлага in Rečnik), največja je bila seveda čas gojenja. Ta je bil pri drugi ponovitvi poskusa (Rečnik) mnogo daljši, ker so bile rastline izpostavljene hladnejšemu okolju in so zato potrebovale nekaj dni več da so skalile. Prav tako pa je bil drugi poskus ustavljen nekoliko kasneje v fazi razvoja mladih rastlin, kar je jasno razvidno iz daljših dolžin poganjkov in tudi korenin (slika 7). Te razlike so v začetku sicer povzročale zmedo, saj so onemogočale direktno primerjavo v dolžini zrastlih tkiv, vendar sva to razliko obšla s pretvorbo dejanskih dolžin organov v relativne odstotke, glede na povprečno rast kontrolnih rastlin. To nama je kljub razliki v velikosti omogočalo primerjavo rezultatov, poleg tega pa sva hkrati imela še pogled na vpliv Meglia na semena v različnih časovnih intervalih izpostavljenosti. Prav potemnele korenine, ki se jih opazi pri višjih koncentracijah čistila (slika 7), so bile bolj izrazite pri poskusu Rečnik, ki je imel daljši interval izpostavljenosti in počasnejšo rast. Tudi učinek hormoneze je bil bolj očitno pri poskusu Uлага (slika 6), kjer je bila izpostavljenost krajša (ker so semena hitreje vzklila in rastla), med tem ko se je ta vpliv pri daljši izpostavljenosti nekoliko umilil (slika 8) – razlika v rasti poganjkov in korenin med kontrolo in vzorcem 0,001 ni bila več tako očitno velika. Nasprotno se je v daljšem času izpostavljenosti rastlina fižola očitno do neke mere tudi prilagodila na čistilo v okolju, saj se je rast korenin v najbolj koncentrirani raztopini (0,1 Meglio) med poskusoma razlikovala celo za 20 % (Uлага 15 %, Rečnik 35 %).

Analiza podatkov je razkrila, da se statistično značilne razlike v rasti poganjkov pojavljajo samo med 0,001 in 0,1, ter 0,01 in 0,1 (slika 18). Kot že omenjeno, je to nekoliko nasprotovalo najinemu opazovanju in prvotni analizi podatkov, ki sta nama dokaj jasno kazali, da tudi že majhne količine Meglia vplivajo na rast fižola. Takšne rezultate pripisujeva dejstvu, da delovanje Meglia na rast fižola ni linearno (ne pada z višanjem koncentracije čistila), ampak

na začetku v majhnih dodanih koncentracijah kaže celo spodbujevalni učinek. Prav zato sva se tukaj odločila upoštevati še rezultate enostranskega t-testa, ki pa je pokazal statistično značilno razliko med kontrolo in vzorcema 0,1 ter 0,001. To pa pomeni, da je rast poganjkov odvisna od koncentracije čistila v vzorcu in tudi, da ta v majhnih koncentracijah očitno celo pozitivno vpliva na rast.

Analize rasti korenin v različnih vzorcih (slika 19) so bile bolj jasne. Že dvostranski t-testi so pokazali statistično značilne razlike med kontrolo in 0,1, med 0,001 in 0,01, med 0,001 in 0,1, ter med 0,01 in 0,001. To potrjuje, da pride do razlike v rasti, če fižol gojimo v vodovodni vodi, ali pa v prisotnosti Meglia. Prav tako pa potrjuje, da višanje koncentracije le-tega še nadaljnjo vpliva na zaviranje rasti fižola.

Potrebno je omeniti tudi razliko v kaljivosti, ki je opazna iz slike 10. Najvišja kaljivost se je pokazala pri najbolj koncentrirani skupini (0,1 Meglio), čeprav so v njej tkiva rastla občutno počasneje kot drugje. Kontrola je v tem poskusu kalila najslabše. Prav tako sva po pregledu hitrosti kaljivosti, ki sva jo opravila z odvijanjem kalilnikov po nekaj dneh poskusa ugotovila, da so fižoli ob prisotnost Meglia v okolju kalili hitreje kot tisti v vodi. To je torej potrdilo hipotezo, ki sva si jo postavila že v uvodu in sicer, da spojine v čistilu lahko spodbudijo kaljenje semen.

