

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
FAKULTA AGROBIOLOGIE, POTRAVINOVÝCH A PŘÍRODNÍCH ZDROJŮ

ÚSTAV EKOLÓGIE LESA SLOVENSKEJ AKADEMIE VIED
SLOVENSKÁ SPOLOČNOSŤ PRE POĽNOHOSPODÁRSKE, LESNÍCKE,
POTRAVINÁRSKE A VETERINÁRSKE VEDY PRI SAV V BRATISLAVE

VLIV ABIOTICKÝCH A BIOTICKÝCH STRESORŮ NA VLASTNOSTI ROSTLIN

2019

(SBORNÍK RECENZOVANÝCH VĚDECKÝCH PRACÍ)



INFLUENCE OF ABIOTIC AND BIOTIC STRESSES ON PROPERTIES OF PLANTS

2019

(PROCEEDINGS OF SCIENTIFIC ARTICLES)



ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
ÚSTAV EKOLÓGIE LESA SLOVENSKEJ AKADEMIE VIED
SLOVENSKÁ SPOLOČNOSŤ PRE POĽNOHOSPODÁRSKE, LESNÍCKE,
POTRAVINÁRSKE A VETERINÁRSKE VEDY PRI SAV V BRATISLAVE

Pořadatelé:

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů ČZU v Praze
Ústav ekológie lesa Slovenskej akademie vied

VLIV ABIOTICKÝCH A BIOTICKÝCH STRESORŮ
NA VLASTNOSTI ROSTLIN
2019

(Sborník recenzovaných vědeckých prací)

Tato publikace neprošla jazykovou úpravou

CZECH UNIVERSITY OF LIFE SCIENCE PRAGUE
INSTITUTE OF FOREST ECOLOGY SAS
SLOVAK SOCIETY FOR THE AGRICULTURAL, FORESTRY, FOOD
AND VETERINARY SCIENCE IN SAV IN BRATISLAVA

Organizers:
Faculty of Agrobiological Sciences, Food and Natural Resources
Institute of Forest Ecology SAS

INFLUENCE OF ABIOTIC AND BIOTIC STRESSES
ON PROPERTIES OF PLANTS
2019

(Proceedings of scientific articles)

This publication has not undergone language editing

Redakčně zpracovala:

© Ing. Věra Kožnarová, CSc.

Jazyková korektura: Texty příspěvků neprošly jazykovou úpravou

Foto: Obora Hukvaldy; **autor:** Ing. Lubomír Kovalčík

Odborný garant konference:

František Hnilička (ČZU v Praze)

Margita Kuklová (ÚEL SAV)

Odborný recenzent:

doc. RNDr. Jan Novák, DrSc.

Mgr. Jana Šlégrová

Organizační výbor konference:

doc. Ing. František Hnilička, Ph.D. (ČZU v Praze)

Ing. Helena Hniličková, Ph.D. (ČZU v Praze)

Ing. Ján Kukla, CSc. (ÚEL SAV)

Ing. Margita Kuklová, CSc. (ÚEL SAV)

© Česká zemědělská univerzita v Praze, 2019

ISBN: 978-80-213-2949-2

© Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied, 2019

ISBN: 978-80-89408-35-1



OBSAH

	Úvodní slovo	
Barboričová, M., Brestič, M., Živčák, M., Gašparovič, K., Sytar, O., Kovár, M.	Plasticita fotosyntetických reakcií rastlín čakanky na rôznu kvalitu svetla	1
Bláhová, T., Vítám-vás, P., Kosová, K., Prášil, T. I., Renaut, J.	Kvantitatívny proteomická analýza rôznych tolerantných pšeníc vystavených suchu	5
Boleček, P., Pirše-lová, B., Lengyelová, L.	Hodnotenie rastu repy cukrovej (<i>Beta vulgaris</i> cv. Tatry) v pôdach kontaminovaných iónmi kadmia	8
Candraková, E.	Využitie stimulačných látok pri pestovaní jačmeňa siateho jarného	11
Čížková, H., Nešpor, M.	Rústové a morfológické charakteristiky kořenové soustavy řepky ve vztahu k suchovzdornosti	15
Čunderlík, J., Kizeková, M.	Akumulácia koreňovej biomasy v trávnom poraste	19
Fargašová, A., Molnárová, M., Ružičková, J., Lehotská, B.	Akumulácia ťažkých kovov v pálke širolistej (<i>Typha latifolia</i>), ostrici pobrežnej (<i>Carex riparia</i>), trsti obyčajnej (<i>Phragmites australis</i>) a bahničke močiarnnej (<i>Eleocharis palustris</i>) z lokalít pri vodných nádržiach v Malých Karpatoch	22
Fazekaš, J., Fazekašová, D.	Environmetálny potenciál pôd v imisnom poli hald a odkalísk na území Stredného Spiša (Slovensko)	25
Fiala, P., Reininger, D., Svoboda, T.	Test toxicity ťažkých kovů na sazenice smrku se zaměřením na oblast Jablunkovského průsmyku	28
Golian, M., Chmelár, D., Paulen, O., Trochcová, M.	Možnosti kultivácie huby <i>Pleurotus ostreatus</i> na substráte s prímiesou kompostu z elektronických kompostérov	32
Hájková, L., Kožnarová, V.	Vliv teploty prostředí na tvorbu kořenového systému	36
Hájková, M., Kummerová, M., Zezulka, Š., Babula, P., Svobodová, K., Šmeringai, J.	Rústové a biochemické zmeny kořenů hrachu a kukuřice pod vlivem antropogenního stresu	41
Hnilička, F., Hniličková, H., Kudrna, J., Kraus, K., Kukla, J., Pivková, I., Kuklová, M.	Vliv zasolení na rychlost výměny plynů juvenilních rostlin z čeledi dýňovité	45
Chovanček, E., Živčák, M., Brestič, M., Gašparovič, K., Ferencová, J., Demová, I., Botyanszká, L., Kovár, M., Hauptvogel, P.	Vplyv vysokej teploty na fotosyntetické prejavy rôznych odrôd pšenice	49
Ihradská, V., Perniš, M., Salaj, T., Klubíková, K.	Príprava suspenzných kultúr embryogénnych línií <i>Pinus nigra</i> Arn.	53
Ježík, M., Blaženec, M., Jamnická, G., Štrelcová, K., Fleischer Jr., P., Ditmarová, Ľ.	Odozva sezónnej dynamiky prírastku obvodov kmeňov buka a smreka na variabilitu počasia vo vysokohorskom prírodnom lese počas rokov 2017–2018 na základe proxy dát extrahovaných z dendrometrov	57
Klimenko, O., Perniš, M., Danchenko, M., Škultéty, Ľ., Shevchenko, G., Klubíková, K.	Vplyv kadmia na rôzne ekotypy klíčnych rastlín <i>Arabidopsis thaliana</i>	61
Klimešová, J., Středová, H., Stehnová, E., Středa, T.	Aktuální poznatky z výzkumu kořenového systému polních plodin	65

Kosová, K., Chrpová, J. Šantrůček, J., Vítámvás, P., Hynek, R., Prášil, I. T.	Vliv inokulace <i>Fusarium culmorum</i> a aplikace mykotoxinu deoxynivalenolu na vyvíjející se klasy pšenice odrůdy Sumai 3 a Sw Kadrilj s kontrastní odolností vůči klasovým fusariosám	69
Krivosudská, E.	Vplyv postupnej dehydratácie na obsah asimilačných pigmentov v rastlinách sóje s aplikáciou inokulantov	73
Kučerová, D., Labancová, E., Vivodová, Z., Lišková, D., Kollárová, K.	Vzťah medzi rastom, koncentráciou fotosyntetických pigmentov a minerálnych prvkov v bunkách kalusu topoľa v prítomnosti antimónu a kremíka	77
Kudrna, J. Hnilička, F., Kubeš, J., Hniličková, H., Kraus, K.	Vliv rozdílné koncentrace paracetamolu ba vodní režim juvenilních rostlin salátu	81
Kuklová, M., Pivková, I., Hnilička, F., Hniličková, H., Kukla, J.	Obsah arzenu v pôdach a rastlinách ovplyvnených emisiami z rychlostnej cesty R4 Košice - Milhost'	85
Labancová, E., Vojteková, K., Kučerová, D., Vivodová, Z., Lišková, D., Kollárová, K.	Vplyv galaktoglukomanánových oligosacharidov na distribúciu a akumuláciu oxidu dusnatého a peroxidu vodíka v koreňoch rastlín vystavených kadmii	88
Lang, J., Nedělník, J.	Vliv složení fermentátů na klíčivost pšenice seté	92
Langhansová, L., Stuchlíková – Raisová, L., Nováková, A., Mot'ková, K., Podlipná, R., Skálová, L.	Veterinární anthelminika v rostlinách	96
Lošák, M., Raab, S., Vymyslický, T., Frydrych, J., Ševčíková, M., Chovančíková, E.	Vliv obalování semen technologií WASP na počáteční vývoj jílku vytrvalého (<i>Lolium perenne</i> L.)	101
Martincová, J., Ondrášek, L., Čunderlík, J., Jančová, E.	Emisie amoniaku na košarovaných trávnych porastoch vo vzťahu k minerálnym formám v pôde	104
Martincová, J., Vargová, V., Kováčiková, Z., Jančová, E., Čunderlík, J., Pollák, Š.	Charakteristika agrochemických vlastností pôdy horských lúk Stredného Slovenska	108
Mészáros, P., Roszival, M., Imlingová, N.	Vplyv kadmia na aktivitu B-1,3-glukanáz v koreňoch sóje	112
Molnárová, M., Ružičková, J., Lehotská, B., Fargašová, A.	Ťažké kovy v balote čiernej (<i>Ballota nigra</i>), múrovniku lekárskom (<i>Parietaria officinalis</i>) a čiernohlávku obyčajnom (<i>Prunella vulgaris</i>) na lokalitách bývalých baní v Malých Karpatoch	116
Pauková, Ž.	Charakteristiky prieduchov listov rôznych odrôd <i>Vitis vinifera</i> pestovaných na juhozápadnom Slovensku	120
Piršelová, B., Lengyelová, L., Galuščáková, E.	Hodnotenie hormetického účinku arzenu na rast a obsah fotosyntetických pigmentov kukurice siatej (<i>Zea mays</i> cv. Mv NK 333)	124
Podlipná, R., Maršík, P.	Příjem a metabolismus metazachloru in vitro regeneranty topolu černého	128
Polláková, N. Šimanský, V., Chlpík, J., Kolenčík, M.	Charakteristika fyzikálnych vlastností pôd pod vybranými cudzokrajnými drevinami v Arboréte Mlyňany, Slovensko	131
Ražná, K., Vargaová, A., Kyseľ, M., Žiarovská, J., Štefúnová, V.	Aplikácia stres-senzitívnych markérov mikroRNA pre selekciu pšenice letnej (<i>Triticum aestivum</i> L.) na suchovzdornosť	136
Salaj, T., Panis, B., Swennen, R., Ihradská, V., Klubíková, K., Salaj, J.	Preliminary results on cryopreservation of <i>Abies alba</i> Mill. embryogenetic tissue	140
Svoboda, P., Haberle, J.	Růst kořenů ozimé pšenice v odlišných dlouhodobých režimech hnojení	144
Šerá, B.	Parametry počátečního růstu semen se zvláštním zřetelem k podzemním orgánům	147
Šiman, E.	Vliv stínu na denní průběh teploty listů	152

Štefančík, I.	Vplyv abiotických, biotických a antropogénnych faktorov na lesné porasty a ich hodnotovú produkciu	155
Takáčová, A., Ružičková, J., Lehotská, B., Semerád, M., Danč, L.	Pistia stratiotes jako dôkaz znečistenia vodných plôch	160
Tomaškin, J., Tomaškinová, J.	Koncentrácia potenciálne toxických prvkov v trávnych ekosystemoch stredného Slovenska	164
Tóthová, S., Pavlen-da, P., Sitková, Z., Krupová, D.	Dlhodobé hodnotenie vplyvu abiotických faktorov na lesné ekosystémy Slovenska	168
Vozár, L., Kovár, P., Hric, P.	Reakcia koreňového systému <i>Bromus marginatus</i> Nees ex Steud. a <i>Phleum pratense</i> L. na vodný stres	172
Zemanová, V., Pavlíková, D., Pavlík, M., Česká, J., Zámečníková, H.	Složení aminokyselin v kořenech <i>Pteris creatica</i> při stresu arsenem	175



ÚVODNÍ SLOVO

Rok s rokem se opět sešel a před námi je opět dvoudenní setkání, během něhož budeme řešit snad jenom stresy u rostlin a nikoliv u jednotlivých účastníků. Díky Vám všem se již po devatenácté scházíme v prostorách ČZU v Praze. Váš zájem o tuto konferenci svědčí o tom, že se stále jedná o velmi aktuální problematiku, která zasahuje téměř do všech biologických vědních disciplín. I přestože letošním nosným tématem je poněkud opomíjený kořenový systém, je v rámci přednášek a posterů pozornost zaměřena na rostlinu jako celek a není opomenuta ani otázka genetických, biochemických základů stresové fyziologie.

V rámci letošního ročníku zazní mnoho přednášek a plakátových sdělení, které zahrnují nejenom již klasické stresory, kterými bezesporu je vodní deficit, rizikové látky v prostředí, ale také biotické faktory, jakými je výskyt patogenních organismů, ale také antropogenní působení. Velmi oceňujeme také prezentaci příspěvků, které zahrnují popis nových metodických postupů či jejich srovnání s již „klasickými“ metodami. Nezastupitelnou roli v rámci konference je také ekologický pohled na stresovou problematiku, zahrnující otázku invazních druhů rostlin či živočichů v podmínkách Střední Evropy, změnu biodiverzitu a studium vztahu přizpůsobivosti organismů ke změnám klimatu v rámci našeho zeměpisného umístění.

Změna biodiverzity nezasahuje pouze do přirozených ekosystémů, ale také do uměle vytvořených agro-lesnických ekosystémů, kdy se do popředí zájmu dostává problematika výběru vhodných genotypů polních plodin, lesních a ovocných dřevin, které by vykazovaly možnou odolnost vůči nepříznivým vlivům vnějšího prostředí, tedy především nedostatku/nadbytku vody a teploty. Tyto změny vedou také k tomu, že se objevují na našich polích či zahradách netradiční plodiny nebo plodiny a jejich odrůdy, které se zde již v minulosti pěstovaly, ale byly postupně vytlačeny plodinami více výnosnými, jež často hůře snášejí nepříznivé působení environmentálních faktorů.

Jak jsme již několik let uváděli, snažíme se neustále vzhled našeho sborníku a jeho kvalitu zvyšovat. Jistě jste zaznamenali, že v letošním roce je sborník graficky zcela odlišný od předchozích sborníků. Za tuto, doufáme, že příjemnou změnu chceme poděkovat Ing. Věře Kožnarové, CSc., která se nelehké úlohy editorky sborníku ujala. Byli bychom rádi, za případné připomínky a poznámky týkající se designu sborníku.

At' i v letošním roce není konference stresující, ale plná přátelských setkání a výměny zkušeností.

Organizační výbor konference



PLASTICITA FOTOSYNTETICKÝCH REAKCIÍ RASTLÍN ČAKANKY NA RÔZNU KVALITU SVETLA

PLASTICITY OF THE PHOTOSYNTHETIC REACTIONS OF CHICORY PLANTS FOR DIFFERENT LIGHT QUALITY

MÁRIA BARBORIČOVÁ, MARIÁN BRESTIČ, MAREK ŽIVČÁK, KRISTÍNA GAŠPAROVIČ,
OKSANA SYTAR, MAREK KOVÁR

SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA, FAPZ, KATEDRA FYZIOLOGIE RASTLÍN, TRIEDA A. HLINKU 2,
949 76 NITRA, SLOVENSKÁ REPUBLIKA, BARBORICOVAMARIA332@GMAIL.COM

SUMMARY

Light quality is considered one of the most important environmental factors for plant photomorphogenesis, but also for photosynthesis and plant growth. Chicory (*Cichorium intybus* L.) is one of the most sensitive species of *Compositae* family. Leaves and heads of chicory have been used as a vegetable and roots are used to make chicory coffee, which is the most used coffee substitute for similar characteristics to the original Arabica coffee. Photosynthetic pigments, chlorophyll fluorescence parameters, plant growth and photoreceptor gene expression were evaluated to investigate the effects of light quality. The aim of this work was to evaluate the influence of different light quality (white, red, blue, orange and green light) on the ongoing plant physiological processes and photosynthesis. Our results confirm that non-invasive methods can be used to phenotype the effect of varying light intensity and quality.

Key words: light quality; chicory; fluorescence parameters; non-destructive methods

SÚHRN

Kvalita svetla je považovaná za jeden z najdôležitejších faktorov vo fotomorfogenéze, ale aj vo fotosyntéze a raste rastlín. Čakanka (*Cichorium intybus* L.) je na svetlo citlivý druh a jedným z mnohých druhov čeľade *Compositae*. Listy a hlávky čakanky sa používajú, ako zelenina a koreň sa používa na výrobu kávy z čakanky, ktorá je najpoužívanejšou náhradou kávy kvôli podobným vlastnostiam s pôvodnou kávou Arabica. Pri skúmaní účinkov kvality svetla sa hodnotili fotosyntetické pigmenty, fluorescenčné parametre chlorofylu, rast rastlín a expresia génov fotoreceptorov. Cieľom tejto práce bolo zhodnotiť vplyv rôznej kvality svetla (bieleho, červeného, modrého, oranžového a zeleného svetla) na prebiehajúce fyziologické procesy rastlín a fotosyntézu. Využitím nedeštruktívnych metód sme merali fotosyntetické reakcie rastlín. Naše výsledky potvrdzujú, že neinvazívne metódy môžu byť použité na fenotypovanie vplyvu rôznej intenzity a kvality svetla.

