



Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer



Univerza v Ljubljani
Pedagoška fakulteta

Pedagoška fakulteta UL

GLICINIJA (*WISTERIA*) – OKRASNA, STRUPENA ALI UPORABNA?

Raziskovalna naloga na področju interdisciplinarno

(kemija, biologija, ekologija)

Avtorici: Julija Kronvogel, Petra Ouček

Razred: 3. c

Mentorica: Mateja Godec, prof. kem.

Zunanja mentorja: asist. Tim Prezelj, mag. mol. funkc. biol.; asist. dr. Miha Slapničar, prof. kem. in biol.

Ljutomer, februar 2023

Zahvala

Iskreno se zahvaljujema šolski mentorici Mateji Godec, prof. kem., za usmerjanje, pomoč, razlago in svetovanje ob ustvarjanju raziskovalne naloge.

Hvala tudi zunanjima mentorjema asist. Timu Prezlju, mag. mol. funkc. biol., in asist. dr. Mihi Slapničarju, prof. kem. in biol. s Pedagoške fakultete UL, prav tako za usmerjanje in pomoč pri ustvarjanju raziskovalne naloge.

Iskrena hvala tudi šolski laborantki Sonji Koroša, ki nama je pomagala pri pripravi na eksperimentalni del raziskovalne naloge v laboratoriju in nama popestrila čas, ki sva ga preživeli v laboratoriju.

Hvala Sarah Jerebic, prof. slo., za lektoriranje najine raziskovalne naloge.

Zahvala gre tudi staršem, ki so nama omogočili vse prevoze, in prijateljem, ki so naju spodbujali ter verjeli v naju.

Nenazadnje pa hvala šoli, ki nama je z opremo omogočila izvedbo raziskovalne naloge.

POVZETEK

Strupi in toksini so v uporabi že vse od pradavnine, njihove lastnosti kot strupov in zdravil pa se raziskujejo še danes. Z navadno maceracijo smo iz različnih delov glicinije (listov, cvetov, stebel, osemenja ploda in semen ploda), ki smo jih v sončnih dnevih septembra 2022 nabrali v SV delu Slovenije, pridobili ekstrakte. Pri ekstrakciji smo kot topilo uporabili vodo ali 70-odstotno raztopino etanola. Ekstrakte smo uporabili za poskuse na semenih rastlin kreše in mungu ter na solinskih rakcih. Iz rezultatov smo izvedeli, da večina ekstraktov spodbuja kalitev in rast rastlin, ob tem pa tudi da jih večina uničuje druge organizme, kar smo izvedli s poskusi na solinskih rakcih. Na njihovo delovanje na rastline in solinske rakce pa vpliva tudi izbira topila ter koncentracija ekstrakta v uporabljeni raztopini.

Ključne besede: glicinija, strup, alelopatija, kreša, mungo, solinski rakci.

ABSTRACT

Poisons and toxins have been used since ancient times, and their properties as poisons and medicines are still being researched today. Extracts were obtained from different parts of Wisteria (leaves, flowers, stems, fruit pericarp, and fruit seeds) collected in the NE part of Slovenia during sunny days in September 2022 by simple maceration. The solvent used for extraction was water or a 70 % ethanol solution. The extracts were used for experiments on seeds of cress and mung bean plants and on brine shrimps. The results show that most of the extracts stimulate germination and plant growth, and that most of them kill other organisms, as we have seen in experiments on brine shrimps. The choice of solvent and the concentration of the extract in the solution used also influence their effect on plants and brine shrimp.

Key words: Wisteria, poison, allelopathy, cress, mungo, brine shrimp

KAZALO VSEBINE

1.	UVOD.....	7
2.	TEORETIČNI DEL	8
2.1.	OPIS / SPLOŠEN PREGLED.....	8
2.2.	ZGODOVINSKO OZADNJE/POMEN IN KULTURNA POMEMBOST	11
2.3.	TOKSIČNE UČINKOVINE IN DELOVANJE	12
2.3.1.	ALKALOIDI.....	13
2.3.2.	LEKTINI	14
2.4.	EKOLOGIJA.....	15
2.5.	UPORABA	16
2.6.	ALELOPATIJA.....	16
3.	METODE DELA.....	18
3.1	NAČRTOVANJE DELA.....	18
3.2.	OPIS VZORCA	18
3.3.	EKSTRAKCIJA.....	19
3.4.	ANALIZA VZORCEV	22
3.5.	POSKUSI NA KALEČIH RASTLINAH.....	22
3.6.	POSKUSI NA SOLINSKIH RAKCIH	22
4.	REZULTATI DELA IN RAZPRAVA	23
4.1.	POSKUSI NA KALEČIH RASTLINAH.....	23
4.1.1.	KREŠA	23
4.1.2.	KREŠA - RAZPRAVA.....	29
4.1.3.	MUNGO	30
4.1.4.	MUNGO - RAZPRAVA	36
4.2.	POSKUSI NA SOLINSKIH RAKCIH	37
5.	ZAKLJUČEK.....	40
6.	VIRI IN LITERATURA	42
6.1.	VIRI SLIK.....	44
7.	PRILOGA	45

SEZNAM SLIK

Slika 1: Glicinija (vir: Petra Ouček)	8
Slika 2: Glicinija (vir: Ema Bakan)	8

Slika 3: Primerjava vrst glicinij (vir: Kutnar idr., 2019)	9
Slika 4: Listi glicinije (vir: Petra Ouček).....	9
Slika 5: Cvetovi glicinije (vir: " <i>Wisteria sinensis</i> ", 2021).....	10
Slika 6: Plodovi glicinije (vir: Ema Bakan)	10
Slika 7: Izvorna območja glicinije (zeleno) (vir: Royal Botanic Gardens, Kew, b. d.).....	12
Slika 8: Skeletna formula vistarina (vir: Uenishi, 1998).....	13
Slika 9: Umetna sinteza vistarina (vir: Uenishi, 1998).....	14
Slika 10: Trakasti model molekule ricina (vir: "Rizin", 2022).....	15
Slika 11: Zasnova eksperimentalnega dela.....	18
Slika 12: Nabrani in zapakirani deli glicinije (vir: Petra Ouček)	18
Slika 13: Nabrani in zapakirani cvetovi glicinije (vir: Petra Ouček)	19
Slika 14: Nabrani in zapakirani listi glicinije (vir: Petra Ouček).....	19
Slika 15: Nabrana in zapakirana stebila glicinije (vir: Petra Ouček)	19
Slika 16: Nabrani in zapakirani plodovi glicinije (vir: Petra Ouček).....	19
Slika 17: Mešanje vzorcev z magnetnim mešalom (vir: Julija Kronvogel)	20
Slika 18: Filtriranje ekstraktov (vir: Julija Kronvogel)	20
Slika 19: Filtriranje ekstraktov (vir: Julija Kronvogel)	21
Slika 20: Nastavljeni poskusi na solinskih rakcih (vir: Petra Ouček)	39

SEZNAM GRAFOV

Graf 1: Dolžina kalčkov v kontrolnih eksperimentih (70-% etanol in voda) pri kreši.....	23
Graf 2: Dolžina kalčkov v vzorcih KVL1 in KVL2 pri kreši	24
Graf 3: Dolžina kalčkov v vzorcih KEL1 in KEL2 pri kreši.....	24
Graf 4: Dolžina kalčkov v vzorcih KVC1 in KVC2 pri kreši	25
Graf 5: Dolžina kalčkov v vzorcih KEC1 in KEC2 pri kreši.....	25
Graf 6: Dolžina kalčkov v vzorcih KVS1 in KVS2 pri kreši.....	26
Graf 7: Dolžina kalčkov v vzorcih KES1 in KES2 pri kreši	26
Graf 8: Dolžina kalčkov v vzorcih KVPO1 in KVPO2 pri kreši	27
Graf 9: Dolžina kalčkov v vzorcih KEPO1 in KEPO2 pri kreši.....	27
Graf 10: Dolžina kalčkov v vzorcih KVPS1 in KVPS2 pri kreši.....	28
Graf 11: Dolžina kalčkov v vzorcih KEPS1 in KEPS2 pri kreši	28
Graf 12: Primerjava dolžin kalčkov pri kreši v 10-krat razredčenih raztopinah ekstraktov v vodnem topilu	29
Graf 13: Primerjava dolžin kalčkov pri kreši v 100-krat razredčenih raztopinah ekstraktov v vodnem topilu	29
Graf 14: Primerjava dolžine kalčkov pri kreši v 10-krat razredčenih raztopinah ekstraktov v etanolnem topilu	30
Graf 15: Primerjava dolžine kalčkov pri kreši v 100-krat razredčenih raztopinah ekstraktov v etanolnem topilu	30
Graf 16: Dolžina kalčkov v kontrolnih eksperimentih pri mungo semenih	31
Graf 17: Dolžina kalčkov v vzorcih MVL1 in MVL2 pri mungo semenih	31
Graf 18: Dolžina kalčkov v vzorcih MEL1 in MEL2 pri mungo semenih	32
Graf 19: Dolžina kalčkov v vzorcih MVC1 in MVC2 pri mungo semenih	32
Graf 20: Dolžina kalčkov v vzorcih MEC1 in MEC2 pri mungo semenih.....	33

Graf 21: Dolžina kalčkov v vzorcih MVS1 in MVS2 pri mungo semenih.....	33
Graf 22: Dolžina kalčkov v vzorcih MES1 in MES2 pri mungo semenih	34
Graf 23: Dolžina kalčkov v vzorcih MVPO1 in MVPO2 pri mungo semenih	34
Graf 24: Dolžina kalčkov v vzorcih MEPO1 in MEPO2 pri mungo semenih.....	35
Graf 25: Dolžina kalčkov v vzorcih MVPS1 in MVPS2 pri mungo semenih.....	35
Graf 26: Dolžina kalčkov v vzorcih MEPS1 in MEPS2 pri mungo semenih	36
Graf 27: Primerjava dolžin kalčkov pri mungo semenih v 10-krat razredčenih raztopinah ekstraktov v vodnem topilu	36
Graf 28: Primerjava dolžin kalčkov pri mungo semenih v 100-krat razredčenih raztopinah ekstraktov v vodnem topilu	36
Graf 29: Primerjava dolžin kalčkov pri mungo semenih v 10-krat razredčenih raztopinah ekstraktov v etanolnem topilu	37
Graf 30: Primerjava dolžin kalčkov pri mungo semenih v 100-krat razredčenih raztopinah ekstraktov v etanolnem topilu	37

SEZNAM TABEL

Tabela 1: Ekstrakti.....	21
Tabela 2: Odstotek smrtnosti rakcev v poskusu v razmerju ekstrakt:medij rakcev = 1:1 glede na čas .	38
Tabela 3: Odstotek smrtnosti rakcev v poskusu v razmerju ekstrakt:medij rakcev = 1:2 glede na čas .	38

1. UVOD

»Vse je strup in nič ni neškodljivo, samo odmerek loči zdravilo od strupa.«

- Paracelsus

Strupi so povsod okoli nas. Vsaka snov lahko potencialno predstavlja strup, a hkrati tudi zdravilo. Tega so se ljudje zavedali že od pradavnine in se še danes. Nekoč so strupe uporabljali pri lovu, gojenju rastlin, pogosto v majhnih količinah kot zdravila. Zanimivo je dejstvo, da se marsikateri strup nahaja v naravi prav tam, kjer bi ga najmanj iskali, med vsakdanjimi in pogostimi rastlinami, za katere niti ne pomislimo, da so strupene. Tako nas je ob brskanju po literaturi presenetil podatek, da je strupena tudi glicinija. Rastlina, ki jo kot okrasno rastlino najdemo na mnogih vrtovih v Pomurju, rastlina, ki se močno razrase, lepo cveti in daje močno senco v poletnih mesecih.

Odločili smo se, da bomo glicinijo in vsebnost strupov v njej podrobneje raziskali. Zanima nas, katere strupe glicinija vsebuje, kakšne so količine teh strupov in v katerem delu rastline lahko najdemo največjo količino oziroma najnevarnejše strupe. Preizkusili bomo, kakšen je vpliv teh strupov na insekte in na kaljenje oz. rast drugih rastlin, kar nam bo posledično pomagalo pri določanju uporabnosti ekstraktov iz glicinije kot pesticida oz. insekticida ali herbicida.

Cilj naloge je iz različnih delov glicinije (listi, steblo, cvetovi, plod – o semenje, plod – seme) pridobiti ekstrakte v dveh različnih topilih in jih analizirati. Nato preizkusiti še vpliv teh ekstraktov na kaljenje in rast rastlin ter učinek na insekte. Zastavili smo si naslednje hipoteze:

- 1. Glicinija je strupena rastlina.**
- 2. Različni deli rastline vsebujejo različne količine strupov.**
- 3. Največjo količino strupov v gliciniji vsebujejo semena.**
- 4. Strupi v ekstraktih delov glicinije zavirajo kalitev in rast semen kreše in mungo.**
- 5. Strupi v ekstraktih delov glicinije škodijo oz. negativno vplivajo na solinske rakce.**
- 6. Na učinkovitost ekstrakta pri zaviranju kalitve in rasti semen kreše in mungo ter uničevanju solinskih rakcev vpliva izbira topila.**

2. TEORETIČNI DEL

2.1. OPIS / SPLOŠEN PREGLED

Dandanes lahko glicinijo (*Wisteria*) zasledimo na skoraj vsakem dvorišču, za kar je verjetno krivo njeno prelepo vzpenjanje po zidovih, ki le-te okraši in popestri. Prav tako pa so prekrasni njeni cvetovi, ki prostoru dodajo nekaj barve.



Slika 1: Glicinija (vir: Petra Ouček)

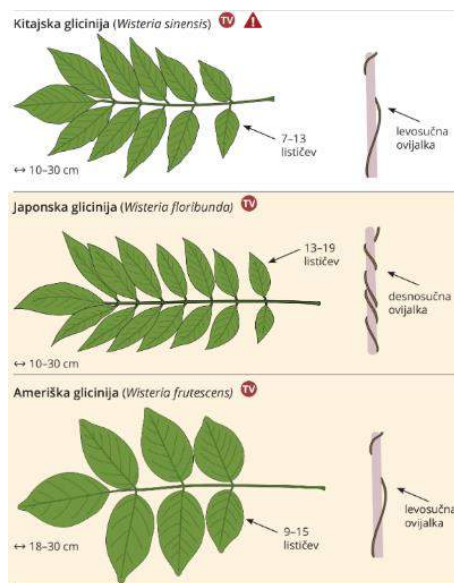
Glicinija je listopadna ovijalka s tankimi vejami, ki se med seboj prepletajo v debelejšje veje (Lozinšek, 2009). Ovijalke potrebujejo trdno in visoko oporo, kitajska glicinija (*Wisteria sinensis*) se lahko tako povzpne celo do višine 20 metrov (Mohamed idr., 2011).



Slika 2: Glicinija (vir: Ema Bakan)

Medtem pa japonska glicinija (*Wisteria floribunda*) lahko doseže višino le od 6 do 8 metrov. Glede na smer ovijanja ločimo levosučne, katerih ovijalke se glede na podlago ovijajo z leve proti desni oz. v nasprotni smeri urinega kazalca, taki sta na primer kitajska glicinija (*Wisteria sinensis*) in ameriška glicinija (*Wisteria frutescens*), ter desnосуčne, katerih ovijalke se glede na podlago ovijajo z desne proti

levi oz. v smeri urinega kazalca, taka je na primer japonska glicinija (*Wisteria floribunda*) (Lozinšek, 2009).



Slika 3: Primerjava vrst glicinij (vir: Kutnar idr., 2019)

Vse vrste glicinij imajo zelene listje, ki se pri posameznih vrstah lahko razlikuje po odtenkih. Listi kitajske glicinije (*Wisteria sinensis*) so spiralno razvrščeni in lihopernato sestavljeni, običajno je 7–13 lističev, ki so veliki 10–30 cm. So podolgovati in koničasti. Medtem pa ima japonska glicinija (*Wisteria floribunda*) 13–19 lističev, ki so po velikosti in obliki enaki listom kitajske glicinije (*Wisteria sinensis*), ameriška glicinija (*Wisteria frutescens*) pa ima 9–15 lističev v velikosti 18–30 cm, so bolj ovalne oblike in manj koničasti (Kutnar idr., 2019).



Slika 4: Listi glicinije (vir: Petra Ouček)

Cvetovi glicinije rastejo v do 50 cm velikih gostih visečih grozdastih socvetjih, ki oddajajo prijeten nežen vonj (Lozinšek, 2009). Le-ti pa so lahko svetlo modri, vijoličasti, rožnati, pri nekaterih vrstah tudi beli.



Slika 5: Cvetovi glicinije (vir: "Wisteria sinensis", 2021)

Rastlina lahko cveti tudi do dvakrat na leto, enkrat na začetku pomladi, drugič pa sredi poletja. Število cvetenj je odvisno od vrste (Schade idr., 2018). Po cvetenju se pojavijo 10–15 cm dolgi dlakavi plodovi v obliki stroka, ki vsebujejo semena (Lozinšek, 2009). Le-ta so velika, a jih je v posameznem zelenem stroku malo, zaradi tega pa strok oblikujejo v obliko kapljice.



Slika 6: Plodovi glicinije (vir: Ema Bakan)

Glicinija je toploljubna rastlina, ki se rada vzpenja po sončnih stenah hiš (Schade idr., 2018).

Vsi deli glicinije so strupeni, še posebej pa stroki oz. semena (Mayer, 2006). Zaužitje teh vpliva na delovanje živčnega sistema in povzroča slabost, bruhanje, krče ter drisko (Siol, 2013).

