

Gimnazija Kranj

Vpliv glukoze na kalitev pšeničnih semen
pod stresom zaradi slanosti

PODROČJE RAZISKOVALNE NALOGE:

Biologija

Avtor/ica/ji: Hana Bizant

Mentor/ica: Prof. Petra Košir

Vsebina

1. UVOD	4
1.1. Hipoteze.....	5
2. METODOLOGIJA	5
2.1. Spremenljivke.....	5
2.1.1. Neodvisne	5
2.1.2. Odvisne	6
2.1.3. Nadzorovane	6
2.1.4. Moteči dejavniki	7
2.2. Predhodni poskus.....	7
2.3. Ocena tveganja	7
2.4. Materiali in oprema	7
2.4.1. Materiali.....	7
2.4.2. Oprema.....	8
2.5. Postopek	8
2.5.1. Priprava glukoznih in slanah raztopin	8
2.5.2. Priprava pšeničnih semen	9
3. REZULTATI	9
3.1. Neobdelani podatki.....	9
3.1.1. Kvantitativni podatki	9
3.1.2. Kvalitativna opazovanja.....	10
3.2. Statistična analiza	10
3.2.1. Izračun statistične pomembnosti s testom Mann-Whitney U	13
3.3. Nezanesljivosti	14
4. RAZPRAVA IN EVALVACIJA	14
4.1. Analiza rezultatov	14
4.2. Evalvacija metodologije in negotovosti	16
5. ZAKLJUČEK	16
6. REFERENCE in LITERATURA	17
7. PRILOGE	18
7.1. Priloga 1: Neobdelani podatki	18
7.2. Priloga 2: izračuni odstotkov kalitve	19
7.3. Priloga 3: računanje napake.....	20

Povzetek

V raziskavi sem želela ugotoviti učinek eksogene glukoze in ali lahko ta izniči negativne posledice ki jih povzroča prekomerna koncentracija soli v zemlji, ki vodi v stres zaradi slanosti. Raziskovala sem vpliv različnih koncentracij glukoze na hitrost kalitve pšeničnih semen (*Triticum aestivum*), ko so ta izpostavljena stresu zaradi slanosti. Ugotovila sem, da je povečana slanost (200 mM NaCl) je negativno vplivala na kalitev pšeničnih semen v primerjavi s kontrolnimi pogoji (voda), kar pomeni da stress zaradi slanosti upočasni kalitev in rast rastlin. Ko pa sem dodala nizke koncentracije glukoze (0,1 in 0,5 mM), se je hitrost kalitve pomembno zvišala in izničila učinke povečane slanosti. Najvišja povprečna kalitev po 5 dneh je bila opažena pri kombinaciji 0,1 mM glukoze in NaCl (94,9 %), nato pa je sledil pogoj z 0,5 mM glukoze in NaCl (89,9 %). Nasprotno, pa sem prišla do zaključka, da visoka koncentracija glukoze (50 mM) ni bistveno izboljšala kalitve, njeni učinki pa so bili na začetku podobni kot tisti pri povečani slanosti – torej zaviralni. Naredila sem tudi statistično analizo (Mann-Whitney U test), s katero sem potrdila pomembne razlike med skupinami z nizko koncentracijo glukoze in povečano slanostjo, medtem ko sem ugotovila, da razlika med visoko koncentracijo glukoze (50 mM) in samo povečano slanostjo ni bila statistično pomembna. Ugotovitve lahko tako pripomorejo k boljšemu in jasnejšemu razumevanju fizioloških odzivov rastlin na stresne dejavnike, med drugim tudi vlogo abscisne kisline (ABA) in reaktivnih kisikovih spojin (ROS). Hkrati pa pripomorejo k nadaljnjim raziskavam in kasneje pomagajo pri oblikovanju strategij za izboljšanje kalitve in pridobivanje pridelka na ogroženih območjih.

Ključne besede: eksogena glukoza, stres zaradi slanosti, pšenična semena (*Triticum aestivum*), kalitev, hitrost kalitve, abscisna kislina (ABA), reaktivne kisikove spojine (ROS), agrikultura

Abstract

In this study, I aimed to determine the effect of exogenous glucose and whether it can counteract the negative consequences caused by excessive soil salinity, which leads to salt stress. I investigated the influence of varying glucose concentrations on the germination rate of wheat seeds (*Triticum aestivum*) under salinity stress. I found that increased salinity (200mM NaCl) negatively affected wheat seed germination compared to the control conditions (water), indicating that salt stress slows down germination and plant growth. However, when I added low concentrations of glucose (0.1 and 0.5 mM), the germination rate significantly increased and mitigated the effects of high salinity. The highest average germination after 5 days was observed in the treatment with 0.1 mM glucose and NaCl (94.9%), followed by the condition with 0.5 mM glucose and NaCl (89.9%). In contrast, I found that a high concentration of glucose (50 mM) did not significantly improve germination. Its effects were initially similar to those of high salinity—namely, inhibitory. I also conducted a statistical analysis (Mann-Whitney U test), which confirmed significant differences between the groups with low glucose concentrations and salinity stress, while the difference between the high glucose concentration (50 mM) and salinity stress alone was not statistically significant. These findings contribute to a better and clearer understanding of the physiological responses of plants to stress factors, including the role of abscisic acid (ABA) and reactive oxygen species (ROS). At the same time, they support further research and can help develop strategies to improve germination and crop yield in vulnerable regions.

Keywords: exogenous glucose, salinity stress, wheat seeds (*Triticum aestivum*), germination, germination rate, abscisic acid (ABA), reactive oxygen species (ROS), agriculture

1. UVOD

Raziskovalno vprašanje: Kako različne koncentracije (0,0, 0,1, 0,5 in 50 mM) glukoze vplivajo na hitrost kalitve pšeničnih semen (*Triticum aestivum*) pod stresom zaradi slanosti (200 mM NaCl) v obdobju 5 dni?

Medtem ko svet napreduje, se kmetijstvo sooča z najrazličnejšimi izzivi, kot so ekstremne temperature, suša, pomanjkanje hranil in prekomerna slanost tal, kar lahko vsako leto vpliva na pridelke in njihovo produktivnost.