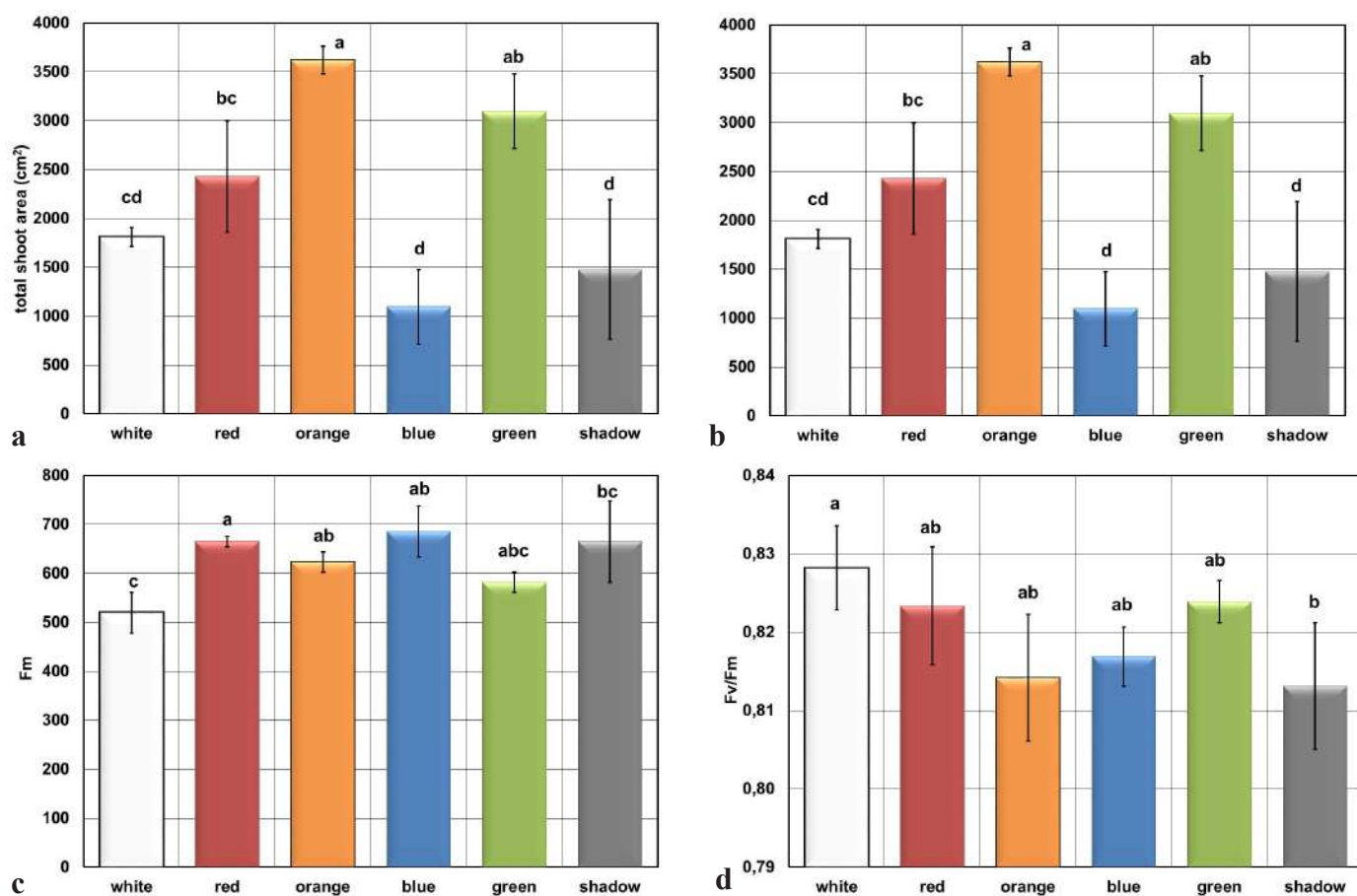
Kľúčové slová: kvalita svetla; čakanka; fluorescenčné parametre; nedeštruktívne metódy

Úvod

Svetlo je primárnym zdrojom energie vo fotomorfogenéze, fotosyntéze a raste rastlín. Nielen množstvo energie, ale aj kvalita svetla významne ovplyvňujú rastové procesy, štruktúru fotosyntetického aparátu, a tým aj produkciu a kvalitu rastlín. Svetlom sa spúšťa taktiež široká škála signálov a informácií pre morfogenezu a mnohé ďalšie fyziologické procesy, a teda rôzne charakteristiky svetla, ako je spektrálne zloženie (vlnové dĺžky), intenzita, trvanie a smer, môžu ovplyvniť rast a vývoj rastlín. Proces fotosyntézy je tiež citlivý na všetky aspekty prostredia. Kvalita svetla je považovaná za jeden z najdôležitejších faktorov a je kritickým faktorom regulujúcim fotosyntetickú kapacitu, ktorá priamo ovplyvňuje konečnú produkciu rastlín. Odpovede na rôznu kvalitu svetla sú však často druhovo špecifické /1, 2, 3/. Červené svetlo sa zvyčajne považuje za základné pre reguláciu rastu rastlín a fotosyntézy. Modré svetlo má pozitívny vplyv na morfológiu rastlín aktiváciou kryptochromového systému a tiež zodpovedá aj za absorpčné vlastnosti chlorofylov a karotenoidov. Sieť viacerých fotoreceptorov, vrátane fytochrómov (Phys) a kryptochrómov (CRY), reguluje odlišné fotomorfogenetické reakcie rastlín na kvalitu svetla /4, 5, 6/. Samotný fotosyntetický aparát je adaptovaný na rôzne prostredie a špecificky reaguje na svetelné podmienky. Zmyslom tejto práce je poukázať na zásadné rozdiely vo vlastnostiach fotosyntetického aparátu, vytvoreného za roznych podmienok. Poznatky o vplyve svetla na rastliny sú využiteľné v pestovateľských technológiách, pri pestovaní alebo dosvetľovaní rastlín.

MATERIÁL A METÓDY

Ako modelová rastlina bola použitá čakanka (*Cichorium intybus* L.) s predpokladanou vysokou toleranciou k zatieneniu. Semená rastliny *Cichorium* boli zasiate do plastových kvetináčov a klíčili za štandardných laboratórnych podmienok (asi 21 °C, 12hodinová fotoperiód, biele svetlo, 40 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Po klíčení boli rastliny čakanky dopestované v rastovej komore, klimabox (model 4 MC1750, Snijders Scientific, Tilburg, Holandsko) a pestovali sa pri fotoperiód 14/10 hodín (deň/noc), teplote 21/18 °C, 60 °C. Počas prvého obdobia (predšetrenia) sa rastliny rozdelili do piatich skupín, ktoré boli kultivované za rôznych svetelných podmienok. Kontrola sa kultivovala pri vysokej intenzite svetla v rastovej komore (biele svetlo, 320 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Variant s nízkou intenzitou svetla sa kultivoval v analogických podmienkach v homogénne rozptýlenom svetle, poskytovanom nižším počtom skúmaviek (biele svetlo, 40 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Ďalšie tri skupiny rastlín boli okrem toho vystavené pôsobeniu farebného svetelného prostredia, ktoré bolo dosiahnuté tienením z plného bieleho svetla poskytnutého žiarivkami s použitím rôznych farebných filtrov (červená, oranžová - 40 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$; modrá - 25 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Všetky varianty sa pestovali v rovnakej rastovej komore s rovnakou fotoperiódou (14/10 h deň/noc), teplotou (21 °C/18 °C deň/noc), vlhkosťou vzduchu (~ 60 %) a koncentráciou CO₂ v okolí prostredia. Miešanie vzduchu postačovalo na to, aby sa teplota a vlhkosť udržali homogénne rozdelené v rastovej komore. Počas tohto obdobia sa uskutočnili neinvazívne merania a v tridsiatom dni sa uskutočnil prvý odber vzoriek s použitím 6 rastlín z každého ošetrenia. Jedna nádoba (rastlina) predstavovala jednu replikáciu. V čase odberu vzoriek boli rastliny plne vyvinuté, obsahujúce 5–6 listov. V druhom stupni (plne expandované, pravé listy) sa rastliny transplantovali do 0,5 l kvetináčov a udržiavali sa za rovnakých podmienok, po dobu 7 dní na regeneráciu. Rastliny sa preniesli do jednej z piatich experimentálnych podmienok prostredia, ktoré slúžilo na rozlíšenie účinkov svetla, ktoré sa líšilo farebnými odtieňmi. Rastliny sa pestovali 30 dní v piatich rôznych svetelných podmienkach: vysoká intenzita svetla, nízka intenzita svetla, oranžové svetlo, červené svetlo a modré svetlo. V každom svetlom stave sme kultivovali 16 nádob (rastlín).



Graf 1: a - analýza RGB zobrazovania rastlín čakanky pestovaných pri odlišnej kvalite svetla. Celková plocha výhonku rastliny čakanky (cm²)

Stĺpec predstavuje priemer $\pm$ SD ($n = 3$). LSD post-hoc test ($\alpha = 0,05$); b - minimálna intenzita fluorescencie (F_o); c - maximálna intenzita fluorescencie (F_m); d - maximálna fotochemická účinnosť PSII v tme.

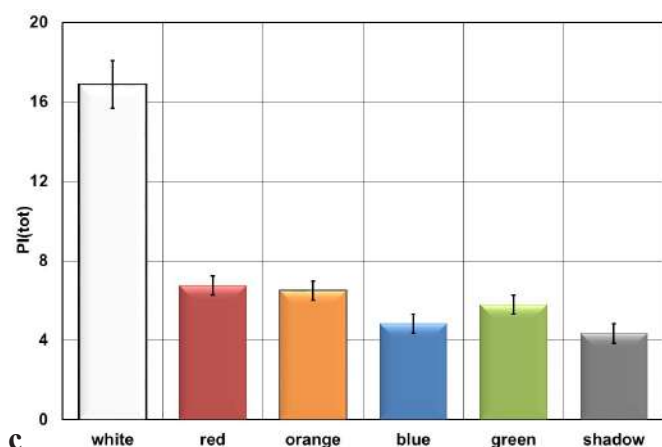
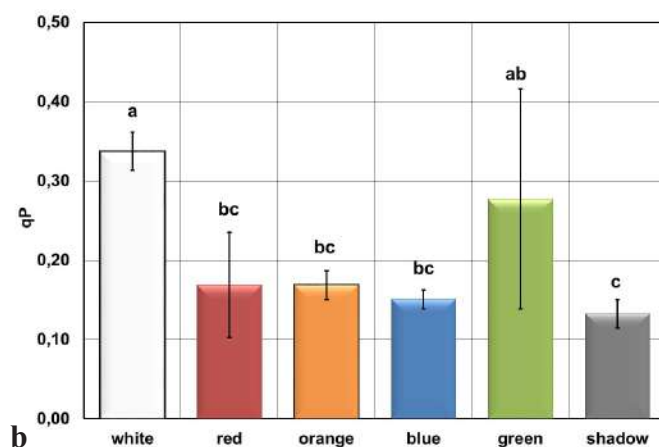
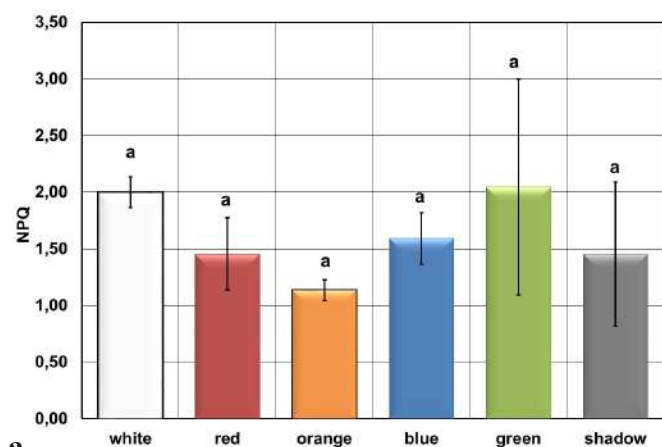
Meranie fluorescenčných parametrov

Pre meranie parametrov fluorescence chlorofylu a (F_o , F_m , F_v/F_m , PI , NPQ , Rfd), bola použitá rýchla kinetika fluorescence chlorofylu (Handy Pea, Hansatech Instruments, Norfolk, England) a analýza tzv. OJIP testu /7/. Následné boli použité aj ďalšie optické zobrazovacie metódy, ako: fluorescenčné zobrazovania a RGB zobrazovanie. RGB (Red-Green-Blue) zobrazovanie je založené na skenovaní alebo snímaní viacrozmerným zobrazovaním, analýze a vyhodnocovaní obrazov celých rastlín. Počítačovým spracovaním RGB imaging parametrov dostaneme obraz, napr. o listovej ploche, kompaktnosti, listovom priemere, kruhovosti, indexu priemernej listovej šírky, uhly listov a iné /8,9/.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Namerané hodnoty sledovaných fyziologických parametrov čakanky, ktoré boli vystavené monochromatickému svetlu rôznej kvality, sú uvedené v grafoch 1 a 2.

Z uvedených grafov vyplýva, že kvalita svetla výrazne ovplyvňuje fotochemické reakcie v dôsledku zatieneia rôznou intenzitou svetla. Oranžové a zelené svetlo vyvolalo významnú stimuláciu predĺženia výhonku čakanky. Efektívnosť využitia PSII je považovaná za jeden z najfrekvencovanejších parametrov, ktoré odhaľujú fyziologický stav rastlín. Na základe toho môžeme konštatovať, že biele svetlo je najúčinnšie pre syntézu chlorofylu a. Avšak NPQ je považované za jeden z najvhodnejších indikátorov na vizualizáciu dissipácie termickej energie svetla /10/.



Graf 2: a - analýza fluorescenčného zobrazovania rastlín čakanky pestovaných pri odlišnej kvalite svetla. Nefotochemické uhasínanie v rovnovážnom stave (NPQ); b - koeficient fotochemického kalenia v rovnovážnom stave (qP); c - namerané hodnoty celkovej výkonnosti fotosystému II ($PI(tot)$) rastlín čakanky pestovaných pri rôznej kvalite svetla. Hodnoty boli merané prenosným fluorometrom Handy Pea.

ZÁVER

Táto štúdia môže pomôcť nielen odhaliť mechanizmy odozvy fotosyntézy rastlín na kvalitu svetla, ale aj poskytnúť teoretický základ na zlepšenie pestovania plodín. Základný molekulárny mechanizmus zmien štruktúrnych a funkčných vlastností zostáva neznámy, ale ukazuje sa potreba ďalších experimentov v umeľých kultivačných priestoroch, ako aj v poľných podmienkach, kde sa využíva pridanie vhodných plastických filmov alebo LED diódy so špecifickými spektrálnymi charakteristikami.

LITERATÚRA

- /1/ Ilić, Z. S., Fallik, E. Light quality manipulation improves vegetable quality at harvest and postharvest: a review. *Environ. Exp. Bot.*, 139, 2017: 79-90.
- /2/ Macedo, A. F., Leal-Costa, M. V., Tavares, E. S., Luiz, C., Lage, S., Esquibel, M. A. The effect of light quality on leaf production and development of *in vitro*-cultured plants of *Alternanthera brasiliana* Kuntze. *Environ. Exp. Bot.*, 70, 2011: 43-50.
- /3/ Li, N., Yang, Y., Ye, J., Lu, J., Zheng, X., Liang, Y. Effects of sunlight on gene expression and chemical composition of light-sensitive albino tea plant. *Plant Growth Regul.*, 78, 2016: 253-262
- /4/ Olle, M., Viršilė, A. The effects of light-emitting diode lighting on greenhouse plant growth and quality. *Agri. Food Sci.*, 22, 2013: 223-234.
- /5/ Ouyang, X., Li, J., Li, G., Li, B. et al. Genome-wide binding site analysis of FAR-RED ELONGATED HYPOCOTYL3 reveals its novel function in Arabidopsis development. *Plant Cell.*, 23, 2011: 2514-2535.
- /6/ Tang, W.J., Wang, W., Chen, D., Ji, Q., Jing, Y., Wang, H., Lin, R. Transposase-derived proteins FHY3/FAR1 interact with phytochrome-interacting factor1 to regulate chlorophyll biosynthesis by modulating HEMB1 during deetiolation in Arabidopsis. *Plant Cell*, 24, 2012: 1984-2000.
- /7/ Strasser, R. J., Srivastava, A., Tsimilli-Michael, M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In *Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation*. London, Taylor and Francis, 2000: 194. ISSN 9780748408214.
- /8/ Nedbal, L., Whitmarsh, J. Chlorophyll fluorescence imaging of leaves and fruits. In: *Chlorophyll a Fluorescence*, 19, 2004: 389-407. ISSN 1572-023.
- /9/ Golzarian, M. R., Frick, R. A., Rajendran, K., Berger, B., Roy, S., Tester, M., Lun, D. Accurate inference of shoot biomass from high-throughput images of cereal plants. In *Plant methods*. 7 (1), 2011: 1. ISSN 1746-4811.
- /10/ Kumar, K. S., Dahms, H. U., Lee, J. S., Kim, H. C., Lee, W. C., Shin, K. H. Algal photosynthetic responses to toxic metals and herbicides assessed by chlorophyll a fluorescence. *Ecotoxicol. Environ. SAF.*, 104, 2014: 51-71.

POĎAKOVANIE

Práca vznikla za finančnej podpory projektov VEGA-1-0831-17 a APVV-15-0721.



KVANTITATIVNÍ PROTEOMICKÁ ANALÝZA RŮZNĚ TOLERANTNÍCH PŠENIC VYSTAVENÝCH SUCHU

QUANTITATIVE PROTEOMIC ANALYSIS OF DIFFERENTLY TOLERANT WHEAT VARIETIES UNDER DROUGHT CONDITIONS

TEREZA BLÁHOVÁ^{1,2}, PAVEL VÍTÁMVÁS¹, KLÁRA KOSOVÁ¹, TOM ILJA PRÁŠIL¹, JENNY RENAUT³

¹VÝZKUMNÝ ÚSTAV ROSTLINNÉ VÝROBY, V.V.I., LABORATOŘ BIOLOGIE STRESU A BIOTECHNOLOGIE VE ŠLECHTĚNÍ, DRNOVSKÁ 507, 161 06 PRAHA 6 – RUŽYŇ, ČESKÁ REPUBLIKA; BLAHOVAB@VSCHT.CZ

²VYSOKÁ ŠKOLA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ, LABORATOŘ APLIKOVANÉ PROTEOMIKY, ÚSTAV BIOCHEMIE A MIKROBIOLOGIE, TECHNICKÁ 3, 166 28 PRAHA 6 – DEJVICE, ČESKÁ REPUBLIKA

³ENVIRONMENTAL RESEARCH AND TECHNOLOGY PLATFORM, LUXEMBOURG INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, 5, AVENUE DES HAUTS-FOURNEAUX, L-4362 ESCH-SUR-ALZETTE, LUXEMBOURG

SUMMARY

Abiotic stress, especially drought, is one of the most crop influencing factors in the world. For deeper clarification of mechanism of plant response to drought, quantitative analysis of wheat proteome under drought condition was performed. Particularly, comparative analysis of two wheat varieties with different tolerance (sensitive Tobak, tolerant Baletka) was focused on observation of changes in total proteome of crowns and leaves. Using two-dimensional differential gel electrophoresis (2D-DIGE) approach followed by identification of protein spots revealing qualitative and quantitative differences between stressed and control plant, or only between varieties, was verified that the wheat tolerance is positively influenced not only by increased or faster biosynthesis of protective proteins (like dehydrins), but mainly by complex regulation of increased biosynthesis of specific proteins of plant metabolism.

Key words: 2D-DIGE; comparative proteome analysis; wheat; drought; protective proteins

SOUHRN

Abiotický stres, zejména sucho je jeden z nejvýznamnějších faktorů ovlivňujících výnos a kvalitu obilovin. Pro důkladné pochopení mechanismu reakce rostlin na sucho byla provedena kvantitativní studie proteomu pšenice po vystavení suchu, konkrétně komparativní analýza dvou různě tolerantních odrůd pšenice ozimé (senzitivní Tobak, tolerantní Baletka), která byla zaměřena na totální proteom odnožovacích uzlů a listů. Pomocí dvourozměrné diferenční gelové elektroforézy (2D-DIGE) a následné identifikaci proteinových spotů vykazujících kvalitativní a kvantitativní rozdíly mezi stresovanými a kontrolními rostlinami, či stresovanými odrůdami navzájem, bylo dokázáno, že toleranci pšenice pozitivně ovlivňuje nejen zvýšená, popř. rychlejší syntéza ochranných proteinů (např. dehydrinů), ale zejména celková regulace rostlinné odpovědi pomocí zvýšené syntézy specifických proteinů rostlinného metabolismu.