Taksonomska razvrstitev glicinije:

Domena: *Eukaryota* → evkarionti

Kraljestvo: *Plantae* → rastline

Podkraljestvo: *Viridiplantae* → alge (zelene rastline)

Deblo: *Streptophyta* → kopenske rastline

Razred: *Magnoliopsida* → cvetoče rastline

Red: *Fabales* → stročnice

Družina: *Fabaceae* → metuljnice

Wisteria → glicinija

Vrsta: *Wisteria floribunda* → japonska glicinija

Wisteria brachybotrys

Wisteria brevidentata

Wisteria frutescens → ameriška glicinija

Wisteria hybrid cultivar

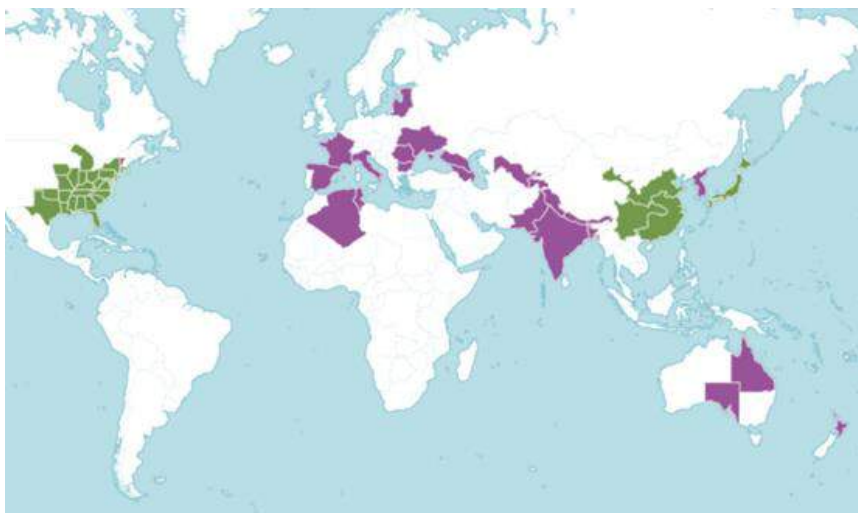
Wisteria sinensis → kitajska glicinija

Wisteria villosa

(National Library of Medicine, b. d.)

2.2. ZGODOVINSKO OZADNJE/POMEN IN KULTURNA POMEMBNOST

Izvorno območje vseh vrst glicinij predstavljajo vzhodni deli območja današnjih Združenih držav Amerike in južni deli območja današnje Kanade ali pa območja držav vzhodne Azije, med katerimi so Kitajska, Japonska in Koreja. Že tam je bila glicinija popularna kot okrasna rastlina. Kasneje se je razširila po svetu predvsem kot okrasna rastlina, na določenih območjih pa so jo označili za invazivno vrsto (Mohamed idr., 2011).



Slika 7: Izvorna območja glicinije (zeleno) (vir: Royal Botanic Gardens, Kew, b. d.)

Razširjanje glicinij iz Japonske in Kitajske je bilo razvidno v 19. stoletju:

Japonska glicinija (*Wisteria floribunda*) je bila iz Japonske prinesena v 19. stoletju in je postala priljubljena v južnih delih ZDA kot dekorativni dodatek stenam, vrtovom ter verandam (SE-EPPC, b. d.).

Zaradi prekrasnih cvetov, s katerimi se ponaša, je bila vrsta kitajske glicinije (*Wisteria Sinensis* (Sims) Sweet) na sredini 19. stoletja prinesena tudi na območje današnje Hrvaške, natančneje v Dubrovnik, skupaj z rumeno tekomo (*Tecoma unguis cati* L.). Prinesel jo je dubrovniški zdravnik Ivo Rubricius (Đurasović, 1997).

Predvsem japonska (*Wisteria floribunda*) in kitajska glicinija (*Wisteria sinensis*) imata na svojem izvornem območju velik kulturni pomen. Njuna vlakna uporabljajo za papir in preproge, prav tako se uporablja tudi kot lokalna delikatesa. Več o tem v poglavju 2.5 UPORABA.

2.3. TOKSIČNE UČINKOVINE IN DELOVANJE

Strupi in toksini so na Zemlji navzoči že praktično od začetka. Mnoge so uporabljali že od antike naprej, in sicer v namene lova, pri raznih obredih, za umore in seveda v medicinske namene.

Ker bomo v nadaljevanju pogosto omenjali pojma strup in toksin, definirajmo najprej njuna pomena.

»STRÚP – snov, ki v dovolj visokem odmerku ali koncentraciji povzroči pojav neželenih učinkov na živih organizmih, posameznih celicah, tkivih, organih ali organskih sistemih in lahko vodi v smrt organizma« (Strup, 2020).

»TOKSÍN – spojina, ki jo proizvajajo in izločajo žive celice, organizmi in je strupena za druge celice, organizme« (Toksin, 2020).

Med prvimi je strup definiral Švicar Paracelsus z izrekom: »Vse je strup in nič ni neškodljivo, samo odmere loči zdravilo od strupa.« (»Strup«, 2022).

Toksini so prisotni v mnogih rastlinah, predvsem kot obrambno sredstvo pred rastlinojedimi živalmi. Nekateri so tako močni, da lahko resno poškodujejo ali ubijejo rastlinojedca, ki rastlino poje. Prav tako

so posledično škodljivi za človeka in lahko v večjih količinah tudi njemu povzročijo zdravstvene težave ali smrt. Prisotni so tudi v hrani, na primer sadju in zelenjavi, ki jo redno uživamo, vendar so količine ali delovanje neškodljivi človeku. Običajno se toksini v rastlinah pojavljajo kot sekundarni metaboliti, ki so lahko proteini ali pa preproste organske molekule, katerih vloga je zaščita pred glivami, bakterijami, žuželkami in plenilci, v tem primeru rastlinojedci. Tako se sekundarni metaboliti v rastlinah pojavljajo kot molekule obrambe, barvil ali okusa in so odgovorni za preživetje rastline, predvsem v tekmovalnem okolju (Singh idr., 2013).

V gliciniji kot rastlini zasledimo marsikatero strupe in vrste toksinov. Med njimi alkaloide, lektine in tudi flavonoide.

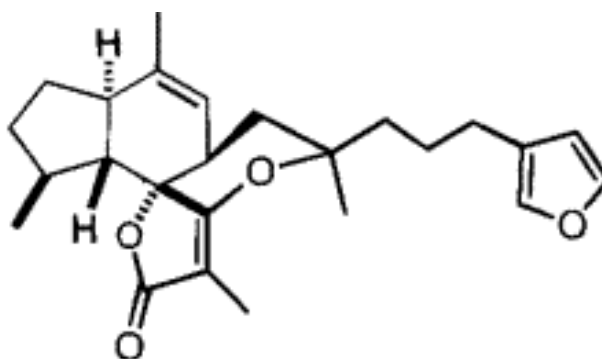
2.3.1. ALKALOIDI

Alkaloidi so naravne organske spojine, ki imajo bazične lastnosti, vsebujejo dušikove atome, ki so vezani v heterociklično strukturo in povzročajo močne fiziološke učinke. Mednje spadata na primer nikotin in kokain (Singh idr., 2013). Ime pomeni, da imajo bazične lastnosti, čeprav to ne velja za vse alkaloidne (»Alkaloid«, 2022). Prav tako za vse ne velja heterociklična struktura z dušikom, izjemoma dušika nimajo ali pa je dušik v obliki primarne, sekundarne ali terciarne aminske skupine. Vsi pa so, fiziološko aktivni (Slapničar idr., 2021). Gre torej za veliko skupino spojin, za katero ni karakteristične strukturne prvine (Chemie.de, b. d.). Glede na osnovni skelet jih delimo na heterociklične in karbociklične (»Alkaloid«, 2022).

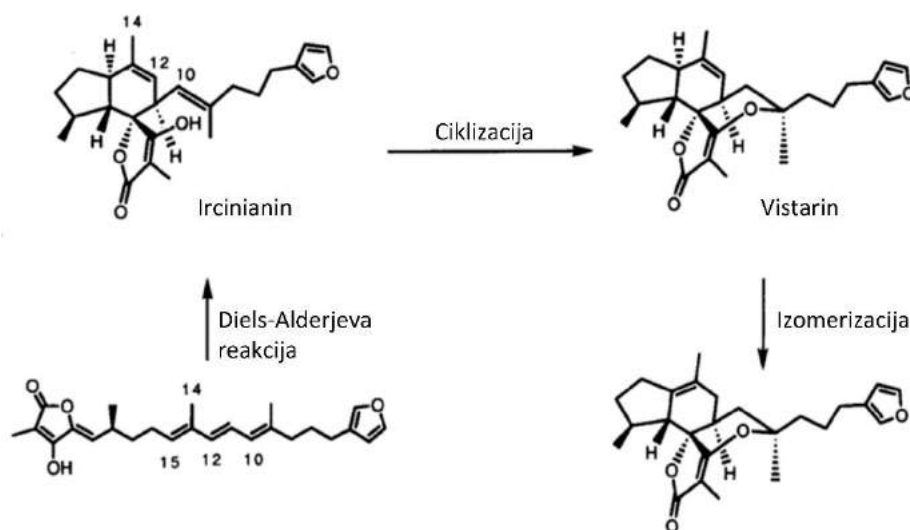
Večina jih je zelo strupenih, bele barve in grenkega okusa. Prav tako so slabo topni v vodi, a zato dobro topni v nepolarnih organskih topilih. Alkaloidi so optično aktivne spojine.

V naravi se najpogosteje pojavljajo v rastlinah. Le-te jih zaradi strupenosti uporabljajo za odganjanje rastlinojedcev in zaščito pred bakterijami, glivami ter virusi, kar pomeni, da so obrambne spojine. Čeprav so alkaloidi strupeni, se zaradi psihoaktivnega učinka v majhnih količinah uporabljajo v zdravilih, številni pa sodijo med droge (Slapničar idr., 2021).

V gliciniji najbolj zastopan alkaloid je vistarin.



Vistarín se lahko umetno sintetizira iz ircinianina, le-ta pa se pridobi iz morske spužve rodu *Ircinia* in predvidoma nastane z intramolekularno Diels-Alderjevo reakcijo (slika 9) (Uenishi, 1998).



Slika 9: Umetna sinteza vistarina (vir: Uenishi, 1998)

2.3.2. LEKTINI

Besedo »lektin« je leta 1954 prvi uporabil William Boyd. Besedo je izpeljal iz latinske besede *legere*, ki pomeni »izbirati« (»Lektini«, 2010). Lektini so namreč raznolika skupina beljakovin.

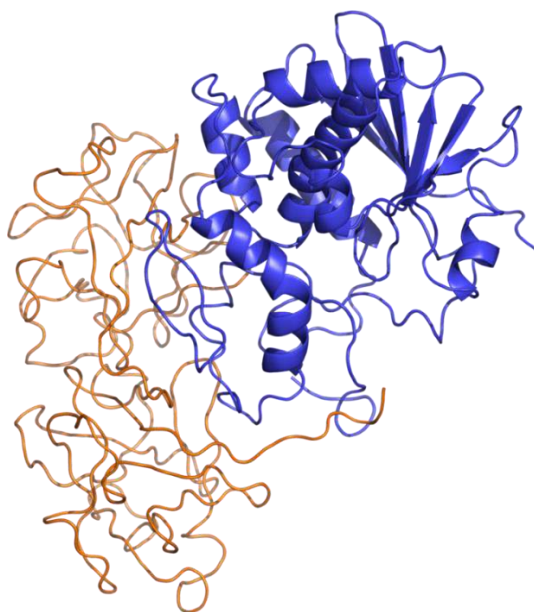
Beljakovine, ki zlepljajo (aglutinirajo) eritrocite, so odkrili proti koncu 19. stoletja. Vse skupaj se je začelo z odkritjem toksičnega hemaglutinina ricina. Njihovo ime, (hem)aglutinini, izvira iz dejstva, da imajo več vezavnih mest za ogljikove hidrate, kar jim omogoča povezavo glikanov na različnih celicah in posledično aglutinacijo celic. Danes jih imenujemo lektini.

Lektini so beljakovine, ki so sposobne prepoznati in se vezati le na specifične monosaharide. V celici se na tak način vežejo na določene stranske skupine sladkorjev v celični steni ali membrani in tako povzročijo spremembo v fiziologiji membrane (Žurga, 2011). Ta sprememba omogoči aglutinacijo eritrocitov in s tem nastanek krvnih strdkov. Še preden pa pridejo do eritrocitov se morajo lektini transportirati v splošni krvni obtok skozi črevesje. Lektini se namreč vežejo na črevesno steno, poškodujejo črevesno sluznico in tako spremenijo prepustnost črevesja (»Rizin«, 2022).

Glede na strukturo lahko lektine delimo na tri tipe: merolektine, hololektine in himerolektine. Merolektini so zgrajeni iz ene polipeptidne domene in vsebujejo le eno vezavno mesto, zaradi česar ne kažejo aglutinacijske aktivnosti. Hololektini so zgrajeni iz dveh ali več domen, ki so lahko enake ali zelo homologne in vežejo sladkorje. Zaradi tega so ti hololektini zmožni aglutinacije celic. Himerolektini so zgrajeni iz lektinske domene in domene z drugo biološko vlogo.

Lektine lahko dodatno razdelimo glede na homologijo oziroma evolucijsko sorodnost, in sicer na: R, L, P, C, I in galektine. Ta klasifikacija ne zajame vseh lektinov (Žurga, 2011).

V rastlinah se v večini primerov najvišje koncentracije lektinov nahajajo prav v semenih zaradi njihove osnovne vloge skladiščenja proteinov in skladiščenja ter mobilizacije rezervnih snovi. Pomembni so tudi za širjenje celične stene, transport ogljikovih hidratov ... (Žurga, 2011).



Slika 10: Trakasti model molekule ricina (vir: "Rizin", 2022)

V gliciniji imajo največjo vsebnost lektinov semena in stroki. Med vsemi najbolj izstopa ricin. Ricin je oblika lektina, ki spada v skupino hololektinov. To pomeni, da je sestavljen iz komponente, ki veže celice, in komponente, ki posreduje toksičnost. Prav tako povzroča zaviranje biosinteze evkariontskih beljakovin. Za smrtno zastrupitev človeka (pri peroralnem zaužitju) zadostuje 0,3–20 miligramov izoliranega ricina na kilogram telesne teže (»Rizin«, 2022). To so približno 3 semena glicinije pri odraslih, za otroke sta dovolj že 2 semeni (Tierarzt Dumhart, b. d.).

Simptomi zastrupitve z ricinom:

- razširjene zenice,
- bledica obraza,
- hud glavobol,
- slabost in bruhanje,
- želodčni krči in driska

(Plantopedia, b. d.).

2.4. EKOLOGIJA

Glicinija spada v red stročnic, natančneje v družino metuljnic.

Red *Fabales*, stročnice, je dobil ime po bobu (*faba*), ki je bil pomembna prehranska stročnica že v antiki, predvsem je bila pomembna v antičnem Rimu. Zrna oziroma semena stročnic so med rastlinskimi najbogatejša z beljakovinami, v večini pa jih sestavljajo kompleksni ogljikovi hidrati, prehranske vlaknine, vitamini in minerali.

Družina *Fabaceae*, metuljnice, spada v red stročnic. Ime so dobile po obliki venčnih listov, ki imajo ladjico, dve krili in jadro. Nekatere imenujemo tudi zrnate stročnice – bob, volčji bob, čičerika, leča,

soja, grah, fižol. Za te je značilno zorenje semen znotraj stroka, ki se z rastjo povečujejo, da dozori v mlado zrnje, zatem pa se posušijo (Cigić idr., 2022).

2.5. UPORABA

Glicinija se uporablja kot okrasna rastlina, s številnimi kultivarji¹, za pripravo raznih eteričnih olj in dišav (Royal Botanic Gardens, Kew, b. d.). Znana je tudi uporaba vlaken njenega stebela za izdelavo papirja, posamezno vlakno pa je lahko dolgo od 1,3 do 3,7 mm. Za ta namen naberejo stebela poleti, odstranijo liste in s parjenjem pripravijo stebela za pridobivanje vlaken. Končni izdelek, papir, je rjave barve (Natural Medicinal Herbs, b. d.).

Predvsem na Japonskem so vlakna glicinije prav tako bila uporabljena za tkanje v močne ozke trakove, ki so bili potem uporabljeni kot robovi preprog, t. i. »tatami«. Le-te, pobarvane v indigo modro barvo, so bile zelo cenjene na javnih mestih, kot so templji. Prav tako so iz vlaken izdelali delovna oblačila (Dusenbury, 1992).

Čeprav nenavadno, so nekateri deli kitajske glicinije (*Wisteria sinensis*), ko so kuhani, užitni in celo predstavljajo delikateso, kar bi lahko povezali s tem, da so lektini, in v gliciniji od teh prisoten ricin, beljakovine in ob visokih temperaturah denaturirajo. Kuhano seme se je in se še uporablja v medicini za zdravljenje srčnih bolezni, drugače pa se ob uživanju svetuje previdnost. Seme predstavlja tudi naravni diuretik. Prav tako so užitni cvetovi, ko so temeljito oprani in nato skuhani ali pripravljeni kot ocvrtki. Lokalno delikateso imenovano »Teng Lo« pa predstavljajo cvetovi, ki so nadaljnje sušeni v sladkorju in zmešani z moko. Listi vsebujejo alantoično kislino in se uporabljajo kot nadomestek za čaj. Mladi listi naj bi bili prav tako užitni.

Poznane so tudi omembe uporabe stebel in cvetov v kitajski medicini, vendar le-ti niso podrobneje predstavljeni (Natural Medicinal Herbs, b. d.).