Tla lahko vsebujejo visoke koncentracije soli, kar povzroča stres zaradi slanosti. To lahko vodi do osmotskega neravnovesja, zmanjšanja absorpcije vode, omejene fotosinteze, upočasnjene kalitve in rasti rastlin (Ahmad et al., 2020; Gangola & Ramadoss, 2018). Raziskave so pokazale, da rastline zato razvijejo kompleksne mehanizme, da obvladujejo ta stres, med drugim je to sproščanje topnih sladkorjev, ki igrajo ključno vlogo pri ohranjanju strukture in metabolizma rastline. Ugotovljeno je bilo, da pomagajo zmanjšati stres zaradi slanosti in povečajo toleranco rastlin na sol, saj nadomeščajo manjkajoče vodne molekule s hidroksilnimi skupinami sladkorjev, kar pomaga pri odpornosti na hidrofobne interakcije, preprečuje plazmolizo in ohranja turgor celic (Ahmad et al., 2020; Hu et al., 2012).

Glukoza je ena izmed osnovnih monosaharidov in tvori različne polisaharide, ki jih rastline uporabljajo za številne procese, od razvoja in kalitve do rasti in fotosinteze. Igra vlogo pri razvoju rastlinskih embrijev, regulaciji rasti celic in shranjevanju rezervnih ogljikovih hidratov. Če jo dodamo eksogeno, lahko poveča število in velikost listov ter korenin ter pospeši hitrost kalitve in tvorbo korenin, če se uporablja v nizkih koncentracijah. Naprotno pa lahko visoke koncentracije glukoze delujejo toksično in zavirajo kalitev ter rast rastlin (Sami et al., 2016).

Nizke ravni glukoze preprečujejo naraščanje koncentracije abscizinske kisline (ABA) in njen zaviralni učinek na kalitev semen. Nasprotno pa visoke koncentracije eksogene glukoze povzročajo kopičenje ABA, kar vodi do zaviranja kalitve in ohranjanja dormance (Hu et al., 2012; Gibson, 2005; Siddiqui et al., 2019; Price et al., 2003). Poleg tega glukoza sproži odzive na stres, pri čemer se tvorijo reaktivne kisikove spojine (angleško ROS), ki lahko poškodujejo DNK, beljakovine in lipide ter povzročijo celo celično smrt. Nabiranje sladkorja je obrambni odziv, saj glukoza znatno poveča vsebnost antioksidantov in zmanjša negativne učinke soli. Poveča aktivnost antioksidativnih encimov, ki zmanjšajo poškodbe zaradi ROS (Hu et al., 2012; Siddiqui et al., 2019).

Cilj te raziskovalne naloge je preučiti vpliv eksogene glukoze in raziskati razlike med nizkimi in visokimi koncentracijami na kalitev pšeničnih semen pod stresom zaradi slanosti. Semena bodo opazovana 5 dni, odstotek kalitve pa bo izračunan na podlagi razvoja radikule in koleoptile.

Torej, raziskovalno vprašanje je pomembno, saj lahko zagotovi boljše razumevanje, kako lahko glukoza pomaga ali ovira kalitev in razvoj rastlin v pogojih, kjer je povečana slanost. Rezultati bi lahko bili uporabni tudi pri različnih kultivarjih za izboljšanje kmetijske proizvodnje in zmanjšanje izgub pridelkov zaradi slanosti tal.

1.1. Hipoteze

1. Hitrost kalitve semen, izpostavljenim stresu zaradi slanosti (povečani slanosti), se bo pomembno zmanjšala v primerjavi s hitrostjo kalitve semen v pogojih z vodo (kontrolno skupino).
2. Ko bodo semena izpostavljena stresu zaradi slanosti in nizkim (0,1 in 0,5 mM) ali visokim (50 mM) koncentracijam glukoze, bo opazna pomembna razlika v hitrosti kalitve.
3. Hitrost kalitve se bo povečala, ko bodo semena izpostavljena stresu zaradi slanosti in nizkim koncentracijam glukoze v primerjavi hitrostjo kalitve semen izpostavljenim le stresom zaradi slanosti.
4. Pri izpostavljenosti semen stresu zaradi slanosti in visoki koncentraciji glukoze (50 mM) ne bo opazne pomembne razlike v hitrosti kalitve v primerjavi s hitrostjo kalitve semen izpostavljenimi samo stresu zaradi slanosti – hitrost kalitve bo ostala enaka v obeh pogojih.

2. METODOLOGIJA

2.1. Spremenljivke

2.1.1. Neodvisne

1. **Koncentracija raztopin glukoze:** 0, 0.1, 0.5 in 50 mM
 - 200 mM NaCl je bila kontrolna skupina, ki je določala vpliv stresa zaradi slanosti brez glukoze na kalitev semen. Koncentracije so bile določene na podlagi študije Hu et al. (2012), kjer so rezultati pokazali pomembno razliko

med nizkimi (0.1 in 0.5 mM) in visokimi (50 mM) koncentracijami na hitrost kalitve pšeničnih semen.

- Druga kontrolna skupina je bila samo voda, da bi določili vpliv kombinacije slanostnega stresa in glukoze.

2. **Čas:** Meritve so bile opravljene po 1, 2, 3, 4 in 5 dneh.

2.1.2. *Odvisne*

Hitrost kalitve (%) v 5 dneh:

- Hitrost kalitve je opredeljena kot odstotek semen, ki so uspešno vzknila v določenem časovnem obdobju (5 dni). Izračuna se kot odstotek kalitve (GP) za vsak dan v obdobju 5 dni in nato prikaže v grafu v razmerju s časom (Saupe, 2009).
- Skaljena semena so prešteta vsak dan. Kalitev je potrjena, ko sta koleoptil in radikula vidna in dolga vsaj 2 mm (merjeno z ravnilom).

2.1.3. *Nadzorovane*

- V vsako petrijevko je bilo dodanih 6 mL raztopine, kar je zagotovilo enak volumen v vseh pogojih. Tako preprečimo morebitne prednosti ali slabosti zaradi prevelikega ali premajhnega volumna vode in ostalih raztopin. Kapljice so bile enakomerno porazdeljene po semenih, saj bi neenakomerna porazdelitev lahko vplivala na njihov razvoj.
- Uporabljena so bila ista semena (*Triticum aestivum*) istega proizvajalca, kar je zagotovilo, da imajo vsa semena enako strukturo, kar je ključnega pomena za kalitev in njeno hitrost. Prav tako so bila semena podobne velikosti, kar je omogočilo enake pogoje za rast.
- Enake papirnate brisače, prepognjene na enak način, so bile uporabljene kot podlaga za semena, kar je omogočilo enakomerno absorpcijo dodanih raztopin.
- Petrijevke so bile pokrite s prozornimi pokrovi, kar je preprečilo vpliv zunanjih dejavnikov, kot so prah in insekti. Pokrovi so zmanjšali izhlapevanje vode in s tem ohranjali vlago, hkrati pa omogočali prehod kisika, saj niso bili popolnoma zatesnjeni.
- Semena so bila enakomerno razporejena v petrijevkah, da so imela dovolj prostora za rast, kar je preprečilo vpliv sosednjih semen na rast.

