

# ŽLEZAVA NEDOTIKA – NEUPORABEN PLEVEL ALI ZELENO ZLATO?

Raziskovalna naloga na področju biologije

Avtor:

**Vito Krajnik**

Mentorica:

**univ. dipl. prof. biologije Urša Petrič (Gimnazija Kranj)**

Kranj, maj 2021

## ZAHVALA

Najlepše bi se rad zahvalil svoji mentorici, prof. Urši Petrič, ki mi je pomagala oblikovati končen izdelek – raziskovalno nalogo. Skupaj sva v zadnjih dveh letih preživela veliko časa skupaj in lahko rečem, da je s svojo dobro voljo in pripravljenostjo za raziskovanje vplivala, ne le na moj čas na Gimnaziji Kranj temveč tudi na mojo odločitev za izbiro študijske smeri. Prav tako bi se rad zahvali Gimnaziji Kranj ter vsem zaposlenim, še posebej mag. Zdenki Vrbinc in prof. Martini Lušini Basaj, ki so mi omogočali eksperimentiranje v prijetnem in varnem okolju ter pomagali pri tej raziskovalni nalogi.

## Kazalo vsebine

POVZETEK .....	5
SUMMARY .....	6
1. UVOD .....	7
1.1. NAMEN RAZISKOVALNE NALOGE .....	7
1.2. TEORETIČNO OZADJE.....	7
1.2.1. RAZISKOVALNI OBJEKT: ŽLEZAVA NEDOTIKA ( <i>IMPATIENS GLANDULIFERA</i> ) .....	7
1.2.2. INVAZIVNE TUJERODNE RASTLINSKE VRSTE.....	8
1.2.3. PRENOS IN NASTANEK INVAZIVNIH VRST.....	8
1.2.4. VPLIVI INVAZIVNIH VRST NA OKOLJE.....	9
1.2.5. ODSTRANJEVANJE INVAZIVK .....	10
1.2.6. ODSTRANJEVANJE ŽLEZAVE NEDOTIKE .....	10
1.2.7. UPORABA INVAZIVNIH RASTLI V MEDICINSKE NAMENE.....	11
1.2.8. UPORABA ŽLEZAVE NEDOTIKE.....	11
1.2.9. VPLIVI NA KALJIVOST SEMEN .....	12
1.3. RAZISKOVALNO VPRAŠANJE .....	12
1.4. HIPOTEZE .....	12
2. RAZISKAVA.....	13
2.1. METODA DELA .....	13
2.1.1. VPLIVI RAZLIČNIH DEJAVNIKOV NA KALJIVOST SEMEN.....	13
2.1.2. ANTIBIOTIČNE LASTNOSTI RAZLIČNIH DELOV RASTLINE.....	15
2.2. REZULTATI.....	17
2.2.1. VPLIVI RAZLIČNIH DEJAVNIKOV NA KALJIVOST SEMEN.....	<b>Napaka! Zaznamek ni definiran.</b>
2.2.2. ANTIBIOTIČNE LASTNOSTI RAZLIČNIH DELOV .....	<b>Napaka! Zaznamek ni definiran.</b>
3. RAZPRAVA.....	18
3.1. VPLIVI RAZLIČNIH DEJAVNIKOV NA KALJIVOST SEMEN.....	<b>Napaka! Zaznamek ni definiran.</b>
3.2. ANTIBIOTIČNE LASTNOSTI RAZLIČNIH DELOV RASTLIN.....	<b>Napaka! Zaznamek ni definiran.</b>
4. ZAKLJUČEK .....	20
5. VIRI: .....	22
6. VIRI SLIK .....	23

## Kazalo slik

Slika 1: Žlezava nedotika ( <i>Impatiens glandulifera</i> ).....	7
Slika 2: Faze razvoja invazivnosti.....	8
Slika 3: Japonski dresnik ( <i>Fallopia japonica</i> ) .....	11
Slika 4: Prikazuje kaljivost semen pri različni molarnosti raztopine NaCl.....	14
Slika 5: Prikazuje kaljivost semen pri različnih vrednosti pH.....	14
Slika 6: Prikazuje kaljivost semen pri prisotnosti in odsotnosti svetlobe.....	14
Slika 7: Kalilnik s semeni pri različnih dejavnikih.....	15
Slika 8: Deli žlezave nedotike v terilnicah.....	16
Slika 9: Ekstrakt semen.....	16
Slika 10: Ekstrakt stebel.....	16
Slika 11: Ekstrakt listov.....	16
Slika 12: Gojišča v inkubatorju.....	16

## Kazalo tabel

Tabela 1: Velikost inhibicijskih con pri bakterijah <i>Staphylococcus epidermidis</i> .....	17
---	----

## POVZETEK

Žlezava nedotika, je to res neuporaben invaziven plevel ali jo lahko še kako uporabimo; to me je zanimalo pri tej raziskovalni nalogi. Ker je rastlina invazivna, jo v Sloveniji po večino odstranjujemo z izpulitvijo še pred cvetenjem in zanimalo me je, če je zavržena rastlina lahko še kako uporabna po njeni odstranitvi. Pri raziskovalni nalogi sem preučeval ali listi, stebila in semena ter mlade rastline žlezave nedotike vsebujejo kakšne antibiotične snovi. Ker pa je rastlina tudi enoletnica, lahko širjenje rastlin omejimo ne le s puljenjem, pač pa tudi z zatiranjem kaljivosti semen. Zanimalo me je, kateri dejavnik bi utegnil zavirati kalitev in bi jih kasneje lahko uporabili v naravi.

V tej raziskovalni nalogi sem se predvsem osredotočil na antibiotične učinke izvlečkov različnih delov rastlin. Prav tako sem spremljal, kako različni dejavniki vplivajo na kaljivost semen žlezave nedotike. To sem raziskoval predvsem zato, ker na temo žlezave nedotike ni veliko znanega, ne o kaljivosti ne o antibiotičnih učinkih različnih delov te rastline.

Žlezava nedotika je visoka enoletnica z golim, kolenčasto odebeljenim in votlim, sočnim stebлом. Listi so nasprotni, v zgornjem delu po tri v vretencu. Po obliki so jajčastosuličasti, po robu nazobčani. Na listnih pecljih so žlezni laski. Cvetovi so veliki 2–4 cm in združeni v latasta socvetja. Večni listi so škrlatni ali rožnati. Dva stranska venčna lista sta zrasla v čeladasto tvorbo, trije pa so prosti. Ostroga je vrečasta, zadaj naglo zožena v ozkovaljast vrh. Plod je glavica (mnogosemiski suhi plod). Zrel plod se eksplozivno odpre in se iz njega usujejo številna semena. Uspeva na obrežjih rek, v obcestnih jarkih, na zasenčenih mestih ob robu travnikov, v močvirnih gozdovih in na poplavnih območjih. (Kutnar in sod., 2019)

Na splošno na kaljivost semen vplivajo različni dejavniki, predvsem abiotični: temperatura, prisotnost vlage, pH zemlje. Semena žlezave nedotike večinoma rastejo na zelo vlažnih predelih (npr. ob rekah), zato lahko sklepamo, da semena za uspešno kalitev potrebujejo ogromno vode. Žlezava nedotika nima veliko naravnih sovražnikov, zato je tako uspešna v Sloveniji. Najbolj pogosta sta naravna sovražnika pa sta členonožci in glivični patogeni.