2.6. ALELOPATIJA

Izvorni besedi izraza alelopatija sta grški besedi "*allelon*" in "*patos*". *Allelon* pomeni razmerje do drugega, *pathos* pa pomeni poškodovati drugega. Posplošeno se ga uporablja za poimenovanje biološkega pojava, pri katerem ena rastlina, s sproščanjem kemikalij v okolje, pozitivno ali negativno vpliva na rast in razvoj druge rastline in ostalih organizmov v njeni bližini (Tesio in Ferrero, 2010).

Ko rastline proizvajajo sekundarne metabolite, s katerimi vplivajo na rast in razvoj drugih organizmov v svoji okolici, te snovi imenujemo alelokemijske spojine (Narwal, 2010). Le-te lahko ali izboljšajo simbiotske odnose, na primer med rastlinami in glivami ali med rastlinami in bakterijami, ali pa drugi rastlini škodujejo z zaviranjem rasti in kalitve, saj na to snov ni prilagojena (Reinhart in Callaway).

Alelokemikalije se v rastlinah nahajajo v listih, lubju, koreninah, cvetovih in plodovih, v okolje pa se sproščajo na več različnih načinov: z razpadom oziroma razkrojem rastlinskih ostankov, s koreninskimi

¹ Kultivar = s človekovim namernim izborom vzgojena rastlina.

izločki, s hlapenjem iz listov, lahko pa se zaradi padavin spirajo s površine lista v tla (Del Moral in Muller, 1969).

Med prehodom od izvorne rastline do tarčnega organizma na spojine vplivajo številni dejavniki. Ti z raznimi med seboj povezanimi fotokemičnimi, kemičnimi in biokemičnimi procesi povzročajo njihov transport, transformacijo, zadrževanje, jim zmanjšajo količino izhodnih snovi in vplivajo na njihovo učinkovitost. Alelokemikalije lahko na podlagi teh procesov postanejo kompleksnejše ali enostavnejše, bolj ali pa manj strupene, lahko se pa tudi popolnoma razgradijo in s tem izgubijo toksičnost. V prsti je najpogostejša biokemična transformacija, ki jo izvajajo mikroorganizmi, katerih aktivnost je odvisna od ustreznosti encimov za razgradnjo snovi, vlage, razpoložljivosti kisika in hranil, temperature ter od lastnosti prsti. Ob prisotnosti sončne svetlobe poteka fotokemična transformacija. Kemična transformacija pa je odvisna od sestave prsti in prisotnosti snovi, ki omogočajo redukcijo, oksidacijo, substitucijo, polimerizacijo ali hidrolizo alelokemikalij. (Cheng, 1992)

Vpliv na pospešitev ali zaviranje rasti in razvoja drugih organizmov izločene alelokemikalije dosežejo tako, da povzročajo spremembe v lastnosti prsti. Spremenijo njeno hranilno vrednost, aktivnost organizmov, ki živijo v njej, npr. glist, žuželk, mikroorganizmov. Posredno preko prsti pa pri drugem organizmu s spremembo genetskega materiala vplivajo na številne življenjske procese, kot so: odpornost, dihanje, fotosinteza, prevodnost elementov, uravnavanje hormonov, privzem mineralov, sinteza proteinov in pigmentov, aktivnost encimov, prepustnost membrane, rast in fiksacija dušika. (Rizvi idr., 1992)

3. METODE DELA

3.1 NAČRTOVANJE DELA



Slika 11: Zasnova eksperimentalnega dela

3.2. OPIS VZORCA

Za izvajanje eksperimentalnega dela smo najprej nabrali različne rastlinske organe glicinije – liste, cvetove, stebila in plodove smo nabrali čez sončne dni v mesecu septembru in oktobru leta 2022, in sicer v SV regiji Slovenije. Od cvetov smo tako pobrali kasnejše oz. cvetove ob drugem cvetenju pozno poleti. Razvrstili smo jih v vrečke in jih do ekstrahiranja v šolskem laboratoriju v mesecu januarju 2023 hranili v zamrzovalniku. Tako je bil rastlinski material zamrznjen 3 mesece.



Slika 12: Nabrani in zapakirani deli glicinije (vir: Petra Ouček)



Slika 13: Nabrani in zapakirani cvetovi glicinije (vir: Petra Ouček)



Slika 14: Nabrani in zapakirani listi glicinije (vir: Petra Ouček)



Slika 15: Nabrana in zapakirana stebila glicinije (vir: Petra Ouček)



Slika 16: Nabrani in zapakirani plodovi glicinije (vir: Petra Ouček)

3.3. EKSTRAKCIJA

Za ekstrakcijo posameznih delov rastline smo se odločili uporabiti postopek navadne maceracije z dvema različnima topiloma, in sicer s 70-odstotno vodno raztopino etanola in vodo, pri sobni temperaturi in s konstantnim mešanjem z magnetnim mešalom.

Na splošno je maceracija vrsta ekstrakcijske tehnike, ki jo izvajamo na sobni temperaturi. Postopek navadne maceracije pa obsega, da zdrobljen rastlinski material, ki smo ga predhodno oprali in mu odstranili ostale materiale (plevel, skale, pesek), damo oziroma pomočimo za določeno časovno obdobje v nepredušno posodo z izbranim topilom. Le-to lahko občasno tresemo, če pa je celotnemu

času dodan postopek mešanja, lahko izboljšamo končni rezultat ekstrakcije, torej ekstrakt. Zatem trdne delce odcedimo oziroma odfiltriramo (Singh, 2008).

Vzorci smo tako narezali na majhne koščke, jih prelili z izbranim topilom in dodali magnetno mešalo. Vzorce smo pustili na mešalu štiri ure, nato pa dobljeno zmes prefiltrirali. Filtrat smo prelili v plastično posodico s pokrovčkom in ekstrakt zamrzili s tekočim dušikom. Takšne ekstrakte smo shranili v šolski zamrzovalnik.



Slika 17: Mešanje vzorcev z magnetnim mešalom (vir: Julija Kronvogel)



Slika 18: Filtriranje ekstrakcij (vir: Julija Kronvogel)



Slika 19: Filtriranje ekstraktov (vir: Julija Kronvogel)

V tednu in pol smo tako pridobili in v tekočem dušiku zamrznili vse potrebne ekstrakte za nadaljnje raziskovanje. Dobili smo 10 različnih ekstraktov, opisani so v *Tabeli 1*.

Tabela 1: Ekstrakti

Ekstrakti v vodi	Ekstrakti v etanolni raztopini	Datum ekstrakcije
VL	EL	17. 1. 2023
VC	EC	19. 1. 2023
VS	ES	20. 1. 2023
VPO	EPO	24. 1. 2023
VPS	EPS	26. 1. 2023

Legenda:

V – ekstrakt v vodi

E – ekstrakt v 70-% vodni raztopini etanola

L – ekstrakt iz listov (npr. VL1 – ekstrakt iz listov v vodi številka 1)

C – ekstrakt iz cvetov (npr. VC1 – ekstrakt iz cvetov v vodi številka 1)

S – ekstrakt iz stebila

PO – ekstrakt iz osemenja ploda

PS – ekstrakt iz semena ploda

3.4. ANALIZA VZORCEV HPLC

Za analizo ekstraktov po metodi HPLC smo se odločili z namenom, da bi raziskali, kolikšno količino strupa vsebujejo posamezni deli glicinije, kot so listi, cvetovi, stebila, osemenje ploda in seme ploda. Za analizo smo kontaktirali več zunanjih institucij, vendar se nam žal ni uspelo dogovoriti za ustrezne analize. Ker v našem šolskem laboratoriju nimamo možnosti za izvedbo takšnih analiz, smo le-te bili primorani opustiti.

3.5. POSKUSI NA KALEČIH RASTLINAH

Za poskuse na kalečih rastlinah smo se odločili z namenom, da raziščemo vpliv toksinov glicinije na ostale rastline. Ta metoda preučevanja o pozitivnem ali negativnem vplivu na rast in razvoj drugih organizmov se imenuje alelopatija. Na podlagi le-te smo dobljene ekstrakte 10-kratno in 100-kratno razredčili (namen razredčitev je bil dobiti širši vpogled na delovanje toksinov), ter jih uporabili na semenih kreše in munga.

Posamezno razredčitev smo na koncu označili s številko 1 (10-kratna razredčitev) ali 2 (100-kratna razredčitev). Glede na rastlino pa smo vzorcu na začetku dodali črko K (za semena kreše) ali M (za semena munga). Oboje smo dodali k začetnim kraticam, predstavljenim že prej (VL, VC, VPS, VPO ...)

Za vsak ekstrakt smo pripravili štiri petrijevke. Na prvih dveh je bilo 10 semen munga, na drugih dveh pa 50 semen kreše, saj je le-ta manjša, na dveh 10-kratno razredčeni ekstrakt in na drugih dveh 100-kratno razredčeni ekstrakt. Ob tem pa so bile nastavljene še štiri kontrolne petrijevke, dve s krešo in dve z mungo semeni, v kombinaciji je bil v dveh 70-% etanol v dveh pa voda.

Semena smo nato dvakrat, enkrat prvi dan, drugič pa peti dan, namočili s šest mililitri posamezne ekstrakcije. Njihovo rast smo opazovali devet dni.

3.6. POSKUSI NA SOLINSKIH RAKCIH

Za poskus vpliva na solinske rakce smo se odločili z namenom, da bi dokazali tudi negativen in strupen vpliv toksinov glicinije na živalske organizme. Solinske rakce smo iz kupljenih jajčec vzgojili v enem litru po navodilih pripravljene slane vode in jih ogrevali z namizno lučjo. Naslednji dan smo že izležene rakce v štirih kapljicah slane vode izpostavili različnemu številu kapljic nerazredčenim ekstraktom. Prvi poskus je bil v razmerju 1:1 (štiri kapljice slane vode z rakci in štiri kapljice ekstrakta), drugi poskus v razmerju 1:2 (štiri kapljice slane vode z rakci in osem kapljic ekstrakta). Ob tem so bili nastavljeni še kontrolni eksperimenti, kjer je bilo namesto kapljic ekstrakta dodano uporabljeno topilo, in sicer 70-% raztopina etanola ali voda.

Njihovo življenjsko stanje smo spremljali tri ure pod lupo (stereo mikroskopom) z 10-kratno povečavo tako, da smo prešteli vse rakce v vzorcu, nato pa vse rakce, ki so v vzorcu poginili po določenem času.

Nato smo število rakcev v vzorcu primerjali s številom mrtvih rakcev, da smo lahko izračunali delež poginulih rakcev in s tem primerjali vpliv ekstraktov na rakce.

4. REZULTATI DELA IN RAZPRAVA

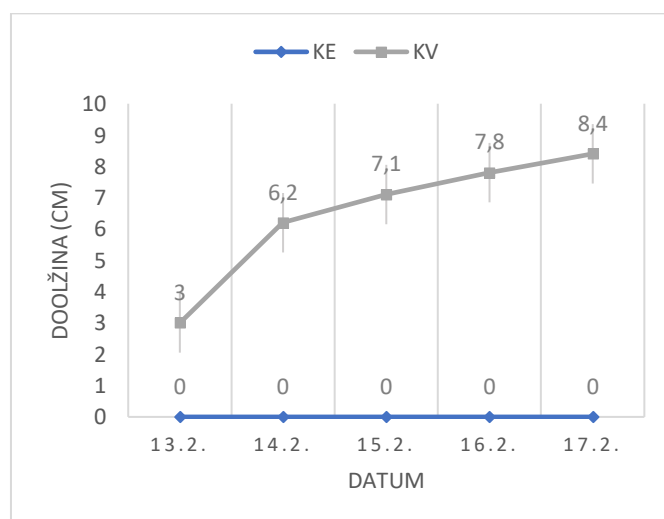
4.1. POSKUSI NA KALEČIH RASTLINAH

Že naslednji dan po nastavitvi poskusov pa je bilo vidno nakazano pokanje semenskih ovojnic v vzorcih z ekstrakti, medtem ko je bilo to v kontrolnih eksperimentih vidno kasneje. Redno opazovanje ter fotografiranje petrijevok pa smo začelo po treh dneh po nastavitvi, saj so se takrat začeli kazati vidni rezultati.

4.1.1. KREŠA

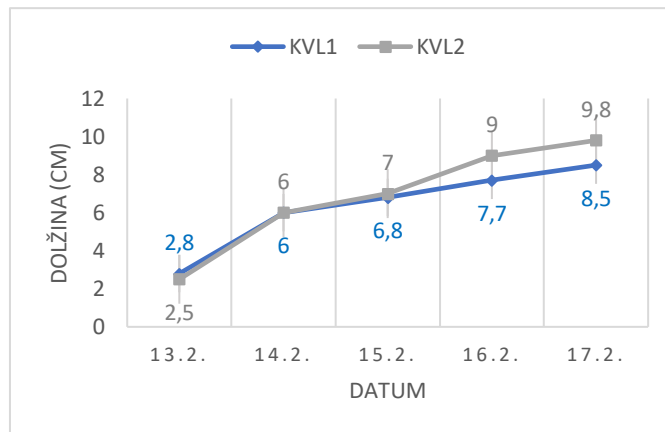
Rezultati so predstavljeni v grafih, in sicer po dnevih ter glede na dolžino zraslega kalčka. Dolžina zapisana za dan predstavlja povprečje vseh kalčkov v poskusu tisti dan. Navpične sive črtice pri podatkih predstavljajo standardno napako.

V grafih sta združena po dva vzorca enakega ekstrakta, torej 10-kratna in 100-kratna razredčitev pri semenih kreše. Vsak vzorec smo primerjali s kontrolnimi na način, da smo izračunali razliko med njima po enačbi: povprečna dolžina kalčka v vzorcu, ki ga primerjamo - dolžina kalčka v kontrolnem eksperimentu = razlika; le-to smo glede na kontrolni eksperiment pretvorili v odstotke pri vzorcih z vodo, v vzorcih z etanolom jih nismo pretvarjali v odstotke, saj je bila rast v kontrolnem eksperimentu ničelna. Če je izračunana razlika pozitivna, pomeni, da je ekstrakt deloval ugodno na rast, če pa je izračunana razlika negativna, pa pomeni, da je ekstrakt zaviral oz. neugodno vplival na rast.



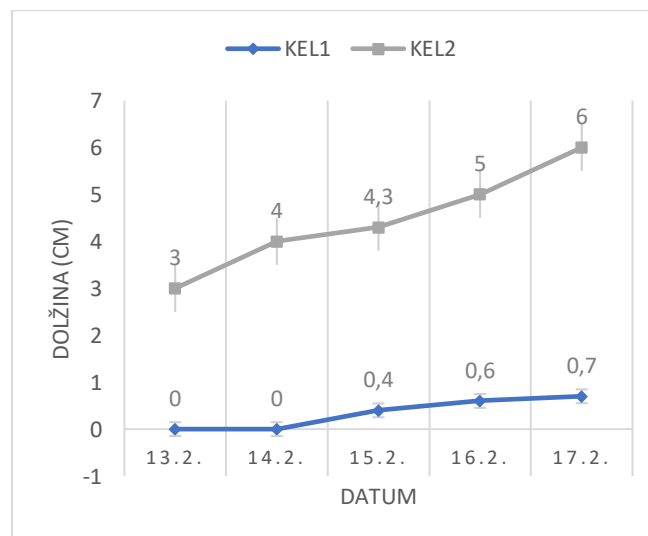
Graf 1: Dolžina kalčkov v kontrolnih eksperimentih (70-% etanol in voda) pri kreši

V *grafu 1* sta predstavljena kontrolna eksperimenta, torej en v vodi in drugi v 70-% etanolu. Iz grafa je razvidno, da v primeru kontrolnega eksperimenta z etanolom semena niso vzkalila skozi ves čas opazovanja, medtem ko v vodi so.



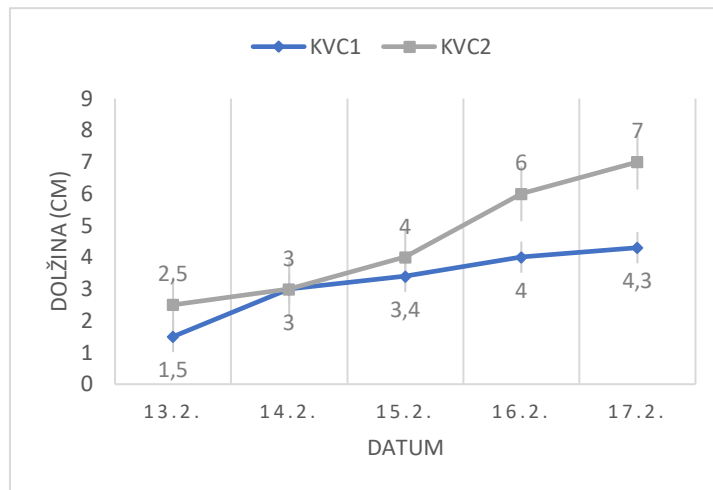
Graf 2: Dolžina kalčkov v vzorcih KVL1 in KVL2 pri kreši

Graf 2 predstavlja KVL1 in KVL2, ki sta ekstrakta listov z vodnim topilom. Tukaj lahko opazamo podobno rast kot pri kontrolnem eksperimentu, predvsem pri KVL1, kjer je 10-krat razredčena raztopina in kjer razlika prvi dan znaša $-6,7\%$ ($-0,2$ cm), drugi dan $-3,2\%$ ($-0,2$ cm), tretji dan $-4,2\%$ ($-0,3$ cm), četrti dan $-1,3\%$ ($-0,1$ cm), zadnji dan pa $+1,2\%$ ($+0,1$ cm). Medtem pa lahko opazimo odstopanje pri KVL2, kjer je 100-krat razredčena raztopina, predvsem pri zadnjih dveh dneh, kjer so kalčki daljši kot pri kontrolnem eksperimentu. Pri tem je razlika prvi dan $-16,7\%$ ($-0,5$ cm), drugi dan $-3,2\%$ ($-0,2$ cm), tretji dan $-1,4\%$ ($-0,1$ cm), četrti dan $+15,4\%$ ($+1,2$ cm), zadnji dan pa že $+16,7\%$ ($+1,4$ cm).