- Meritve in opazovanja so bila izvedena ob istem času dneva, da bi zagotovili primerljivost podatkov.

2.1.4. Moteči dejavniki

- **Temperatura** je bila moteči dejavnik, vendar je bila nadzorovana s termometrom in stabilizirana med **23** in **24°C**.
- **Intenziteta svetlobe** ni bila nadzorovana ali merjena, vendar je bilo zagotovljeno, da semena niso bila izpostavljena neposredni sončni svetlobi. Naravna osvetlitev je omogočila poustvaritev naravnih pogojev.

2.2. Predhodni poskus

Predhodni poskus je bil izveden z raztopino **200 mM NaCl**, da bi potrdili, da stres zaradi slanosti in prekomerna slanost dejansko zmanjša hitrost kalitve. Prav tako je bil testiran volumen **6 mL raztopine**, da bi zagotovili, da je to dovolj za kalitev semen. To je bilo testirano s samo vodo in solno raztopino.

2.3. Ocena tveganja

- **Glukoza** je v obliki prahu, zato je pri uporabi uporabljena zaščitna maska.
- **Škarje** lahko povzročijo poškodbe, zato so uporabljene previdno.
- **Odpadni material** je bil ustrezno odstranjen v skladu z lokalnimi predpisi in z minimalnim vplivom na okolje. V tem poskusu so bili organski odpadki (semena) in papirnate brisače, odvrženi v ustrezne zabojnike.

2.4. Materiali in oprema

2.4.1. Materiali

- Glukoza – 5 g
- Natrijev klorid (NaCl) – 6 g
- 300 pšeničnih semen (*Triticum aestivum*) (Planta Prelesje d. o. o. – Škofljica, PRO.S.O.L.®)

2.4.2. Oprema

- 25 papirnatih brisač (1 na petrijevko, prepognjena dvakrat)
- 25 petrijevki (150 mm × 15 mm)
- Pinceta
- Destilirana voda (4L) (za pripravo raztopin)
- 5 mL pipeta (± 0.25 mL)
- Termometer ($\pm 0.5^{\circ}\text{C}$)
- Tehtnica (± 0.3 mg = 0.0003 g)
- Škarje
- Zaščitna maska
- Permanentni marker
- 5 steklenih čaš (150 mL)
- 1000 mL merilna bučka (± 0.5 mL)
- 500 mL merilna bučka (± 0.2 mL)
- Ravnilo (± 0.5 mm)

2.5. Postopek

2.5.1. Priprava glukoznih in slanih raztopin

Za pripravo raztopin **glukoze (0.1, 0.5 in 50 mM)** ter **slane raztopine (200 mM NaCl)**, smo izračunali maso vsake snovi. Ker so bile izračunane mase majhne, smo, da bi zmanjšali napake, raztopine pripravili v večjih količinah (**500 ali 1000 mL**).

Izračuni:

1. **0.1 mM glukoza:** 0.018 g v 1000 mL destilirane vode
2. **0.5 mM glukoza:** 0.090 g v 1000 mL destilirane vode
3. **50 mM glukoza:** 4.504 g v 500 mL destilirane vode
4. **200 mM NaCl:** 5.844 g v 500 mL destilirane vode

Pripravljene raztopine:

1. **C1 (kontrola 1):** 6 mL **200 mM NaCl**
2. **C2:** 6 mL **200 mM NaCl** + **0.1 mM glukoza**
3. **C3:** 6 mL **200 mM NaCl** + **0.5 mM glukoza**
4. **C4:** 6 mL **200 mM NaCl** + **50 mM glukoza**

5. C5 (kontrola 2): 6 mL vode

2.5.2. Priprava pšeničnih semen

1. Papirnate brisače so bile prepognjene in položene v petrijevke. Nato smo označili petrijevke glede na pogoje (C1-C5).
2. V vsako petrijevko je bilo s pinceto položenih **12 semen**.
3. Raztopine so bile s pipeto enakomerno dodane.
4. Petrijevke so bile postavljene pri **23–24°C** in zaščitene pred neposredno sončno svetlobo.
5. Vsak dan ob **16:00** so bila semena izmerjena (če je bila vidna radikula in koleoptil), in prešeta.

3. REZULTATI

3.1. Neobdelani podatki

3.1.1. Kvantitativni podatki

Zaradi veliko neobdelanih podatkov je v Tabeli 1 predstavljen le en primer zbiranja rezultatov. Preostanek neobdelanih podatki je predstavljenih v Prilogi 1 pod 7.1, v Tabelah 6 in 7.

Tabela 1: Število skaljenih semen po 5 dneh (primer)

pogoj	Število skaljenih semen v vsaki petrijevki (± 1) na 5. dan				
	Petrijevka 1	Petrijevka 2	Petrijevka 3	Petrijevka 4	Petrijevka 5
H ₂ O + NaCl (C1)	8	8	8	10	8
NaCl + 0.1 Glc (C2)	12	11	11	11	12
NaCl + 0.5 Glc (C3)	11	11	10	11	11
NaCl + 50 Glc (C4)	10	10	10	9	10
H ₂ O (C5)	11	12	10	9	9

3.1.2. Kvalitativna opazovanja

Slika 1: Stopnje kalitve pšeničnih semen s poimenovanimi deli



Opomba. From Corn Agronomy [fotografija], Wheat Growth and Development, 2014, (<https://corn.agronomy.wisc.edu/Crops/Wheat/L007.aspx>)

Opazovanja, pridobljena vsak dan:

- **1. dan:** Nobenih vidnih koreninic (radikule) ali koleoptila.
- **2. dan:** Največ semen je skalilo v C2 in C5, vendar še ne vsa. Radikule in koleoptil so bili vidni in daljši od 2 mm. Večina semen v drugih pogojih še ni skalila.
- **3. dan:** Semena so začela kaliti v vseh pogojih, z očitno zamudo v C1 in C4. Koleoptili v C5 in C2 so se podaljšali in začeli zeleneti.
- **4. dan:** V pogojih C2, C3 in C5 so bili koleoptili precej daljše. V C1 in C4 so bili komaj daljši od 2 mm in rumeni. Nekatera semena v teh pogojih še niso skalila.
- **5. dan:** Največ semen je skalilo v C3 in C5, nekoliko manj v C2. Ta semena so imela dolge zelene koleoptile in več dolgih radikul, ki so bile že razvejane. Semena v C1 in C5 so imela krajše radikule z rumenimi koleoptili ali pa sploh niso kalila.