V tej raziskovalni nalogi sem torej spremljal prisotnost različnih antibiotičnih snovi v izvlečkih različnih delov rastline (listi, steblo, semena in mlade kaleče rastline) in le-te preveril na antibiogramu z bakterijama *Staphylococcus epidermidis* in *Escherchia Coli*. Prav tako sem opazoval vpliv različnih dejavnikov kot na primer različna molarnost raztopine natrijevega klorida (NaCl), pomakanje svetlobe ter sprememba v kislosti ali bazičnosti okolja na kaljivosti semen žlezave nedotike.

## SUMMARY

Himalayan balsam (*Impatiens glandulifera*)—is it only an unusable invasive weed or can it be utilised? This is the question I wanted to answer in this research paper. Since this plant is an invasive species, it is most frequently removed in Slovenia by uprooting before it flowers, and I wanted to find out whether the discarded plant could be used in any way, even after being removed from the soil. In my research paper I examined whether the leaves, stems and seeds, as well as the juvenile plants of the Himalayan balsam contain any antibiotic substances. As the plant is an annual plant, its spread can be controlled not only by uprooting, but also by suppressing its ability to germinate. I wanted to determine what would be able to suppress the germination and would be able to be used later in nature.

In this research paper I primarily focused on the antibiotic effects of extracts from various part of the plant. I also monitored how various factors affected the ability of the seeds of the Himalayan balsam to germinate. The reason why I researched this topic is that it much is still unknown about the Himalayan balsam, neither about its germination nor about the antibiotic effects of various parts of this plant.

The Himalayan balsam is a tall annual plant with a bare stem with nodes, which is also hollow and fleshy. The leaves are opposite, in whorls of three per node in the upper part. It has lanceolate leaves with serrated teeth along the edge. There are several thick glandular hairs on the leaf stalks. The flowers are 2–4 cm in size and are combined into raceme inflorescences. Its petals are scarlet or pink. Two of its side petals are fused into a helmet-like shape, while three are independent. Its spur is sack-shaped in front, while sharply tapering in the back. Its fruit is a seedpod capsule (multiseeded dry fruit). The mature seedpod opens explosively, discharging numerous seeds. It grows on riverbanks, roadside ditches, in shady spots along fields, in marshy woodlands and in floodplain areas. (Kutnar et al., 2019)

Generally speaking, the ability of the seeds to germinate is affected by various factors, mostly abiotic: the temperature, presence of moisture, the soil's pH. Himalayan balsam seeds mainly grow in very moist areas (e.g. on riverbanks); therefore, we can conclude that the seeds require plenty of water to germinate successfully. The Himalayan balsam has few natural enemies, which is why it is so successful in Slovenia. Its most common natural enemies are arthropods and fungal pathogens.

In this research paper I therefore monitored the presence of various antibiotic substances in the extracts of various parts of the plant (the leaves, stem, seeds and juvenile germinating plants) and then examined these on an antibiogram with the *Staphylococcus epidermidis* and *Escherchia Coli* bacteria. I also observed the effect of various factors, such as the various molarity of a sodium chloride (NaCl) solution, a lack of light and a change in acidity or basicity of its environment on the ability of the seeds of the Himalayan balsam to germinate.

## UVOD

### 1.1. NAMEN RAZISKOVALNE NALOGE

Ker sem že od malega odraščal z naravo in je bil svet biologije velik del mojega otroštva, sem se za raziskovalno nalogo na področju biologije odločil v srednji šoli. Za raziskovanje žlezave nedotike, sem se odločil, ker sem jo večkrat v naravi opazil, sploh pa me je pritegnil njen način širitve semen v naravi, ki se je kasneje pri nabiranju semen izkazal za ne tako ljubo lastnost za raziskovalca. Ker je rastlina invazivna, jo v Sloveniji po večino odstranjujemo z izpulitvijo še pred cvetenjem in zanimalo me je, če je zavržena rastlina lahko še kako uporabna po njeni odstranitvi. Pri raziskovalni nalogi sem preučeval ali listi, stebela, semena in mlade kaleče rastline vsebujejo kakšne antibiotične snovi. Ker pa je rastlina tudi enoletnica, lahko širjenje rastlin omejimo ne le s puljenjem, pač pa tudi z zatiranjem kaljivosti semen. Zanimalo me je, kateri dejavnik bi utegnil zavirati kalitev in bi jih kasneje lahko uporabili v naravi. Taki dejavniki bi potem lahko bili naravi prijaznejša alternativa kot razni pesticidi.

Namen moje raziskovalne naloge je omejitev rasti te invazivne rastline, s tem bi pripomogel k ohranjanju našega avtohtonega rastja. Hkrati pa naloga ponuja nove možnosti uporabe invazivnih rastlin v farmaciji, agronomiji (vir gnojil) ali prehrani (vir klorofila, mineralov in vitaminov). Odpira vrata ostalim nadaljnjim raziskavam.

### 1.2. TEORETIČNO OZADJE

#### 1.2.1. RAZISKOVALNI OBJEKT: ŽLEZAVA NEDOTIKA (*IMPATIENS GLANDULIFERA*)

Žlezava nedotika je visoka enoletnica z golim, kolenčasto odebeljenim ter votlim in sočnim stebлом. Listi so nasprotni, v zgornjem delu po tri v vretencu. Po obliki so jajčastosuličasti, po robu nazobčani. Na listnih pecljih so žlezni laski. Cvetovi so veliki 2–4 cm in združeni v latasta socvetja. Večni listi so škrlatni ali rožnati. Dva stranska venčna lista sta zrasla v čeladasto tvorbo, trije pa so prosti. Ostroga je vrečasta, zadaj naglo zožena v ozkovaljast vrh.