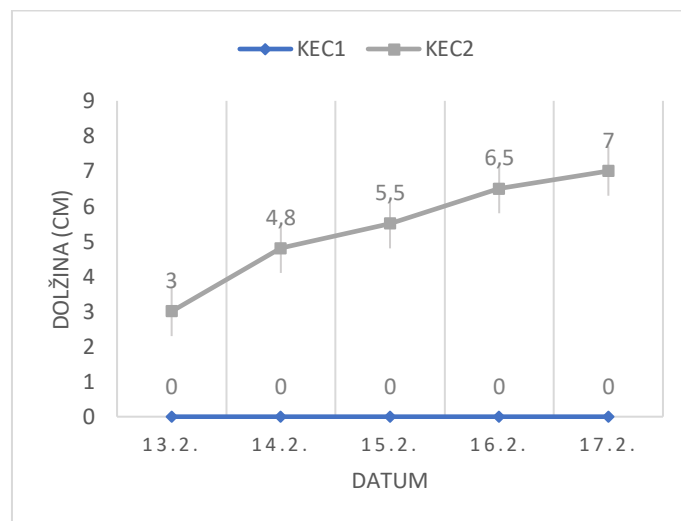
Graf 3: Dolžina kalčkov v vzorcih KEL1 in KEL2 pri kreši

Pri *grafu 3*, kjer sta KEL1 in KEL2, ki sta ekstrakta listov z etanolnim topilom, pa opazamo v primerjavi s kontrolnim eksperimentom večje razlike, ki pa so razvidne pri bolj razredčeni raztopini in pri kateri znašajo prvi dan $+3$ cm, drugi dan $+4$ cm, tretji dan $+4,3$ cm, četrti dan $+5$ cm in šesti dan že $+6$ cm. V 10-krat razredčeni raztopini opazimo rahlo rast med opazovanjem, katere razlike so prva dva dni ničelne, zadnje tri dni pa znašajo $+0,4$ cm, $+0,6$ cm in $+0,7$ cm.



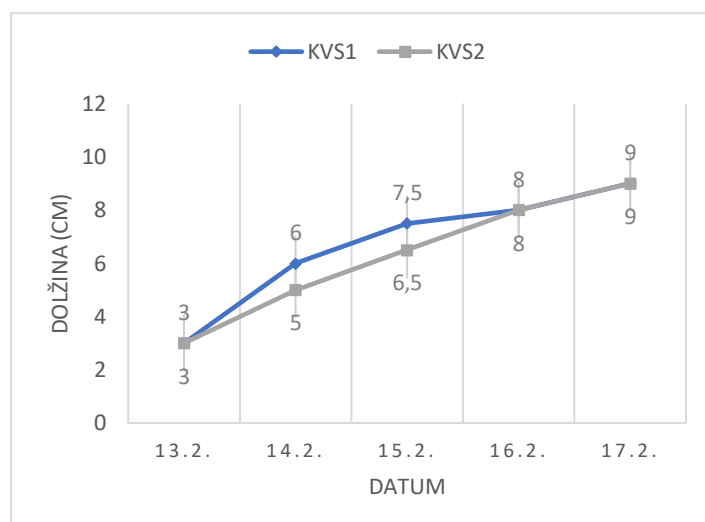
Graf 4: Dolžina kalčkov v vzorcih KVC1 in KVC2 pri kreši

Na podlagi *grafa 4*, ki prikazuje KVC1 in KVC2, ki sta ekstrakta cvetov v vodnem topilu, lahko v obeh primerih glede na kontrolni eksperiment opazimo zmanjšano rast, ki je pri KVC1, ki je 10-krat razredčena raztopina ekstrakta skoraj za polovico manjša, saj njene razlike čez dni znašajo –50 % (–1,5 cm), –51,6 % (–3,2 cm), –52,1 % (–3,7 cm), –48,7 % (–3,8 cm) in –48,8 % (–4,1 cm). Pri KVC2 pa razlike čez dni opazovanja znašajo –16,7 % (–0,5 cm), –51,6 % (–3,2 cm), –43,7 % (–3,1 cm), –23,1 % (–1,8 cm), –16,7 % (–1,4 cm). Iz razlik je razvidno da obe koncentraciji vzorca zavirata rast glede na kontrolni eksperiment.



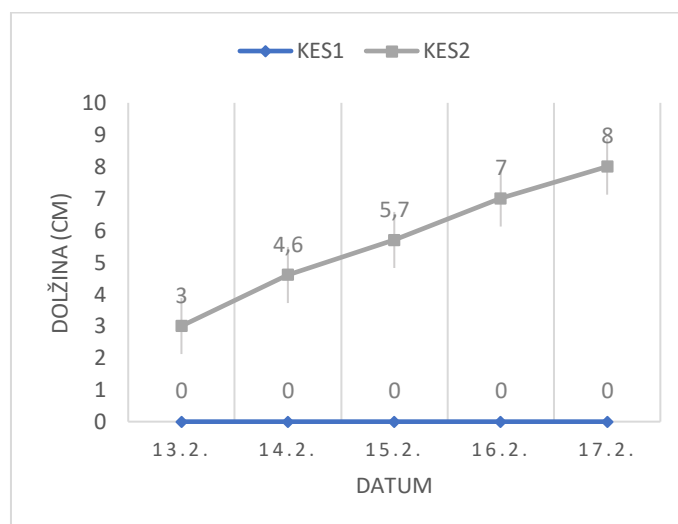
Graf 5: Dolžina kalčkov v vzorcih KEC1 in KEC2 pri kreši

Pri *grafu 5*, kjer sta KEC1 in KEC2, ki sta ekstrakta cvetov v etanolnem topilu, opazimo razliko v primerjavi s kontrolnim eksperimentom. KEC1, ki je 10-krat razredčena raztopina ekstrakta, je sicer enak kontrolnemu eksperimentu, torej je rast ničelna, je pa KEC2, ki je 100-krat razredčena raztopina ekstrakta, izkazal večjo rast, ki ima pozitivno razliko s kontrolnim eksperimentom, in sicer čez vse dni, le-ta znaša +3 cm, +4,8 cm, +5,5 cm, +6,5 cm in +7 cm.



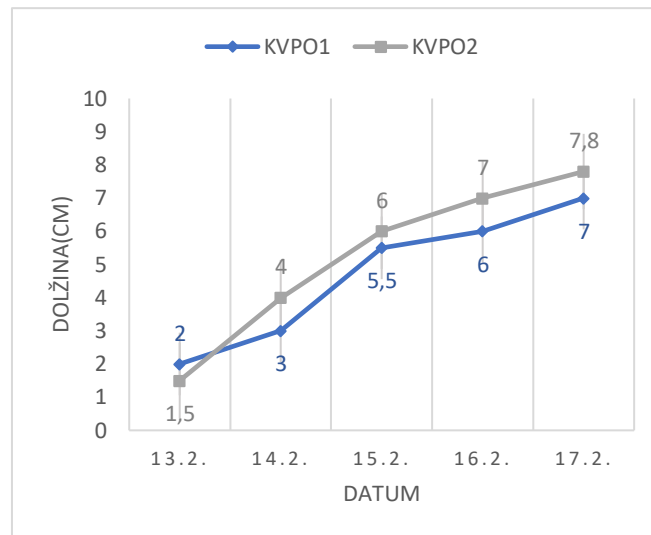
Graf 6: Dolžina kalčkov v vzorcih KVS1 in KVS2 pri kreši

Pri *grafu 6*, v katerem sta prikazana KVS1 in KVS2, ki sta ekstrakta stebela v vodnem topilu, opazimo v prvih dveh dneh rast, ki je enaka ali manjša kontrolnemu eksperimentu, kar pa se v sledečih dneh spremeni in je razvidna hitrejša oziroma večja rast kot pri kontrolnem eksperimentu. Pri KVS1, ki je 10-krat razredčena raztopina ekstrakta, so razlike v rasti v primerjavi s kontrolnim eksperimentom 0 % (0 cm), -6,7 % (-0,2 cm), +6,5 % (+0,4 cm), +2,8 % (+0,2 cm) in +7,1 % (+0,6 cm). Pri KVC2, ki pa je 100-krat razredčena raztopina, pa te razlike znašajo 0 % (0 cm), -19,4 % (-1,2 cm), -8,5 % (-0,6 cm), +2,6 % (+0,2 cm) in +7,1 % (+0,6 cm).



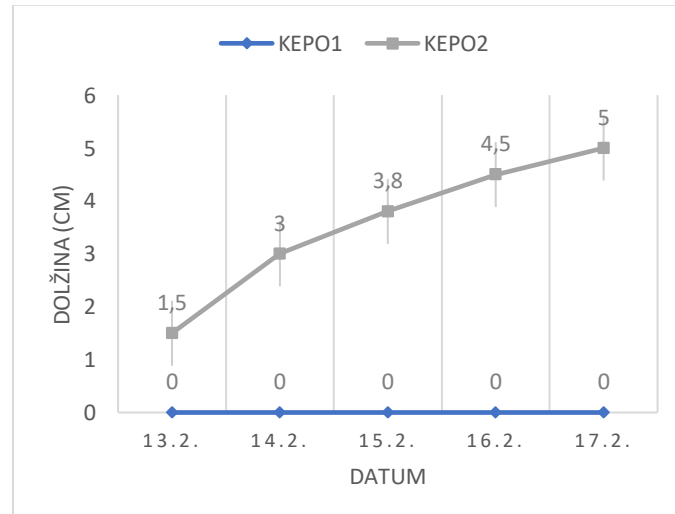
Graf 7: Dolžina kalčkov v vzorcih KES1 in KES2 pri kreši

V *grafu 7*, ki predstavlja KES1 in KES2, ki sta ekstrakta stebela v etanolnem topilu, opazimo pri KES1, ki predstavlja 10-krat razredčeno raztopino ekstrakta, prav tako ničelno rast kot pri kontrolnem eksperimentu, medtem ko je rast pri KES2, ki je 100-krat razredčena raztopina ekstrakta, rast povečana in razlike glede na kontrolni eksperiment znašajo +3 cm, +4,6 cm, +5,7 cm, +7 cm in +8 cm.



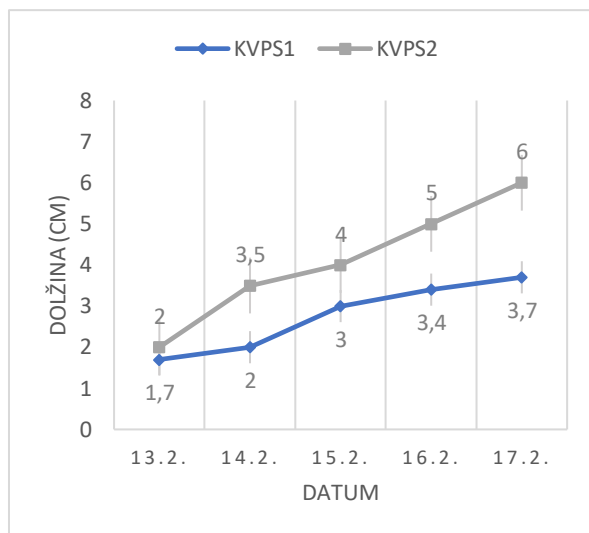
Graf 8: Dolžina kalčkov v vzorcih KVPO1 in KVPO2 pri kreši

V *grafu 8* sta predstavljena KVPO1 in KVPO2, ki sta ekstrakta osemenja ploda v vodnem ekstraktu. Tukaj lahko opazimo, v primerjavi s kontrolnim eksperimentom, nekoliko zmanjšano rast skozi celoten čas opazovanja. Pri KVPO1 razlike v rasti glede na kontrolni eksperiment znašajo $-33,3\%$ (-1 cm), $-51,6\%$ ($-3,2$ cm), $-22,5\%$ ($-1,6$ cm), $-23,1\%$ ($-1,8$ cm) ter $-16,7\%$ ($-1,4$ cm). Pri KVPO2 pa so le-te, z izjemo prvega dne, nekoliko manjše, in sicer znašajo -50% ($-1,5$ cm), $-35,5\%$ ($-2,2$ cm), $-15,5\%$ ($-1,1$ cm), $-10,3\%$ ($-0,8$ cm) ter $-7,1\%$ ($-0,6$ cm).



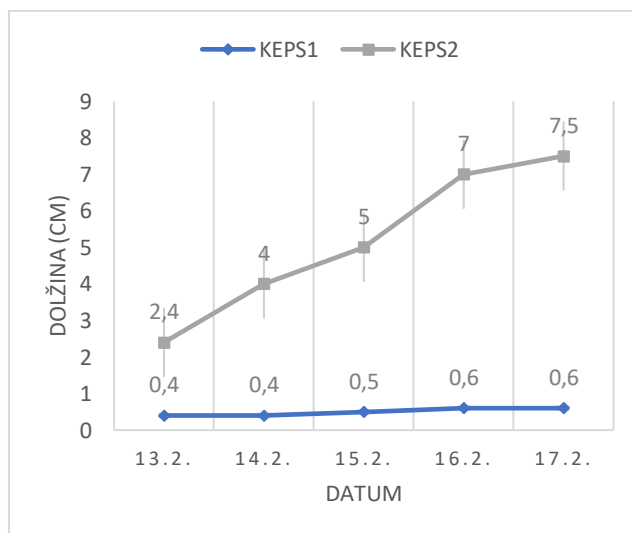
Graf 9: Dolžina kalčkov v vzorcih KEPO1 in KEPO2 pri kreši

Pri *grafu 9*, v katerem sta KEPO1 in KEPO2, ki sta ekstrakta osemenja ploda v etanolnem topilu, lahko v primeru KEPO1, ki je 10-krat razredčena raztopina ekstrakta, vidimo, da se rast ne razlikuje od kontrolnega eksperimenta, medtem ko je pri KEPO2, ki je 100-krat razredčena raztopina ekstrakta, rast povečana in razlike čez dni znašajo $+1,5$ cm, $+3$ cm, $+3,8$ cm, $+4,5$ cm in $+5$ cm.



Graf 10: Dolžina kalčkov v vzorcih KVPS1 in KVPS2 pri kreši

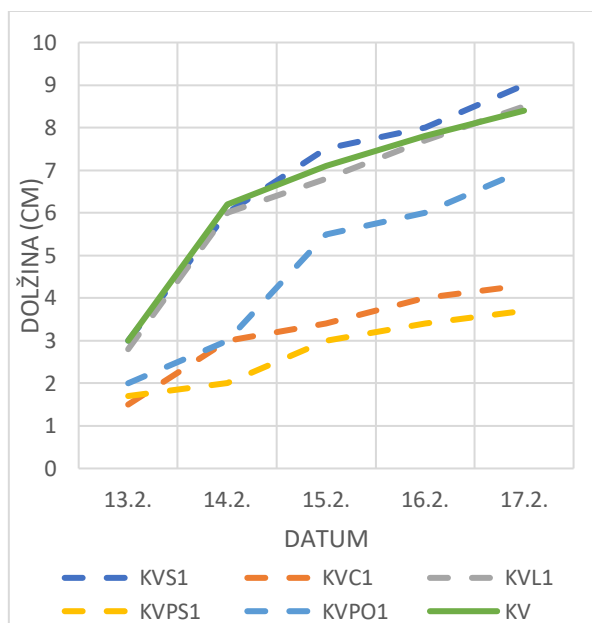
Na podlagi *grafa 10*, v katerem sta KVPS1 in KVPS2, ki sta ekstrakta semena ploda v vodnem topilu, lahko opazimo nekoliko zmanjšano rast v primerjavi s kontrolnim eksperimentom. Pri KVPS1, ki predstavlja 10-krat razredčeno raztopino ekstrakta, je ta polovična kontrolnemu eksperimentu, in sicer razlike znašajo $-43,3\%$ ($-1,3$ cm), $-67,7\%$ ($-4,2$ cm), $-57,7\%$ ($-4,1$ cm), $-56,4\%$ ($-4,4$ cm) in -56% ($-4,7$ cm). Medtem pa so razlike pri KVPS2, ki je 100-krat razredčena raztopina, manjše, in sicer znašajo $-33,3\%$ (-1 cm), $-43,5\%$ ($-2,7$ cm), $-43,7\%$ ($-3,1$ cm), $-35,9\%$ ($-2,8$ cm) ter $-28,6\%$ ($-2,4$ cm).