3.2. Statistična analiza

Za izračun stopnje kalitve je bil odstotek kalitve (GP) za vsak dan izračunan po naslednji formuli:

Formula 1: Odstotek kalitve

$$\text{odstotek kalitve} = \frac{(\text{kaljena semena})}{(\text{skupno število semen})} \times 100$$

Primer izračuna za C2, 5. dan, poskus (petrijevka) 3:

$$\% \text{ kalitve} = \frac{11}{12} \times 100 = 91,7 \%$$

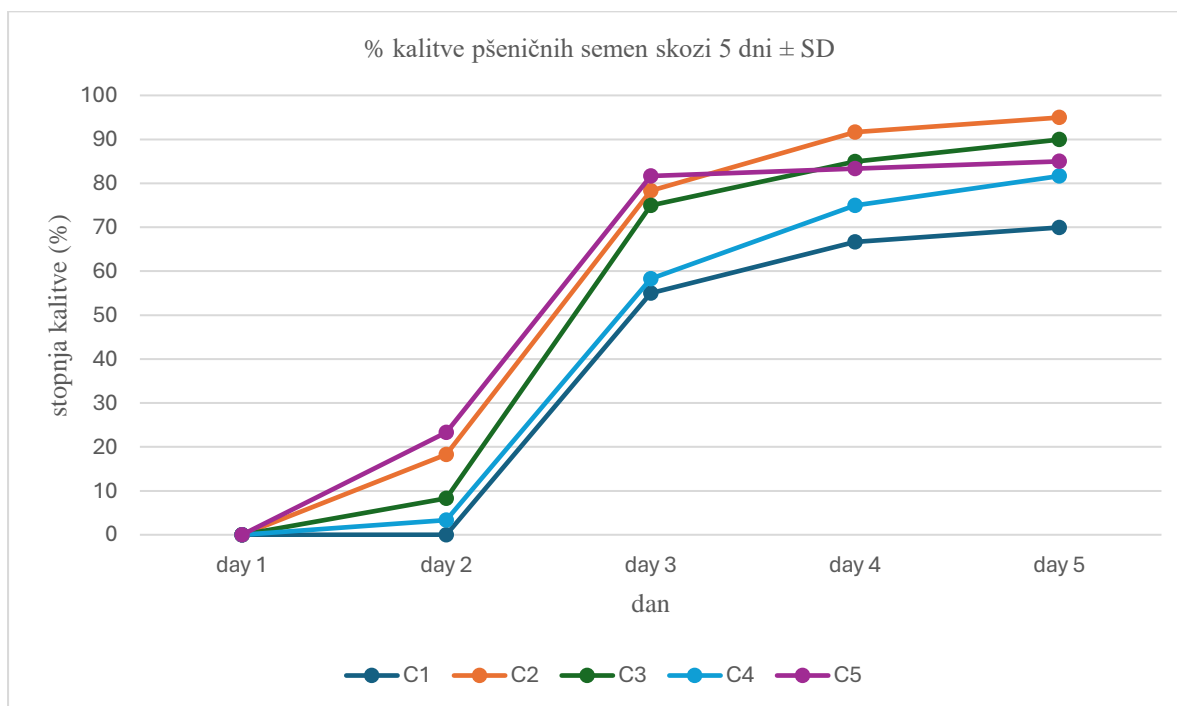
Preostali izračuni so predstavljeni v Prilogi 2 (7.2).

Izračunane so bile **povprečne odstotne kalitve** semen v 5 dneh za prikaz splošnega trenda ter **standardni odkloni (SD)** za prikaz variabilnosti, izračunan z **Microsoft Office Excel**. Rezultati so prikazani v Tabeli 2.

Tabela 2: Povprečna odstotna kalitev v 5 dneh s standardnimi odkloni

pogoj	Povprečna odstotna kalitev v 5 dneh (%) ± SD				
	dan 1	dan 2	dan 3	dan 4	dan 5
C1	0.0	0.0 ± 0.0	54.9 ± 4.6	66.6 ± 10.2	69.9 ± 7.7
C2	0.0	18.3 ± 6.9	78.3 ± 17.3	91.6 ± 5.9	94.9 ± 4.6
C3	0.0	8.3 ± 5.9	74.9 ± 11.8	84.9 ± 6.9	89.9 ± 3.7
C4	0.0	3.3 ± 4.6	58.3 ± 0.00	74.9 ± 8.4	81.6 ± 3.7
C5	0.0	23.3 ± 6.9	81.6 ± 13.7	83.3 ± 11.8	84.9 ± 10.9

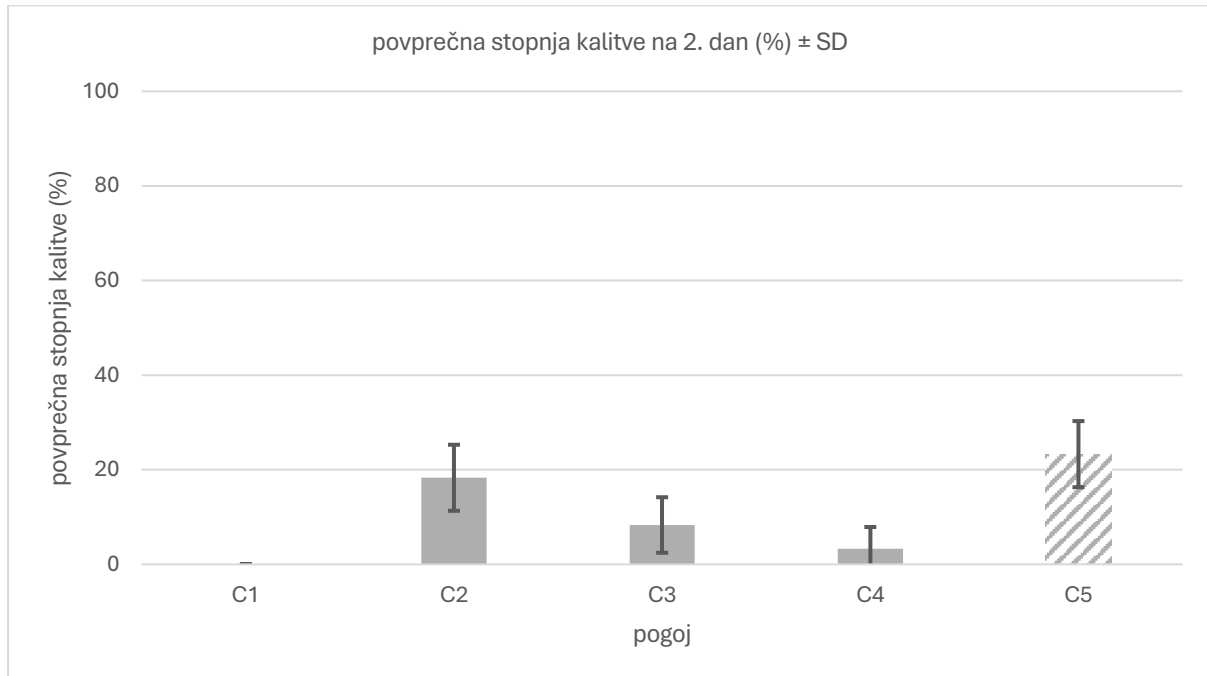
Slika 2: odstotek kalitve pšeničnih semen v 5 dneh