Klíčová slova: 2D-DIGE; komparativní analýza proteomu; pšenice; sucho; ochranné proteiny

Úvod

V České republice je sucho stále aktuálnějším problémem, přičemž detailní mechanismus tolerance rostlin k suchu není zatím znám. Podobně jako u stresu chladem či vysokou salinitou, i zde je hlavním stresem stres dehydratace. Lze tedy očekávat změny nejen v metabolismu osmoprotektantů, heat shock proteinů či antioxidantů, ale i suchem indukované specifické proteiny /1/. Late Embryogenesis Abundant proteiny (LEA) tvoří největší skupinu ochranných proteinů, které jsou indukovány dehydratací, přičemž jejich funkce není zatím plně vysvětlena. LEA proteiny jsou bohatě hydratovány, předpokládá se tedy, že vytváří v buňce ochranné vodní prostředí, působí jako chaperony a mohou mít vliv i na stabilizaci membrán /2, 3/. Většina dosud publikovaných komparativních analýz je soustředěna buď pouze na listy /4, 5/, popř. není studován totální proteom, ale pouze pár vybraných proteinů pomocí imunoblotu /6/ nebo byly nalezeny změny pouze v proteinech souvisejících s nespecifickou obranou proti abiotickému stresu /7, 8/. Tato studie má proto za cíl porovnat změny totálního proteomu tolerantní a senzitivní odrůdy pšenice (odrůda Baletka, resp. Tobak) po vystavení suchu a přinést tak detailnější náhled na problematiku tolerance rostlin k suchu právě sledováním dynamiky totálního proteomu v průběhu sucha u senzitivní a tolerantní odrůdy pšenice ve dvou orgánech - v listech a v odnožovacích uzlech.

MATERIÁL A METODY

Rostliny pšenice ozimé (*Triticum aestivum*) odrůd Baletka a Tobak byly pěstovány v klimaboxu při 19 °C a 70 % půdní vodní kapacity (PVK). Od fáze plně vyvinutého druhého listu stresované rostliny vysychaly 7 dní na 30 % PVK (odběr 1), kde byly udržovány 10 dnů (odběr 2) s následnou rehydratací na 70 % PVK (odběr 3–12 hodin po zalití) po další 3 dny (odběr 4). Kontrolní rostliny byly udržovány na 70 % PVK po celou dobu experimentu.

Vzorky pro analýzu totálního proteomu byly extrahovány pomocí směsi kyselina trichloroctová/acetone/fenol /9/ a pro následující analýzy byla použita 2 biologická a 2 technická opakování. Extrakty byly obarveny fluorescentními barvivou CyDye podle pokynů výrobce (GE Healthcare) a isoelektrická fokusace (IEF) byla provedena za použití IPG stripů (24 cm, pI = 3–10, GE Healthcare) s max. napětím 10 000 V, 75 000 Vh; následována SDS-PAGE (2D HPETM Large Gel NF 12,5 %, SERVA).

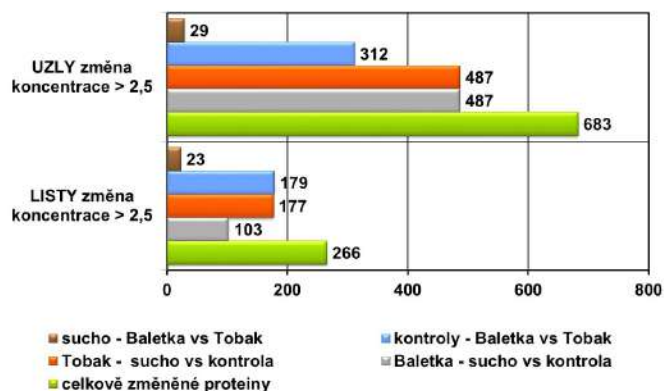
Výsledné gely byly analyzovány v softwaru Samespot (TotalLab Ltd) a vybrané proteinové spoty byly identifikovány pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI TOF (SciexTOF/TOFTM 5800, SCIEX) a serveru MASCOT (NCBI-*Triticeae* nebo JGI-*Triticum aestivum* databáze) a na základě homologních sekvencí pomocí programu BLAST.

VÝSLEDKY A DISKUSE

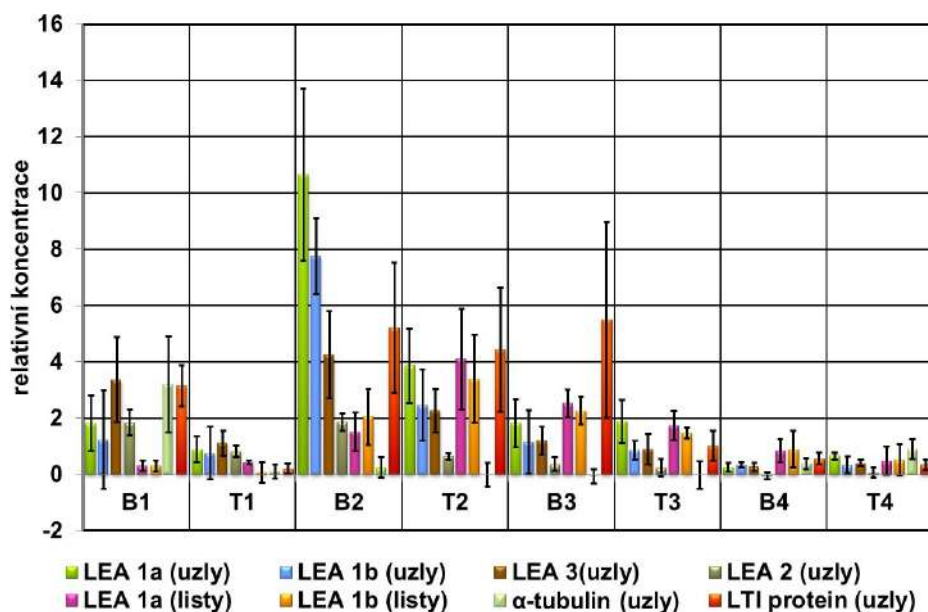
Pomocí 2D-DIGE bylo nalezeno u odnožovacích uzlů 29, u listů 23 proteinových spotů, které byly signifikantně změněny ($p < 0,01$) mezi odrůdami v průběhu sucha s více než 2,5 násobnou změnou v koncentraci proteinu (graf 1). Při porovnání změn proteinového spektra uzlů a listů lze pozorovat, že uzly vykazují cca 2krát více změněných spotů. U listů je patrná menší dynamika koncentrace proteinů, je ovšem otázka, do jaké míry je to ovlivněno kontaminací mnoha spotů proteinem RUBISCO, neboť tento nejabundantnější protein se nepovedlo spolehlivě odseparovat ani pomocí IEF či SDS-PAGE.

Zaměřením pouze na protektivní proteiny ze skupiny LEA byly v uzlech buď přímo nebo za použití homologního sekvenování identifikovány proteiny LEA 3, (ALD18912.1), dvě isoformy proteinu LEA 1 (Q8GV49)

a LEA 2 protein, zvaný dehydrin (Q6IVU6). V listech byly nalezeny pouze dvě isoformy LEA 1, které odpovídají stejným isoformám, jež byly nalezeny v uzlech (graf 2). Při pohledu na dynamiku těchto proteinů v průběhu sucha lze v uzlech u tolerantní odrůdy (Baletka) pozorovat rychlejší, resp. i zvýšenou syntézu LEA proteinů okamžitě po začátku sucha, na rozdíl od odrůdy Tobak (senzitivní), jež netvoří tyto proteiny v takové míře, popř. reaguje pomaleji. Opačný jev byl pozorován u LEA 1 proteinů nalezených v listech. Zatímco v uzlech byl nejvyšší nárůst protektivních proteinů pozorován



Graf 1: Počet signifikantně změněných proteinů při suchých podmínkách



Graf 2: Dynamika vybraných proteinů v průběhu sucha (B: Baletka; T: Tobak; 1-4: číslo odběru stresovaných rostlin)

u Baletky, v listech se tyto proteiny nacházely až ve 2 násobně větší koncentraci u Tobaku. Po rehydrataci na 70 % PVK (odběr 3) byla v listech Baletky pozorována nezměněná hladina LEA proteinů, kdežto v uzlech obou odrůd a listech Tobaku došlo k poklesu jejich koncentračních hladin (graf 2). Je tedy možné, že Baletka, jakožto tolerantní odrůda preferuje ochranu uzlů, a i po nárazovém zalití udržuje v listech LEA proteiny na potřebné koncentrační úrovni.

ZÁVĚR

Při přímém porovnání změřených proteinů mezi stresovanými rostlinami byly hlavní rozdíly zejména v rychlosti biosyntézy LEA proteinů za působení sucha, kdy tolerantní odrůda Baletka tyto proteiny syntetizovala rychleji a ve větší míře. Při porovnání koncentrace LEA proteinů v listech a uzlech u obou odrůd je patrné, že Baletka soustředí protektivní proteiny spíše do uzlů, a po zalití nedochází v listech k jejich degradaci na rozdíl od Tobaku, u kterého hladina LEA proteinů po zalití klesá v obou orgánech.

Markantnější rozdíly mezi stresovanými odrůdami byly ovšem pozorovány u proteinů obecného metabolismu – nejvýraznější změnou byla již od začátku sucha zvýšená hladina α tubulinu (AAD10486.1) a low-temperature-induced proteinu (LTI protein, XP_020162308.1) při počátku sucha, jejichž hladina byla u Baletky oproti Tobaku až 10 ti násobně zvýšená. Tyto změny mohou signalizovat celkové uzpůsobení metabolismu Baletky na sucho, jež zahrnuje např. reorganizaci buněčných struktur, přítomnost citlivějších markerů sucha či již výše zmíněnou větší ochranu uzlů, jakžto regenerativního orgánu. Tobak oproti tomu nemá orgánově specifickou reakci na stres, a distribuuje protektivní proteiny po celé rostlině rovnoměrně.

LITERATURA

- /1/ Kosová, K., Vítámvás, P., Prášil, T. I., Renaut, J.: Plant proteome changes under abiotic stress - Contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. *Journal of Proteomics*, 2011, 74, 1301-1322.
- /2/ Wise, M. J., Tunnacliffe, A.: POPP the question: what do LEA proteins do?. *TRENDS in Plant Science*, 2004, 9, 13-17.
- /3/ Hara, M.: The multifunctionality of dehydrins: An overview. *Plant Signaling and Behavior*, 2010, 5, 503-508.
- /4/ Cheng, L., Wang, Y., He, Q., Li, H., Zhang, X., Zhanga, F.: Comparative proteomics illustrates the complexity of drought resistance mechanisms in two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under dehydration and rehydration. *BMC Plant Biology*, 2016, 16:188.
- /5/ Wang, N., Zhao, J., Sun, H., Zhang, G., Wu, F.: Comparative proteomic analysis of drought tolerance in the two contrasting Tibetan wild genotypes and cultivated genotype. *BMC Genomics*, 2015, 16:432.
- /6/ Demirevska, K., Simova-Stoilova, L., Vassileva, V., Vaseva, I., Grigorova, B., Feller, U.: Drought induced leaf protein alterations in sensitive and tolerant wheat varieties. *Gen. Appl. Plant Physiology*, 2008, 34 (1-2), 79-102.
- /7/ Ford, K. L., Cassin, A. & Bacic, A.: Quantitative proteomic analysis of wheat cultivars with differing drought stress tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 2011, 2:44.
- /8/ Chmielewska, K., Rodziewicz, P., Swarczewicz, B., Sawikowska, A., Krajewski, P., Marczak, L., Ciesiolka, D., Kuczynska, A., Mikolajczak, K., Ogradowicz, P., Krystkowiak, K., Surma, M., Adamski, T., Bednarek, P., Stobiecki, M.: Analysis of drought-induced proteomic and metabolomic changes in barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves and roots unravels some aspects of biochemical mechanisms involved in drought tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7:1108.
- /9/ Vítámvás, P., Urban, M. O., Škodáček, Z., Kosová, K., Pitelková, I., Vítámvás, J., Renaut, J., Prášil, T. I.: Quantitative analysis of proteome extracted from barley crowns under different drought conditions. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6:479

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce vznikla za finanční podpory MŠMT, projekt č. 16_02110008503 - 01, MZE č. RO08 a QK1710302.



HODNOTENIE RASTU REPY CUKROVEJ (*BETA VULGARIS*. CV. TATRY) V PÔDACH KONTAMINOVANÝCH IÓNNI KADMIA

ASSESSMENT OF GROWTH OF SUGAR BEET (*BETA VULGARIS* CV. TATRY) IN SOILS CONTAMINATED WITH CADMIUM

PETER BOLEČEK, BEÁTA PIRŠELOVÁ, LIBUŠA LENGYELOVÁ

UNIVERZITA KONŠTANTÍNA FILOZOFA V NITRE, FPV, KATEDRA BOTANIKY A GENETIKY, NÁBREŽIE MLÁDEŽE 91,
949 01 NITRA, BPIRSELOVA@UKF.SK

SUMMARY

In our experiments we evaluated the effect of relatively low (5 mg/kg soil) and high (50 mg/kg soil) doses of cadmium (Cd) on growth and selected physiological parameters of sugar beet (*Beta vulgaris*, cv. Tatry). After 28 days of growth in contaminated soil, the length and biomass (fresh weight and dry weight) of the shoots were decreased by 9.73%, 11.70% and 39.29% due to the lower dose of Cd. Higher doses, on the other hand, acted as stimulators. There was an increase in shoot length (by 11.40%) and dry weight (by 39.7%), also increased photosynthetic pigments content as well as the number of stomata in both sides of leaves. However, the dry matter content also decreased due to the higher dose of Cd. These changes are likely to be associated with changes in water management under given conditions.

Key words: sugar beet; cadmium; growth; pigments; stomata

SÚHRN

V rámci našich experimentov sme hodnotili vplyv relatívne nízkej (5 mg/kg pôdy) a vysokej dávky (50 mg/kg pôdy) kadmia (Cd) na rast a vybrané fyziologické parametre repy cukrovej (*Beta vulgaris*, cv. Tatry).

Po 28 dňoch rastu v kontaminovanej pôde došlo k poklesu dĺžky (o 9,73 %) a biomasy (čerstvá hmotnosť o 11,70 %, sušina o 39,29 %) výhonkov vplyvom nižšej dávky Cd. Vyššie dávky naopak pôsobili stimulačne, došlo k nárastu dĺžky výhonkov (o 11,40 %) a čerstvej hmotnosti (o 39,7 %), taktiež došlo k nárastu obsahu fotosyntetických pigmentov ako aj počtu prieduchov na oboch stranách listu. Obsah sušiny však klesol aj vplyvom vyššej dávky Cd. Uvedené zmeny budú pravdepodobne spojené so zmenami hospodárenia s vodou v daných podmienkach.

Kľúčové slová: cukrová repa; kadmium; rast; pigmenty; prieduchy

Úvod

Kadmium (Cd) je neesenciálny prvok pre rastliny a je považovaný za jeden z najtoxickejších ťažkých kovov v prostredí vďaka jeho vysokej mobilite v prostredí a schopnosťou vyvolávať toxicitu už pri nízkych koncentráciách v organizmoch. K zvyšovaniu obsahu kadmia v pôdach prispieva najmä aplikácia fosforečných hnojív, rôzne odpady vo forme kompostov a kaly z čistiarní odpadových vôd.

Medzi najčastejšie uvádzané symptómy toxického pôsobenia kadmia patrí hnednutie koreňových vláskov, redukcia predĺžovacieho rastu, pokles biomasy, zvýšenie alebo zníženie tvorby laterálnych koreňov, znížená klíčivosť semien, zmeny v architektúre a štruktúre koreňa. Vplyv kadmia na nadzemné orgány rastliny sa prejavuje skrúcaním listov, chlorózami, znížením vodného potenciálu, inhibíciou príjmu a akumulácie esenciálnych minerálnych látok, poklesom rýchlosti transpirácie a poškodením fotosyntetického aparátu [1/.

Hoci mechanizmus toxicity kadmia je rovnaký u všetkých organizmov, rôzne rastlinné druhy a odrody vykazujú vysokú variabilitu v tolerancii k tomuto kovu. Podľa [2/ väčšina rastlín dobre toleruje zvýšené hodnoty Cd v pôde (*Solanaceae*, *Cruciferae*). Citlivé plodiny reagujú negatívne na koncentráciu kadmia v pôde pri 4–13 mg/kg (bôbovité, špenát, tabak), ktorá je aj z hygienického hľadiska príliš vysoká. Tolerancia repy na ióny ťažkých kovov je málo preskúmaná.

V rámci našej štúdie sme hodnotili toleranciu repy cukrovej voči relatívne nízkej a vysokej dávke kadmia v pôde.

MATERIÁL A METÓDY

Pokus bol koncipovaný ako nádobový. Do univerzálneho pôdneho substrátu (pH 6,7; max. vlhkosť 70 %) boli zasiate semená repy cukrovej (*Beta vulgaris* cv. Tatry). Rast danej odrody sme hodnotili pri dvoch dávkach Cd^{2+} : 5 a 50 mg/kg pôdy. Kontrolu predstavoval variant bez aplikácie kadmia. Kadmium sme aplikovali formou roztoku $\text{CdCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Rastliny boli pestované v rastovej komore (FITOTRON) pri kontrolovaných podmienkach: 22 °C, denný-nočný cyklus 12h/12h, relatívna vlhkosť vzduchu 60 %. Po 28 dňoch rastu sme hodnotili rastové a vybrané fyziologické parametre, stanovili sme toleranciu danej odrody na ióny kadmia. Pokus bol pre každý variant opakovaný trikrát.

Stanovenie fotosyntetických pigmentov

Obsah chlorofylu a (*Chla*), chlorofylu b (*Chlb*) a karotenoidov sme stanovili v 80% acetónovom roztoku /3/ a následne stanovili pomer *Chla/Chlb*.

Stanovenie počtu prieduchov

Počet prieduchov sme stanovili na vrchnej (adaxiálnej) a spodnej (abaxiálnej) strane listov odtlačkovou metódou.

Štatistické spracovanie údajov

Údaje pre sledované parametre boli štatisticky spracované pomocou programu Microsoft Excel 2010. Rozdiely medzi súbormi dát sme stanovili Studentovým t-testom pri hladine $p < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Naše experimenty poukázali na inhibičný účinok nižšej dávky Cd, zaznamenali sme pokles dĺžky (o 9,73 %) a biomasy (FW o 11,70 %, DW o 39,29 %) výhonkov (tab. 1). Naopak, pri vyššej dávke Cd sa prejavil stimulačný účinok, výhonky boli dlhšie o 11,40 % a FW bola vyššia o 39,7 %. Obsah sušiny však poklesol o 32,14 % (tab. 1).