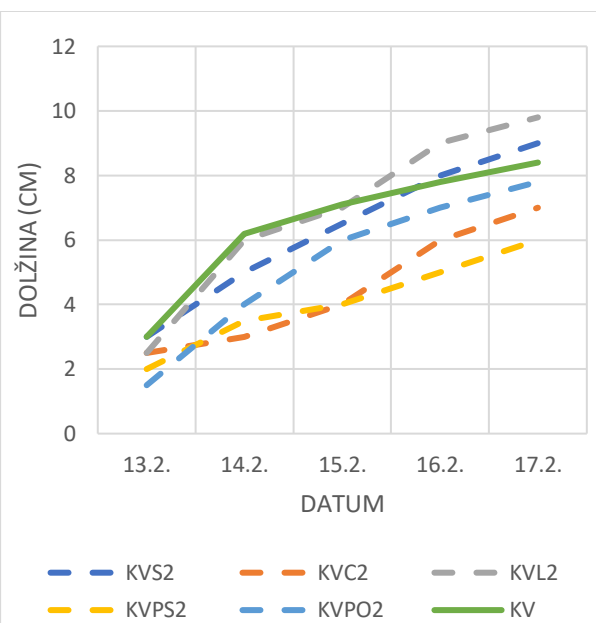
Graf 11: Dolžina kalčkov v vzorcih KEPS1 in KEPS2 pri kreši

Pri *grafu 11*, v katerem sta predstavljena KEPS1 in KEPS2, ki sta ekstrakta semena ploda v etanolnem topilu, lahko opazimo razliko v primerjavi s kontrolnim eksperimentom. Pri KEPS1, ki predstavlja 10-krat razredčeno raztopino ekstrakta, opazamo rast, ki je na splošno in čez čas majhna, a večja kot pri kontrolnem eksperimentu. Pri tem razlike znašajo $+0,4$ cm, $+0,4$ cm, $+0,5$ cm, $+0,6$ cm in $+0,6$ cm. Pri KEPS2, ki predstavlja 100-krat razredčeno raztopino, pa je rast večja, in sicer razlike v primerjavi s kontrolnim eksperimentom znašajo $+2,4$ cm, $+4$ cm, $+5$ cm, $+7$ cm in $+7,5$ cm.

4.1.2. KREŠA – RAZPRAVA

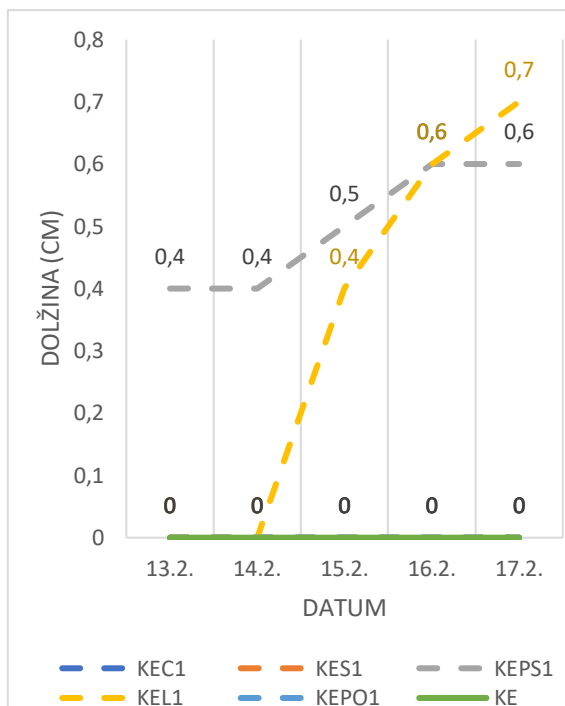


Graf 12: Primerjava dolžin kalčkov pri kreši v 10-krat razredčenih raztopinah ekstraktov v vodnem topilu

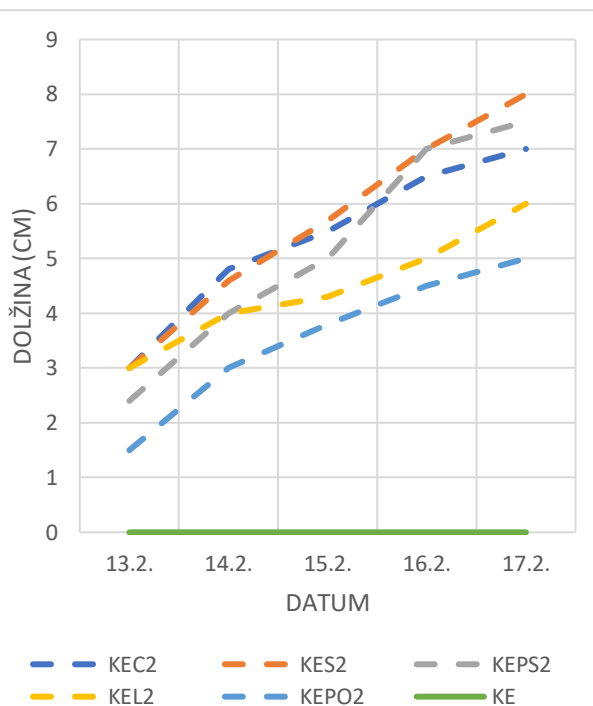


Graf 13: Primerjava dolžin kalčkov pri kreši v 100-krat razredčenih raztopinah ekstraktov v vodnem topilu

Glede na dobljene rezultate pri vodnih ekstraktih lahko sklepamo, da so ekstrakti, v kateri koli koncentraciji, zavirali rast in kalitev kreše. Od te trditve pa odstopata ekstrakta KVL, ki je ekstrakt listov, in KVS, ki je ekstrakt stebela. Oba sta bolj kot kalitev spodbudila samo rast, kar lahko razberemo iz tega, da so razlike v zadnjih dneh veliko večje. Pri KVL2 razlika znaša tudi 16,7 %. Pri zaviranju rasti je bil najuspešnejši KVPS1, ki je ekstrakt semen ploda v 10-krat razredčeni raztopini. Semena kreše, ki so bila nameščena v vati s 100-krat razredčenimi vodnimi ekstrakti, so v večini rasla hitreje oz. do večje dolžine kot v 10-krat razredčeni raztopini ekstrakta. Od te trditve le malenkost odstopata dva vzorca. Prvi je KVL, torej vodni ekstrakt listov, pri katerem je rast prve tri dni med 10- in 100-krat razredčeno raztopino praktično identična, razlika pa se pojavi pri zadnjih dveh dneh, ko je rast v vzorcu s KVL2 večja. Drugi pa je KVS, torej vodni ekstrakt stebela, pri katerem je pa rast v KVS1, torej v 10-krat razredčeni raztopini, prve tri dni večja od rasti pri KVS2 – 100-krat razredčena raztopina, zadnja dva dni pa je rast pri obeh enaka. Rezultati so prikazani tudi v *grafu 12* za 10-krat razredčene vodne raztopine in v *grafu 13* za 100-krat razredčene vodne raztopine.



Graf 14: Primerjava dolžine kalčkov pri kreši v 10-krat razredčenih raztopinah ekstraktov v etanolnem topilu



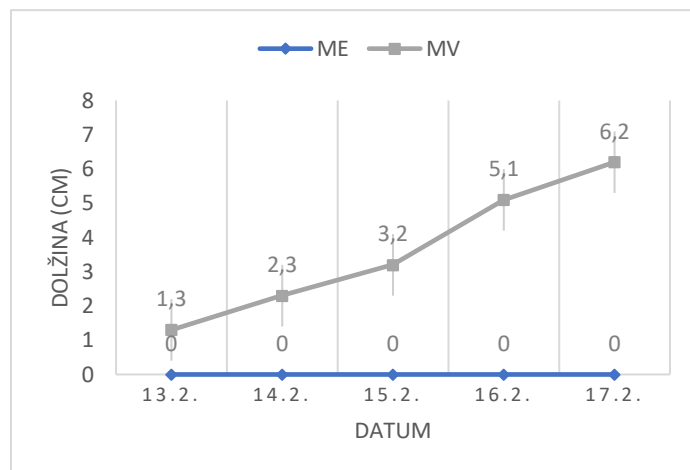
Graf 15: Primerjava dolžine kalčkov pri kreši v 100-krat razredčenih raztopinah ekstraktov v etanolnem topilu

Pri ekstraktih v etanolu je rast pri kontrolnem eksperimentu ničelna, prav tako je tako tudi pri etanolnih ekstraktih KEC1, KES1, KEPO1. Razlika se pojavi pri KEL1, kjer je majhna rast razvidna v zadnjih treh dneh, in KEPS1, kjer je rast razvidna čez vse dni, vendar je majhna. Rezultate prikazuje *graf 14*. Za razliko od teh majhnih rasti je pri vseh vzorcih, kjer je prisotna 100-krat razredčena raztopina ekstrakta (*graf 15*), rast opazna in primerljiva z rastjo v kontrolnem eksperimentu v vodi. To lahko pripišemo temu, da je ekstrakt toliko razredčen, da je strupov premalo, da bi vplivali na rast, zato je rast regulira voda, s katero smo ekstrakte redčili.

4.1.3. MUNGO

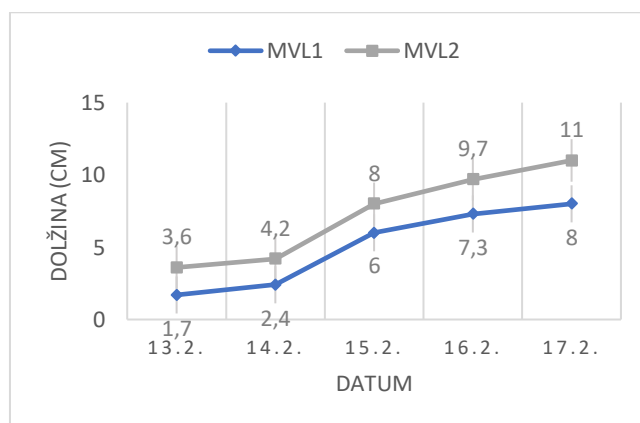
Rezultati so predstavljeni v grafih po dnevih, in sicer glede na dolžino zraslega kalčka. Dolžina zapisana za dan predstavlja povprečje kalčkov v poskusu tisti dan. Navpične sive črtice pri podatkih predstavljajo standardno napako.

V grafih sta združena po dva vzorca enakega ekstrakta, torej 10-kratna in 100-kratna razredčitev pri semenih kreše. Vsak vzorec smo primerjali s kontrolnimi na način, da smo izračunali razliko med njima po enačbi: povprečna dolžina kalčka v vzorcu, ki ga primerjamo – dolžina kalčka v kontrolnem eksperimentu = razlika; le-to smo glede na kontrolni eksperiment pretvorili v odstotke pri vzorcih z vodo, v vzorcih z etanolom jih nismo pretvarjali v odstotke, saj je bila rast v kontrolnem eksperimentu ničelna. Če je izračunana razlika pozitivna, pomeni, da je rast v vzorcu s strani ekstrakta spodbujena, če pa je izračunana razlika negativna, pa pomeni, da je rast v vzorcu s strani ekstrakta zavirana.



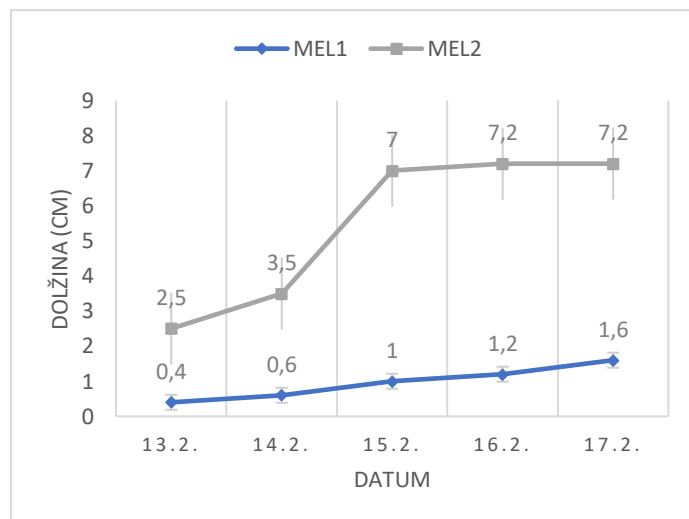
Graf 16: Dolžina kalčkov v kontrolnih eksperimentih pri mungo semenih

V grafu 16 sta predstavljena kontrolna eksperimenta. Pri kontrolnem eksperimentu v etanolu je rast ničelna.



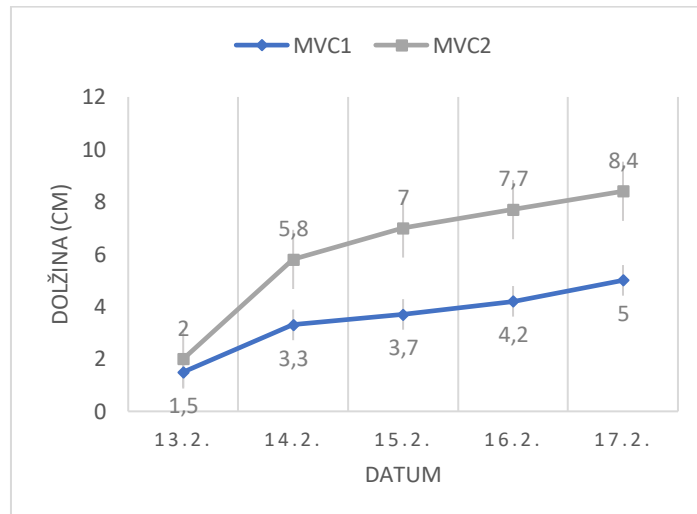
Graf 17: Dolžina kalčkov v vzorcih MVL1 in MVL2 pri mungo semenih

Pri grafu 17, v katerem so prikazani rezultati z MVL1 in MVL2, ki sta vodna ekstrakta listov, je opazna povečana rast v primerjavi s kontrolnim eksperimentom, ki je pri MVL2, ki predstavlja 100-krat razredčeno raztopino ekstrakta, skoraj dvakratna in sicer razlike znašajo +176,9 % (+2,3 cm), +82,6% (+1,9 cm), +150 % (+4,8 cm), +90,2 % (+4,6 cm) in +77,4 % (+4,8 cm). Medtem so razlike pri MVL1 nekoliko manjše, a še vedno pozitivne in znašajo +30,8 % (+0,4 cm), +4,3 % (+0,1 cm), +87,5 % (+2,8 cm), +43,1 % (+2,2 cm) in +29 % (+1,8 cm). Iz tega vidimo, da obe koncentraciji spodbujata rast MVL2 pa tudi kalitev.



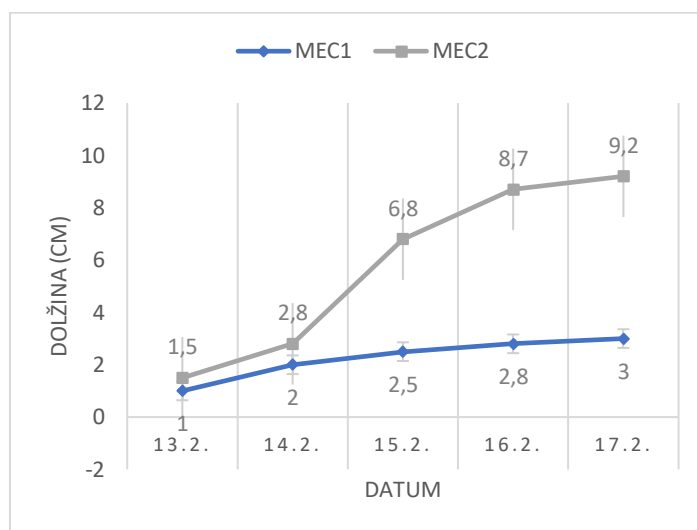
Graf 18: Dolžina kalčkov v vzorcih MEL1 in MEL2 pri mungo semenih

Pri grafu 18, ki predstavlja rezultate z MEL1 in MEL2, ki sta vzorca listov v etanolnem topilu, vidimo v obeh primerih rast, ki je pri MEL2, ki je 100-krat razredčena raztopina ekstraktov, večja od rasti pri 10-kratni raztopini ekstrakta in od rasti v kontrolnem eksperimentu. Pri tem razlike glede na kontrolni eksperiment znašajo +2,5 cm, +3,5 cm, +7 cm, +7,2 cm in +7,2 cm. Sicer pa je tudi rast pri MEL1, ki je 10-kratna raztopina ekstrakta, večja kot pri kontrolnem eksperimentu, pri tem pa razlike znašajo +0,4 cm, +0,6 cm, +1 cm, +1,2 cm, +1,6 cm.



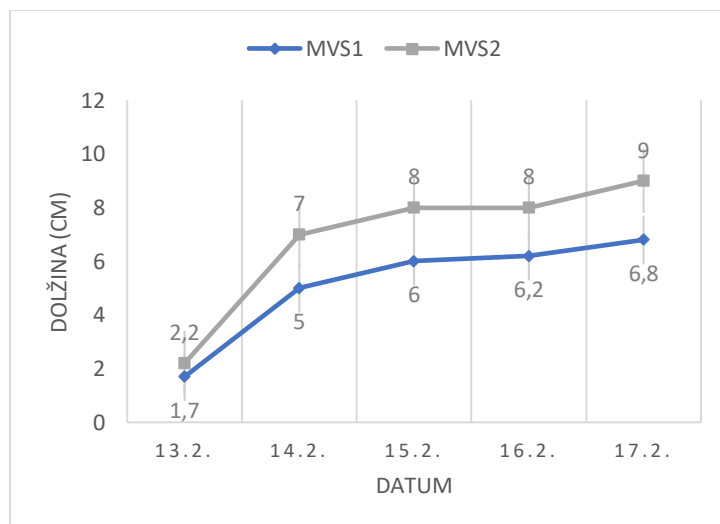
Graf 19: Dolžina kalčkov v vzorcih MVC1 in MVC2 pri mungo semenih

Pri grafu 19, ki prikazuje MVC1 in MVC2, ki sta vzorca iz ekstraktov cvetov v vodnem topilu, je opazna rast, ki je v primeru MVC1 (10-krat razredčena raztopina ekstrakta) manjša kot pri kontrolnem eksperimentu. Razlike znašajo +15,4 % (+0,2 cm), +43,5 % (+1 cm), +15,6 % (+0,5 cm), -17,6 % (-0,9 cm) in -19,4 % (-1,2 cm). Iz tega lahko sklepamo, da spodbuja kalitev, rasti pa ne. V primeru MVC2 (100-krat razredčena raztopina ekstrakta) pa je rast večja od rasti v kontrolnem eksperimentu in razlike znašajo +53,8 % (+0,7 cm), +152,2 % (+3,5 cm), +118,8 % (+3,8 cm), +51 % (+2,6 cm) in +35,5 % (+2,2 cm).