Plod je glavica (mnogosemnski suhi plod). Zrel plod se



Slika 1: Žlezava nedotika (*Impatiens glandulifera*)

## Vito Krajnik: Žlezava nedotika – neuporaben plevel ali zeleno zlato?

eksplozivno odpre in se iz njega usujejo številna semena. Uspeva na obrežjih rek, v obcestnih jarkih, na zasenčenih mestih ob robu travnikov, v močvirnih gozdovih in na poplavnih območjih. (Kutnar in sod., 2019)

Prvotna domovina žlezave nedotike sta Indija in zahodna Himalaja, od koder izvira njeno angleško ime Himalayan Balsam. V prvi polovici 19. stoletja so jo v botaničnem vrtu Kew pri Londonu gojili kot okrasno rastlino, od tam pa je ušla in se naturalizirala po Angliji. V nekaj desetletjih se je zelo razširila, danes pa je naturalizirana v večjem delu Evrope. Kot invazivno rastlino jo obravnavajo v Evropi, Aziji, severni Ameriki in Novi Zelandiji (Frajman, 2008).

### 1.2.2. INVAZIVNE TUJERODNE RASTLINSKE VRSTE

Invazivne tujerodne rastlinske vrste oz. invazivka je vsaka vrsta, podvrsta ali takson nižje kategorije, ki se nahaja izven območja (preteklo ali sedanje) naravne razširjenosti oz. območja, ki bi ga lahko dosegla z naravnim širjenjem (Visintin, 2013).

Od invazivnih vrst žlezave nedotike, poleg žlezave nedotike na vrtovih, vse pogosteje pa tudi podivjano v naravi, najdemo balfourovo nedotiko (*Impatiens balfourii*), pri kateri je ostroga postopoma zožena, cvet pa zgoraj svetlorožnat. Kot okrasno vrsto gojijo tudi breskvico (*Impatiens balsamina*). Ta ima zelo ozko ostrogo, ki je v zadnjem delu izrazito ukrivljena navzdol. (Projekt LIFE ARTEMIS, <https://www.tujerodne-vrste.info/vrste/balfourova-nedotika/>)

### 1.2.3. PRENOS IN NASTANEK INVAZIVNIH VRST



Slika 2: Faze razvoja invazivnosti

Pri premagovanju razdalj, ki jih je tujerodna vrsta morala uspešno premagati, lahko ločujemo tri faze: vnos, prenos in širjenje. Te tri faze imajo pogosto različne vektorje, za vnos na novo območje je po definiciji odgovoren človek, širjenje pa se praviloma dogaja spontano, z enakimi mehanizmi širjenja populacij, kot jih je vrsta imela v svojem primarnem okolju. Prenos oziroma prenašanje v novem okolju je prav tako lahko del aktivnosti človeka, vendar so tu vključeni drugi vektorji.



## Vito Krajnik: Žlezava nedotika – neuporaben plevel ali zeleno zlato?

Jogan in Kos pravita, da za razumevanje fenomena pojava tujerodne vrste na nekem območju je pomembno razlikovati med namernimi in nenamernimi vnosi, poznati ključne vektorje prenašanja na sekundarnem območju razširjenosti (v »novi domovini«) in razumeti biologijo širjenja. (Jogan in Kos, 2012)

Veenvliet v svojem članku navaja, da so namerne naselitve tiste naselitve, ki jih je človek izvedel z namenom, da bi se vrste v okolju ustalile, človek pa bi imel od njih določeno korist. Vse ostale naselitve lahko opredelimo kot nenamerne naselitve. Ta delitev je pomembna tudi z vidika načrtovanja ukrepov. Pri nenamernih naselitvah, ki so posledica nezavednih, nenamernih dejanj človeka, bodo ukrepi popolnoma drugačni kot pri namernih naselitvah. Kajti pri namernih naselitvah (četudi nedovoljenih) se bomo bržkone soočili z močnimi interesnimi skupinami in zagovorniki, ki so od naselitve vrste pričakovali določene koristi. (Veenvliet, 2009)

### 1.2.4. VPLIVI INVAZIVNIH VRST NA OKOLJE

Vpliv tujerodnih rastlinskih vrst pa je izjemno prisoten po celi Sloveniji. Vplive razdelimo na štiri podkategorije: vplivi na domorodne vrste, vplivi na ekosisteme, vplivi na gospodarstvo in vplivi na zdravje ljudi.

Tujerodne rastlinske vrste na domorodne vrste vplivajo v večini negativno, saj postanejo njen tekmeč za različne nujno življenjske dejavnike npr. hrano, življenjski prostor...

Nekatere tujerodne vrste v novem okolju popolnoma spremenijo medvrstne odnose, kroženje hranil, fizikalne in kemijske dejavnike. To pogosto vodi v popolno preobrazbo ekosistema. Za mnoge invazivne rastline je značilno, da so zelo uspešne pri naseljevanju odprtih površin (npr. ob cestah ali vzdolž vodotokov), kjer se hitro razrastejo in tvorijo goste sestoje. To popolnoma spremeni kemijske in fizikalne dejavnike (npr. količino svetlobe), ki niso več ustrezni za rast domorodnih rastlin. Kadar se na račun tujerodnih rastlin bistveno zmanjša število domorodnih rastlin, ki so ključne za prehrano živali, invazivne rastline prizadenejo tudi živalske vrste. (Veenvliet, 2009)

Številne tujerodne vrste so ljudje namerno naselili v nova okolja in danes predstavljajo temelje gospodarskih panog, prinašajo blaginjo in ekonomske koristi. V Sloveniji pridelamo največ koruze, krompirja in ječmena, vse tri rastline so tujerodnega izvora. (Veenvliet, 2009)

Mnoge okrasne rastline so delno ali v celoti strupene. Sajenje takih rastlin v okolici hiš ali izobraževalnih ustanov je tako tvegano. Medtem ko domorodne strupene rastline dobro poznamo, pa se nevarnosti tujih rastlin redkeje zavedamo. Nekatere rastline niso nevarne le ob zaužitju, temveč lahko izločajo nevarne snovi. Druge so alergene in povzročajo seneni nahod. (Veenvliet, 2009)

### 1.2.5. ODSTRANJEVANJE INVAZIVK

Razumevanje procesov vnosa, prenašanja in širjenja za posamezno tujerodno vrsto je nujno za uspešno načrtovanje nadzora, blaženja vpliva in odstranjevanja, vidimo pa, da je malo splošnih pravil in izredno veliko kombinacij različnih poti pasivnega. (Jogan in Kos, 2012)