V prípade fotosyntetických parametrov sme zaznamenali štatisticky nevýznamný pokles pri nižšej dávke Cd a zvýšený obsah *Chla* (o 44,61 %), *Chlb* (o 47,4 %) a karotenoidov (o 36,36 %) pri vyššej dávke (tab. 2).

Zaznamenali sme i vyšší počet prieduchov na abaxiálnej strane listu (o 16,68 a 49,56 %) aj adaxiálnej strane listu (o 44,65 % vplyvom vyššej dávky) (graf 1).

Tab. 2: Vplyv kadmia na obsah fotosyntetických pigmentov a pomer *Chla/Chlb*.

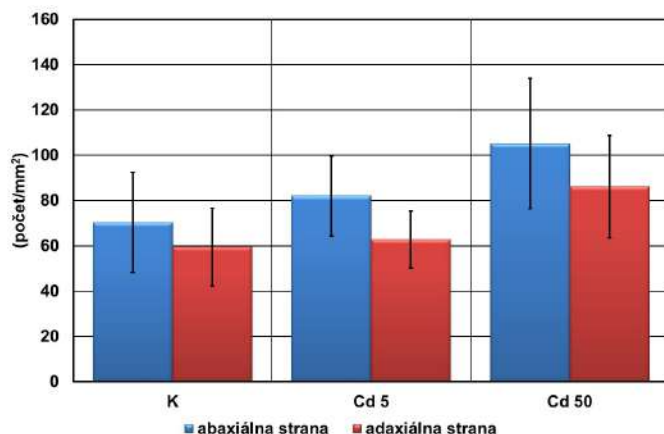
	<i>Chla</i> (mg/g FW)	<i>Chlb</i> (mg/g FW)	Karotenoidy (mg/g FW)	<i>Chla/Chlb</i>
K	0,65 ± 0,12	0,19 ± 0,03	0,11 ± 0,03	3,34 ± 0,21
Cd 5	0,56 ± 0,11	0,16 ± 0,03	0,09 ± 0,02	3,42 ± 0,20
Cd 50	0,94 ± 0,05 *	0,28 ± 0,02 *	0,15 ± 0,01 *	3,31 ± 0,19

K - kontrola, *Chla* - chlorofyl a, *Chlb* - chlorofyl b

Tab. 1: Vplyv kadmia na obsah fotosyntetických pigmentov a pomer *Chla/Chlb*

	dĺžka výhonku (cm)	FW (g)	DW (g)
K	15,42 ± 2,07	3,00 ± 0,35	0,28 ± 0,03
Cd 5	13,92 ± 1,45 *	2,65 ± 0,16	0,17 ± 0,01 *
Cd 50	17,18 ± 2,38 *	4,19 ± 0,38 *	0,19 ± 0,03 *

K - kontrola, FW - čerstvá hmotnosť, DW - sušina. Údaje predstavujú aritmetický priemer ± SDEV; * štatisticky významný rozdiel pri $p < 0,05$.



Graf 1: Vplyv rôznych dávok (5 a 50 mg/kg pôdy) kadmia (Cd) na počet prieduchov na vrchnej (adaxiálnej) a spodnej (abaxiálnej) strane listov repy cukrovej

Vplyvom testovaných dávok kadmia zrejme dochádza k stimulácii resp. inhibícii syntézy organických látok prostredníctvom fotosyntézy, čo sa potvrdilo zmenami hodnôt FW.

Znížený obsah sušiny pravdepodobne súvisí s hospodárením vodou v daných podmienkach. Naznačujú to aj zmeny v počte prieduchov na oboch stranách listu. Nárast počtu prieduchov (o 44,65 %) sme zaznamenali na adaxiálnej strane listu vplyvom vyššej dávky Cd a na abaxiálnej strane vplyvom oboch testovaných dávok (Cd5 o 16,68 %, Cd 50 o 49,56 %). Zmeny počtu a veľkosti prieduchov predstavujú dôležitý spôsob regulácie príjmu znečisťujúcich látok z prostredia rastlinami /4/. Hustota prieduchov je v porovnaní s ich veľkosťou relatívne plastická a potenciálne adaptívna ku zmenám prostredia /5/. Zvýšený počet prieduchov vplyvom zvyšujúcich sa koncentrácií ťažkých kovov bol zaznamenaný viacerými autormi /6, 7/, zaznamenané boli však aj negatívne korelácie /8/.

ZÁVER

V rámci našich experimentov sme dospeli k prekvapivým záverom. Relatívne nízka dávka kadmia pôsobila inhibične na rast výhonkov repy, naopak vyššia dávka pôsobila stimulačne nielen na rast, ale aj obsah fotosyntetických pigmentov v listoch a tiež počet prieduchov na oboch stranách listu. Obsah sušiny však klesol vplyvom oboch testovaných dávok Cd, čo naznačuje zmeny v hospodárení s vodou za daných podmienok. Ďalšie experimenty budú smerovať k objasneniu mechanizmov pôsobenia kadmia na rast a metabolizmus testovanej odrody repy.

LITERATÚRA

- /1/ Das, P., Samantaray, S., Rout, G. R.: Studies on cadmium toxicity in plants: a review. *Environmental Pollution*, 98, 1997, 29-36.
- /2/ Beneš, S.: Obsahy a bilance prvku ve sférách životního prostředí II. Praha, Ministerstvo zemědělství ČR, 1994, 158 s.
- /3/ Lichtenthaler, k. - Welburn, A. R.: Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11, 1983, 591-592.
- /4/ Gostin, I. N. (2009). Air pollution effects on the leaf structure of some *Fabaceae* species. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 37, 57-63.
- /5/ Sekiya, N., & Yano, K. (2008). Stomatal density of cowpea correlates with carbon isotope discrimination in different phosphorus, water and CO₂ environments. *New Phytologist*, 179, 799-807.
- /6/ Kastori, R., Petrović, M., & Petrović, N. (1992). Effects of excess lead, cadmium, copper and zinc on water relations in sunflower. *Journal of Plant Nutrition*, 15, 1992, 2427-2439.
- /7/ Shi, G., & Caia, Q. (2009). Leaf plasticity in peanut (*Arachis hypogaea* L.) in response to heavy metal stress. *Environmental and Experimental Botany*, 67, 112-117.
- /8/ Chwil, M. (2005). The influence of lead on structure of *Cucumis sativus* L. leaves. *Folia Horticulturae*, 17(2), 11-22.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená výskumným zámerom projektu VEGA 2/0063/17 a projektu Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“, projekt číslo 26220220180.



VYUŽITIE STIMULAČNÝCH LÁTOK PRI PESTOVANÍ JAČMEŇA SIATEHO JARNÉHO

USAGE OF STIMULATING SUBSTANCES FOR GROWING OF SPRING BARLEY

EVA CANDRÁKOVÁ

SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA V NITRE, FAPZ, KATEDRA RASTLINNEJ VÝROBY,
TR. A. HLINKU 2, 949 76 NITRA, EVA:CANDRAKOVA@UNIAG.SK

SUMMARY

In the years 2014–2016, two varieties of spring barley (Claire and Martha) have been grown in the climatically warm area.

Fertilization variants: A = control; B = 60 kg of N in the form of DASA + Microstar; C = 60 kg of N in the form of DASA + Microstar (30 kg.ha⁻¹) + Rizoflower (3 kg.ha⁻¹) + Sunagreen (0.5 l.ha⁻¹). We investigated the impact of growing season and stimulants on grain yield and thousand grain weight. The highest yield of grain was in 2016 (6.46 t.ha⁻¹) and the lowest yield was in 2014 (5.37 t.ha⁻¹). The variety Claire reached significantly higher yield (6.19 t.ha⁻¹) than variety Marthe (5.85 t.ha⁻¹). The application of growth stimulators had a significant effect on the yield of barley grain (var. C = 6.18 t.ha⁻¹). The highest thousand grains weight was found out in 2016 (46.38 g) and the lowest in 2014 (42.65 g). Variety Claire achieved significantly higher thousand grains weight (45.83 g) than the variety Marthe (44.59 g). Fertilization did not influence significantly thousand grains weight.

Key words: spring barley; varieties; growing season; fertilization; yield; thousand grains weight

SÚHRN

V rokoch 2014–2016 v klimaticky teplej oblasti, sme pestovali dve odrody jačmeňa siateho jarného: Claire a Marthe.

Variety hnojenia: A = kontrola; B = 60 kg N vo forme DASA + Microstar; C = 60 kg N vo forme DASA + Microstar (30 kg.ha⁻¹) + Rizoflower (3 kg.ha⁻¹) + Sunagreen (0,5 l.ha⁻¹). Skúmali sme vplyv ročníka a stimulačných látok na úrodu zrna a HTZ. Vysokopreukazne najvyššia úroda zrna bola v roku 2016 (6,46 t.ha⁻¹) a najnižšia úroda bola v roku 2014 (5,37 t.ha⁻¹). Odroda Claire (6,19 t.ha⁻¹) dosiahla preukazne vyššiu úrodu ako odroda Marthe (5,85 t.ha⁻¹). Aplikácia stimulátorov rastu pôsobila na úrodu zrna jačmeňa preukazne (var. C = 6,18 t.ha⁻¹). Najvyššia HTZ bola v roku 2016 (46,38 g) a najnižšia v roku 2014 (42,65 g).

Odroda Claire dosiahla preukazne vyššiu HTZ (45,83 g) ako odroda Marthe (44,59 g). Hodnoty HTZ vplyvom hnojenia boli štatisticky nepreukazné.

Kľúčové slová: jačmeň siaty jarný; odrody; ročník; hnojenie; úroda, HTZ

Úvod

Jačmeň siaty jarný je na Slovensku významnou komoditou, využívanou nielen na spracovanie v domácich sladovniach, ale aj zaujímavý vývozný artikel. V hospodárskom roku 2017 sa jačmeň na Slovensku pozberal z výmery 120,3 tis. ha. Priemerná hektárová úroda bola 4,53 ton a produkcia 545,3 tis. ton. Exportovalo sa 110,7 tis. ton jačmeňa, čo znamená v porovnaní s predchádzajúcim hospodárskym rokom o 69,7 tis. ton menej. V roku 2018 sa jačmeň zberal z plochy 121 tis. ha s úrodou 4,03 t.ha⁻¹ a produkciou 545,3 tis. ton /2/. V roku 2019 sa plánuje zvýšenie pestovateľskej plochy, ale vyhliadky na úrodu zrna jačmeňa klesajú, čím sa zníži aj celková produkcia.

Cieľom predkladanej práce je poukázať na možnosti využitia stimulačných látok pri pestovaní jačmeňa siateho jarného a zistiť ich vplyv na formovanie úrodotvorného procesu.

MATERIÁL A METÓDY

Polný polyfaktorový pokus s jačmeňom siatym jarným bol založený na Výskumno-experimentálnej báze Fakulty agrobiológie a potravinových zdrojov SPU v Nitre nachádzajúcej sa v lokalite Dolná Malanta, východne od mesta Nitry, v nadmorskej výške 170 m. Územie spadá do teplého, veľmi suchého, nížinného klimatického

regiónu. Zeminy z orníc na lokalite sú prachovito-hlinité s objemovou hmotnosťou 1500–1680 kg.m⁻³ /3/, Pokus bol založený metódou dlhých pásov s kolmo delenými blokmi. Veľkosť pokusnej plochy variantu bola 12 m² (6x2) s troma opakovaniami. Vysiate boli odrody Claire a Marthe po predplodine repe cukrovej v množstve 4,5 miliónov klíčivých zŕn na hektár v rokoch 2014, 2015 a 2016.

Variety hnojenia: A = kontrola; B = 60 kg N vo forme DASA + Microstar; C = 60 kg N vo forme DASA + Microstar (30 kg.ha⁻¹) + Rizoflower (3 kg.ha⁻¹) + Sunagreen (0,5 l.ha⁻¹).

Termín sejby: 7. 3. 2014; 24. 3. 2015 a 22. 3. 2016. Termín zberu: 18. 7. 2014; 30. 7. 2015 a 27. 7. 2016.

Fosforečné a draselné hnojivá boli aplikované na jar pred sejbou. Fosfor v dávke 30 kg.ha⁻¹ č. ž. P bol aplikovaný vo forme Amofosu a draslík v dávke 120 kg.ha⁻¹ č. ž. vo forme 60%-nej draselskej soli. Dusíkaté hnojivo DASA (26 % N, 13 % S) bolo aplikované na konci odnožovania porastov jačmeňa. Microstar bol v dávke 30 kg.ha⁻¹ použitý pri sejbě jačmeňa. Prípravok Rizoflower bol aplikovaný na list pred klasením jačmeňa a stimulátor rastu Sunagreen bol aplikovaný pred kvitnutím porastov (máj). Na ošetrovanie proti burinám bol použitý prípravok Mustang Forte v dávke 1,0 l.ha⁻¹ a na konci odnožovania. proti chorobám prípravok Capalo (1,0 l.ha⁻¹).

Získané výsledky boli vyhodnotené štatistickým softwarom Statgraphics Plus. Pre vyhodnotenie významnosti jednotlivých faktorov na sledované parametre bola použitá viacfaktorová analýza rozptylu (ANOVA). Rozdiely medzi variantmi boli posúdené LSD testom s minimálnou hladinou významnosti α 0,05 a α 0,01.

Odrody Claire aj Marthe sú stredne skoré, stredne vysoké s dobrou rezistenciou voči múčnatke trávovej.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Jačmeň siaty jarný je citlivý na priebeh poveternostných podmienok v priebehu vegetačného obdobia, hlavne na nevyrovnané vlhové podmienky, ktoré sa prejavujú nedostatkom vlhky v rozhodujúcich rastových fázach jačmeňa, dôsledkom čoho je kolísanie úrod zrna a jeho kvality. Čiastočným riešením je zamerať šľachtenie jačmeňa na odolnosť voči stresovým faktorom a zvýšiť jeho adaptabilitu v konkrétnych podmienkach pestovania.

Z doteraz známych vedeckých poznatkov vyplýva, že jačmeň siaty jarný je potrebné siať ihneď na jar, ako to stav pôdy dovoľí /7/. Dôvodom je hlavne dobré využitie zimných zásob vlhky v pôde, nakoľko jačmeň siaty má pomerne plytko do pôdy siahajúcu koreňovú sústavu, ako uvádza viacero autorov.

Priebeh poveternostných podmienok v jarnom období až do konca vegetačného obdobia jačmeňa je v tab. 1.

Tab.1: Teploty a zrážky počas vegetačného obdobia jačmeňa siateho jarného v rokoch 2014 - 2016

	január	február	marec	apríl	máj	jún	júl	suma
	srážky							
1961-1990	31,0	32,0	30,0	39,0	58,0	66,0	52,0	308,0
2014	34,2	35,2	19,4	32,8	57,4	52,0	113,2	344,2
2015	79,8	25,6	44,4	25,6	83,0	23,6	26,4	308,4
2016	29,6	99,0	32,4	24,8	89,0	26,0	127,0	427,8
	teplota vzduchu							
1961-1990	-1,7	0,7	5,0	10,4	15,1	18,0	19,8	9,6
2014	1,0	2,9	8,2	10,8	13,3	17,3	19,9	10,5
2015	-0,1	-0,2	4,2	8,5	12,8	17,3	21,0	9,1
2016	-2,1	3,8	4,3	9,3	13,6	17,8	18,8	9,3

V roku 2014 sa zrážky pohybovali na úrovni normálnych hodnôt, okrem mesiaca marec, v ktorom dosiahli iba 64,6 %. Teplota bola v tomto mesiaci o 3,2 °C vyššia ako dlhoročný normál. To sa prejavilo na tvorbe odnoží. V roku 2015 boli jarné mesiace vlhkejšie ako v roku 2014, iba v mesiaci apríl dosiahli zrážky 65,6 %, ktoré boli vykompenzované zvýšenou vlhkosťou v mesiaci máj, v ktorom prevýšili normálne hodnoty o 23,0 mm. Teploty boli vo všetkých mesiacoch vegetácie chladnejšie, čo priaznivo vplývalo na rast a vývoj porastov.

V roku 2016 prevýšili zrážky v mesiaci február normálne hodnoty o 67 mm a v mesiaci máj o 31 mm. Teploty sa udržiavali tesne pod hodnotami dlhoročného normálu. /4/ uvádzajú, že ak po teplom a suchom marci nasleduje chladnejší a zrážkovo bohatší apríl a jún, možno očakávať bohatú a kvalitnú úrodu.

Zo štatistického hodnotenia úrody zrna jačmeňa siateho jarného vyplynulo, že úroda zrna bola vysokopreukazne najvyššia v roku 2016 (6,46 t.ha⁻¹) a preukazná aj v roku 2015 (6,23 t.ha⁻¹) v porovnaní s rokom 2014 (5,37 t.ha⁻¹). Potvrdený bol priaznivý vplyv dostatku vlhky a nižšej teploty v rozhodujúcich fázach rastu, kedy sa zakladali odnože, klasy a nalievali sa zrná. Výsledkom bola aj priaznivá HTZ v roku 2015 (46,59 g) a 2016

Tab. 2: Štatistické vyhodnotenie analýzou rozptylu (Anova) LSD testom (2014–2016)

Faktor		Úroda (t.ha ⁻¹)	P 0,05	P 0,01	HTZ (g)	P 0,05	P 0,01
Rok	2014	5,37 a	0,1622	0,2188	42,65 a	0,3943	0,5319
	2015	6,23 b			46,59 b		
	2016	6,46 c			46,38 b		
Odroda	Claire	6,19 b	0,1324	0,1786	45,83 b	0,322	0,4343
	Marthe	5,85 a			44,59 a		
Hnojenie	A	5,87 a	0,1622	0,2188	45,21 a	0,3943	0,5319
	B	6,00 a			45,09 a		
	C	6,18 b			45,31 a		

Rozdielne písmená znamenajú štatistickú preukaznosť na hladine $\alpha < 0,05$ a $\alpha < 0,01$.

(46,38 g) oproti roku 2014 (42,65 g). Výsledky sú uvedené v tab. 2.