Za nadaljnje raziskave torej priporočava večanje števila testiranih semen, da bi se znebili visokega standardnega odklona in s tem tudi napake, ki se pojavi pri merjenju dolžine rastlinskih organov. Statistično značilne razlike med kontrolo in nizkimi koncentracijami Meglia je namreč še vedno potrebno nedvoumno dokazati in s povečanim številom meritev bi bilo to najlažje doseči. Prav tako bi bilo zanimivo tudi raziskovanje drugih koncentracij (višjih od 9% in nižjih od 0,08 %) na kalitev in rast tkiv. Zanimivo bi bilo tudi opazovanje razpolovne dobe čistila v okolju, saj bi to lahko pokazalo na trajanje in resnost onesnaževanja s tem čistilom.

Literatura

- Cho KY, Sakurai A, Kamiya Y, et al (1979) Effects of the new plant growth retardants of quaternary ammonium iodides on gibberellin biosynthesis in *Gibberella fujikuroi*; Plant Cell Physiol 20:75–81.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a075807>

Gerba CP (2015) Quaternary ammonium biocides: Efficacy in application. *Appl. Environ. Microbiol.* 81:464–469

Liu Y, Wang T, Cao J, et al (2019) Quaternary Ammonium Salts of Iminofullerenes: Fabrication and Effect on Seed Germination. *J Agric Food Chem* 67:13509–13517.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b04783>

Mana R. Ehlers, Rebecca M. Todd (2017) Genesis and Maintenance of Attentional Biases: The Role of the Locus Coeruleus-Noradrenaline System. *Neural Plast* 1:2–3.
<https://doi.org/10.1155/2017>

Zhang C, Cui F, Zeng G ming, et al (2015) Quaternary ammonium compounds (QACs): A review on occurrence, fate and toxicity in the environment. *Sci. Total Environ.* 518–519:352–362

Drugi viri

Čistilo razmaščevalc Meglio 750ml | Petrol eShop. <https://eshop.petrol.si/sl/petrol/cistilo-razmascevalec-meglio-750ml-pb1116270/>. Accessed 4 May 2020

Nea (2005) čiščenje žara - MedOverNet.
<https://med.over.net/forum5/viewtopic.php?t=2896435>. Accessed 4 May 2020

Tamara. (2007). Čiščenje zunanosti avta (nadležne musice) | Alter.si.
<https://www.alter.si/tema/ciscenje-zunanjosti-avta-nadlezne-musice.71145/>. Accessed 4 May 2020

PRILOGE:

Ime	Število	Avg.	SD
Kontrola	36	1	0,544715
0,001 Meglio	40	1,247134	0,614409
0,01 Meglio	37	1,138128	0,569749
0,1 Meglio	38	0,808758	0,280698

Slika 11: Lastnosti meritev za dolžino poganjkov, podatki so bili združeni iz obeh poskusov (Rečnik in Ulaga) v obliki odstotkov rasti glede na kontrolna kalilnika.

F	DFn	DFd	P
4,876546634	3	147	0,002914

Slika 12: Modificirana verzija Levenovega testa, kot sva jo opravila v XL Toolbox dodatku programa Excel. Analiza rasti poganjkov.

Skupina 1	Skupina 2	Critical	P	Significant?
0,001 Meglio	0,1 Meglio	0,008512	0,000137	Yes
0,01 Meglio	0,1 Meglio	0,010206	0,002106	Yes
Kontrola	0,1 Meglio	0,012741	0,059708	No
Kontrola	0,001 Meglio	0,016952	0,068773	No
Kontrola	0,01 Meglio	0,025321	0,293528	No
0,001 Meglio	0,01 Meglio	0,05	0,423153	No

Slika 55: Post hoc test (Holm-Sidak), kot sva ga opravila v XL Toolbox dodatku programa Excel. Analiza rasti poganjkov.

Ime	Število	Avg.	SD
Kontrola	36	1	0,685273
0,001 Meglio	40	1,278507	0,740008
0,01 Meglio	37	0,917591	0,617515
0,1 Meglio	38	0,239643	0,254222

Slika 56: Lastnosti meritev za dolžino korenin, podatki so bili združeni iz obeh poskusov (Rečnik in Ulaga) v obliki odstotkov rasti glede na kontrolna kalilnika.