Kus Veenvlietova in Veenvliet poudarjata, da ukrepe odstranitve ali nadzora izvajamo za invazivne tujerodne vrste ali potencialno invazivne vrste. Dokler je vrsta invazivna le na majhnem območju, jo lahko poskusimo popolnoma odstraniti iz narave. Način odstranjevanja vrste moramo izbrati glede na značilnosti vrste. Običajno je treba ukrepe odstranjevanja izvajati skozi daljše časovno obdobje, nato pa še nekaj let spremljati ali se bo vrsta ponovno pojavila. Kadar širjenja ne uspemo preprečiti v zgodnjih fazah naselitve, se vrsta navadno tako razširi, da popolna odstranitev iz narave ni več mogoča. V takem primeru nam preostane le še nadzor vrste. To pomeni, da vrsto z enakimi metodami aktivno odstranjujemo iz okolja, vendar se zavedamo, da vrste ne bomo uspeli v celoti odstraniti, bomo pa omejili širjenje in vsaj zmanjšali negativne vplive. Ukrepi nadzora so tako trajni, kar seveda pomeni tudi stalne stroške. (Kus Veenvliet in Veenvliet, 2017)

### 1.2.6. ODSTRANJEVANJE ŽLEZAVE NEDOTIKE

Hartmann je zapisal, da če odstranjujemo nedotiko v primernem času, so različne metode odstranjevanja (košnja z odstranjevanjem, mulčenje, ruvanje) primerljivo uspešne in učinkovite, delo je treba načrtovati skladno z razmerami na območju, kjer želimo nedotiko odstraniti. Dosti večjo škodo kot morebitna razlika v učinkovitosti metod lahko povzroči prepozno odstranjevanje (ko s tem pripomoremo k razširjanju semen), površno odstranjevanje ali tudi prezgodnje odstranjevanje (Hartmann & al. 1995).

Wartman v svojem članku svetuje, da odstranjevanje žlezave nedotike ni vezano zgolj na eno kritično območje, temveč se ta problem obravnava širše, vsaj vzdolž reke, ker se semena lahko prenesejo z njo in zasejejo drugje. (Wadsworth, 2000)

### 1.2.7. UPORABA INVAZIVNIH RASTLI V MEDICINSKE NAMENE



staranje.

Slika 3: Japonski dresnik (*Fallopia japonica*)

Invazivke v vsaki državi predstavljajo druge rastlinske vrste. V Sloveniji je med bolj poznanimi in splošno uporabljenimi navadna kustovnica, bolj natančno njena semena, ki jih poznamo pod imenom goji jagode. Uporabljajo se predvsem v prehrani. Po svetu se prav tako uporablja tudi v Sloveniji prisoten japonski dresnik. Zaradi vsebovanja močnega antioksidanta, dokazano preprečuje rast rakavih tumorjev pri miših, prav tako pa naj bi imel lastnosti za počasnejše

V Sloveniji je prav tako zelo razširjena *Cannabis sativa*. Sativa je visoka in tanka rastlina, ki v naravi mero od 2 do 4 metre višine. Listje je večinoma svetlo zelene barve, ker ima manj klorofila kot indica. Zaradi tega raste in cveti dlje kot indica, ter potrebuje več svetlobe. Raste zelo hitro, cveti pa lahko od 10 do 16 tednov. Letina je v glavnem manjša kot pri indici, je pa zelo močna, pišejo poznavalci. Vršički so dolgi in tanki. Poreklo sative izhaja iz Kolumbije, Mehike, Tajske in jugovzhodne Azije. (Konoplja.net, <https://konoplja.net/novice/vrste-konoplje/>)

### 1.2.8. UPORABA ŽLEZAVE NEDOTIKE

Uporaba žlezave nedotike v vsakdanu je po trenutno dostopnih virih skoraj zanemarljiva. Zasledil sem, da se barva cvetov uporablja kot naravni pH indikator. Prav tako se žlezava nedotika uporablja v prehranjevalne namene in kot zdravilo (Bach's Rescue Remedy/SOS Formula). Pri prehranjevanju je pomembno, da pred zaužitjem, žlezavo nedotiko termično obdelamo, saj vsebuje kalcijev oksalat ( $\text{CaC}_2\text{O}_4$ ), ki pa je človeku nevaren.

Frajman navaja, da je v gostih sestojih žlezave nedotike uspevanje drugih rastlin zelo omejeno ali praktično nemogoče. (Frajman, 2008) Pogosto neuspevanje drugih rastlin, povzročajo sekundarni metaboliti, ki jih proizvajajo rastline v presnovnih poteh. Izločanje sekundarnih metabolitov v okolico, kjer le-te onemogočajo rast ostalih rastlin imenujemo alelopatija. (Gaberščik, 2013)

### 1.2.9. VPLIVI NA KALJIVOST SEMEN

Na kaljivost semen vpliva veliko dejavnikov. Med najpomembnejše štejemo temperaturo, flaktuacijo temperature, prisotnost NaCl, pomakanje ali prekomerna prisotnost vode, temperatura in pH prsti.

Jogan in Šabićeva poudarjata dobo kaljivosti semen. Kaljivost semen pri enoletnicah pada na podoben način kot razpadajo atomi, se pravi, da kaljivost s časo upada. Ta članek zajema podatke za različne raziskave kaljivosti semen žlezave nedotike, in sicer 18 mesecev Nikolić & al. 2014; vsaj 4 leta Skálová & al. 2019; 6 let Schuldes 1995. (Jogan in Šabić, 2019)

Hulme in Bremner sta odkrila, da žlezava nedotika vpliva na kaljivost drugih semen. S tem ko zraste nad ostale rastline in da ima ogromno liste je uspešnost rasti drugi rastlin precej manjša. Prav tako navajata, ko se je žlezavo nedotiko odstranilo iz opazovanega okolja, se je rast svetloboljubnih rastlin povečala za 25%. (Hulme in Bremner, 2005)

## 1.3. RAZISKOVALNO VPRAŠANJE

Žlezava nedotika je izredno razširjena invazivna rastlinska vrsta v Sloveniji. Uspešno bi jo odstranili iz okolja z vsakoletnim puljenjem rastline pred cvetenjem in zatiranjem kaljivosti semen, ki so ostala v zemlji.

Zanima me, kateri dejavnik bi zaviral kaljivost semen in s tem pripomogel k odstranitvi te rastline iz okolja.

Zanima me ali različni deli žlezave nedotike vsebujejo kakšne antibiotične lastnosti.

## 1.4. HIPOTEZE

Semena bodo uspešnejše kalila na svetlobi kot v temi.

Semena bodo boljše klila pri nevtralnem oz. bazičnem pH-ju.

Semena bodo slabše kalila ob ozmotskem stresu.

Predpostavljam, da različni deli žlezave nedotike vsebujejo različno količino antibiotičnih snovi in te bodo imele različen vpliv na različne vrste bakterij: *Staphylococcus epidermidis* in *Escherchia Coli*.