Z výsledkov pokusu vyplynula aj rozdielna reakcia odrôd na podmienky pestovania. Preukazne vyššia úroda zrna bola zistená u odrody Claire (6,19 t.ha⁻¹) v porovnaní s odrodou Marthe (5,85 t.ha⁻¹). Na úrode sa významne podieľali aj hodnota HTZ, preukazne vyššia u odrody Claire (45,83 g) ako u odrody Marthe (44,59 g). /4/ považujú výber odrody za jeden z najvýznamnejších faktorov, ktorý vplyva na výšku úrody a kvality zrna jačmeňa. Vo variantoch hnojenia sa použili rovnaké dávky fosforu, draslíka aj dusíka, ktorý bol aplikovaný na jar, vo forme DASA, počas vegetačného obdobia na konci odnožovania v rastovej fáze BBCH. Pri sejbe jačmeňa bol vo variantoch hnojenia použitý aj prípravok Microstar na podporu lepšieho rastu. Stimulátory rastu spôsobujú zvýšený obsah chlorofylu v rastline a tým zvýšenú fotosyntetickú aktivitu, čo zvyšuje celkovú úrodu /1/. Vo variante C bol pred klasením aplikovaný prípravok Rhizoflower s cieľom podporiť rozvoj koreňovej sústavy s podporou využitia fosforu a rastový stimulátor Sunagreen s cieľom podpory produkcie odnoží. Výsledkom bol vysokopreukazný vplyv Sunagreenu na úrodu zrna jačmeňa siateho jarného s úrodou 6,18 t.ha⁻¹. Vplyvom aplikácie Rhizofloweru sme dosiahli zvýšenie úrody o 0,13 t.ha⁻¹ v porovnaní s nehnojeným variantom (5,87 t.ha⁻¹). Hodnoty HTZ boli po aplikácii Sunagreenu vyššie o 0,1 g, ako na kontrolnom variante, ale štatisticky nepreukazné. V porovnaní so pšeniciou /6/ poukazujú na kolísanie účinku Sunagreenu v jačmeni siatom jarnom. Odôvodňujú to menšou kompenzačnou schopnosťou jačmeňa dohnať výpadok v počte klasov na jednotku plochy.

ZÁVER

Z výsledkov pestovania jačmeňa siateho jarného v rokoch 2014–2016 vyplýva, že úroda zrna a HTZ boli vysokopreukazne ovplyvnené teplotnými a vlhkovými podmienkami ročníka. Zároveň sa prejavila odrodová rozdielnosť v reakcii na dané podmienky. Odroda jačmeňa Claire sa lepšie adaptovala ako odroda Marthe. Aplikácia stimulátorov rastu preukazne vplývala na úrodu zrna jačmeňa a pozitívne ovplyvnila aj hodnoty HTZ.

LITERATÚRA

/1/ Křováček, J., Hnilička, F.: Hergit a sunagreen v pěstitelské technologii jarního ječmene. In Sborník z konference „Český ječmen pro světový trh – slad je duší piva“. Libčany, 2008, s. 33 – 34, ISBN 978-80-213-1751-2.

/2/ Masár, I.: OBILNINY. Situačná a výhľadová správa. NPPC-VÚEPP, 2018. Roč. XXV, č. 2, ISSN 1338-483X.

/3/ Molnárová, J., Horevaj, V.: Faktory ovplyvňujúce výšku a kvalitu úrody sladovníckeho jačmeňa. Jačmenárska ročenka, 2008, Praha 2 : Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2008, s. 128 - 137. ISBN 80-86576-25-6.

/4/ Molnárová, J., Pepó, P.: Udržateľné pestovanie jačmeňa sieteho v podmienkach klimatických zmien. In Sustainable Environmental Friendly Field Crops production in Changing Climate Conditions (monograph), Nitra 2010, s. 6–7, ISBN 978-80-552-0515-1.

/5/ Tobiášová, E., Šimanský, V.: Kvantifikácia pôdných vlastností a ich vzájomných vzťahov ovplyvnených antropickou činnosťou. 1. vydanie. Nitra: SPU. p. 114. ISBN 978-80-552-0196-2.

/6/ Vašák, J. a i.: Sunagreen v obilninách. Dostupné na internete www.chemapagro.sk/clanky-sunagreen-v-obilninach.html.

/7/ Zimolka, J. a i.: Ječmen- formy a úžitkové smery v České republice. Praha, 2006, 199 s. ISBN 80-86726-18-5.

POĎAKOVANIE

VEGA: 1/0530/18 2018–2020. Výskum produkcie a kvality významných druhov poľných plodín v klimaticky meniacich sa podmienkach.



RŮSTOVÉ A MORFOLOGICKÉ CHARAKTERISTIKY KOŘENOVÉ SOUSTAVY ŘEPKY VE VZTAHU K SUCHOVZDORNOSTI

GROWTH AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ROOT SYSTEMS OF *BRASSICA NAPUS* IN RELATION TO DROUGHT RESISTANCE

HANA ČÍŽKOVÁ, MAREK NEŠPOR

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH, ZF, KATEDRA BIOLOGICKÝCH DISCIPLÍN, STUDENTSKÁ 1668, 370 05 ČESKÉ BUDĚJOVICE, MAREK.NESPOR.TABOR@CENTRUM.CZ

SUMMARY

The aim of the study was to verify whether the tolerance of oilseed rape (*Brassica napus*) to drought is associated with the morphological properties of the root system. The growth experiment in a greenhouse included six varieties and two irrigation regimes whose effects on the dry weight of various plant parts and structural characteristics was assessed at the time of flowering and seed maturity. All varieties responded to drought by reduced growth of above-ground and underground parts, but the ratio of underground and above ground parts (R:S) was higher in the dry conditions. As a result of drought, the yield of both tolerant and sensitive varieties, both total seed weight and HTS, decreased significantly. For all tolerant and some sensitive varieties, the weight ratio of the lateral roots to the primary root has increased, helping to more efficient water intake.

Key words: oilseed rape; *Brassica napus*; roots; drought; water stress

SOUHRN

Cílem práce bylo ověřit, zda je odolnost řepky olejné (*Brassica napus*) k suchu spojena s morfoloogickými vlastnostmi kořenového systému. Růstový experiment ve skleníku zahrnoval šest odrůd řepky a dva závlahové režimy, jejichž vliv na hmotnost sušiny různých rostlinných částí a strukturních charakteristik byl hodnocen v době květu a v době zralosti semen. Všechny odrůdy reagovaly na sucho sníženým růstem nadzemních i podzemních částí, avšak poměr podzemních a nadzemních částí (R:S) byl za sucha vyšší. Vlivem sucha také výrazně klesl výnos rostlin odolných i citlivých odrůd, a to jak celkové hmotnosti semen, tak HTS. U všech odolných a některých citlivých odrůd se zvýšil hmotnostní poměr postranních kořenů vůči křovému kořenu, což napomohlo efektivnějšímu příjmu vody.

Klíčová slova: řepka; *Brassica napus*; kořeny; sucho; vodní stres

ÚVOD

Probíhající klimatická změna je spojena s dlouhými periodami sucha, což nepříznivě ovlivňuje růst plodin a hospodářské výnosy. Jedním z řešení je pěstování plodin či jejich odrůd, které jsou odolnější vůči suchu a zároveň udržují dobrý výnos. K adaptacím rostlin na sucho patří mj. přizpůsobení morfoloogické stavby kořenového systému, která napomáhá příjmu vody [5]. Pozornost byla dosud věnována hlavně obilninám, avšak v klíčových vědeckých databázích (Web of Science, Scopus) jsme nenalezli experimentální studii zaměřenou na řepku olejku. Cílem této práce bylo proto experimentálně ověřit, zda je odolnost různých odrůd řepky olejné (*Brassica napus*) k suchu spojena s morfoloogickými vlastnostmi jejich kořenových systémů.

MATERIÁL A METODY

Nádobový pokus proběhl ve skleníku v areálu ZF JU v Českých Budějovicích. Zahrnoval šest odrůd (tři odolné a tři citlivé na sucho) pěstovaných ve dvou variantách („Sucho“ a „Kontrola“). Polovina rostlin byla sklizena v době květu a druhá polovina v době zralosti semen. V každé skupině bylo 6 až 8 opakování.

Jako odolné byly klasifikovány odrůdy Alegria, Navajo, Asgard a jako citlivé Passion, Viking, Siska. V říjnu 2016 byla semena vyseta po jednom do sadbovačů naplněných směsí zahradnického substrátu a perlitu v poměru 4:1. Koncem března 2017 byly sazenice přesazeny do květináčů o objemu 1,25 l vyložených sáčkem z polyethylenu s vysokou hustotou (HDPE), což umožnilo udržet celou zálivku v substrátu. Květináče byly

naplněny opět směsí zahradnického substrátu s perlitem v poměru 4:1. Ve variantě „Kontrola“ byly rostliny zavlažovány tak, aby substrát byl stále vlhký, ale nikoli přemokřený. Ve variantě „Sucho“ byly udržovány ve stavu vadnutí tak, aby zůstávaly zvadlé tři horní listy. V době nejintenzivnějšího růstu se rostliny zalévaly každý den. Vzhledem k vzrůstajícím rozdílům v rozměrech rostlin dostávala každá rostlina individuální objem závlivky. Rostliny byly v průběhu růstu ošetřovány proti plísni přípravkem Kuprikol a proti mšicím postupně přípravky Mospilan, Pirimor a Fast a směsí vody a mýdla. První sklizeň proběhla koncem května 2017, druhá v červenci 2017.

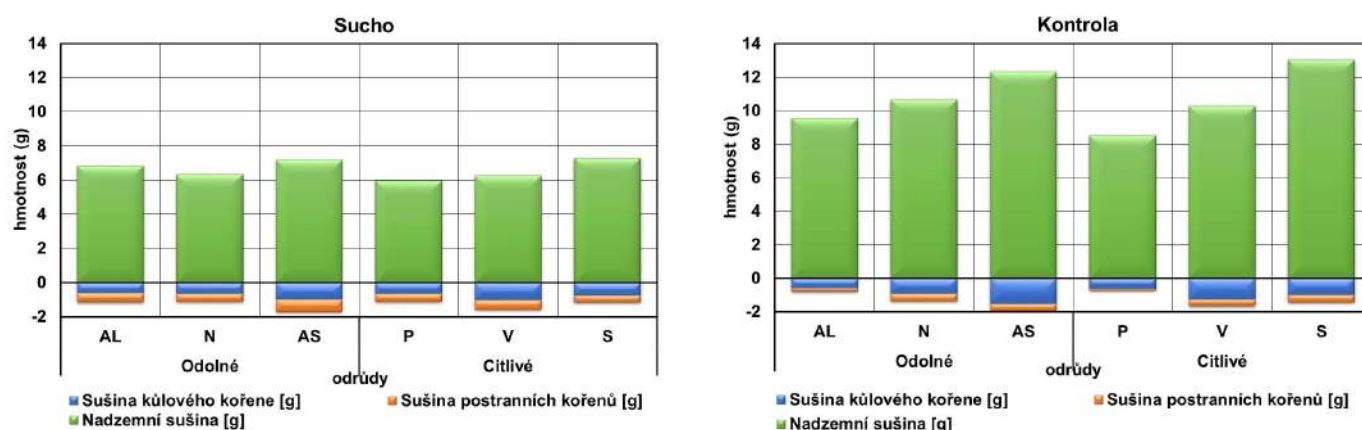
Při obou sklizních byla nejprve zjišťována výška nadzemní části rostliny a počet větví (resp. počet květenství či plodenství). Rostliny pak byly vyjmuty z květináčů, důkladně oprány a rozděleny na listy, stonky, v době zralosti semen též šesule, kulový kořen a postranní kořeny. Kořenové systémy čtyř rostlin z každé odrůdy a varianty byly uloženy při teplotě -24 °C do doby analýzy jejich strukturních charakteristik. Ostatní vzorky byly vysušeny v sušárně při 85 °C do konstantní hmotnosti a poté byla zvážena jejich sušina. V době zralosti semen byla navíc zjišťována sušina semen a HTS.

Strukturní charakteristiky kořenového systému byly zjišťovány pomocí softwaru WinRhizoPro (Régent Instruments, Canada), který umožňuje na skenovaném obraze hodnotit mj. délku, povrch a objem kořenů v přednastavených tloušťkových kategoriích. Ty byly zvoleny tak, aby odpovídaly přirozenému větvení kořenového systému řepky: tloušťka 0,42 mm a více odpovídala postranním kořenům 1. řádu, tloušťka v rozmezí 0,16–0,42 mm postranním kořenům 2. řádu a tloušťka 0,00–0,16 mm postranním kořenům 3. řádu. Analyzované vzorky byly poté vysušeny a zváženy. Vliv závlahového režimu a rozdělení podle odrůdy byl hodnocen dvoufaktorovou analýzou variance s interakcí v programu Statistica 12.0 (Statsoft, Inc., USA).

VÝSLEDKY A DISKUSE

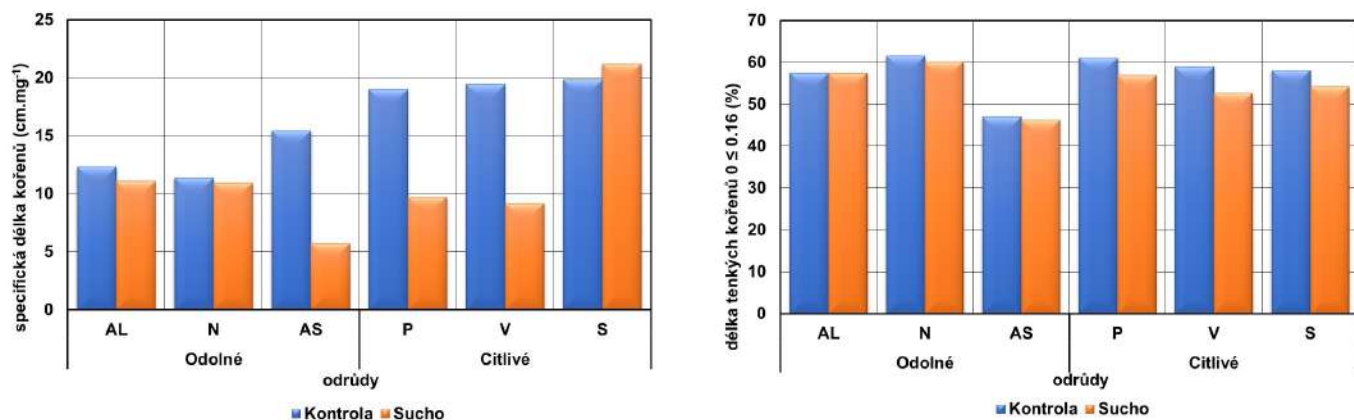
Sucho negativně ovlivnilo sušinu nadzemních částí, ale současně stoupl poměr podzemních a nadzemních částí (R:S) oproti kontrolní variantě (tab. 1, obr. 1). V době zralosti semen se průměrné hodnoty R:S pro jednotlivé odrůdy se pohybovaly v rozmezí 0,15–0,27 ve variantě Sucho oproti 0,07–0,15 ve variantě „Kontrola“. U pěti odrůd ze šesti byly hodnoty R:S za sucha vyšší nejméně o 50 % ve srovnání s kontrolou.

Ve srovnání s kontrolními rostlinami měly rostliny pěstované ve variantě „Sucho“ obecně menší hmotnost kulového kořene, avšak současně větší poměr hmotnosti postranních kořenů k hmotnosti kulového kořene (P:K) (tab. 1; obr. 1).



Obr. 1: Sušina rostlin řepky olejné ve variantách „Sucho“ (vlevo) a „Kontrola“ (vpravo) v době zralosti semen. Odrůdy: AL - Alegria, N - Navajo, AS - Asgard, P - Passion, V - Viking, S - Siska

Specifická délka kořenů v době semen byla za sucha menší u tří odrůd ze šesti, avšak ne vždy v souladu s předpokládanou odolností těchto odrůd (obr. 2 vlevo). Procentuální podíl délky kořenů 3. řádu z celkové délky postranních kořenů nebyl ovlivněn závlahovým režimem a také byl velmi podobný u většiny odrůd (obr. 2 vpravo). Rostliny pěstované za sucha měly menší celkovou sušinu semen a HTS (tab. 1, obr. 3). Adaptivní reakce tedy nedokázaly za podmínek pokusu kompenzovat negativní vliv sucha.



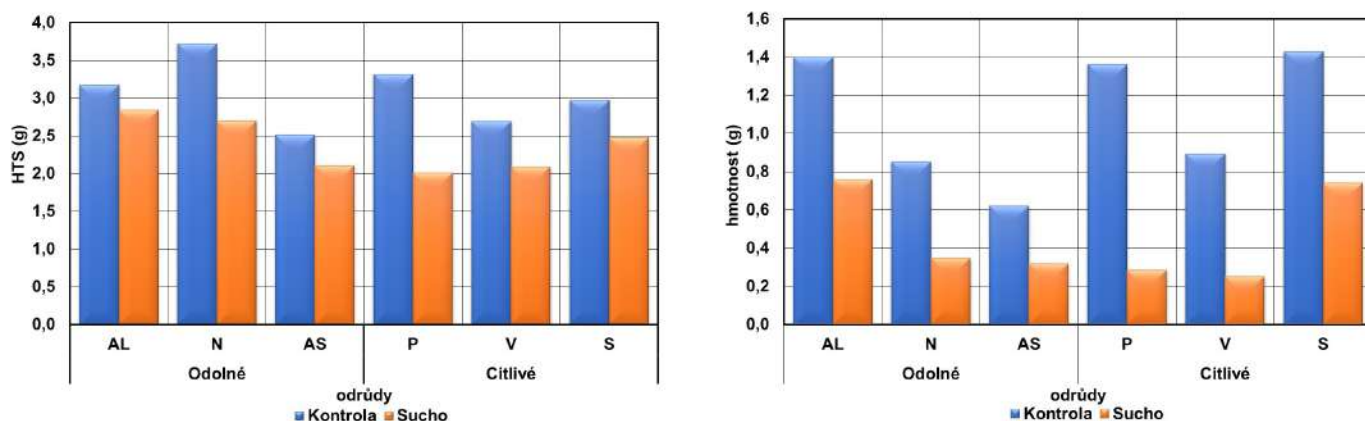
Obr. 2: Specifická délka kořenů a podíl délky nejtenčích kořenů rostlin řepky olejné ve variantách „Sucho“ (vlevo) a „Kontrola“ (vpravo) v době zralosti semen

Odrůdy: AL - Alegria, N - Navajo, AS - Asgard, P - Passion, V - Viking, S - Siska

Tab. 1: Vliv vodního režimu a odrůdy na vybrané charakteristiky rostlin

	1. odběr - kvetení			2. odběr - zralost semen		
	Odr. (df = 5)	Var. (df = 5)	O*V (df = 5)	Odr. (df = 5)	Var. (df = 1)	O*V (df = 5)
Sušina postranních kořenů (g)	< 0,001	0,108	0,070	0,032	< 0,001	0,244
Sušina kulového kořenu (g)	< 0,001	< 0,001	0,437	< 0,001	0,011	0,230
Poměr kořenů (P:K)	0,102	< 0,001	0,001	0,015	< 0,001	
Specifická délka (cm/1 g)	0,111	0,018	0,284	0,196	0,047	0,532
Délka tenkých kořenů 0 ≤ 0.16 (%)	0,084	0,533	0,206	0,001	0,132	0,913
Nadzemní sušina (g)	0,128	< 0,001	0,908	0,025	< 0,001	0,430
Poměr sušiny (R:S)	< 0,001	< 0,001	0,370	< 0,001	< 0,001	0,495
HTS (g)				0,055	< 0,001	0,407
Sušina všech semen (g)				0,037	< 0,001	0,377

df - počet stupňů volnosti; červeně jsou zvýrazněny hodnoty $p \leq 0,05$



Obr. 3: HTS (vlevo) a sušina (vpravo) semen rostlin řepky olejné ve variantách „Sucho“ a „Kontrola“ v době zralosti semen

Odrůdy: AL - Alegria, N - Navajo, AS - Asgard, P - Passion, V - Viking, S - Siska

DISKUSE

Odpověď rostlin na nedostatek vody je složitá a zahrnuje adaptivní i škodlivé změny. Adaptace spočívají v omezení výparu regulací otevřenosti průduchů, snížení osmotického potenciálu vlivem akumulace osmoprotektantů a změně v distribuci asimilátů v rostlině ve prospěch kořenů /5 a 6/. Při extrémním nebo dlouhotrvajícím suchu však převažuje poškození rostlin, které se ve svém důsledku projevuje omezením růstu a snížením výnosu /6/. Všechny tyto změny byly zjištěny i u řepky olejky /1, 2, 3, 4, 7 a 9/. Naše studie potvrdila uvedený pokles produkce nadzemních částí (tab. 1, obr. 1) i výnosových parametrů (tab. 1, obr. 3), a to u všech zkoumaných odrůd bez ohledu na to, zda byly považovány za citlivé nebo odolné k suchu.