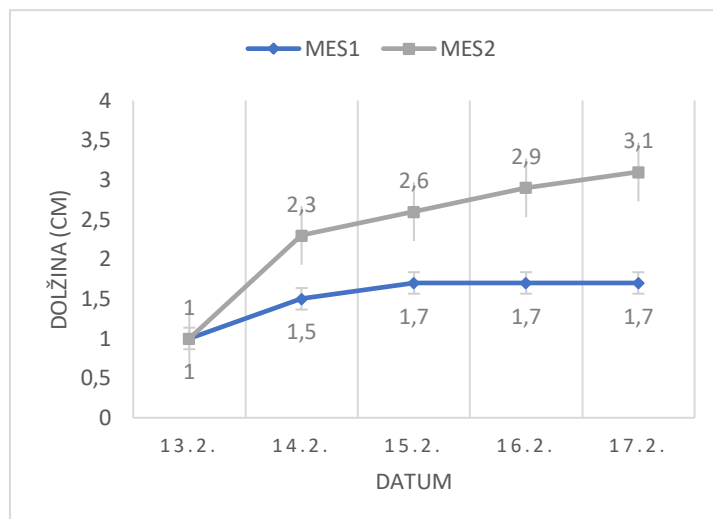
Graf 20: Dolžina kalčkov v vzorcih MEC1 in MEC2 pri mungo semenih

Pri *grafu 20*, v katerem sta prikazana MEC1 in MEC2, ki sta vzorca ekstraktov cvetov v etanolnem topilu, je razvidna rast v obeh primerih, medtem ko je pri kontrolnem eksperimentu v 70-% etanolu ničelna. Razlike pri tem pri MEC1 znašajo +1 cm, +2 cm, +2,5 cm, +2,8 cm in +3 cm, pri MEC2 pa +1,5 cm, +2,8 cm, +6,8 cm, +8,7 cm in +9,2 cm. Rast v MEC2 (100-krat razredčena raztopina ekstrakta) pa je že po drugem dnevu celo večja kot pri kontrolnem eksperimentu v vodi.



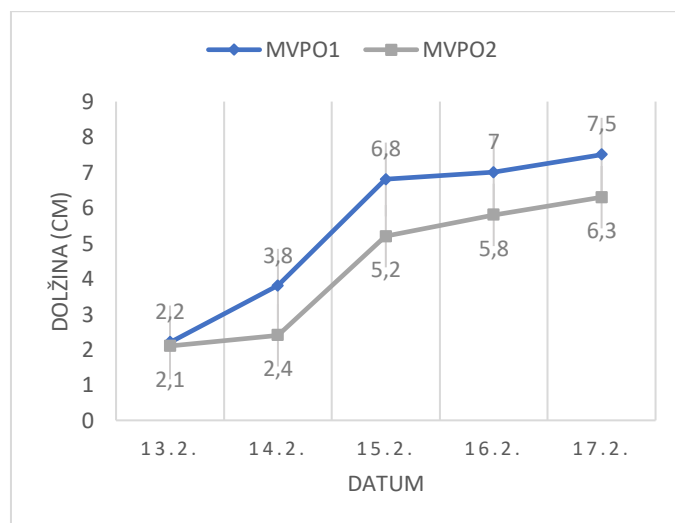
Graf 21: Dolžina kalčkov v vzorcih MVS1 in MVS2 pri mungo semenih

Pri *grafu 21*, ki prikazuje MVS1 in MVS2, ki sta vzorca stebela v vodnem topilu, je v obeh koncentracijah ekstrakta razvidna rast, ki je večja kot pri kontrolnem eksperimentu v vodi. Pri MVS1 razlike glede na kontrolni eksperiment znašajo +30,8 % (+0,4 cm), +117,4 % (+2,7 cm), +87,5 % (+2,8 cm), +21,6 % (+1,1 cm) in +9,7 % (+0,6 cm). Pri MVS2 pa so te razlike še večje, in sicer znašajo čez dneve opazovanja +69,2 % (+0,9 cm), +201,3 % (+4,7 cm), +150 % (+4,8 cm), +56,9 % (+2,9 cm) in +45,2 % (+2,8 cm).



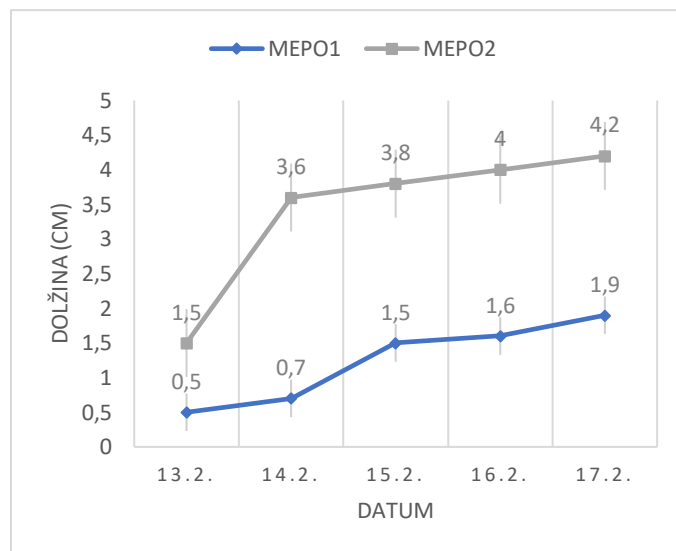
Graf 22: Dolžina kalčkov v vzorcih MES1 in MES2 pri mungo semenih

Pri grafu 22, v katerem so prikazani rezultati za MES1 in MES2, ki sta vzorca stebela v etanolnem topilu, je rast v obeh primerih večja kot v kontrolnem eksperimentu. Razlike pri MES1 tako znašajo +1 cm, +1,5 cm, +1,7 cm, +1,7 cm in +1,7 cm; pri MES2 pa +1 cm, +2,3 cm, +2,6 cm, +2,9 cm, +3,1 cm. Pri MES1 (10-krat razredčena raztopina ekstrakta) se rast po drugem dnevu ustavi.



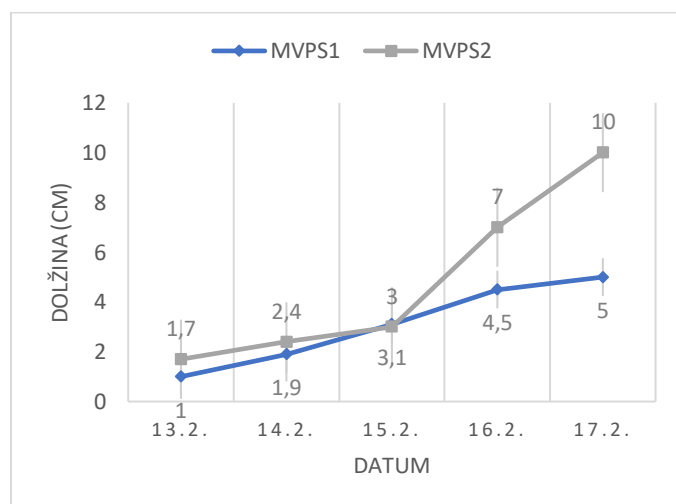
Graf 23: Dolžina kalčkov v vzorcih MVPO1 in MVPO2 pri mungo semenih

Pri grafu 23, ki prikazuje rezultate v MVPO1 in MVPO2, ki sta vzorca osemenja ploda v vodnem topilu, je opazna rast večja ali enaka tisti pri kontrolnem eksperimentu. Pri MVPO1, ki je 10-krat razredčena raztopina ekstrakta, je rast večja kot pri kontrolnem eksperimentu. Pri tem razlike znašajo +69,2 % (+0,9 cm), +65,2 % (+1,5 cm), +112,5 % (+3,6 cm), +37,3 % (+1,9 cm) in +21 % (+1,3 cm). Pri MVPO2, ki je 100-krat razredčena raztopina ekstrakta, je rast rahlo večja, na koncu pa skoraj enaka tisti v kontrolnem eksperimentu. Pri tem razlike znašajo +61,5 % (+0,8 cm), +4,3 % (+0,1 cm), +62,5 % (+2 cm), +13,7 % (+0,7 cm) in +1,6 % (+0,1 cm).



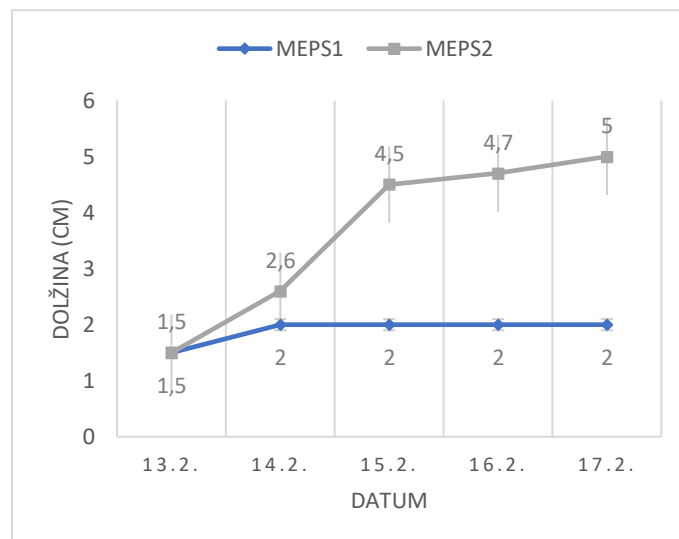
Graf 24: Dolžina kalčkov v vzorcih MEPO1 in MEPO2 pri mungo semenih

Pri grafu 24, ki predstavlja rezultate v MEPO1 in MEPO2, ki sta vzorca osemenja ploda v etanolnem topilu, je rast v primerjavi s kontrolnim eksperimentom večja v obeh primerih. V vzorcu MEPO1, ki je 10-krat razredčena raztopina ekstrakta, razlike v rasti v primerjavi s kontrolnim eksperimentom znašajo +0,5 cm, +0,7 cm, +1,5 cm, +1,6 cm in +1,9 cm. Pri MEPO2, ki pa je 100-krat razredčena raztopina ekstrakta, so razlike večje. Znašajo +1,5 cm, +3,6 cm, +3,8 cm, +4 cm in +4,2 cm.



Graf 25: Dolžina kalčkov v vzorcih MVPS1 in MVPS2 pri mungo semenih

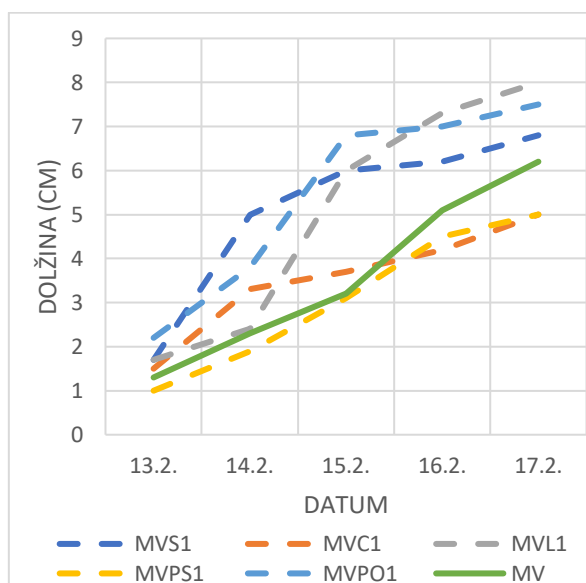
Pri grafu 25, ki predstavlja MVPS1 in MVPS2, ki sta vzorca semena ploda v vodnem topilu, je rast pri obeh opazna, vendar je pri MVPS1, ki je 10-krat razredčena raztopina ekstrakta, nekoliko manjša od tiste v kontrolnem eksperimentu. Razlike znašajo -23,1 % (-0,3 cm), -17,4 % (-0,4 cm), -3,1 % (-0,1 cm), -11,8 % (-0,6 cm) in -19,4 % (-1,2 cm); medtem ko je rast pri MVPS2 nekoliko večja od kontrolnega eksperimenta. Razlike znašajo +30,8 % (+0,4 cm), +4,3 % (+0,1 cm), -6,3 % (-0,2 cm), +37,3 % (+1,9 cm) in +61,3 % (+3,8 cm). Pri MVSP2 je predvsem razvidno, da ekstrakt bolj pospešuje rast kot kalitev.



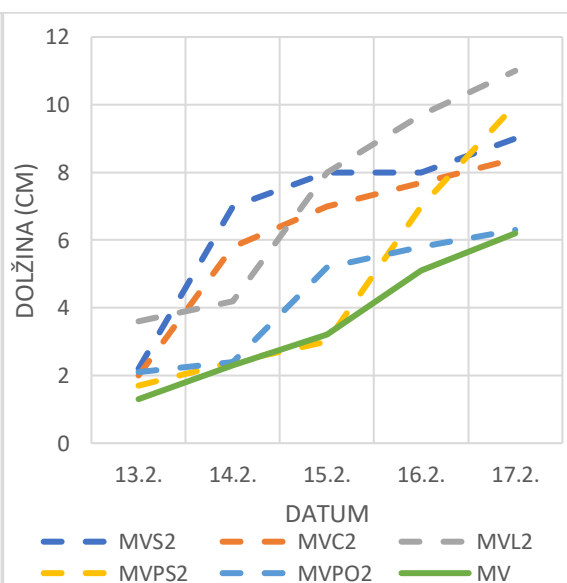
Graf 26: Dolžina kalčkov v vzorcih MEPS1 in MEPS2 pri mungo semenih

Z grafa 26, na katerem sta predstavljena MEPS1 in MEPS2, ki sta vzorca semena ploda v etanolnem topilu, je rast večja kot pri kontrolnem eksperimentu, kjer je le-ta ničelna. Pri MEPS1 se sicer že po drugem dnevu rast ustavi, pri tem razlika za prvi dan znaša +1,5 cm, za vse ostale dni pa +2 cm. Pri MEPS2 pa so razlike +1,5 cm, +2,6 cm, +4,5 cm, +4,7 cm in +5 cm.

4.1.4. MUNGO – RAZPRAVA



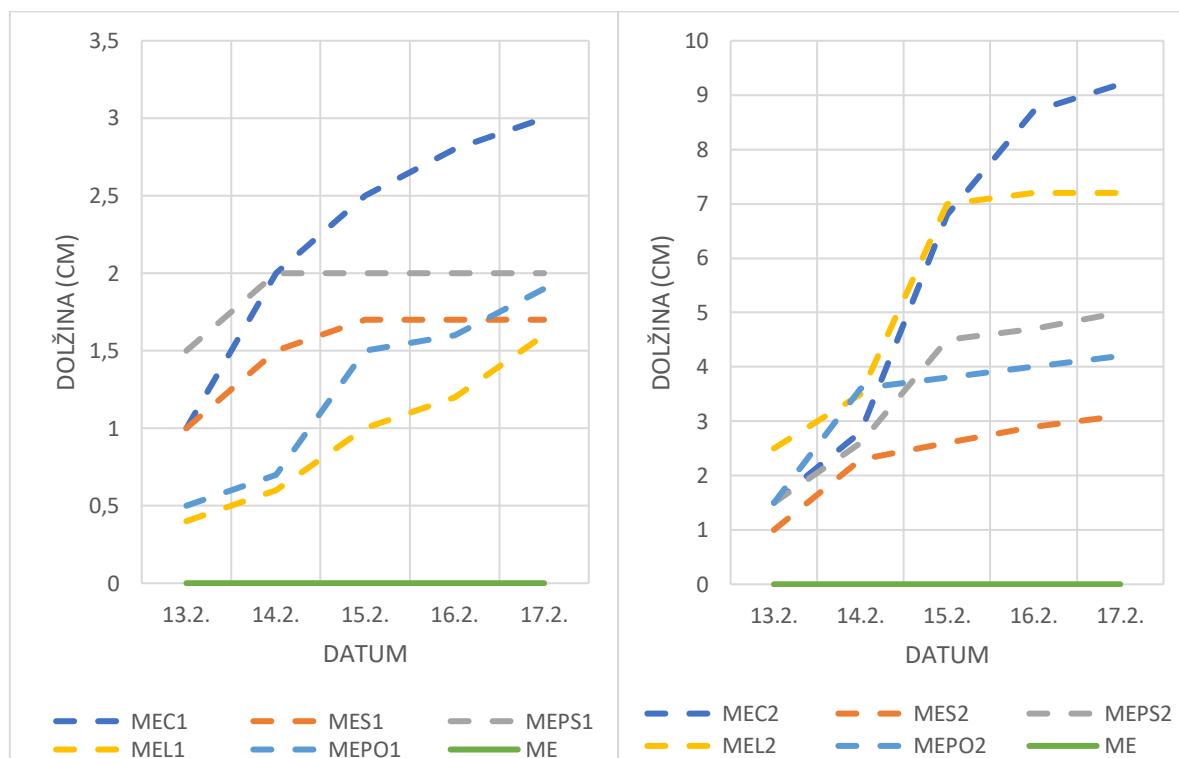
Graf 27: Primerjava dolžin kalčkov pri mungo semenih v 10-krat razredčenih raztopinah ekstraktov v vodnem topilu



Graf 28: Primerjava dolžin kalčkov pri mungo semenih v 100-krat razredčenih raztopinah ekstraktov v vodnem topilu

Iz rezultatov je razvidno, da so vzorci v vodnem topilu, ki so bili 100-krat razredčeni (graf 28), bolj vzpodbudili kalitev in rast rastlin, in da je le-ta skoraj v vseh primerih večja kot v kontrolnem eksperimentu in v poskusih z 10-krat razredčeno raztopino (graf 27). Izjema je le v vzorcu VPO, kjer je v 100-krat razredčeni raztopini rast bila manjša kot v 10-krat razredčeni raztopini. Edina vzorca, ki nista vzpodbudila rasti, ampak sta jo zavirala, pa sta MVPS1, ki je vodni ekstrakt semen ploda v 10-krat

razredčeni raztopini, rast je zaviral v celoti, ter MVC1, ki je vodni ekstrakt cvetov v 10-krat razredčeni raztopini in je v zadnjih dveh dneh opazovanja zaviral rast.