## 2. RAZISKAVA

### 2.1. METODA DELA

#### 2.1.1. VPLIVI RAZLIČNIH DEJAVNIKOV NA KALJIVOST SEMEN

##### PRIPOMOČKI

- Semena žlezave nedotike,
- Merilni valj,
- Čaše,
- Spatule,
- Tehnica (Kern und Sohn, Balingen, Nemčija),
- NaCl (kuhinjska sol),
- Varikina – NaClO (Šampionka, Koper, Slovenija),
- Velike petrijevke,
- Papirnate brisačke,
- Pipete,
- Kalitvena plošča,
- Zemlja (Gramoflor - Substrat ,Vechta, Nemčija)
- Destilirana voda,
- Folija,
- Bombažna vata,
- Lij,
- Gaza,
- Magnetno mešalo (Lab companion, Korea)

##### OPIS DELA

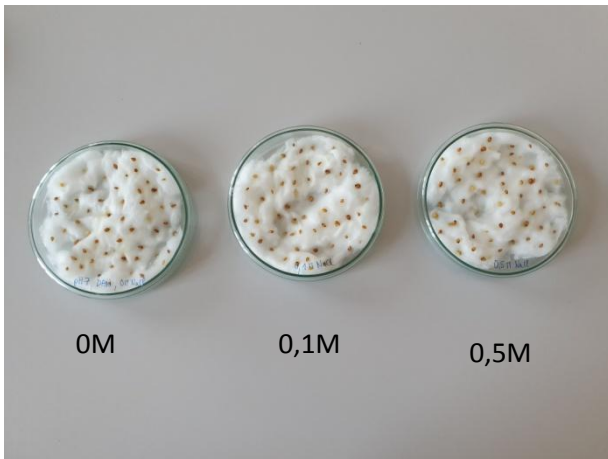
Semena sem nabral v Kranju v kanjonu Kokre v mesecu avgustu 2019. Na rastišču sem izmeril pH 6. Na semenih sem izvedel test kaljivosti, ki je prikazal da so semena kaljiva. Semena sem hranil v suhi posodi do pomladi 2021, saj prej poskusa nisem uspel izvesti zaradi zaprtja šole.

Semena sem najprej razdelil v skupine po 50 in jih nato v mešanici raztopine varikine (40mL) in destilirane vode (100mL) 5 minut steriliziral na magnetnem mešalu. Po končani sterilizaciji sem semena izpiral z destilirano vodo (trikrat). Nato sem semena dal kaliti v petrijevke z vato, ki sem jo tretiral z različnimi raztopinami (40mL) (glej slike 4, 5, 6). 50 semen sem razporedil po ploščini celotnega dna petrijevke. Petrijevke s semeni smo izpostavili stratifikaciji pri 4°C za osem dni. Semena sem nato zalival na vsake 3 dni z 10mL določene raztopine.

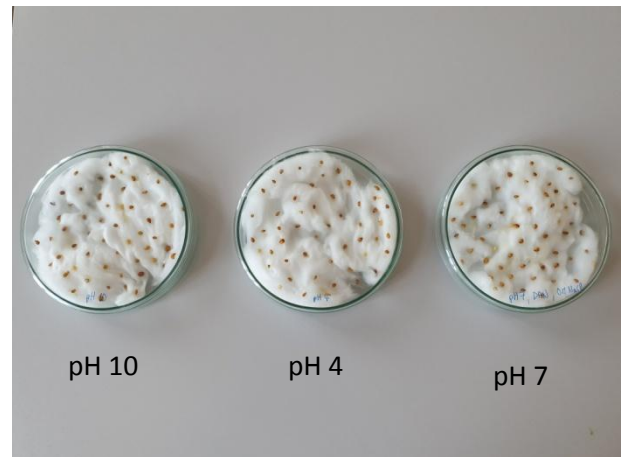
## Vito Krajnik: Žlezava nedotika – neuporaben plevel ali zeleno zlato?

Pri poskusu kalitve sem spremljal različne dejavnike, kaljivost pri:

- Različnem pH-ju: 4, 7 in 10
- Prisotnosti in odsotnosti svetlobe
- Izpostavljenosti različnemu osmotskemu stresu (0M, 0,1M in 0,5M NaCl)



Slika 4: Prikazuje kaljivost semen pri različni molarnosti raztopine NaCl



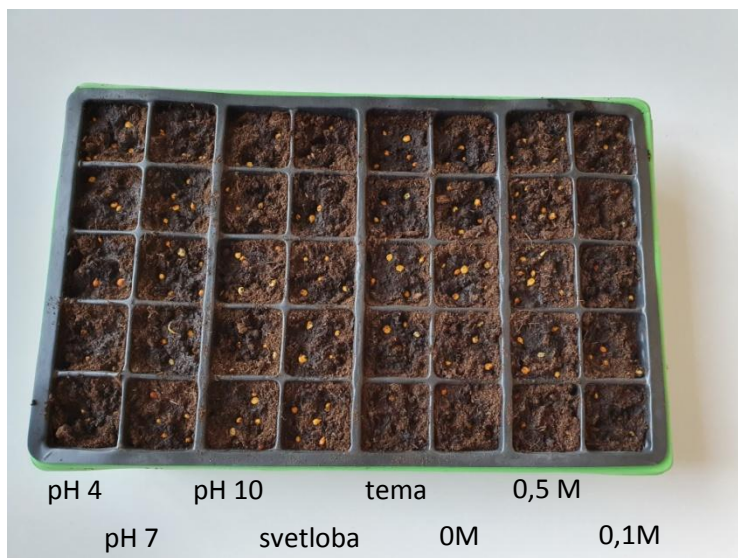
Slika 5: Prikazuje kaljivost semen pri različnih vrednosti pH.



Slika 6: Prikazuje kaljivost semen pri prisotnosti in odsotnosti svetlobe

## Vito Krajnik: Žlezava nedotika – neuporaben plevel ali zeleno zlato?

Enak postopek sem ponovil še z zemljo in kalilnikom. Pri vsakem parametru v kalilniku sem spremljal kaljivost 25 semen.



Slika 7: Kalitvena plošča s semeni pri različnih dejavnikih

### 2.1.2. ANTIBIOTIČNE LASTNOSTI RAZLIČNIH DELOV RASTLINE

#### PRIPOMOČKI

- Petrijevke,
- Čaše,
- Papirnate brisačke,
- Žlezava nedotika (stebila, semena, listi, cele mlade kleče rastline)
- Terilnica in tnaló,
- Tehnica (Kern und Sohn, Balingen, Nemčija),
- Magnetno mešalo (Lab companion, Korea),
- Destilirana voda,
- Etanol,
- Bakterije *Staphylococcus epidermidis* in *Escherchia Coli*
- Sterilni diski,
- Krvna agarjeva gojišča (Zavod za zdravstveno varstvo Kranj),
- Gorilnik,
- Bakteriološka eza,
- Pinceta

## Vito Krajnik: Žlezava nedotika – neuporaben plevel ali zeleno zlato?

### OPIS DELA

Najprej sem odtehtal 1 g semen, 1 g listov in 1 g stebel žlezave nedotike in vsak del rastline v oprani terilnici strli in dodal 10 mL vode ter 0,5 g kremenčevega peska. Kasneje sem dodal še 90mL vode (40°C) v vsako terilnico. Vsako strto zmes sem nato dal še na magnetni mešalec za 20 minut. Med mešanjem zmesi, sem pripravil gojišča iz krvnega agarja. Bakterije sem z ezo nanesel na gojišče (5 za bakterije *Staphylococcus epidermidis* in 5 za *Escherchia Coli*). Potem sem sterilne diske pomočil v ekstrakte različnih delov rastlin.