Údaje o produkci a struktuře kořenového systému podle našich zjištění dosud u řepky nebyly publikovány. Za adaptivní změnu lze považovat změnu v poměru poměr R:S ve prospěch kořenů (tab. 1), což odpovídá obecným znalostem /5, 6/. Podobně lze za adaptivní považovat změnu poměru mezi hmotností kulového kořenu a postranních kořenů ve prospěch postranních (tab. 1), čímž se usnadní příjem vody. Naproti tomu není snadné interpretovat snížení specifické délky postranních kořenů (tab. 1, obr. 2 vlevo). Menší specifická délka za sucha znamená, že z jednotky biomasy se vytvoří kořeny o menší celkové délce. Této reakci na suchu pravděpodobně nelze přičítat adaptivní význam. Překvapivé je, že poměr délky kořenů 3. řádu vůči celkové délce postranních kořenů se vlivem sucha nezměnil (tab. 1, obr. 2 vpravo). Toto zjištění ukazuje na stálost v uspořádání hierarchie kořenů, neboli na malou fenotypovou plasticitu tohoto rysu, a to u všech studovaných odrůd.

ZÁVĚR

Všechny odrůdy reagovaly na suchu sníženým růstem nadzemních i podzemních částí, avšak poměr podzemních a nadzemních částí (R:S) byl za sucha vyšší. U všech odolných a některých citlivých odrůd se zvýšil hmotnostní poměr postranních kořenů vůči kulovému kořenu. Vlivem sucha ovšem také výrazně klesl výnos rostlin odolných i citlivých odrůd, a to jak celkové hmotnosti semen, tak HTS.

LITERATURA

- /1/ Ashraf, M., Mehmood, S.: Response of four *Brassica* species to drought stress. *Environmental and Experimental Botany*. 30, 1990: 93-100.
- /2/ Bilibio, C., Carvalho, J. A., Hensel, O., Richter, U., Carolina. Effect of different levels of water deficit on rapeseed (*Brassica napus* L.) crop. *Ciência e Agrotecnologia* . 35, 2011: 672-684.
- /3/ Bouchereau, A., Clossais-Besnard, N., Bensaoud, A., Leport, L., Renard, M.: Water stress effects on rapeseed quality. *European Journal of Agronomy*. 5, 1996: 19-30.
- /4/ Burlacu-Arsene, M. C., Leonte, C., Antonescu, M. C., Sandu, A. V., Minciuna, M. G. Influence of water deficit stress on some physio-morphological indices at some oilseed rape cultivars. 2015: 487-491.
- /5/ Carvalho, P., Foulkes, M. J.: Roots and uptake of water and nutrients. *Crop Science*. 2019: 107-130.
- /6/ Chaves, M. M., How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. *Annals of Botany*. 89, 2002: 907-916.
- /7/ Jabbari, H., Gholamhosseini, M., Naeemi, M., Nasiri, A.: Physiological response of early and late maturity oilseed rape cultivars to drought under two climate conditions. *Phyton – International Journal of Experimental Botany*. 87, 2018: 133-143.
- /8/ Müller, T., Lüttschwager, D., Lentzsch, P.: Recovery from drought stress at the shooting stage in oilseed rape (*Brassica napus*). *Journal of Agronomy and Crop Science*. 196, 2010: 81- 89.
- /9/ Raza, A. O. S., Muhammad, A. S., Shahid, A. M., Saleem, M. F., Khan, I. H., Ahmad, S., Ali, M., Iqbal, R.: Effects and management strategies to mitigate drought stress in oilseed rape (*Brassica napus* L.): a review. *Zemdirbyste-Agriculture*. 104, 2016: 85-94.

PODĚKOVÁNÍ

Práce byla podpořena grantem GAJU 045/2019/Z.



AKUMULÁCIA KOREŇOVEJ BIOMASY V TRÁVNOM PORASTE

ROOT BIOMASS ACCUMULATION IN GRASSLAND

JOZEF ČUNDERLÍK, MIRIAM KIZEKOVÁ

NÁRODNÉ POĽNOHOSPODÁRSKE A POTRVINÁRSKE CENTRUM – VÝSKUMNÝ ÚSTAV TRÁVNÝCH PORASTOV A HORSKÉHO POĽNOHOSPODÁRSTVA, MLÁDEŽNÍCKA 36 BANSKÁ BYSTRICA 974 21, CUNDERLIK@VUTPHP.SK

SUMMARY

Accumulation and production of root system was assessed at grassland over 2014–2015. The research objective was to determine the below-ground plant biomass (given as the weight of root dry matter) at a range of model sites.

Sampling was carried out by a steel cylinder ($\varnothing$ 50 mm) from 100–120 mm depth. In 2014, the highest amount of grassland root biomass ($2.14 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot 0.1 \text{ m}^{-1}$) was recorded at Tajov site and the lowest root production ($0.59 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot 0.1 \text{ m}^{-1}$) was found at Medovarce site.

In 2015, the highest production of roots ($2.25 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot 0.1 \text{ m}^{-1}$) was recorded at Tajov site and the lowest one ($0.55 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot 0.1 \text{ m}^{-1}$) again at Medovarce site. The total root production was higher by 30% in 2015 than in 2014.

Key words: permanent grassland; root biomass; model sites

SÚHRN

Akumulácia koreňového systému bola hodnotená na trávnych porastoch v rokoch 2014–2015. Výskumným cieľom bolo určiť biomasu podzemných rastlín (udávanú ako hmotnosť sušiny koreňa) na vybraných modelových lokalitách.

Odber vzoriek sa uskutočňoval oceľovým valcom ($\varnothing$ 50 mm) v hĺbke 100–120 mm. V roku 2014 bolo v lokalite Tajov zaznamenané najvyššie množstvo biomasy trávnych porastov ($2,14 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot 0.1 \text{ m}^{-1}$) a v lokalite Medovarce bola zistená najnižšia produkcia koreňov ($0,59 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot 0.1 \text{ m}^{-1}$). V roku 2015 bola najvyššia produkcia koreňov ($2,25 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot 0.1 \text{ m}^{-1}$) zaznamenaná v lokalite Tajov a najnižšia ($0,55 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot 0.1 \text{ m}^{-1}$) opäť v lokalite Medovarce. Celková produkcia koreňov bola v roku 2015 vyššia o 30 % ako v roku 2014.

Kľúčové slová: trvalý trávny porast; koreňová biomas; modelové lokality

Úvod

Koreňová biomas trávnych porastov je výrazným zdrojom organickej hmoty, ktorá zlepšuje štruktúru a úrodnosť pôdy. Jej množstvo je mnohonásobne vyššie než pri jednoročných plodinách na ornej pôde. Koreňový systém (biomasa) trávnych porastov má nezanedbateľný význam aj v ochrane životného prostredia. Plní protieróznú funkciu a zabezpečuje ochranu nadzemnej časti produkcie pred zvýšenou koncentráciou ťažkých kovov, ktoré by sa ináč dostali do potravinového reťazca. Hlavným pestovateľským cieľom u koreňov je nielen mohutnosť a zlepšenie pomeru nadzemnej hmoty rastliny ku koreňom v prospech koreňov, ale aj hlboké prenikanie koreňov do pôdy, teda zvyšovanie úrovne suchovzdornosti a čiastočne odolnosti voči vysokým teplotám a hlavne výkyvom v priebehu počasia. Potvrdzujú to aj výsledky prác [1].

MATERIÁL A METÓDY

V predloženej práci sme hodnotili akumuláciu a tvorbu koreňového systému v trávnych porastoch v priebehu vegetačného obdobia. Cieľom práce bolo stanoviť produkciu podzemnej rastlinnej biomasy (vyjadrené hmotnosťou sušiny koreňov) v priebehu rokov 2014–2015 pri rôznych prátotechnických systémoch obhospodarovania (kosenie, pasenie) na vybraných modelových územiach Slovenska: Medovarce (151 m n. m., $48^{\circ}12,168'N$, $18^{\circ}55,733'E$); Závod (170 m n. m., $48^{\circ}34,987'N$, $16^{\circ}59,968'E$); Tajov (647 m n. m., $48^{\circ}44,837'N$, $19^{\circ}03,153'E$); Čoltovo (354 m n. m., $48^{\circ}28,623'N$, $20^{\circ}27,868'E$); Vikartovce (945 m n. m., $48^{\circ}57,011'N$, $20^{\circ}06,875'E$); Strážany (114 m n. m., $48^{\circ}49,314'N$, $21^{\circ}51,923'E$). Odber vzoriek sa uskutočnil pomocou oceľového valca o priemere 50 mm do hĺbky 100–120 mm. Odobra-

ná vzorka obsahovala koreňovú biomasu a strnisko porastu (zónu odnožovania). Výsledky sme vyhodnotili štatistickou metódou viacnásobnej analýzy variancie s použitím LSD testu na 95 hranici preukaznosti.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Autori [2] konštatujú, že jedným zo základných ukazovateľov prirodzenej úrodnosti pôdy je obsah a kvalita organickej hmoty v pôde. Dôležitým zdrojom jej dopĺňania sú koreňové a pozberové zvyšky rastlín. Z hľadiska kvantity a kvality sú veľmi cenné koreňové zvyšky viacročných krmovín.

V roku 2014 sme na trávnych porastoch najväčšie množstvo koreňovej biomasy ($2,14 \text{ kg.m}^{-2} \cdot 0,1 \text{ m}^{-1}$) zaznamenali v Tajove (tab. 1). Najnižšia produkcia koreňovej hmoty sa dosiahla v Medovarciach ($0,59 \text{ kg.m}^{-2} \cdot 0,1 \text{ m}^{-1}$). Druhú najvyššiu produkciu ($1,97 \text{ kg.m}^{-2} \cdot 0,1 \text{ m}^{-1}$) dosiahol opustený trávny porast vo Vikartovciach. Na modelovom území Čoltovo - Aluvium, bol nárast produkcie koreňov 45 % a 41 %, čo v priemere predstavuje nárast o 43 % v porovnaní s ďalšími odberovými miestami na tomto území.

Najvyššiu produkciu koreňov v roku 2015 (tab. 2), dosiahol porast v Tajove ($2,25 \text{ kg.m}^{-2} \cdot 0,1 \text{ m}^{-1}$). Najnižšia akumulácia koreňov ($0,55 \text{ kg.m}^{-2} \cdot 0,1 \text{ m}^{-1}$) sa zopakovala z roku 2014 na modelovom území Medovarce. Vyrovnané hodnoty boli na území Čoltovo, ktoré sa pohybovali v rozpätí $1,65\text{--}1,73 \text{ kg.m}^{-2} \cdot 0,1 \text{ m}^{-1}$. Celková produkcia koreňov bola vyššia v roku 2015 o 30 % v porovnaní s rokom 2014.

Životnosť koreňov tráv je relatívne veľmi krátka. Obyčajne dosahuje maxima 1–1,5 roka. Odumieranie a tvorba koreňov prebieha súčasne takmer po celý rok. Potvrzuje to aj výskumná správa [4]. Podzemná bio-

masa trávnych porastov nestráca význam ani po odumretí koreňového systému. Popri iných zložkách sú odumierajúce korene spoločne s koreňovými exsudátmi rastlinnými zdrojmi primárnych organických látok, ktoré tvoria organickú hmotu v pôde. Pôdna organická hmota po premene na pôdny humus má priaznivý vplyv na vytváranie pôdnych agregátov, na sorpčné a ionto výmenné procesy v pôde, vlhový režim v pôde, využiteľnosť rastlinných živín, detoxikáciu škodlivých zlúčenín a čiastočne aj ťažkých kovov. Kosenie a spásanie trávnych porastov znamená väčšinou zníženie z celkovej biomasy koreňov a ich väčšie sústredenie do vrchnejších vrstiev pôdy. Získané výsledky akumulácie koreňovej hmoty v TTP za roky 2014 a 2015 sme vyhodnotili aj matematicko-štatistickou metódou (multifaktorom) analýzou variancie pri 95 % hladine preukaznosti. Na premenlivosti akumulácie koreňovej hmoty sa významne podieľali roky (tab. 3). Preukazne ($P < 0,05$) vyššiu produkciu koreňov ($1,54 \text{ kg.m}^{-2} \cdot 0,1 \text{ m}^{-1}$) sme dosiahli v roku 2015. Štatistický preukazne vyššiu tvorbu koreňovej hmoty za sledované roky 2014 a 2015 sme zaznamenali na modelových územiach: Tajov, Čoltovo (plato), Čoltovo (stred), Čoltovo (aluvium), Vikartovce (opustený) a Stráňany. Preukazne najnižšie ($P < 0,05$) hodnoty akumulácie koreňovej hmoty ($0,55\text{--}0,59 \text{ kg.m}^{-2} \cdot 0,1 \text{ m}^{-1}$) sme zaznamenali na území Medovarce. V podhorských a horských oblastiach zabezpečujú trávne porasty popri produkčnej funkcii aj dôležitú mimoprodukčnú úlohu. Sú dôležitým prvkom ekologickej stability krajiny a z tohto aspektu je veľmi významný koreňový systém trávnych porastov. Uvedené výsledky sú v súlade s prácami [3]. Trvalé trávne porasty v týchto podmienkach tvoria značne heterogénne spoločenstvá ovplyvňované predovšetkým pôdno-klimatickými podmienkami.

Tab. 1: Hmotnosť koreňovej hmoty za rok 2014

	Trvalý trávny porast
	hmotnosť kor. hmoty ($\text{kg.m}^{-2} \cdot 0,1 \text{ m}^{-1}$)
Medovarce	0,59
Závod	0,88
Tajov	2,14
Čoltovo-Plato	0,60
Čoltovo-Stred	0,65
Čoltovo-Aluvium	1,09
Vikartovce	0,94
Vikartovce- opustený	1,97
Stráňany	0,86

Tab. 2: Hmotnosť koreňovej hmoty za rok 2015

	Trvalý trávny porast
	hmotnosť kor. hmoty ($\text{kg.m}^{-2} \cdot 0,1 \text{ m}^{-1}$)
Medovarce	0,55
Závod	1,26
Tajov	2,25
Čoltovo-Plato	1,65
Čoltovo-Stred	1,73
Čoltovo-Aluvium	1,72
Vikartovce	1,15
Vikartovce- opustený	2,11
Stráňany	1,50

Tab. 3: Analýza variancie pre hodnotenie akumulácie koreňovej hmoty na TTP za roky 2014–2015

Rok	Hmotnosť koreňov	Modelové územia								
		Hmotnosť koreňov (kg.m-2.0,1.m-1)								
		Medovarce	Závod	Tajov	Čoltovo Plato	Čoltovo Stred	Čoltovo Aluvium	Vikartovce	Vikartovce opustený	Strážany
2014	1,08	0,59	0,88	2,14	0,60	0,65	1,09	0,94	1,97	0,86
	a	ab	abc	e	ab	ab	abcde	abcd	cde	abc
2015	1,54	0,55	1,26	2,25	1,65	1,73	1,72	1,15	2,11	1,50
	b	a	abcde	e	abcde	bcde	abcde	abcde	de	abcde
Hd $\alpha_{0,05}$	0,222	1,175	1,175	1,175	1,175	1,175	1,175	1,175	1,175	1,175

ZÁVER

Na základe dosiahnutých výsledkov odporúčame intenzívnejšie využívať systém pestovania krmovín na TTP, alebo prísевy ďatelinotravných miešaniek do travných porastov. Trvalé travné porasty (TTP) sú ekologicky stabilnejšie, lepšie prispôsobené danému stanovištu a spolu s optimálnou minerálnou výživou dokážu poskytovať primeranú produkciu koreňovej a nadzemnej biomasy, ako krmoviny na ornej pôde, ktoré sú ekonomicky náročnejšie a narúšajú dynamickú rovnováhu ekosystému.

Množstvo koreňovej hmoty a jej vertikálne rozloženie súvisí s intenzitou obhospodarovania travných porastov, pôdnymi podmienkami a druhovým zložením.

LITERATÚRA

/1/ Gáborčík, N., Tomaškin, J.: Produkcia a akumulácia koreňovej hmoty kultivarov ďateliny plazivej (*Trifolium repens* L.). In Acta fytotechnica et zootechnica. Nitra: SPU, 2001, roč. 4, č. 4, ISSN 1335-258X. s. 89–92.

/2/Gregorová, H., Kečkeméthy, A., Fuksová, E.: Produkcia a kvalita koreňovej hmoty siateho pasienkového porastu. Agrochémia, 29, 1989, č. 3, s. 77–79.

/3/Tomaškin, J., Zimková, M.: Accumulation and production of root system in grassland ecosystems. In Zeszyty problemowe postępów nauk rolniczych, zeszyt 478, Kształtowanie środowiska, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn. Warszawa: Polska akademia nauk, 2001, ISSN 0084-5477. s.71–77.

/4/Tomaškin, J.: Role of non-productional functions of grassland in soil protection and environment. In Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences. 2007, Vol. 2, No. 1, ISSN 1842-4090. p. 33–38.

POĎAKOVANIE

Tento príspevok bol spracovaný s podporou Agentúry na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy APVV–0098–12.



AKUMULÁCIA ŤAŽKÝCH KOVŮ V PÁLKE ŠIROKOLISTEJ, OSTRICI POBŘEŽNEJ, TRSTI OBYČAJNEJ A BAHNIČKE MOČIARNEJ Z LOKALÍT PRI VODNÝCH NÁDRŽIACH V MALÝCH KARPATOCH

ACCUMULATION OF HEAVY METALS IN BROADLEAF, GREATER POND SEDGE, COMMON REED AND CREEPING SPIKE RUSH FROM LOCATIONS NEAR WATER BODIES IN MALÉ KARPATY MTS.