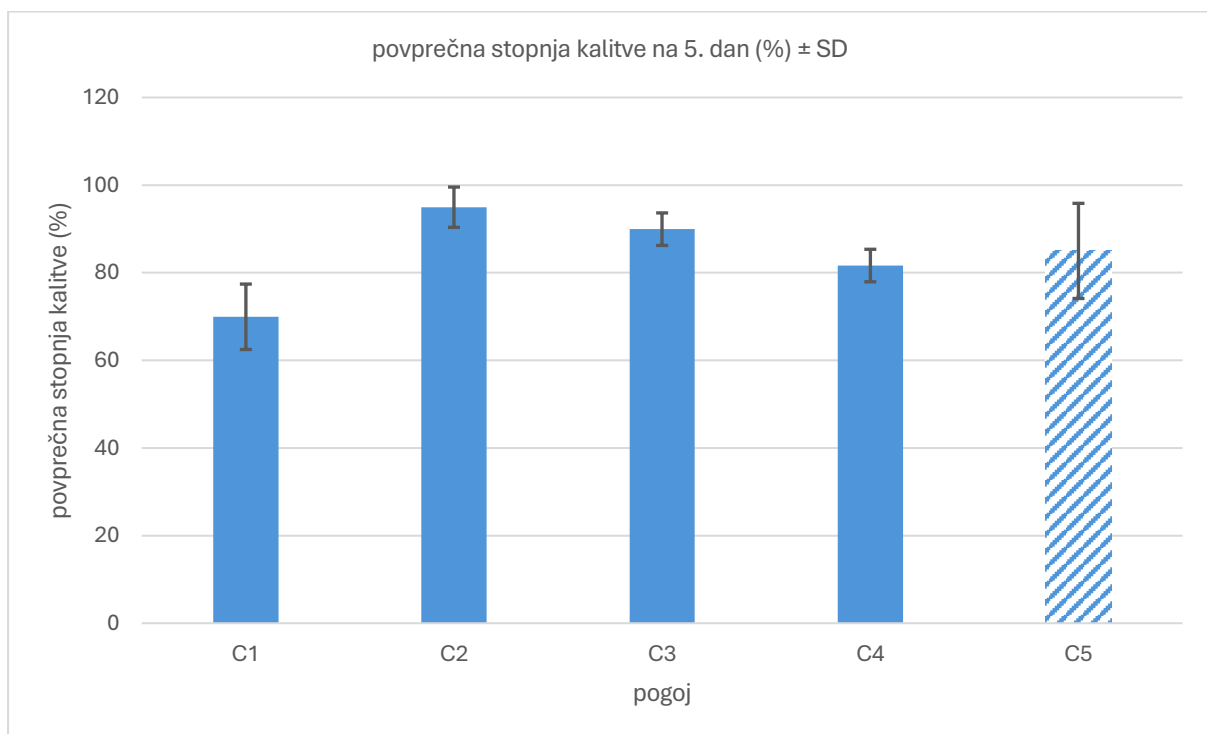
(C1 – povečana slanost, C2 – povečana slanost & 0.1 Glc, C3 – povečana slanost & 0.5 Glc, C4 – povečana slanost & 50 Glc, C5 – kontrola)

Sliki 3 in 4 prikazujeta povprečne odstotne kalitve za različne pogoje s prikazanimi SD. Sliki vključujeta podatke 2. in 5. dne, saj sta ti točki ključni za nadaljnjo statistično analizo.

Slika 3: Povprečna odstotna kalitev na 2. dan



Slika 4: Povprečna odstotna kalitev na 5. dan



3.2.1. Izračun statistične pomembnosti s testom Mann-Whitney U

Test **Mann-Whitney U** je bil izveden z uporabo Social Science Statistics kalkulatorja za primerjavo kalitvenih stopenj med različnimi pogoji in določanje njihove statistične pomembnosti ($p < .05$).

Ničelna hipoteza: Ni statistično pomembne razlike med hitrostmi kalitve (kalitvenimi stopnjami) semen pri visokih in nizkih koncentracij glukoze ter med povečano slanostjo, kontrolo in posameznimi koncentracijami.

Alternativna hipoteza: Obstaja statistično pomembna razlika med povečano slanostjo (stres) in posameznimi pogoji z glukozo ter med povečano slanostjo in kontrolnim pogojem (vodo).

Tabela 3: Rezultati testa Mann-Whitney U za 2. dan

2. dan				
Mann-Whitney U test rezultati in pomembnost				
vzorec 1	vzorec 2	U vrednost	p-vrednost	Pomembnost pri $p < .05$
C1	C2	0.0	0.006	pomembno
C1	C3	2.5	0.024	pomembno
C1	C4	7.5	0.174	nepomembno
C1	C5	0.0	0.006	pomembno
C2	C3	4	0.048	pomembno
C2	C4	1.0	0.011	pomembno
C2	C5	7.0	0.149	nepomembno
C3	C4	6.5	0.125	nepomembno
C3	C5	1.0	0.011	pomembno
C4	C5	0.0	0.006	pomembno

Tabela 4: Rezultati testa Mann-Whitney U za 5. dan

5. dan				
Mann-Whitney U test rezultati in pomembnost				
vzorec 1	vzorec 2	U vrednost	p-vrednost	Pomembnost pri $p < .05$
C1	C2	0.0	0.006	Pomembno
C1	C3	0.5	0.008	pomembno
C1	C4	3.0	0.030	pomembno
C1	C5	2.5	0.024	pomembno
C2	C3	6.0	0.106	nepomembno
C2	C4	0.0	0.006	pomembno
C2	C5	5.5	0.087	pomembno
C3	C4	2.0	0.018	pomembno
C3	C5	8.5	0.233	nepomembno
C4	C5	11.0	0.417	nepomembno

3.3. Nezanestljivosti

- Nekatera semena so že imela predispozicijo, da ne bodo skalila, kljub vsem ostalim izpolnjenim pogojem.
- Majhna velikost vzorca povečuje negotovost rezultatov in možnost večje napake.
- Človeška napaka pri štetju semen ($\pm 8.3\%$).
- Odstopanja v stopnji kalitve med petrijevkami za posamezni pogoj (vidno iz intervalov napak).