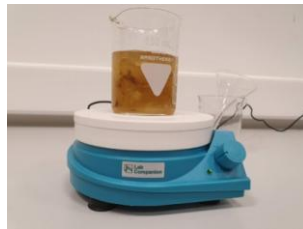


Slika 8: Deli žlezave nedotike v terilnicah

Slika 9: Terilnica z mladimi rastlinami



Slika 10: Ekstrakt semen



Slika 11: Ekstrakt stebel



Slika 12: Ekstrakt listov



Slika 13: Ekstrakt mladih rastlin



Slika 14: Gojišča v inkubatorju



## 2.2. REZULTATI

### 2.2.1. VPLIVI RAZLIČNIH DEJAVNIKOV NA KALJIVOST SEMEN

Semena po stratifikaciji 2 mesecev niso kalila.

Semena po stratifikaciji 8 dni niso kalila.

Semena pri obeh stratifikacijah niso kalila ne v kalitveni plošči, ne v petrijevkah.

### 2.2.2. ANTIBIOTIČNE LASTNOSTI RAZLIČNIH DELOV RASTLINE

Št. petrijevke	Ekstrakti				
	Kontrola	Listi	Semena	Stebila	Mlade kaleče rastline
1	0 cm	1,1 cm	0 cm	0,4 cm	0 cm
2	0, 1cm	0 cm	0 cm	0,7 cm	0 cm
3	0 cm	0,6 cm	0 cm	0 cm	0 cm
4	0 cm	0, 6 cm	0,8 cm	1 cm	0 cm
5	0,3 cm	0, 4 cm	0 cm	0 cm	0 cm
$\bar{x}$	0,08 cm	0,54 cm	0,16 cm	0,42 cm	0 cm

Tabela 1: Velikost inhibicijskih con pri bakterijah *Staphylococcus epidermidis*

Inhibicijske cone se pri bakteriji *Escherchia Coli* niso pojavile.

## 3. RAZPRAVA

### 3.1. VPLIVI RAZLIČNIH DEJAVNIKOV NA KALJIVOST SEMEN

V zgodnji jeseni 2019 sem izvedel preizkus kaljivosti semen. Semena so kalila tako v petrijevki in kalitvenih ploščah z zemljo, vendar je bil odstotek kaljivosti okoli 60%. Literatura navaja, da stratifikacija poveča delež uspešnih kalitev semen, zato sem se tudi odločil semena stratificirati. Štritof in Kladnik tako navajata, da trajnice in lesnate rastline bistveno počasneje vzkalijo, pogosto pa morajo še nekaj časa mirovati oz. je treba njihova semena enkrat ali večkrat na leto za določen čas skladiščiti na hladnem ali toplem in vlažnem kraju (stratifikacija). Pri drugih rastlinah stratifikacija sicer pospeši kalitev, vendar ni potrebna (Štritof in Kladnik, 2016).

Pri vseh različnih dejavnikih (osmotski stres, različni pH-ji in osvetljenost oz. neosvetljenost, kontrola) katerim sem izpostavil semena, nobena od semen niso kalila. Preizkusil sem različno dobo stratifikacije in različne podlage za kaljivost (petrijevka z vato in kalilnik z zemljo).

Razlog za neuspešno kalitev lahko pripišem starosti semen ali napačnemu shranjevanju semen. Semena sem nabral pozno poleti 2019. Spomladi 2020 sem prvič izvedel poskus, vendar so zaradi epidemije zaprli šole in poskusa nisem uspel do konca izpeljati. Poskus sem ponovno izvedel spomladi 2021, saj so nekateri viri navajali kaljivost semen od 18 mesecev do 6 let (Jogan in Šabić, 2019). Hkrati avtorja, ki navajata te raziskave (Jogan in Šabić, 2019) navedeta, da kaljivost enoletnih rastlin zelo hitro upada, kar pojasni neuspeh za kaljivosti mojih semen.

Semena sem pri prvem poskusu stratificiral 2 meseca pri 4°C, pri 2 poskusu pa 8 dni, s tem sem ponazoril raznoliko zimsko obdobje v naših krajih (zime z izrazito nizkimi temperaturami dolgo časa in mile zime s krajšim hladnim obdobjem). Izkazalo se je, da semena ne v enem, ne v drugem primeru niso kalila. Vsekakor bi se pri različnih virih kaljivosti semen zanašal na tiste, ki navajajo zelo kratko dobo kaljivosti semen žlezave nedotike (Jogan in Šabić, 2019). Rezultati poskusa kažejo na to, da so bila semena prestara. Poskus bi bilo vsekakor zanimivo ponoviti z mlajšimi semeni.

Drugi razlog za neuspešno kalitev semen pa lahko pripišemo napačnemu shranjevanju letih. Benečeva navaja, da je ohranjanje kakovosti semena in s tem predvsem kalivosti odvisna od rastlinske vrste, katere seme imamo, in od pogojev, v katerih jih hranimo. Na primer: seme sončnic hitro izgubi kalivost, če ga shranjujemo v vlažnem prostoru, kjer je temperatura zraka nad 15°C. Na splošno velja, da seme shranjujemo v suhem in hladnem prostoru. (Benec, Shranjevanje semen in ohranjanje kaljivosti, Bodi eko)

### 3.2. ANTIBIOTIČNE LASTNOSTI RAZLIČNIH DELOV RASTLINE

V gostih sestojih žlezave nedotike redko najdemo druge rastline (Frajman, 2008). Neuspevanje rasti drugih rastlin pogosto preprečujejo sekundarni metaboliti, ki jih izločajo invazivne rastline. Rastline v njihovem okolju obkroža veliko organizmov, pred katerimi se ne morejo umakniti tako kot živali. Zato so razvile varovalni sistem, katerega del so tudi sekundarni metaboliti (Indihar, 2019).