AGÁTA FARGAŠOVÁ¹, MARIANNA MOLNÁROVÁ¹, JANA RUŽIČKOVÁ¹, BLANKA LEHOTSKÁ²

¹UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE, PRÍRODOVEDECKÁ FAKULTA, KATEDRA ENVIRONMENTÁLNEJ EKOLÓGIE, MLYNSKÁ DOLINA, ILKOVIČOVA 6, 842 15 BRATISLAVA 4, SR, MARIANNA.MOLNAROVA@UNIBA.SK, JANA.RUZICKOVA@UNIBA.SK, AGATA.FARGASOVA@UNIBA.SK

²UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE, PRÍRODOVEDECKÁ FAKULTA, KATEDRA KRAJINNEJ EKOLÓGIE, MLYNSKÁ DOLINA, ILKOVIČOVA 6, 842 15 BRATISLAVA 4, SR, BLANKA.LEHOTSKA@UNIBA.SK

SUMMARY

The Malé Karpaty Mts. are known by occurrence of old mining sites near Pernek and Pezinok, where higher content of arsenic, antimony and lead in the geological base were observed. Antimony has been intensive mined in these localities by the middle of the 20th century and with As could enter into streams and water reservoirs near Malé Karpaty Mts. These elements might represent environmental hazard for biota. In this work, we studied the presence of these toxic metals in broadleaf (*T. latifolia*), greater pond sedge (*C. riparia*), common reed (*P. australis*) and creeping spike rush (*E. palustris*) that were harvested near the water bodies close to village Budmerice, Kuchyňa, Pezinok and Rohožník. For the increased concentrations of lead (to a lesser extent As) in the above ground parts of plants as well as for Cd in the roots of these plants they could be suitable candidates for phytoremediation of water and sediments.

Key words: plants; heavy metals; accumulation; water bodies; translocation index (Ti)

SOUHRN

Malé Karpaty sú známe starými banskými dielami, ktoré sa nachádzajú v oblastiach zvýšeného prirodzeného výskytu As, Cd, Pb a Sb v geologickom podloží v okolí Perneku a Pezinku. V týchto oblastiach sa ešte do polovice 20. st. aktívne ťažil antimón, ktorý sa spolu s arzénom takto môže dostávať do vodných tokov a nádrží v blízkosti Malých Karpát. Tieto prvky môžu následne predstavovať environmentálne riziko pre biotu. V práci sme študovali prítomnosť týchto toxických prvkov v pálke širokolistej (*T. latifolia*), ostrice pobrežnej (*C. riparia*), trsti obyčajnej (*P. australis*) a bahničke močiarnej (*E. palustris*) zbieraných v blízkosti vodných nádrží pri obciach Budmerice, Kuchyňa, Pezinok a Rohožník. Nakoľko v biomase zbieraných rastlín sme stanovili zvýšené koncentrácie Pb (v menšej miere aj As) v nadzemnej časti a Cd v koreňoch, mohli by byť vhodnými kandidátmi na fytoremediácie vôd a sedimentov.

Klíčová slova: rastliny; ťažké kovy; akumulácia; vodné nádrže; translokačný index (Ti)

ÚVOD

Náš výskum je rozšírením výsledkov, ktoré už boli publikované na tejto konferencii v roku 2018 /1/. Malé Karpaty vďaka svojmu geologickému podložíu a bohatej banskej činnosti v minulosti obsahujú zvýšené koncentrácie As, Cd, Sb, Pb, ako aj pre rastliny esenciálne prvky Cu a Zn /2/, ktoré sa môžu z podložia, pôdy alebo sedimentov dostávať do vodných tokov a transportovať do vodných nádrží na úpätí tohto pohoria. Navyše týždeň pred odbermi zasiahla oblasť toku Gidry povodeň (7. 6. 2011), a zvýšené vodné hladiny boli zaznamenané aj v Pezinku na Blatine, čo mohlo zvýšiť transport prvkov z geologického podložia do nižších oblastí sledovaných miest /3/. Takto sa aj toxické prvky stávajú biopristupnejšími pre rastliny rastúce na brehoch vodných nádrží, ktoré sme sledovali pri obciach Budmerice, Kuchyňa, Pezinok a Rohožník. Vybrané boli rastliny rastúce na brehoch nádrží, z ktorých niektoré sú známe ako dobré akumulátory kovov, a využívajú sa aj v bioremediáciách (napr. pálka úzkolistá) /4/.

MATERIÁL A METÓDY

Zber rastlinného materiálu sme v oblasti Malých Karpát robili na lokalitách situovaných v blízkosti vodných nádrží (VN) vyznačených na obr. 1.



Obr. 1: Mapa odberových miest pri vodných nádržiach (VN) v Malých Karpatoch

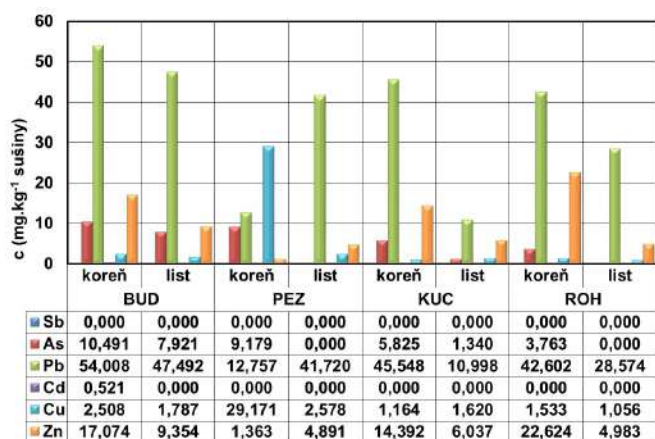
BUD - VN pri Budmericiach, KUC - VN pri Kuchyni, PEZ - VN pri Pezinku v Kučišdorfskej doline, ROH - VN pri Rohožníku

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Podobne ako pre iné rastliny v minulosti /1/, sme prítomnosť Sb nepotvrdili v žiadnej zo sledovaných rastlín (grafy 1 až 4), preto ani v tab. 1 nie pre tento kov uvedený translokačný index. Cd sme v rastlinách pozorovali len v koreňoch. V tab. 1 je zvýraznená hodnota $Ti > 1,00$; ktorá poukazuje na zvýšenú translokáciu hlavne Pb do nadzemnej časti rastlín na viacerých lokalitách. Podobne, ako pálka úzkolistá /4/, aj pálka širokolistá by mohla byť využívaná na bioakumuláciu toxických kovov.

Tab. 1: Translokačné indexy (Ti) pre kovy v rastlinách na lokalitách pri vodných nádržiach

druh rastliny	Typha latifolia				Carex riparia Car. sp.			Phragmites australis			Eleocharis palustris	
lokalita	BUD	KUC	PEZ	ROH	KUC	PEZ	ROH	BUD	KUC	PEZ	BUD	PEZ
Ti (As)	0,76	0,23			3,05				0,35	0,25	0,32	
Ti (Pb)	0,88	0,24	3,27	0,67	1,45	0,52	1,98	2,05	10,73	0,92		1,35
Ti (Cd)												
Ti (Cu)	0,71	1,39	0,09	0,69	0,97		1,27			0,29		
Ti (Zn)	0,55	0,42	3,59	0,22	0,91	4,23	0,34		1,07			1,52

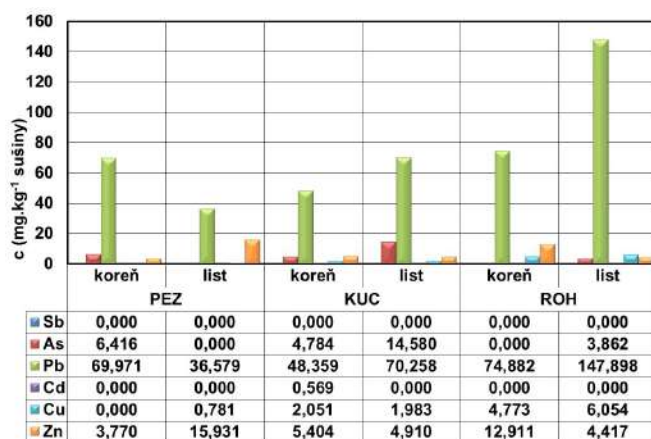


Graf 1: Koncentrácia kovov v koreňoch a listoch Typha latifolia na lokalitách pri vodných nádržiach (n = 3)

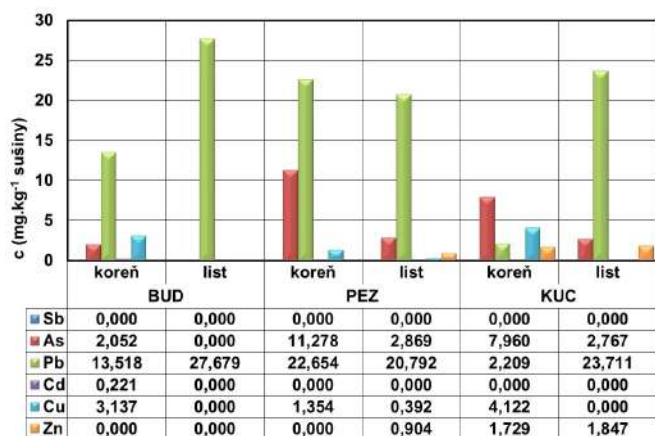
Z miestnej vegetácie sme v júni 2011 zbierali: pálku širokolistú (*Typha latifolia* L.), ostricu pobrežnú (*Carex riparia* (Curtis) Gray), trst' obyčajnú (*Phragmites australis* (Cav.) Steud.) a bahničku močiarnu (*Eleocharis palustris* (L.) Roem. et Schult.).

Rastliny sa preniesli v chlade do laboratória, umyli vo vodovodnej a destilovanej vode a po oddelení koreňov a listov sa sušili pri 55 °C. Min. 11 mg sušiny sa počas noci rozkladalo v 5 ml konc. $\text{HNO}_3\text{:H}_2\text{O}_2$ (4:1) pri laboratórnej teplote. Na ďalší deň sa vzorka mineralizovala pri 180 °C počas 1 h v autoklávoch ZA-1 (ČR) /5/. Po ochladení sa zmes doplnila na 25 ml destilovanou vodou a obsah kovov sa elektrochemicky zmeral na prístroji EcaFlow 150 GLP (Istran, SR).

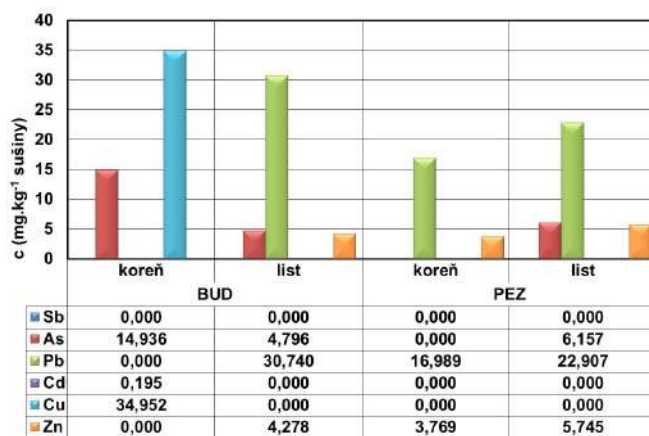
Metóda je porovnateľná s metódou AAS /6/. Translokáciu kovov sme vyjadrili translokačným indexom Ti /7/: $Ti = (\text{koncentrácia kovu v liste}) / (\text{koncentrácia kovu v koreni})$.



Graf 2: Koncentrácia kovov v koreňoch a listoch Carex riparia* a Carex sp.** na lokalitách pri vodných nádržiach (n = 3) *(PEZ); *(KUC a ROH)



Graf 3: Koncentrácia kovov v koreňoch a listoch *Phragmites australis* na lokalitách pri vodných nádržiach ($n = 3$)



Graf 4: Koncentrácia kovov v koreňoch a listoch *Eleocharis palustris* na lokalitách pri vodných nádržiach ($n = 3$)

ZÁVER

Keďže v nadzemných častiach všetkých rastlín zbieraných pri VN sa potvrdila zvýšená akumulácia Pb a v *C. riparia* zbieranej pri VN pri Pezinku aj As dá sa konštatovať, že vegetácia tvorená týmito rastlinami by mohla byť využitá v rámci remediačných postupov v oblastiach so zvýšeným obsahom zmienených prvkov.

LITERATÚRA

- /1/ Molnárová, M., Ružičková, J., Lehotská, B., Filová, A., Fargašová, A.: Ťažké kovy v rastlinách z lokalít zaťažených starou banskou činnosťou. Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2017: Sborník recenzovaných vědeckých prací. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2017, s. 82-85. Dostupné: <http://ife.sk/wp-content/uploads/2016/10/Zborn%C3%ADk-2017-ilovepdf-compressed.pdf>, cit. 24.5.2019.
- /2/ Veselský, J., Forgáč, J., Mejeed, S.Y.: Kontaminácia pôdy a aktívnych riečnych sedimentov Malých Karpát (oblast Pezinok – Pernek). Mineralia Slovaca, 28, 1996: 209-218.
- /3/ Anonymus: Povodeň na toku Gidra. Stavebná fakulta STU v Bratislave, Katedra vodného hospodárstva krajiny. Dostupné: <http://www.kvhk.sk/sk/fotogaleria/povoden-na-toku-gidra>, cit. 23.5.2019.
- /4/ Frankovská, J., Slaninka, I., Kordík, J. a kol.: Atlas sanačných metód environmentálnych záťaží. Štátny geologický ústav Dionýza Štúra, Bratislava, 2010, 362 s. Dostupné: <https://www.minzp.sk/files/sekcia-geologie-prirodných-zdrojov/atlas-sanacnych-metod-environmentálnych-zatazi.pdf>, cit. 24.5.2019.
- /5/ Molnárová, M., Fargašová, A.: Relationship between various physiological and biochemical parameters activated by cadmium in *Sinapis alba* L. and *Hordeum vulgare* L. Ecological Engineering, 49, 2012: 65-72.
- /6/ Beinrohr, E.: Prietokové elektroanalytické metódy v praxi. 2 THETA: Český Těšín, Česká republika, 2013, 112 s.
- /7/ Chandra, R., Azeez, P.A.: Bioaccumulation of metals in different parts of weed species at proposed bauxite mines. Advanced Materials Research, 71-73, 2009: 609-612.

POĎAKOVANIE

Výskum bol podporený grantom MŠVVaŠ SR VEGA 1/0332/18.



ENVIRONMENTÁLNY POTENCIÁL PÔD V IMISNOM POLI HÁLD A ODKALÍSK NA ÚZEMÍ STREDNÉHO SPIŠA (SLOVENSKO)

ENVIRONMENTAL POTENTIAL SOIL IN EMISSION FIELD OF HEAPS AND TAILING IMPOUNDMENT IN CENTRAL SPIŠA (SLOVAKIA)

JURAJ FAZEKAŠ, DANICA FAZEKAŠOVÁ

PREŠOVSKÁ UNIVERZITA V PREŠOVE, FAKULTA MANAŽMENTU, KATEDRA ENVIRONMENTÁLNEHO MANAŽMENTU, KONŠTANTÍNOVA 16, 08001 PREŠOV, SLOVENSKO, JURAJ.FAZEKAS@UNIPO.SK

SUMMARY

The paper presents the results of the evaluation of the environmental potential of soils in the area affected by the long-term mining activity. The environmental potential index consists of a numerical expression of the ability to provide water storage, immobilization of risk elements, and immobilization and transformation of organic pollutants. The exceedance of the limit values Hg, Cu, Zn, As, Cd and Pb was found in the soils of the investigated area of central Spiš. The rate of soil immobilization of risk elements is very low to high. The point value expressing the ability of agricultural lands to provide environmental functions is very low to medium in the studied areas, the financial expression of the values of the environmental potentials indexes is in the range of 7 100 to 14 000 € .ha⁻¹, while the average value of 1 ha of agricultural land in Slovakia is about 14 200 €.

Key words: ecosystem services; soil functions; information system; hazardous substances

SÚHRN

Práca prezentuje výsledky hodnotenia environmentálneho potenciálu pôd v oblasti ovplyvnenej dlhodobou banskou činnosťou. Index environmentálneho potenciálu pozostáva z číselného vyjadrenia miery schopnosti zabezpečovať akumuláciu vody, imobilizáciu rizikových prvkov a imobilizáciu a transformáciu organických polutantov. V pôdach skúmanej oblasti stredného Spiša bolo zistené prekročenie limitných hodnôt Hg, Cu, Zn, As, Cd a Pb a miera schopnosti pôd imobilizovať rizikové prvky je veľmi nízka až vysoká. Bodová hodnota vyjadrujúca schopnosť poľnohospodárskych pôd zabezpečovať environmentálne funkcie je na skúmaných územiach veľmi nízka až stredná, finančné vyjadrenie hodnôt indexov environmentálneho potenciálu pôd je v rozsahu 7 100 až 14 000 € .ha⁻¹, pričom priemerná hodnota 1 ha poľnohospodárskych pôd Slovenska je asi 14 200 €.

Kľúčové slová: ekosystémové služby; funkcie pôdy; informačný systém; rizikové látky

Úvod

Ťažké kovy sú považované za jeden z najhlavnejších zdrojov znečistenia prostredia, od kedy bol zistený ich významný vplyv na ekologickú kvalitu prostredia /7/. Zvyšujúce sa koncentrácie ťažkých kovov, najmä mobilných foriem, môžu spôsobiť závažné environmentálne problémy týkajúce sa kontaminácie pôdy vody a bioty /3/. Kontaminácia ťažkými kovmi v prostredí predstavuje svetový záujem kvôli toxicite kovov a ich potenciálnej hrozbe na ľudské zdravie /5/.

Ťažké kovy sú spojené so zložkami pôdy rôznymi spôsobmi a tieto spojenia indikujú ich mobilitu v pôdach, ako aj ich bioprístupnosť /1/. Vplyv ťažkých kovov na životné prostredie je zvýraznený ich nedegradovateľnosťou. Ťažké kovy prebiehajú globálnym ekologickým cyklom, v ktorom hlavnú úlohu má pôda a voda. Pôda nevystupuje ako pasívny akceptor ťažkých kovov, znečistená pôda sa stáva zdrojom znečistenia ostatných zložiek životného prostredia a potravinového reťazca /4/.

V ekosystémoch Zeme má pôda nenahraditeľné postavenie aj vzhľadom na schopnosť zabezpečovať také ekologické (mimoprodukčné) funkcie, akými sú akumulácia vody či imobilizácia a transformácia cudzorodých látok /9/.

Cieľom práce bolo zhodnotiť environmentálny potenciál poľnohospodárskych pôd na území stredného Spiša, ktoré bolo v dôsledku dlhodobej a intenzívnej baníckej a upravnárskej činnosti znečistené ťažkými kovmi a krajina bola deformovaná rozsiahlymi antropogénnymi formami.

MATERIÁL A METÓDY

Skúmané územie stredného Spiša (Krompachy, Rudňany, Slovinky a Poráč) sa nachádza v Spišskom regióne, ktorý predstavuje územie 2. environmentálnej kvality, t.j. región s mierne narušeným prostredím. Skúmané územie stredného Spiša sa čiastočne nachádza v Rudnianskom okrsku so značne narušeným prostredím /6/. V dôsledku dlhodobej a intenzívnej baníckej a upravárenskej činnosti bola oblasť znečistená ťažkými kovmi a krajina deformovaná rozsiahlymi antropogénnymi formami. Pri dobývaní ložísk nerastných surovín sa spolu s úžitkovou zložkou premiestňovali aj veľké objemy zbytkového materiálu, ktorý bol následne uskladnený v podobe banských depónií, hald a odkalísk, ktoré značne narušili krajinnú štruktúru a kontaminovali jednotlivé zložky životného prostredia. V pôdach v skúmanej oblasti bolo zistené prekročenie limitných hodnôt Hg, Cu, Zn, As, Cd a Pb /8/.