4. RAZPRAVA IN EVALVACIJA

4.1. Analiza rezultatov

Slika 2 prikazuje stopnje kalitve za vseh 5 pogojev v obdobju 5 dni. Opazna je razlika med C1, pogojem s stresom zaradi slanosti (povečana slanost) in brez glukoze, ter C5, kontrolnim pogojem. To nakazuje, da je povečana slanost sprožila stres, ki je vplival na razvoj rastlin in povzročil zmanjšano stopnjo kalitve, kar so pokazali tudi v študiji Sami et al. (2016). Razlika je vidna že 2. dan, ko je bila stopnja kalitve pri kontrolnem pogoj 23,3 %, medtem ko v slani raztopini ni bilo nobenega kaljenega semena (stopnja kalitve je 0,0%). Najbolj opazna razlika je na 5. dan (Slika 4), kar potrjuje, da stres zaradi slanosti vpliva na kalitev semen in njihovo rast. Na Sliki 3 se 2. dan se za pogoja C1 in C5 intervali napak ne prekrivajo, kar označuje statistično pomembnost. Zadnji dan se intervali napak sicer malo prekrivajo, vendar je bila signifikantna razlika še vedno potrjena s statističnim testom (Tabela 4). S kvalitativnim opazovanjem je bil opažen upočasnjen in neprimeren razvoj, saj je bil koleoptil pri C1 kratek in rumen v primerjavi s kontrolnim pogojem, kjer je bil dolg in zelen. Zato lahko **potrdimo hipotezo 1**, ki navaja, da bo prisotna pomembna razlika v hitrosti kalitve semen izpostavljenih stresu zaradi slanosti (povečani slanosti) in hitrosti kalitve semen v kontrolnem pogoj.

Kot je razvidno iz Slike 2, visoke koncentracije glukoze zmanjšajo odstotek kalitve (hitrost) v primerjavi z nizkimi koncentracijami, kjer je bil učinek stresa zaradi slanosti obraten. Hidroksilne skupine sladkorjev so nadomestile manjkajočo vodo zaradi osmotskega neravnovesja, preprečile plazmolizo in omogočile normalen razvoj semen (Sami et al., 2016; Ahmad et al., 2020). Na primer, 2. dan je bil odstotek kalitve pri nizkih koncentracijah glukoze

(C2) 18,3 %, pri C3 8,3 %, medtem ko je bila v visoki koncentraciji (C4) le 3,3 %. Ob koncu eksperimenta so bili odstotki kalitve za nizko glukozo 94,9 % in 89,9 %, pri visoki koncentraciji (C4) pa 81,6 % (Tabela 2). Čeprav so statistični testi potrdili pomembno razliko med C2 in C4 na začetku in koncu eksperimenta, razlika 2. dan med C4 in C3 ni bila statistično pomembna (Tabela 3, 4). Vendar pa je bila 5. dan 0,5 in 0,1 mM koncentracija glukoze (C2, C3) podobno učinkovita pri kalitvi semen, 50 mM glukoze pa se je pomembno razlikovala od C3. Hu et al. (2012) so prišli do podobnih zaključkov, saj so opazili pomembne razlike v hitrosti kalitve med nizkimi in visokimi koncentracijami glukoze. S tem lahko povzamemo, da je visoka koncentracija glukoze toksična za semena, zato je odstotek kalitve nižji in hitrost manjša kot pri nizkih koncentracijah. Drugi razlog za vpliv visoke koncentracije glukoze na kalitev bi lahko bil ta, da je spodbudila kopičenje ABA, ki zavira kalitev semen. Po drugi strani pa so nizke koncentracije glukoze zavirale kopičenje ABA, kar je zmanjšalo njen negativni vpliv na kalitev semen (podaljšanje dormance) (Hu et al., 2012; Gibson, 2005). Zato lahko **hipotezo 2**, ki predvideva pomembno razliko v hitrosti kalitve semen izpostavljenih nizkim in visoki koncentraciji glukoze ob povečani slanosti in stresu zaradi slanosti, **potrdimo**.

Na Sliki 2 je opazna velika razlika med C1 in C2 že 2. dan, ki se nadaljuje do 5. dne. Na primer, 2. dan je 0,1 mM glukoze popolnoma izničila vpliv stresa zaradi slanosti, kar je povzročilo 18,3% skaljenih semen, medtem ko jih je bilo v C1 le 3,3 %. Tudi 5. dan je razlika opazna – 0,1 mM glukoze je povzročila 94,9 % kalitev, pri C1 (samo povečana slanost) pa je vzknilo le 69,9 % pšeničnih semen. Statistični izračuni v Tabelah 3 in 4 so potrdili pomembno razliko na začetku in koncu eksperimenta. Drugi pogoj z nizko koncentracijo glukoze, 0,5 mM, je pokazal pomembno razliko v kalitvi v vseh 5 dneh v primerjavi s C1. Na primer, 2. dan je vzknilo 8,3% semen, 5. dan pa 89,9 %. Statistična pomembnost med C3 in C1 je bila ugotovljena v Tabelah 3 in 4, hkrati pa se intervali napak niso prekrivali, kot je razvidno na Slikah 3 in 4. To nakazuje, da imajo nizke koncentracije glukoze lahko koristne učinke na semena in njihovo kalitev, ko so ta izpostavljena povečani slanosti in stresu zaradi slanosti, kar podpira vlogo sladkorjev kot osmoprotektantov (Ahmad et al., 2020). Glukoza je spodbudila rast in nevtralizirala učinke stresa zaradi slanosti na semena (Sami et al., 2016). % in s tem hitrost kalitve se je povečala zaradi nizke koncentracije glukoze. Tako lahko **hipotezo 3 potrdimo**.