Preko metode antibiogram sem preverjal, če imajo ti sekundarni metaboliti kakšne antibiotične lastnosti. Rezultati glede antibiotičnih lastnosti se razlikujejo pri različnih vrstah bakterij, ki sem jih proučeval. Pri bakterijah *Staphylococcus epidermidis* so se tako inhibicijske cone pojavile, medtem ko se pri drugi vrsti, *Escherchia coli*, inhibicijske cone niso pojavile. Za bakterijo *Escherchia coli* sem se odločil, saj je že naravno prisotna v človeškemu telesu.

Nacionalni inštitut za javno zdravje (NIJZ) navaja, da je vrsta *Escherichia coli* del normalne črevesne flore v prebavnem traktu ljudi in živali. Večina sevov je nepatogenih za gostitelje, vendar pa so nekateri sevi pridobili različne virulentne dejavnike in tako postali patogeni. Zato lahko povzročajo različne nalezljive bolezni, najpogosteje okužbe sečil in črevesne okužbe (NIJZ, 2011).

Za bakterijo *Staphylococcus epidermidis* pa sem se odločil, saj je naravni prebivalec človeške kože in sluznice. Je oportunistični patogen in ga štejejo za enega izmed glavnih povzročiteljev bolnišničnih okužb (Čibej, 2018). *S. epidermidis* najpogosteje povzroča okužbe pri ljudeh z medicinskimi vstavki, kot so katetri in proteze. Čeprav okužbe običajno ne vodijo v smrt, podaljšajo čas in zahtevnost zdravljenja pacienta, kar med drugim predstavlja večji ekonomski strošek za zdravstveni sistem (Otto, 2008).

Velikost inhibicijskih con pri bakteriji *Staphylococcus epidermidis* lahko opazujemo v tabeli 1. razberemo, da ima največje povprečne inhibicijske cone ekstrakt listov (0,54 cm) in da so se inhibicijske cone pojavile v štirih od petih gojiščih. Sledi mu ekstrakt stebel (0,42cm), kjer so je inhibicijska cona pojavila pri treh izmed petih gojiščih. Povprečno najmanjše inhibicijske cone sem izmeril pri ekstraktu semen (0,16 cm), kjer se je inhibicijska cona pojavila samo pri enem gojišču.

Inhibicijske cone se pri ekstraktu mladih kalečih rastlinah niso pojavile.

Rezultati poskusa kažejo, da vodni ekstrakti različnih delov žlezave nedotike ne vsebujejo veliko antibiotičnih lastnosti. Za ekstrakcijo sem uporabil plodeče rastline, morda bi kot vir antibiotičnih snovi uporabil lahko mlajše rastline (pred ali med cvetenjem). Za nadaljnje raziskave predlagam uporabo še drugih načinov ekstrakcije, npr. ekstrakcija z alkoholom, acetonom,...

## 4. ZAKLJUČEK

Žlezava nedotika je znatno zaznamovala slovenski botanični prostor. Velikokrat je s svojo inteziteto rastja izločila avtohtono, domače slovensko rastje. Danes jo lahko opazujemo na vlažnih tleh ob rečjih in močvirjih.

Na raziskovanje in izdelavo moje naloge je močno vplivala epidemija COVID-19. Zaradi prisotnosti epidemije se je samo eksperimentiranje v okvirju raziskovalne naloge zavleklo, poskuse sem moral opraviti večkrat in kasneje kot sem načrtoval. Največ težav sem zaradi tega imel pri kalitvi semen, saj sem se zanašal na podatke iz literature, ki so govorili, da so semena kaljiva dalj časa, kot se je izkazalo pri meni.

Pri izdelovanju raziskovalne naloge sem se naučil veliko novega. Naučil sem se, da raziskovalno delo prinaša tudi neuspehe. Na svojem primeru neuspelega poskusa kalitve zdaj bolj razumem znanstvenike, ki svoje delo opravljajo dolgo časa, preden lahko iz nekega raziskovalnega dela potegnejo neke zaključke. Svoje teoretično znanje o metodah dela sem prenesel v prakso. Hkrati pa sem ugotovil, da je za izdelavo naloge res potrebno dobro znanje slovenščine in računalniškega znanja oblikovanja naloge. Verjamem, da mi bodo ta znanja prišla prav pri nadaljnjem študiju.

Moja raziskovalna naloga ponuja odlično izhodišče za nadaljnje raziskave. Najprej bi navedel pomanjkljivosti in možne izboljšave naloge:

- Za kalitev semen bi si izbral mlajša semena (semena nabrana pozno poleti bi dal kaliti spomladi istega šolskega leta)
- Semena bi lahko shranjeval na različne načine in spremljal kateri način shranjevanja semen da najboljše rezultate.
- Pri antibiogramu bi lahko preizkusil še druga ekstrakcijska sredstva poleg vode: alkohol, aceton,...
- Za izdelavo antibiograma bi izboljšal svojo sterilno metodo dela (bolj natančno delo)
- Antibiogram bi lahko preizkusil še na širšem spektru bakterijskih vrst.

Ob raziskovanju te invazivne rastline so se mi odprla še nova raziskovalna vprašanja in menim, da rastlina ponuja veliko možnosti nadaljnjih raziskav. Predlagam nekaj možnosti:

- Pri kalitvi semen bi lahko preizkusil še delovanje drugih parametrov, kot so npr. vpliv dušičnih spojin, fosfatnih spojin, vpliv ekstraktov drugih vrst na kalitev,....
- Lahko bi spremljal kalitev semen v naravi na določenem izmerjenem območju in spremljal uspešnost kalitve semen v nekaj letih, če bi sproti odstranjeval vse zrasle rastline na tem območju
- Metodo antibiogram bi razširil na večji spekter različnih vrst bakterij ali uporabil drugačno pripravljene ekstrakte rastline.

### **Vito Krajnik: Žlezava nedotika – neuporaben plevel ali zeleno zlato?**

- Lahko bi poleg antibiotičnega učinka ekstraktov spremljal antimikotično delovanje ali vpliv delovanja teh izločkov na kalitev ali rast drugih rastlin.
- Pregledal bi literaturo in poiskal še kakšno možnost uporabe te rastline po odstranitvi iz okolja.

Rezultati moje raziskovalne naloge mojih hipotez ne podpirajo, vsekakor pa bi bile te hipoteze v nadaljevanju zanimive za preverjanje s predlaganimi izboljšavami poskusa ali z preverljive z drugačnimi metodami. Moja raziskovalna naloga odpira vrata drugim raziskavam in menim, da ima ta raziskovalna rastlina, žlezava nedotika še mnogo potenciala v raziskovalnem svetu.

Invazivnost žlezave nedotike je v našem prostoru močno opazna, zato bi bilo smiselno rastlino še bolje proučiti, jo z znanjem primerno izločiti iz našega prostora in omogočiti avtohtonemu rastju, da ponovno naseli naša tla.