Graf 29: Primerjava dolžin kalčkov pri mungo semenih v 10-krat razredčenih raztopinah ekstraktov v etanolnem topilu

Graf 30: Primerjava dolžin kalčkov pri mungo semenih v 100-krat razredčenih raztopinah ekstraktov v etanolnem topilu

Pri poskusih v etanolnem topilu rezultati kažejo na to, da so vsi vzorci uspešno vzpodbudili kalitev in rast, saj je bila ničelna rast le v kontrolnem eksperimentu. Enako kot pri semenih kreše pri 10-krat razredčenih etanolnih ekstraktih je tu rast spodbujena v manjši meri kot pri poskusih s 100-krat razredčeno raztopino. Najbolj ugodno sta na rast v 100-krat razredčenih raztopinah (graf 30) vplivala vzorca EL in EC, torej ekstrakta listov in cvetov. Podobno kot pri kreši lahko to spet pripišemo večjemu deležu vode v raztopini. Podobno velja tudi za vzorce z le 10-krat razredčenimi ekstrakti (graf 29), ki so prav tako ugodno vplivali na rast, kontrolni eksperiment pa kaže, da raztopina etanola kalitev in rast močno zavira.

Kolaži fotografij petrijevsk po dnevih opazovanja se nahajajo v prilogi.

4.2. POSKUSI NA SOLINSKIH RAKCIH

Izvedli smo torej dva poskusa na solinskih rakcih, in sicer v dveh razmerjih uporabljenega ekstrakta in dodane raztopine z živečimi solinskimi rakci. Zaradi majhnosti organizmov ni bilo mogoče zagotoviti enakega števila rakcev v vsakem poskusu, zato smo v vsakem poskusu na začetku prešteli število rakcev, rezultate pa nato prikazali z deleži. V razmerju 1:1 smo uporabili enaki prostornini ekstrakta in raztopine z rakci. V razmerju 1:2 smo enaki prostornini raztopine z rakci dodali 2-krat tolikšno

prostornino ekstrakta. Poskuse smo nastavili ob 9. uri in jih naslednje tri ure opazovali pod lupo (stereo mikroskopom) z 10-kratno povečavo. Rezultati so predstavljeni s pomočjo naslednjih tabel.

Tabela 2: Odstotek smrtnosti rakcev v poskusu v razmerju ekstrakt : medij rakcev = 1 : 1 glede na čas

	V	VC	VPO	VL	VS	VPS	E	EC	EPO	EL	ES	EPS
Št. rakcev	47	28	20	22	86	17	31	20	11	15	8	15
Po 1. uri opazovanja	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	5,9 %	6,5 %	0 %	54 %	0 %	12,5 %	0 %
Po 2. uri opazovanja	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	17,6 %	16,1 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Po 3. uri opazovanja	0 %	3,6 %	0 %	4,6 %	1,2 %	35,3 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %

Iz *tabele 2* je razvidno, da so v vodnem kontrolnem eksperimentu vsi rakci preživel, kar pomeni, da so rakci, ki so poginili v ostalih vodnih ekstraktih, poginili zaradi prisotnih snovi iz ekstrakta. Rakci so poginili v vseh vodnih ekstraktih, razen v VPO, ki je ekstrakt iz osemenja ploda. Pri ostalih so rakci poginili vsaj v tretji uri opazovanja, v največjem številu pa so poginili v VPS, ki je ekstrakt semen ploda. Ob tretjem opazovanju jih je poginila dobra tretjina.

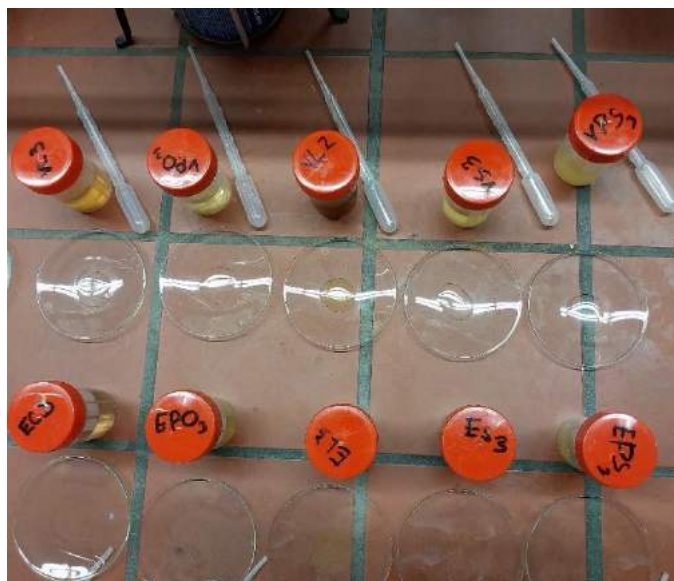
Če pa opazujemo eksperimente izvedene z ekstrakti v etanolnem topilu, opazamo, da so rakci poginili v vseh poskusih. Zanimivo je dejstvo, da so rakci v etanolnih ekstraktih poginili hitreje kakor v kontrolnem poskusu, saj je bila smrtnost že pri drugi uri opazovanja 100-odstotna, medtem ko je bila smrtnost pri kontrolnem eksperimentu 100-odstotna šele pri tretji uri opazovanja.

Tabela 3: Odstotek smrtnosti rakcev v poskusu v razmerju ekstrakt : medij rakcev = 1 : 2 glede na čas

	V	VC	VPO	VL	VS	VPS	E	EC	EPO	EL	ES	EPS
Št. rakcev	28	26	15	13	19	17	18	18	14	26	24	12
Po 1. uri opazovanja	0 %	0 %	0 %	15,4 %	0 %	0 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Po 2. uri opazovanja	0 %	7,7 %	0 %	23 %	0 %	0 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Po 3. uri opazovanja	0 %	15,4 %	0 %	30,8 %	0 %	5,9 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %

V *tabeli 3* so predstavljeni odstotki smrtnosti v poskusih nastavljenih v razmerju 1:2. Tudi tukaj so v kontrolnem eksperimentu za vodne ekstrakte v treh urah opazovanja preživel, zato ponovno lahko sklepamo, da so vsi ostali, ki so poginili pri poskusih z dodanimi ekstrakti, poginili zaradi snovi prisotnih v ekstraktih. Rakci so poginili v vzorcih z dodanim VC, ki je ekstrakt cvetov, VL, ki je ekstrakt listov, pri katerem smrtnost predstavlja skoraj tretjino, in VPS, ki je ekstrakt semen ploda. Preživel pa so pri VPO, ki je ekstrakt osemenja ploda, in pri VS, ki je ekstrakt stebela.

Ekstrakti v etanolnem topilu v tem poskusu nam žal ne prikažejo dodatnih rezultatov, saj so rakci poginili v vseh testnih, kakor tudi v kontrolnem eksperimentu, in sicer že v prvi uri opazovanja.



Slika 20: Nastavljeni poskusi na solinskih rakcih (vir: Petra Ouček)

5. ZAKLJUČEK

Med izdelovanjem raziskovalne naloge smo iz različnih delov glicinije s pomočjo navadne maceracije pridobili ekstrakte na osnovi vodnega in etanolnega topila. Ekstrakte smo zatem testirali na kalečih rastlinah in na solinskih rakcih. Končne rezultate našega raziskovanja lahko opredelimo glede na hipoteze, ki smo si jih zastavili na začetku.

1. Glicinija je strupena rastlina. **HIPOTEZA POTRJENA**

Čeprav nismo izvedli načrtovanih analiz dobljenih ekstraktov, lahko hipotezo potrdimo s pomočjo pregledanih različnih literatur. V gliciniji lahko zasledimo naslednje strupe: alkaloidne, lektine in tudi flavonoide. Od alkaloidov je v gliciniji največ vistarina, ki je bil prvič izoliran leta 1886, umetno se ga lahko sintetizira iz ircinianina. Izmed lektinov glicinija vsebuje največ ricina, skupina pa je najnevarnejša zaradi lastnosti zlepljanja eritrocitov.

2. Različni deli rastline vsebujejo različne količine strupov. **HIPOTEZA OVRŽENA**

Rezultati poskusov na kalečih semenih kreše in mungo prikazujejo različne stopnje ugodnega vpliva na rast rastlin, iz česar lahko posledično sklepamo, da različni deli glicinije vsebujejo različne količine strupov. To potrjujejo tudi poskusi na solinskih rakcih z vodnimi ekstrakti. Poskusi na solinskih rakcih, kjer smo uporabili etanolno topilo, ne prikazujejo različnega delovanja na rakce, kar bi bilo razvidno v različnih deležih umrljivosti pri različnih ekstraktih, ki jih tukaj ni. Negativen vpliv na solinske rakce ima že samo topilo in torej učinka ne moremo pripisati strupom iz ekstraktov. Mogoče bi bile razlike razvidne, če bi poskuse opazovali v krajših časovnih intervalih. Ker torej hipoteze ne moremo popolnoma potrditi, jo ovržemo.

3. Največjo količino strupov v gliciniji vsebujejo semena. **HIPOTEZA OVRŽENA**

Literatura navaja, da so najbolj strupeni deli glicinije semena. To potrjujemo tudi v poskusih izvedenih na solinskih rakcih pri razmerju med rakci in ekstraktom 1:1, ko je med vodnimi ekstrakti največjo smrtnost prikazal ravno ekstrakt iz semen ploda.

Glede na opravljene poskuse na kalečih semenih ne moremo opredeliti ali največ strupov vsebujejo semena, saj ne moremo z gotovostjo trditi, ali ekstrakt z največ strupi najbolj zavira kalitev in rast semen ali jo najbolj spodbuja. Pri poskusih na semenih je vodni ekstrakt iz semen ploda izkazal povečano rast pri semenih mungo v 100-krat razredčeni raztopini. Pri semenih kreše v obeh koncentracijah in pri semenih munga pri 10-krat razredčeni raztopini pa je rast najbolj zaviral.

4. Strupi v ekstraktih delov glicinije zavirajo kalitev in rast semen kreše in mungo. **HIPOTEZA OVRŽENA**

Strupi v ekstraktih iz stebela, cvetov in semen ploda zavirajo kalitev in rast rastlin pri semenih kreše v obeh poskusnih koncentracijah, medtem ko pri semenih munga zavirata kalitev in rast rastlin le ekstrakta iz cvetov in semena ploda v 10-krat razredčeni raztopini. V vseh ostalih primerih ekstraktov pa sta kalitev in rast rastlin vzpodbujena.

5. Strupi v ekstraktih delov glicinije škodijo oz. negativno vplivajo na solinske rakce. **HIPOTEZA POTRJENA**

Strupi v ekstraktih delov glicinije uničujejo solinske rakce, saj je iz poskusov s solinskimi rakci razvidna smrtnost pri vodnih ekstraktih iz cvetov, listov, stebila in semen ploda, medtem ko je pri kontrolnem eksperimentu ni in s tem lahko potrdimo to trditev. Edini vodni ekstrakt, ki ni prikazal smrtnosti med rakci, je ekstrakt iz osemenja ploda pri razmerju rakcev in ekstrakta 1:1; pri razmerju rakcev in ekstrakta 1:2 pa se temu pridruži še ekstrakt iz stebila. Medtem se smrtnost pri razmerju rakcev in ekstrakta 1:2 glede na razmerje rakcev in ekstrakta 1:1 poveča pri ekstraktih iz cvetov in listov, pri ekstraktu iz semen ploda pa se smrtnost zmanjša.

Pri etanolnih ekstraktih je smrtnost 100-odstotna v vseh primerih, še posebej pri razmerju rakcev in ekstrakta 1:2. Pri razmerju rakcev in ekstrakta 1:1 nastopi 100-odstotna smrtnost pri kontrolnem eksperimentu v tretji uri opazovanja, medtem ko pri testnih eksperimentih že v drugi uri opazovanja. Več kot polovična smrtnost je tudi že v prvi uri opazovanja pri ekstraktu iz osemenja ploda.

6. Na učinkovitost ekstrakta pri zaviranju kalitve in rasti semen kreše in mungo ter uničevanju solinskih rakcev vpliva izbira topila. **HIPOTEZA POTRJENA**

Na učinkovitost ekstrakta pri zaviranju kalitve in rasti semen kreše in mungo ter uničevanju solinskih rakcev vpliva tudi izbira topila. Pri poskusih na rastlinah vidimo, da v obeh primerih rastlin ekstrakti v etanolnih topilih vzpodbujajo rast, nekateri vodni ekstrakti pa zavirajo kaljenje in rast. Pri poskusih na solinskih rakcih je smrtnost pri poskusih v razmerju rakcev in ekstrakta 1:1 že v drugi uri opazovanja 100-odstotna, in sicer pri ekstraktih na osnovi etanolnega topila, medtem ko je pri ekstraktih na osnovi vodnega topila smrtnost manjša, čeprav je glede na kontrolni eksperiment tudi tam prisotna.

Skozi potek raziskovanja se zavedamo spremenljivk, ki bi lahko vplivale na različne rezultate ob ponovnem izvajanju poskusov. Na vsebnost strupov je zagotovo lahko vplival čas med pobiranjem rastlinskega materiala in njegovo ekstrakcijo. Čeprav je bil rastlinski material zamrznjen je v tem času lahko prišlo do sprememb v vsebnosti strupov v posameznem delu rastline. Prav tako smo uporabili cvetove drugega, pozno poletnega cvetenja, ki lahko vsebujejo drugačne količine posameznih strupov kot cvetovi prvega, spomladanskega cvetenja.

Na podlagi dosedanjih rezultatov bi v nadaljevanju raziskovalno delo nadgradili tako, da bi izvedli HPLC analizo posameznih ekstraktov, s katero bi dobili podrobnejši vpogled v snovi, ki jih ekstrakti vsebujejo, tako bi bila zanimiva širša testiranja na semenih in insektih, ter posledično možna uporaba ekstraktov iz glicinije kot naravnega pesticida za večje obdelovalne površine. Ta bi hkrati spodbujal kalitev in rast rastlin in uničeval insekte. S tem raziskovalno delo ponuja zanimive nove informacije na področju uporabe naravnih snovi, ki lahko učinkujejo kot insekticid in hkrati gnojilo.

Tako smo skozi raziskovalno nalogo odgovorili na vprašanje zastavljeno v naslovu. Izvedeli smo, da je glicinija priljubljena okrasna rastlina, ki je tudi strupena, ob tem pa z možnim nadaljnjim raziskovanjem v prihodnosti ponuja uporabni potencial.

6. VIRI IN LITERATURA

- Alkaloid. (21. 1. 2022). V *Wikipedia: prosta enciklopedija*. <https://sl.m.wikipedia.org/wiki/Alkaloid>
- Chemie.de. (b. d.). *Alkaloide*. <https://www.chemie.de/lexikon/Alkaloide.html>
- Cheng, H. H. *A conceptual framework for assessing allelochemicals in the soil environment*. Allelopathy: Basic and applied aspects. Springer, Dordrecht, 1992. ISBN: 978-94-011-2376-1.
- Cigić, B., Grobelnik Mlakar, S. in Kocjan Ačko, D. (ur.). (2022). *Zrnate stročnice v prehrani*. Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede. <https://doi.org/10.18690/um.fkbv.3.2022>
- Del Moral, R., Muller, C. H. *Fog drip: A mechanism of toxin transport from Eucalyptus globulus*. Bulletin of the Torrey Botanical Club, 96 (1969), 4, str. 467–475.
- Dusenbury, M. (1992). *A WISTERIA GRAIN BAG and other tree bast fiber textiles of Japan*. [University of Nebraska – Lincoln]. UNL Digital Commons. <https://digitalcommons.unl.edu/tsaconf/569/>
- Đurasović, P. (1997). Unošenje egzotičnog drveća i grmlja na dubrovačko područje. *Šumarski list*, 5–6, 277–289.
- Kutnar, L., Marinšek, A., Kus Veenvliet, J., Jurc, D., Ogris, N., Kavčič, A., de Groot, M., Flajšman, K. in Veenvliet, P. (2019). *Terenski priročnik za prepoznavanje tujerodnih vrst v gozdovih* (2., dopolnjena izdaja). Silva Slovenica, Gozdarski inštitut Slovenije
- Lektini. (7. 1. 2010). V *Wiki Fakultete za kemijo in kemijsko tehnologijo Univerze v Ljubljani*. <http://wiki.fkkt.uni-lj.si/index.php/Lektini>
- LOZINŠEK, Z. (2009). Optimalna vključitev pergol v zunanji bivalni prostor [Diplomsko delo, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta]. Repozitorij UL. <https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=757&lang=slv>
- Mayer, J. (2006) *Balkonske rastline in velike posodovke*. Mladinska knjiga
- Mohamed, M. A., Hamed, M. M., Abdou, A. M., Ahmed, W. S., Saad, A. M. (2011). Antioxidant and Cytotoxic Constituents from *Wisteria sinensis*. *Molecules* 2011, 16, 4020–4030. <https://doi.org/10.3390/molecules16054020>
- Narwal, S. S. *Allelopathy in ecological sustainable organic agriculture*. Allelopathy Journal, 25 (2010), 1.
- National Library of Medicine. (b. d.). *Taxonomy browser*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/data-hub/taxonomy/tree/?taxon=3921>
- Natural Medicinal Herbs. (b. d.). *Chinese Wisteria, Wisteria sinensis*. <http://www.naturalmedicinalherbs.net/herbs/w/wisteria-sinensis=chinese-wisteria.php>
- Patel, S., Nag, M. K., Daharwal, S. J., Singh, M. R. in Singh, D. (2013). Plant Toxins: An Overview. *Research Journal of Pharmacology and Pharmacodynamics*, 5(5), 283–288.
- Plantopedia. (b. d.). *Wie giftig ist Blauregen/Glyzinie für Menschen, Hunde oder Katzen?* <https://www.plantopedia.de/wie-giftig-ist-blauregen/>