Na Sliki 2 so % kalitve pri C1 (povečana slanost) in C4 (visoka koncentracija glukoze – 50 mM) najnižji in ostajajo podobni do 5. dne, ko se % kalitve v C4 poveča. V obeh pogojih je bila % kalitev 2. dan nizka – 0 % pri C1 in 3,3 % pri C4. Razlika ni bila statistično pomembna,

kar pomeni, da 50 mM glukoze ne vpliva na % in hitrost kalitve semen pod stresom zaradi slanosti. 5. dan so % kalitve še vedno nizki (69,9 % in 81,6 %), vendar se intervali napak ne prekrivajo in semena v C4 kažejo višji % kalitve. Statistični testi so potrdili pomembno razliko med pogoji, kar kaže, da katera koli koncentracija glukoze lahko pozitivno vpliva na kalitev semen pod stresom zaradi slanosti; vendar so % še vedno precej nižji kot pri nizkih koncentracijah glukoze (Wang et al., 2019). Zato, čeprav visoka koncentracija glukoze sprva zmanjša hitrost kalitve, se njeni negativni učinki sčasoma zmanjšajo, na koncu pa celo rahlo izboljša % kalitve v primerjavi s stresom zaradi slanosti (povečano slanostjo) brez glukoze. Tako **hipoteza 4**, ki navaja, da bodo hitrosti kalitve pri visokih koncentracijah glukoze in povečani slanosti ter samo povečani slanosti ostale podobne, **ni potrjena**.

4.2. Evalvacija metodologije in negotovosti

Čeprav so rezultati tega eksperimenta zelo podobni tistim iz strokovne literature, pa obstajajo nekatere omejitve, ki bi nanje vplivale. V tem eksperimentu je bilo uporabljenih le 12 semen na petrijevko ali 60 semen na pogoj, medtem ko so Hu et al. (2012) uporabili tri ponovitve s 100 pšeničnimi semeni in prišli do podobnih zaključkov. Vzorec bi lahko vplival na rezultate, saj nekatera semena niso vzknila ne glede na pogoj.

5. ZAKLJUČEK

Raziskovalno vprašanje: Kako različne koncentracije (0,0, 0,1, 0,5 in 50 mM) glukoze vplivajo na kalitev pšeničnih semen (*Triticum aestivum*) pod stresom zaradi slanosti (200 mM NaCl) v obdobju 5 dni?

Ugotovitve v tej raziskavi kažejo, da imajo nizke koncentracije glukoze izjemno pozitiven učinek na kalitev semen, izpostavljenih povečani slanosti in s tem stresu zaradi slanosti. Medtem ko je bila kalitev pri visokih koncentracijah glukoze bistveno nižja kot pri nizkih koncentracijah, so bili učinki še vedno pozitivni, saj so bile razlike v primerjavi s pogoji povečane slanosti statistično pomembne. Zato so bile **hipoteze 1, 2 in 3 podprte**, medtem ko **hipoteza 4 ni bila potrjena**. Stres zaradi slanosti je imel sam najbolj negativne učinke na kalitev, medtem ko sta tako nizka kot visoka koncentracija glukoze postopoma prispevali k pozitivnim učinkom, pri čemer je 0,1 mM celo presegla % kalitve semen v kontrolnem pogoj.

Raziskava je tako pokazala, da rastline v stresnih razmerah uporabljajo različne mehanizme, pri čemer imajo sladkorji ključno vlogo pri zaviranju in lažšanju učinkov stresa zaradi slanosti

in prekomerne slanosti. Ti so zmanjšali negativne učinke, hkrati pa spodbudili rast in kalitev. Visoka koncentracija glukoze je sprva povzročila zamudo, vendar je na koncu pokazala, čeprav nezadostne, pozitivne učinke v primerjavi z nizkimi koncentracijami (Sami et al., 2016; Hu et al., 2012). Če se eksogena glukoza doda v nizki koncentraciji, zavira ABA, kar omogoča kalitev tudi v stresnih razmerah (Siddiqui et al., 2019; Gibson, 2005). Prav tako je glukoza povečala vsebnost antioksidantov ter zmanjšala ali preprečila škodo, ki jo povzročajo reaktivne kisikove spojine (ROS) (Hu et al., 2012; Siddiqui et al., 2019).

Kljub temu obstajajo nekatere omejitve, kot je velikost vzorca, saj ta povečuje negotovost zaradi človeške napake, predispozicije za kalitev ter variabilnosti med pogoji (SD-ji). Če bi eksperiment razširili, bi bili rezultati podrobnejši, bolj primerljivi in bi imeli manjšo stopnjo negotovosti ter možnih napak.

Nazadnje bi bilo mogoče ta eksperiment razširiti na več načinov, ne le s povečanjem velikosti vzorca. Na podlagi vprašanj, ki so se pojavila med raziskavo, bi lahko podaljšali obdobje opazovanja, da bi ugotovili, ali so semena, izpostavljena slanemu stresu, sploh kdaj vzkli ter kakšni so dolgoročni učinki glukoze. Nadaljnje raziskave bi lahko zajemale tudi učinke glukoze na druge abiotične strese ali različne vrste rastlin. Tako bi lahko aplicirali pridobljeno znanje in bi sladkorje v obliki škropiv, uporabili na večjih kmetijskih površinah, na področjih, ki so ogrožena in vsebujejo previsoke koncentracije soli.

6. REFERENCE in LITERATURA

- Ahmad, F., Singh, A., Kamal., A.. (2020). Osmoprotective Role of Sugar in Mitigating Abiotic Stress in Plants. Protective Chemical Agents in the Amelioration of Plant Abiotic Stress: Biochemical and Molecular Perspectives.
[0.1002/9781119552154.ch3](https://doi.org/10.1002/9781119552154.ch3)
- Gangola, P. M., Ramadoss, R. B.. (2018). Sugars Play a Critical Role in Abiotic Stress Tolerance in Plants. (Biochemical, Physiological and Molecular Avenues for Combating Abiotic Stress in Plants).
[10.1016/B978-0-12-813066-7.00002-4](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813066-7.00002-4)
- Gibson, S., I.. (2005). Control of plant development and gene expression by sugar signaling. Current Opinion in Plant Biology.
<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2004.11.003>
- Gorni, H., P., Polimeno, W., D.. (2023). Effect of glucose on germination performance in two soybean cultivars. Brazilian Journal of Biosystems Engineering.
<https://doi.org/10.18011/bioeng.2023.v17.1195>