## 5. VIRI:

1. Kutnar, L., Marinšek, A., Kus Veenvliet, J., Jurc, D., Ogris, N., Kavčič, A., de Groot, M., Flajšman, K., Veenvliet, P., 2019. Terenski priročnik za prepoznavanje tujerodnih vrst v gozdovih, druga, dopolnjena izdaja, Založba Silva Slovenica, Gozdarski inštitut Slovenije, 202 str.  
URL: [https://www.tujerodne-vrste.info/wp-content/uploads/2019/11/LIFE-ARTEMIS\\_terenski\\_prirocnik\\_druga\\_dopolnjena\\_izdaja.pdf](https://www.tujerodne-vrste.info/wp-content/uploads/2019/11/LIFE-ARTEMIS_terenski_prirocnik_druga_dopolnjena_izdaja.pdf) (Citirano 26.4.2020)
2. Žlezava nedotika. (b.d.). Pridobljeno 28.4.2020, iz [https://sl.wikipedia.org/wiki/%C5%BDlezava\\_nedotika](https://sl.wikipedia.org/wiki/%C5%BDlezava_nedotika)
3. Visintin, S., (2013.) *Pogostost in zastopanost izbranih invazivnih tujerodnih rastlin v okolici Doberdobskega jezera*. Magistersko delo, Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
4. Jogan, N., Kos, I., (2012.) *Poti vnosa, prenos in širjenja tujerodnih*. Končno poročilo, Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
5. Kus Veenvliet, J., (2009.) *Tujerodne vrst*. Grahovo, Zavod Symbiosis, str. 2
6. Kus Veenvliet J. In P., Veenvliet (2017.) *Zatiranje tujerodnih vrst*. URL: <https://www.tujerodne-vrste.info/ukrepi/zatiranje-tujerodnih-vrst/> (pridobljeno: 23.2.2021)
7. Hartmann, E., H. Schuldes, R. Kuebler & W. Konold, 1995: Neophyten. Ecomed, Landsberg. 302 pp
8. Himalayan Balsam - *Impatiens glandulifera* URL: <https://www.foragingcoursecompany.co.uk/foraging-guide-himalayan-balsam> (dostopano 23.2.2021)
9. Rozman, S., *Invazivne rastline v kmetijski krajini*, 2016, Ljubljana: Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, URL: <https://www.program-podezelja.si/sl/knjiznica/101-invazivne-rastline-v-kmetijski-krajini/file> (dostopano dne: 23.2.2021)
10. Travlos I, Gazoulis I, Kanatas P, Tsekoura A, Zannopoulos S and Papastylianou P (2020) Key Factors Affecting Weed Seeds' Germination, Weed Emergence, and Their Possible Role for the Efficacy of False Seedbed Technique as Weed Management Practice., URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fagro.2020.00001/full#h9> (dostopano: 23.2.2021)
11. Frajman, B., 2008. Žlezava nedotika *Impatiens glandulifera*, Informativni list 4, Spletna stran [tujerodne-vrste.info/informativni-listi/INF4-zlezava-nedotika.pdf](http://tujerodne-vrste.info/informativni-listi/INF4-zlezava-nedotika.pdf), Projekt Thuja. Datum dostopa: 5.3.2021
12. Projekt LIFE ARTEMIS – Osveščanje, usposabljanje in ukrepanje za invazivne tujerodne vrste v gozdu (b. d.) Pridobljeno 5. 3. 2021 iz <https://www.tujerodne-vrste.info/vrste/balfourova-nedotika/>
13. Wadsworth, R., Collingham, Y., Willis, S., Huntley, B. and Hulme, P. (2000), Simulating the spread and management of alien riparian weeds: are they out of control?. *Journal of Applied Ecology*, 37: 28-38. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2664.2000.00551.x>
14. Gaberščik, Alenka Spoznajmo svoje domovanje : ekologija za gimnazije (2013), 1. izd. - Ljubljana : Rokus Klett
15. Konoplja.net (b. D.) Pridelobljeno 19. 3. 2021 iz <https://konoplja.net/novice/vrste-konoplje/>
16. Hulme, P.E. in Bremner, E.T. (2006), Assessing the impact of *Impatiens glandulifera* on riparian habitats: partitioning diversity components following species removal. *Journal of Applied Ecology*, 43: 43-50. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2005.01102.x>

17. Jogan N., Šabić A. (2019). Popis žlezave nedotike (*Impatiens glandulifera*) in orjaškega dežena (*Heracleum mantegazzianum*) na območju Krajinskega parka Ljubljansko barje – Končno poročilo. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
18. Štritof J., dr. Kladnik A. (2016). Optimizacija kalitvenih poskusov v osnovni šoli. – Diplomsko delo. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Pedagoška fakulteta, Biotehniška fakulteta
19. Neneč B., Shranjevanje semen in ohranjanje kaljivosti, Delo in vrst, Bodi eko URL: <https://www.bodieko.si/shranjevanje-semena-kalivost> (Citirano: 5. 5. 2021)
20. Indihar E., (2019). Sekundarni metaboliti v rastlinah iz rodu *Pelargonium*. – Diplomsko delo. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
21. Nacionalni inštitut za javno zdravje – NIJZ (2011). Enterohemoragična *E.coli* (EHEC) URL: <https://www.nijz.si/sl/enterohemoragicna-ecoli-ehc> (Citirano 6. 5. 2021)
22. Queck S. H., Otto M. 2008. *Staphylococcus epidermidis* and the other coagulase-negative *Staphylococci*. V: *Staphylococcus: Molecular Genetics*. Lindsey J. (ur.). Caister, Academic Press: 227-248
23. Čibej B. (2018). Iskanje in izražanje lizinov bakteriofagov bakterij ... *Staphylococcus epidermidis* in *Propionibacterium acnes* –Mag. delo. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta

## 6. VIRI SLIK

Slika 1:

<https://images.fineartamerica.com/images-medium-large-5/himalayan-balsam-impatiens-glandulifera-lizzie-harperscience-photo-library.jpg> (dostopano dne: 28.4.2020)

Slika 2:

<http://www.bioportal.si/neobiota/CRP-Neobiota%20Slovenije%20Zbornik%20%20POTI%20VNOSA.pdf> (dostopano dne: 23.2.2021)

Slika 3:

[https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/0a/Reynoutria\\_japonica\\_in\\_Brastad\\_1.jpg/220px-Reynoutria\\_japonica\\_in\\_Brastad\\_1.jpg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/0a/Reynoutria_japonica_in_Brastad_1.jpg/220px-Reynoutria_japonica_in_Brastad_1.jpg) (dostopano dne: 23.2.2021)

Slike 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 in 14 so avtorske.