- Reinhart, K. O., Callaway, R. M. *Soil biota and invasive plants*. New Phytologist, 170 (2006), 3, str. 445–457.
- Rizin. (5. 9. 2022). V *Wikipedia: Die freie Enzyklopädie*. <https://de.wikipedia.org/wiki/Rizin>
- Rizvi, S. J. H., Haque, H., Singh, V. K., Rizvi, V. A discipline called allelopathy. Dordrecht: Springer, 1992. ISBN: 978-94-010-5048-7.
- Royal Botanic Gardens, Kew. (b. d.). *Wisteria*. <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:332065-2>
- Schade, F. in Jockusch, H. (2018) *Betörend, berauschend, tödlich – Giftpflanzen in unserer Umgebung*. Springer Berlin Heidelberg
- SE-EPPC. (b. d.). *Japanese Wisteria*. <https://www.se-eppc.org/manual/japwisteria.html>
- Singh, J. (2008). Maceration, percloration and infusion techniques for the extraction of medicinal and aromatic plants. *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants* (str. 67–82). International Centre for Science and High Technology
- Siol (8. 5. 2013). *Lepe, a nevarne na vašem vrtu*. <https://siol.net/dom/vrt-in-okolica/lepe-a-nevarne-na-vasem-vrtu-362934>
- Slapničar, M, Boh Podgornik, B. (2021). *Naravne spojine v živih sistemih: Teoretične osnove z navodili za laboratorijske vaje*. Univerza v Ljubljani, Pedagoška fakulteta.
- Strup. (13. 8. 2022). V *Wikipedija: prosta enciklopedija*. <https://sl.wikipedia.org/wiki/Strup>
- Strúp. (2020). V *Farmacevtski terminološki slovar* (Druga, dopolnjena in pregledana izdaja.). <https://isjfr.zrc-sazu.si/sl/terminologisce/slovarji/farmacevtski/iskalnik?iztocnica=str%C3%BAP>
- Tesio, F., Ferrero, A. *International Journal of Sustainable Development & World Ecology: Allelopathy, a chance for sustainable weed management*. *International Journal of Sustainable Development & World Ecology*, 17 (2010), 5.
- Tierarztpraxis Birgit Dumhart – Herz-Kreislauf-Zentrum Maarchfeld. (b. d.). *Blauregen und Haustiere*. <https://www.tierarzt-dumhart.at/2020/08/04/blauregen-und-haustiere/>
- Toksín. (2020). V *Farmacevtski terminološki slovar* (Druga, dopolnjena in pregledana izdaja.). <https://isjfr.zrc-sazu.si/sl/terminologisce/slovarji/farmacevtski/iskalnik?iztocnica=toks%C3%ADn>
- Uenishi, J. (1998). Acid-promoted Cyclization of Tetronic Acid to Alkene; Chemical Transformation of (-)-Iricanin to (+)-Wistarín. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 46(), 1090–1093. <https://doi.org/10.1248/cpb.46.1090>
- Wistarín (Blauregen). (26. 11. 2020). V *Second wiki*. https://second.wiki/wiki/wistarín_blauregen
- Žurga, S. (2011). *Izolacija in karakterizacija lektinov iz gobe Orjaški dežnik* [Diplomsko delo, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo]. Repozitorij UL. <https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=71129>

6.1. VIRI SLIK

Slika 3: Kutnar, L., Marinšek, A., Kus Veenvliet, J., Jurc, D., Ogris, N., Kavčič, A., de Groot, M., Flajšman, K. in Veenvliet, P. (2019). *Terenski priročnik za prepoznavanje tujerodnih vrst v gozdovih* (2., dopolnjena izdaja). Silva Slovenica, Gozdarski inštitut Slovenije

Slika 5: *Wisteria sinensis*. (20.10.2021). V Wikipedia: The Free Encyclopedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Wisteria_sinensis

Slika 7: Royal Botanic Gardens, Kew. (b. d.). *Wisteria*. <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:332065-2>

Slika 8 in slika 9: Uenishi, J. (1998). Acid-promoted Cyclization of Tetronic Acid to Alkene; Chemical Transformation of (-)-Iricanin to (+)-Wistarin. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 46(), 1090–1093. <https://doi.org/10.1248/cpb.46.1090>

Slika 10: Rizin. (5. 9. 2022). V Wikipedia: Die freie Enzyklopädie. <https://de.wikipedia.org/wiki/Rizin>

7. PRILOGA

- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KV po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KE po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KVL1 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KVL2 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KEL1 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KEL2 po dnevih opazovanja.



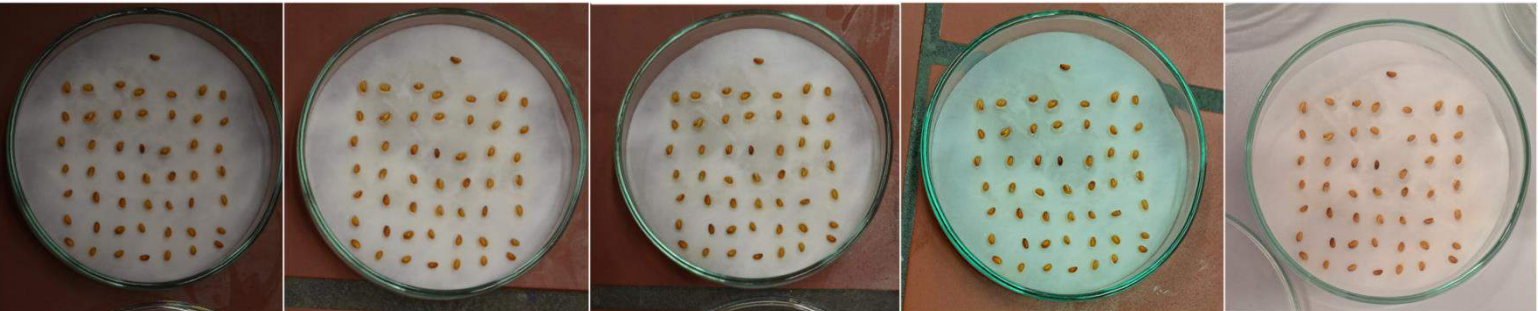
- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KVC1 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KVC2 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KEC1 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KEC2 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KVS1 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KVS2 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KES1 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KES2 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KVPO1 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KVPO2 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KEPO1 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KEPO2 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KVPS1 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KVPS2 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KEPS1 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa KEPS2 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa MV po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa ME po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa MVL1 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa MVL2 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa MEL1 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa MEL2 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa MVC1 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa MVC2 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa MEC1 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa MEC2 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa MVS1 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa MVS2 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa MES1 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa MES2 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa MVPO1 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa MVPO2 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa MEPO1 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa MEPO2 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa MVPS1 po dnevih opazovanja.



- Kolaž fotografij petrijevke poskusa MVPS2 po dnevih opazovanja.



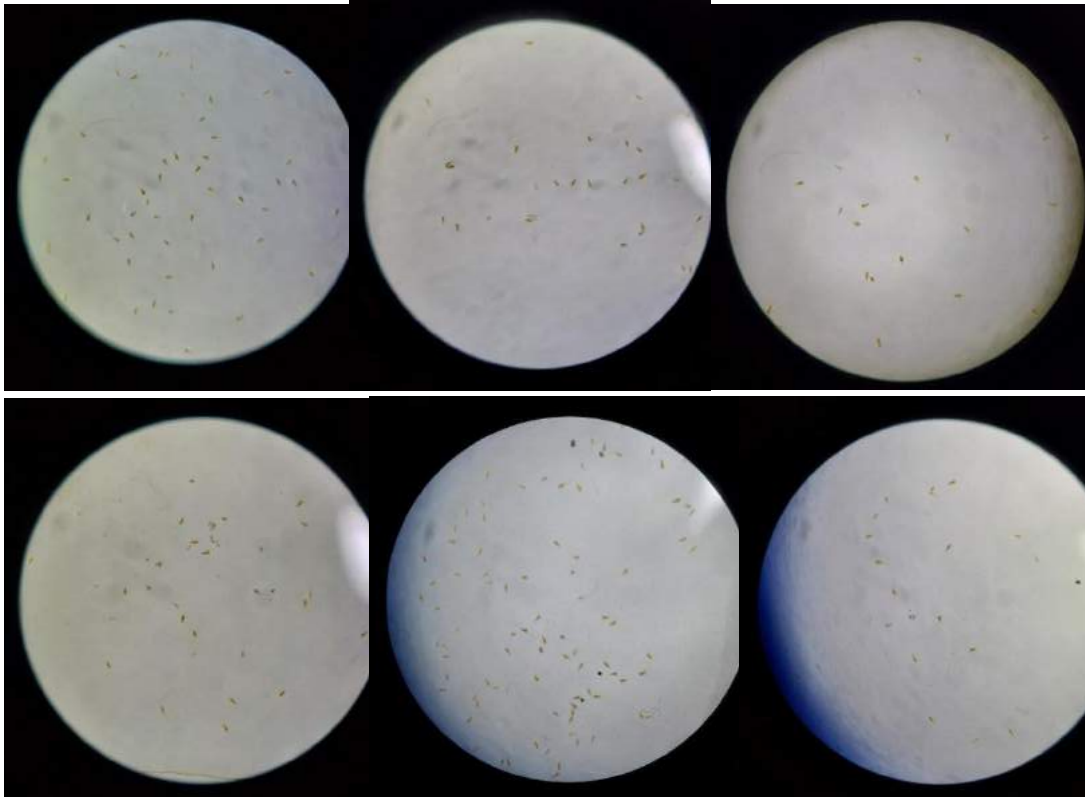
- Kolaž fotografij petrijevke poskusa MEPS1 po dnevih opazovanja.



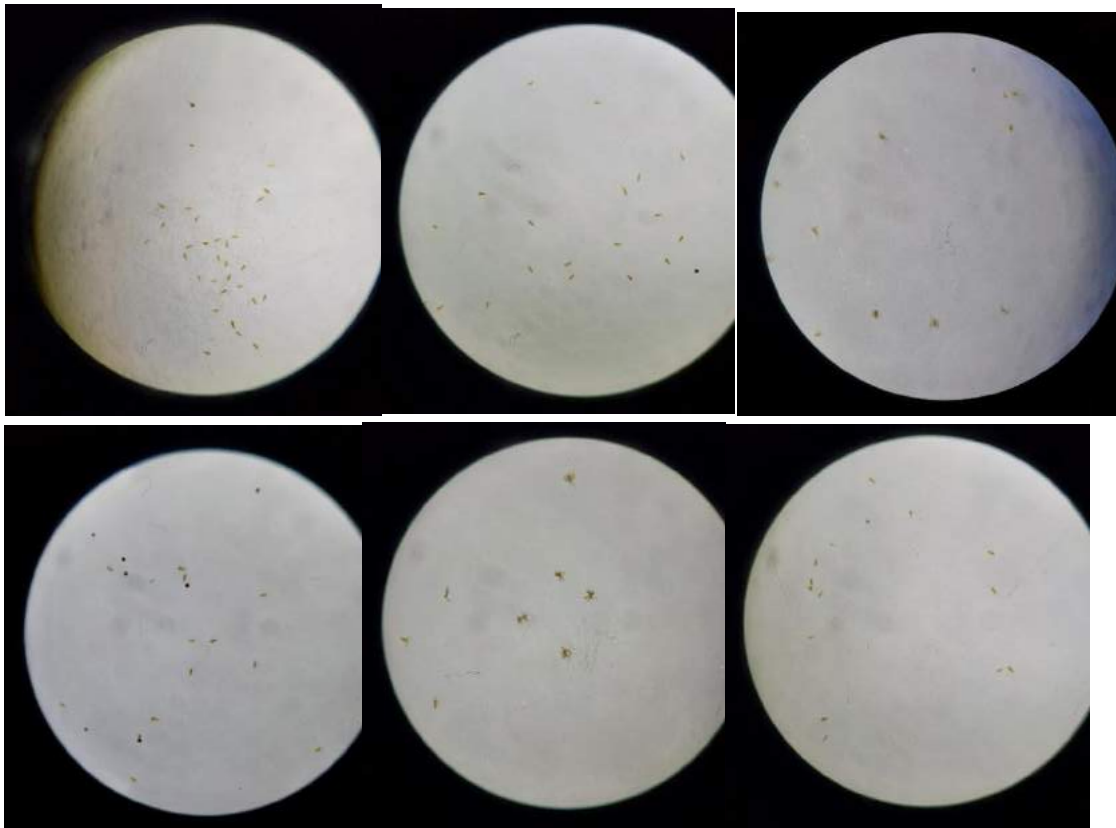
- Kolaž fotografij petrijevke poskusa MEPS2 po dnevih opazovanja.



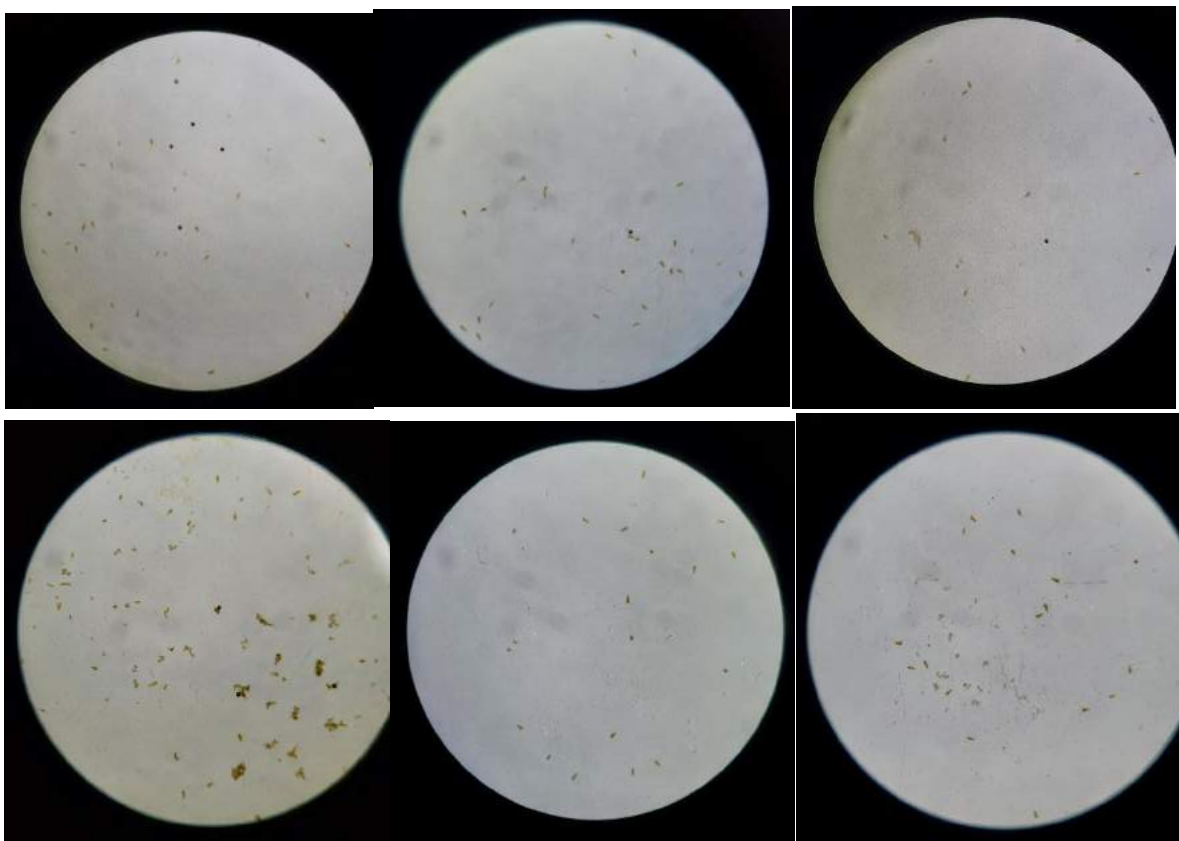
- Slike poskusov na solinskih rakcih v razmerju 1:1 skozi lupo (stereo mikroskopom) z 10-kratno povečavo (prva vrsta od leve proti desni V – kontrolni eksperiment, VC, VPO; druga vrsta od leve proti desni VL, VS in VPS).



- Slike poskusov na solinskih rakcih v razmerju 1:1 skozi lupo (prva vrsta od leve proti desni E – kontrolni eksperiment, EC, EPO; druga vrsta od leve proti desni EL, ES in EPS).



- Slike poskusov na solinskih rakcih v razmerju 1:2 skozi lupo (stereo mikroskopom) z 10-kratno povečavo (prva vrsta od leve proti desni V – kontrolni eksperiment, VC, VPO; druga vrsta od leve proti desni VL, VS in VPS).



- Slike poskusov na solinskih rakcih v razmerju 1:2 skozi lupo (stereo mikroskopom) z 10-kratno povečavo (prva vrsta od leve proti desni E – kontrolni eksperiment, EC, EPO; druga vrsta od leve proti desni EL, ES in EPS).