F	DFn	DFd	P
10,7850088	3	147	1,9E-06

Slika 57: Modificirana verzija Levenovega testa, kot sva jo opravila v XL Toolbox dodatku programa Excel. Analiza rasti korenin.

Skupina 1	Skupina 2	Critical	P	Significant?
0,001 Meglio	0,1 Meglio	0,008512	4,48E-12	Yes
Kontrola	0,1 Meglio	0,010206	1,42E-08	Yes
0,01 Meglio	0,1 Meglio	0,012741	2,51E-08	Yes
0,001 Meglio	0,01 Meglio	0,016952	0,02344	No
Kontrola	0,001 Meglio	0,025321	0,094019	No
Kontrola	0,01 Meglio	0,05	0,590838	No

Slika 58: Post hoc test (Holm-Sidak), kot sva ga opravila v XL Toolbox dodatku programa Excel. Analiza rasti korenin.

POGANJKI:

	K	0,001	K	0,01	K	0,1	0,001	0,01	0,001	0,1	0,01	0,1
Povprečje	1,00	1,25	1,00	1,14	1,00	0,81	1,25	1,14	1,25	0,81	1,14	0,81
Varianca	0,30	0,34	0,30	0,32	0,30	0,09	0,38	0,32	0,38	0,08	0,32	0,08
Število meritev	36	40	36	37	36	38	40	37	40	38	37	38
Stopnje prostosti	74,00		71,00		52,00		75,00		55,00		52,00	
t vrednost	-1,86		-1,06		1,88		0,81		4,09		3,16	
p vrednost (enostranski test)	0,03		0,15		0,03		0,21		$7,19 \times 10^{-5}$		$1,31 \times 10^{-3}$	
"t Critical" enostranski	1,67		1,67		1,67		1,67		1,67		1,67	
p vrednost (dvostranski test)	0,07		0,29		0,07		0,42		$1,44 \ 1,31 \times 10^{-4}$		$2,61 \times 10^{-3}$	
"t Critical" dvostranski	1,99		1,99		2,01		1,99		2,00		2,01	

Slika 59: Nadaljnji t-testi za ugotavljanje signifikantnih sprememb v rasti poganjkov pri različnih skupinah, narejeni s pomočjo orodij za analizo v programu Excel. Primerjana sta po dva vzorca, katerih oznake so v zgornji vrstici. Posamezne teste ločuje debelejša črta. K je oznaka za kontrolo.

KORENINE:

	<i>K</i>	<i>0,001</i>	<i>K</i>	<i>0,01</i>	<i>K</i>	<i>0,1</i>	<i>0,001</i>	<i>0,01</i>	<i>0,001</i>	<i>0,1</i>	<i>0,01</i>	<i>0,1</i>
Povprečje	1,00	1,28	1,00	0,92	1,00	0,24	1,28	0,92	1,28	0,24	0,92	0,24
Varianca	0,47	0,55	0,47	0,38	0,47	0,06	0,55	0,38	0,55	0,06	0,38	0,06
Število meritev	36	40	36	37	36	38	40	37	40	38	37	38
Stopnje prostosti	74		70		44		74		49		48	
t vrednost	-1,70		0,54		6,26		2,33		8,37		6,19	
p vrednost (enostranski test)	<u>0,05</u>		0,30		<u>6,96 x 10⁻⁸</u>		<u>0,01</u>		<u>2,58 x 10⁻¹¹</u>		<u>6,49 x 10⁻⁸</u>	
"t Critical" enostranski	1,67		1,67		1,68		1,67		1,68		1,68	
p vrednost (dvostranski test)	0,09		0,59		<u>1,39 x 10⁻⁷</u>		<u>0,02</u>		<u>5,15 x 10⁻¹¹</u>		<u>1,3 x 10⁻⁷</u>	
"t Critical" dvostranski	1,99		1,99		2,02		1,99		2,01		2,01	

Slika 60: Nadaljnji t-testi za ugotavljanje signifikantnih sprememb v rasti korenin pri različnih skupinah, narejeni s pomočjo orodij za analizo v programu Excel. Primerjana sta po dva vzorca, katerih oznake so v zgornji vrstici. Posamezne teste ločuje debelejša črta. *K* je oznaka za kontrolo.