- Hu, M., Shi, Z., Zhang, Z., Zhang, Y., Li, H.. (2012). Effects of exogenous glucose on seed germination and antioxidant capacity in wheat seedlings under salt stress. *Plant Growth Regulation*.
[10.1007/s10725-012-9705-3](https://doi.org/10.1007/s10725-012-9705-3)
- Price, J., Li, T., Kang, G. S., Na Kuk, J., Jang, J.. (2003). Mechanisms of Glucose Signaling during Germination of Arabidopsis. *Plant Physiology*. Volume 123.
<https://doi.org/10.1104/pp.103.020347>
- Sami, F., Yusuf, M., Faizan, M., Hayat, S.. (2016). Role of sugars under abiotic stress. *Plant Physiology et Biochemistry*.
10.1016/j.plaphy.2016.09.005
- Saupe, G., S.. (2009). Germination Rates % Percentages. *Plant Physiology (Biology 327)*.
https://employees.csbsju.edu/ssaupe/biol327/Lab/Seeds/germination_percentage.htm
- Siddiqui, H., Sami, F., Hayat, S.. (2019). Glucose: Sweet or bitter effects in plants-a review on current and future perspective. *Carbohydrate Research*.
<https://doi.org/10.1016/j.carres.2019.107884>
- Wang, L. H., Li, G. L., Wei, S., Li, L. J., Zuo, S. Y., Liu, X., Gu, W. R., Li, J.. (2019). Effects of exogenous glucose and sucrose on photosynthesis in triticale seedlings under salt stress. *Photosynthetica*.
10.32615/ps.2019.030
- Wheat Growth and Development. (2014). *Corn Agronomy* [photograph].
<https://corn.agronomy.wisc.edu/Crops/Wheat/L007.aspx>

7. PRILOGE

7.1. Priloga 1: Neobdelani podatki

Tabela 5: Število vzklitih semen v prvih 3 dneh

pogoj	Število vzklitih semen v prvih 3 dneh (± 1)														
	dan 1					dan 2					dan 3				
	H ₂ O (C5)	0	0	0	0	0	2	2	4	3	3	12	11	8	9
H ₂ O + NaCl (C4)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	7	6	6	7
NaCl + 0.1 Glc (C1)	0	0	0	0	0	2	1	2	3	3	9	7	8	11	12
NaCl + 0.5 Glc (C2)	0	0	0	0	0	1	0	2	1	1	8	8	8	10	11
NaCl + 50 Glc (C3)	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	7	7	7	7	7

Tabela 6: Število vzklitih semen 4. in 5. dan

pogoj	Število vzklitih semen 4. in 5. dan (± 1)									
	dan 4					dan 5				
H ₂ O (C5)	11	12	9	9	9	11	11	10	9	10
H ₂ O + NaCl (C4)	8	7	7	10	8	8	8	8	10	8
NaCl + 0.1 Glc (C1)	11	11	10	11	12	12	11	11	11	12

NaCl + 0.5 Glc (C2)	9	11	10	10	11	11	11	10	11	11
NaCl + 50 Glc (C3)	9	8	10	8	10	10	10	10	9	10

7.2. Priloga 2: izračuni odstotkov kalitve

Tabela 7: izračuni odstotkov kalitve na dan 2

dan 2							
pogoj	odstotek kalitve (%)						
	1	2	3	4	5	povprečje	SD
H2O + NaCl (C1)	0	0	0	0	0	0	0
NaCl + 0.1 Glc (C2)	16.6	8.33	16.6	25	25	18.306	6.981417
NaCl + 0.5 Glc (C3)	8.33	0	16.6	8.33	8.33	8.318	5.869009
NaCl + 50 Glc (C4)	8.33	8.33	0	0	0	3.332	4.562529
H2O (C5)	16.6	16.6	33.3	25	25	23.3	6.992138

Tabela 8: izračuni odstotkov kalitve na dan 3

dan 3							
pogoj	odstotek kalitve (%)						
	1	2	3	4	5	povprečje	SD
H2O + NaCl (C1)	58.3	58.3	50	50	58.3	54.98	4.55
NaCl + 0.1 Glc (C2)	75	58.3	66.6	91.6	100	78.3	17.29
NaCl + 0.5 Glc (C3)	66.6	66.6	66.6	83.3	91.6	74.94	11.79
NaCl + 50 Glc (C4)	58.3	58.3	58.3	58.3	58.3	58.3	0
H2O (C5)	100	91.6	66.6	75	75	81.64	13.7

Tabela 9: izračuni odstotkov kalitve na 4. dan

dan 4							
pogoj	odstotek kalitve(%)						
	1	2	3	4	5	povprečje	SD
H2O + NaCl (C1)	66.6	58.3	58.3	83.3	66.6	66.62	10.21
NaCl + 0.1 Glc (C2)	91.6	91.6	83.3	91.6	100	91.62	5.90
NaCl + 0.5 Glc (C3)	75	91.6	83.3	83.3	91.6	84.96	6.94
NaCl + 50 Glc (C4)	75	66.6	83.3	66.6	83.3	74.96	8.35
H2O (C5)	91.6	100	75	75	75	83.32	11.77

Tabela 10: izračuni odstotkov kalitve na 5. dan

dan 5							
pogoj	odstotek kalitve(%)						
	1	2	3	4	5	povprečje	SD
H2O + NaCl (C1)	66.6	66.6	66.6	83.3	66.6	69.94	7.47
NaCl + 0.1 Glc (C2)	100	91.6	91.6	91.6	100	94.96	4.60

NaCl + 0.5 Glc (C3)	91.6	91.6	83.3	91.6	91.6	89.94	3.71
NaCl + 50 Glc (C4)	83.3	83.3	83.3	75	83.3	81.64	3.71
H2O (C5)	91.6	100	83.3	75	75	84.98	10.86

7.3. Priloga 3: računanje napake

$$\text{Odstotna napaka} = \frac{\text{absolutna napaka}}{\text{meritev}} \times 100$$

1. 0.1 mM: $\frac{0.0003}{0.018} \times 100 = 1.66 \%$

za **1 l**

2. 0.5 mM: **0.090 g** $\frac{0.0003}{0.090} \times 100 = 0.33 \%$

za **1 l**

3. 50 mM: **4.504 g** $\frac{0.0003}{4.504} \times 100 = 0.006 \%$

za **0.5 l**

4. 200 Mm: **5.844 g** $\frac{0.0003}{5.844} \times 100 = 0.005 \%$

za **0.5 l**