Na území stredného Spiša bolo skúmaných a hodnotených 8 lokalít, ktoré sa využívajú ako trvalé trávne porasty a nachádzajú sa v imisnom poli hald a odkalísk. Environmentálny potenciál poľnohospodárskych pôd bol hodnotený podľa metodiky Indexu environmentálneho potenciálu poľnohospodárskych pôd (IEPP) /9/. IEPP pozostáva z číselného vyjadrenia miery schopnosti zabezpečovať akumuláciu vody, imobilizáciu rizikových prvkov, imobilizáciu organických polutantov a transformáciu organických polutantov. Samotný kód IEPP je funkciou štyroch vybraných mimoprodučných funkcií. Miera schopnosti pôd akumulovať vodu, imobilizovať rizikové prvky, imobilizovať organické polutanty a transformovať organické polutanty je vyjadrená v nasledujúcej stupnici: 1 - veľmi vysoká schopnosť, 2 - vysoká schopnosť, 3 - stredná schopnosť, 4 - nízka schopnosť, 5 - veľmi nízka schopnosť. Miera je vyjadrená aj v bodových a v finančných hodnotách /9/. Pre hodnotenie relevantných environmentálnych funkcií pôd sme využili informačný systém o poľnohospodárskych pôdach Slovenska, ktorý spravuje VÚPOP Bratislava.

Potenciál schopnosti pôd imobilizovať rizikové prvky je vyjadrený kumulatívnou rovnicou:

$$\text{potenciál filtrácie} = \text{potenciál sorpcie} + \text{potenciál celkového obsahu rizikových prvkov}.$$

Potenciál sorpcie je funkciou kvalitatívnych faktorov (pH, Q46) a kvantitatívnych faktorov (Cox, hrúbka humusového horizontu). Je vyjadrený v bodoch, pričom veľmi vysokej schopnosti prislúcha hodnota 0–1,00 bodov; vysokej 1,01–2,00; strednej 2,01–3,00; nízkej 3,01–4,00 a veľmi nízkej nad 4,00 bodov. Potenciál celkového obsahu rizikových prvkov zahŕňa všetky formy, v ktorých sa konkrétny prvok v pôde nachádza a hodnotí sa podľa limitných hodnôt uvedených v Zákone č. 220/2004 Z.z. /10/ so zohľadnením zrnitostných kategórií.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Prvý oficiálny odborný a politicko-právny dokument o funkciách pôdy a potrebách ich ochrany bol publikovaný v odporúčaní Rady Európy R(92)8 o ochrane pôdy (1992), kde sa uvádzajú hlavné funkcie pôdy s odporúčaním, aby sa stali kľúčovým podkladom nielen pre ďalší výskum, ale aj pri politickom rozhodovaní o ochrane a využívaní pôdy v členských štátoch EÚ. IEPP slúžia ako priestorový identifikátor vyjadrujúci heterogenitu schopnosti poľnohospodárskych pôd Slovenska zabezpečovať vybrané environmentálne funkcie (ekosystémové služby). V rámci ekosystémových služieb regulačné ekosystémové služby umožňujú život v stabilnom, odolnom a zdravom životnom prostredí (čistenie vody, likvidácia odpadov, ochrana ovzdušia, biologická detoxikácia, ...) /2/.

Na základe výsledkov hodnotenia environmentálneho potenciálu poľnohospodárskych pôd vyplynulo, že miera schopnosti pôd imobilizovať rizikové prvky je veľmi nízka až vysoká území stredného Spiša, miera schopnosti pôd imobilizovať organické polutanty je veľmi nízka až nízka a miera transformovať organické polutanty je stredná až vysoká (tab. 1).

Bodová hodnota vyjadrujúca schopnosť poľnohospodárskych pôd zabezpečovať environmentálne funkcie je na skúmaných územiach nízka až stredná (30–60 bodov), pričom priemerná bodová hodnota poľnohospodárskych pôd Slovenska je 55,5 bodov. Finančné vyjadrenie hodnôt indexov environmentálneho potenciálu pôd je v rozsahu 7 100 až 14 000 €·ha⁻¹ pre naše skúmané územie, priemerná hodnota 1 ha poľnohospodárskych pôd Slovenska je asi 14 200 € /9/. Z uvedeného vyplýva, že finančná hodnota je pod úrovňou priemernej hodnoty 1 ha poľnohospodárskych pôd Slovenska.

Tab. 1: Index environmentálneho potenciálu pôd (IEPP) pre skúmanú oblasť stredného Spiša

Lokalita	IEPP	Miera schopnosti pôd				bodová hodnota	€/ha ⁻¹
		akumulovať vodu	imobilizovať rizikové prvky	imobilizovať organické polutanty	transformovať organické polutanty		
SS 1	5553	veľmi nízka	veľmi nízka	veľmi nízka	stredná	30	-
SS 2	5552	veľmi nízka	veľmi nízka	veľmi nízka	vysoká	35	7100
SS 3	3243	stredná	vysoká	nízka	stredná	60	14000
SS 4	4542	nízka	veľmi nízka	nízka	vysoká	45	10000
SS 5	4542	nízka	veľmi nízka	nízka	vysoká	45	10000
SS 6	4243	nízka	vysoká	nízka	stredná	55	12000
SS 7	4242	nízka	stredná	nízka	vysoká	60	12800
SS 8	5542	veľmi nízka	veľmi nízka	nízka	vysoká	40	8000
Priemer	4442	nízka	nízka	nízka	vysoká	46	-

ZÁVER

Na základe výsledkov hodnotenia a mapovania ekosystémových služieb pôd (Index environmentálneho potenciálu pôd) vyplynulo, že miera schopnosti pôd imobilizovať rizikové prvky je veľmi nízka až vysoká na území stredného Spiša. Bodová hodnota vyjadrujúca schopnosť poľnohospodárskych pôd zabezpečovať environmentálne funkcie je na skúmaných územiach veľmi nízka až stredná, finančné vyjadrenie hodnôt indexov environmentálneho potenciálu pôd je v rozsahu 7 100 až 14 000 €/ha⁻¹, pričom priemerná hodnota 1 ha poľnohospodárskych pôd Slovenska je asi 14 200 €.

LITERATÚRA

- /1/ Ahumada, I., Mendoza, J.: Effect of acetate, citrate and lactate in corporation on distribution of Cd and Cu chemical forms in soils. Communication in Soil Science and Plant Analysis, 32, 2001: 5-6.
- /2/ Bielek, P.: Pôdoznalectvo pre enviromanažérov. Nitra: SPU, 2017: 318 s.
- /3/ Chopin, E.I.B., Alloway, B.J.: Distribution and mobility of trace elements in soil and vegetation around the mining and smelting areas of Tharsis, Riotinto and Huelva, Iberian Pyrite Belt, SW Spain. Water Air and Soil Pollution, 182, 2007: 245-261.
- /4/ Fazekašová, D., Barančíková, G., Torma, S., Ivanová, M., Manko, P.: Chemické a environmentálne aspekty zložík životného prostredia a krajiny. Prešov: PU v Prešove Fakulta manažmentu. 2014, 257 s.
- /5/ Kashem, A., Singh, B.R., Kawai, S.: Mobility and distribution of cadmium, nickel and zinc in contaminated profiles from Bangladesh. Nutrient Cycling Agroecosystems, 77, 2007: 187-198.
- /6/ Klinda, J., Mičík, T., Némethová, M., Slámková, M.: Environmentálna regionalizácia Slovenskej republiky. Bratislava: MŽP SR, 2016, 134 s.
- /7/ Sastre, J., Sahuquillo, A., Vydal, M., Rauret, G.: Determination of Cd, Cu, Pb and Zn in environmental samples: microwave-assisted total digestion versus aqua regia and nitric acid extraction. Analytica Ch.Acta, 462, 2002: 59-72.
- /8/ Takáč, P., Szabová, T., Kozáková, Ľ., Benková, M.: Heavy metals and their bioavailability from soils in the long-term polluted Central Spiš region of SR. Plant Soil Environment, 55, 2009: 167-172.
- /9/ Vilček, J.: Mapovanie a hodnotenie environmentálnych funkcií poľnohospodárskych pôd Slovenska. Geografický časopis / Geographical Journal, 66, 2014: 287-304.
- /10/ Zákon č. 220/2004 Z.z. o ochrane a využívaní poľnohospodárskej pôdy.

POĎAKOVANIE

Príspevok vznikol s podporou Vedeckej grantovej agentúry MŠVVaŠ SR a SAV na projekt č. 1/0313/19 Ekosystémový prístup ako parameter moderného environmentálneho výskumu kontaminovaných území a Kultúrnej a edukačnej grantovej agentúry MŠVVaŠ SR na projekt č. 011PU-4/2019 Implementácia environmentálneho vzdelávania a výskumu do výučby manažérskych predmetov v študijnom programe manažment.



TEST TOXICITY TĚŽKÝCH KOVŮ NA SAZENICE SMRKU SE ZAMĚŘENÍM NA OBLAST JABLUNKOVSKÉHO PRŮSMYKU

TEST OF TOXICITY OF HEAVY METALS ON TRANSPLANTS OF SPRUCE WITH THE REGARD OF JABLUNKOV PASS

PŘEMYSL FIALA, DUŠAN REININGER, TOMÁŠ SVOBODA

ÚSTŘEDNÍ A KONTROLNÍ ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝ, ODDĚLENÍ PŮDY A LESNICTVÍ, HROZNOVÁ 2, BRNO, PŘEMYSL.
FIALA@UKUZ.CZ

SUMMARY

The damage of the groups of spruce young plants in the area of Jablunkov Pass was probably caused by the development of the honey fungus *Armillaria ostoyae* (Romagn.) Herink.

The survey of the forest nutrition in the Natural Forest Region No. 40 of Moravskoslezské Beskydy confirmed high pollution of the pass area by heavy metals.

The survey was completed by a pot trial. The transplants of spruce were planted in the soil taken out from the rhizosphere of healthy trees, damaged trees and from the controlled non polluted stand. The chemical and radiation treatment confirmed the injury by the honey fungus.

There were found relationships between the saturation of adsorbing complex by Al^{3+} and the dry matter of roots as well as between the ratio $(Ca^{2+}+Mg^{2+}+K^+)/Al^{3+}$ and the dry matter of roots.

There was also found a direct impact of heavy metals (Pb, Cu) contained in the root tissues to a dry matter of root biomass.

Key words: *lhoney fungus; transplants of spruce; alluminium; heavy metals; root biomass*

Úvod

Šetřená oblast Čantorje se nachází v severní části přírodní lesní oblasti Moravskoslezské Beskydy. Jsou zde pěstovány především smrkové porosty na stanovištích 4. a 5. lesního vegetačního stupně, převážně kyselé edafické kategorie 4K - *Fagetum acidophilum*, 5K - *Abieto-Fagetum acidophilum* /11/. Na těchto stanovištích je na přelomu století zjištěno významné poškození lesy s netypickými příznaky chřadnutí smrkových tyčovin, s prostorově oddělenými zdravými a chřadnouchými skupinami stromů. V poškozených skupinách je zjištěn významný rozvoj václavky smrkové *Armillaria ostoyae* (Romagn.) Herink /7/ a /11/.

Průzkumem výživy lesa, který studuje kořenový prostor smrkových porostů a chemismus jehlic bylo po-

SOUHRN

Poškození smrkových tyčovin v oblasti Jablunkovského průzkumu bylo způsobeno pravděpodobně rozvojem václavky smrkové *Armillaria ostoyae* (Romagn.) Herink.

Průzkumem výživy lesa v oblasti Moravskoslezských Beskyd bylo zjištěno vysoké zatížení oblasti průmysku těžkými kovy.

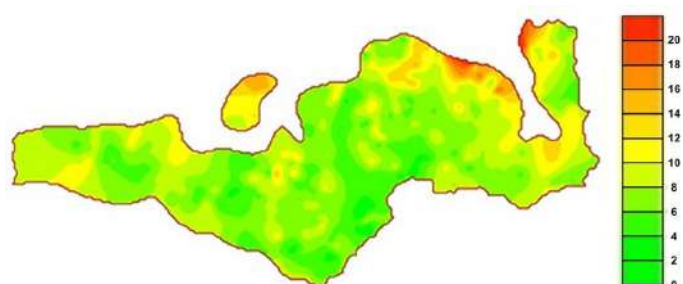
Průzkum byl doplněn nádobovým pokusem. Sazenice smrků byly pěstovány v zemině odebrané ze stanoviště s poškozenými stromy, se zdravými stromy a z kontrolního nezatíženého stanoviště. Chemické a radiační ošetření zeminy potvrdilo zhoubný vliv václavky.

Byly zjištěny souvislosti mezi sycením sorpčního komplexu kationtem Al^{3+} a sušinou kořene, případně mezi poměrem $(Ca^{2+}+Mg^{2+}+K^+)/Al^{3+}$ a hmotností sušiny kořene.

Přímý vliv těžkých kovů a hliníku na vývoj kořene se projevil mezi chemizmem kořene a hmotností sušiny kořene.

Klíčová slova: *václavka smrková; sazenice smrků; hliník; těžké kovy; biomasy kořenů*

tvrzeno významně vyšší zatížení této oblasti těžkými kovy. V přírodní lesní oblasti bez započtení Jablunkovského průzkumu jsou mediány koncentrací těž-



Obr. 1: Obsah chromu v nadložní organickém horizontu ($mg.kg^{-1}$)

kých kovů následující: Zn - 70,6; Pb - 88,6; Cd - 6,4 a Cr - 0,69 (mg.kg).

V oblasti průmysku: Zn - 103,0; Pb 138,0; Cd -8,8 a Cr - 1.02 (mg.kg) /3/.

MATERIÁL A METODY

Zemina byla odebrána v oblasti Jablunkovského průmysku. Ve smrkové tyčkovině byla odebrána zemina zvlášť ze stanovišť s poškozenými a zdravými kmeny. Série kontrolního stanoviště byla odebrána zvlášť ve smrkové kmenovině na místě vzdáleném asi 5 km. Na tomto místě zatím nebyl zaznamenán významný rozvoj václavky, jako je tomu v oblasti průmysku.

Pro zeminu odebranou na zvolených místech používáme označení série, přičemž tyto série jsou označeny číslicemi 1, 2 a 3 podle tabulky 1. Doplněným způsobem ošetřování se dostaneme na úroveň devíti variant uvedených tamtéž.

V průběhu vegetace byla vlhkost zeminy v nádobách udržována pravidelnou zálivkou demineralizovanou vodou na hodnotu 60 % maximální vodní kapacity, upravenou reverzní osmózou MID 50 K (Pharmapur řady Aqua Complet) - varianty s fungicidy byly ošetřeny Spogronem 50WP (3g/5l H₂O) + Previcurem 607 SL (0,2 %) v množství 50 ml roztoku 1krát za 4 týdny ke každé sazenici.

Jednoleté sazenice byly vysázeny do nádob o objemu 1l, do zeminy tří sérií, podle uvedeného schématu v tabulce. V každé variantě bylo pěstováno 36 sazenic.

Před začátkem i po skončení zkoušky byly odebrány půdní vzorky k chemickým analýzám. Hodnotil se zvlášť vzorek zeminy z celé nádoby (bulk) a zvlášť zemina odebraná z blízkosti kořínků (rhizo). Tato zemina byla získána vymytím destilovanou vodou z kořenového systému. Vzorky byly odebírány ve formě směšného vzorku. Po ukončení zkoušky byly také chemicky analyzovány jehlice a kořeny sazenic. Byla provedena biometrická měření sazenic podle jednotlivých variant. V každé variantě bylo testováno 36 sazenic. Uhybnulé sazenice byly uchovávány a jejich jednotlivé orgány byly na konci zkoušky zahrnuty do biometrických i statistických analýz. V kořenovém systému byl zjištěn celkový počet živých kořínků a jejich hmotnost, zvlášť byla zjištěna hmotnost odumřelých kořínků. Chemickým analýzám byl podroben směšný vzorek odumřelých a živých kořenů v rámci každé varianty.

Ke statistickému vyhodnocení analytických údajů byla použita regresní analýza.

VÝSLEDKY

Vliv ošetření sazenic na jejich vývoj

Účinnost chemické ochrany sazenic i radiačního ošetření zeminy je posouzena podle vitality sazenic, vyjádřené použitými biometrickými hodnotami.

Nejvyšší celkový výškový přírůstek byl zaznamenán v půdě odebrané ze stanoviště se zdravými stromy s následným chemickým i radiačním ošetřením. Následuje varianta se zeminou ze stanoviště s poškozenými stromy s radiačním ošetřením. Z výsledku testu vyplývá, že největší vliv na výškový přírůstek za rok 2007 mělo u všech variant právě radiační ošetření.

Při hodnocení běžného výškového přírůstku byly v roce 2006 nejvyšší hodnoty zaznamenány rovněž u půdy ze stanoviště se zdravými kmeny ve stejném pořadí podle ošetřování sazenic. V zemině ze stanoviště s infikovanými jedinci je běžný přírůstek menší a neprojevuje se zde vliv chemického ošetření.

Sazenice z kontrolní zeminy dosahují trvale významně nižší přírůstek s výjimkou zeminy s radiačním ošetřením, ale i zde je přírůstek za rok 2007 výrazně nižší než u zbývajících variant s vyššími hodnotami.

Tab. 1: Schéma založení zkoušky

	A bez ošetření	B radiační revitalizace	C chemické ošetření
1	1A	1B	1C
2	2A	2B	2C
3	3A	3B	3C

Chemické ošetření: SPOGRON50 WP PREVICUR 607 SL

1- půda z kontrolního stanoviště

2 - půda s poškozenými stromy

3 - půda se zdravými stromy



Obr. 2: Sazenice pěstované podle schématu

Vliv chemizmu zeminy na kořenový systém

Pokud vezmeme kvalitu kořenového systému za výchozí ukazatel vlivu půdního prostředí nádob na vývoj sazenic, získáme podklady pro hodnocení chemizmu zeminy. Vztah mezi kořenovým systémem a výškou sazenice je vyjádřen těsným korelačním koeficientem ($r = 0,93$). V průměrném vzorku nádoby (bulku) je zjištěn těsný vztah mezi množstvím sušiny kořene a sycením půdního sorpčního komplexu kationtem Al^{3+} ($r = -0,731$) titrační aciditou A + H ($r = -0,455$) a dále poměrem $(Ca^{2+} + Mg^{2+} + K^+) / Al^{3+}$ ($r = 0,704$), který je brán jako ukazatel toxicity hliníku. V zemině kořenového balu (rhizo) jsou poměry mezi sušinou kořene ještě těsnější Al^{3+} ($r = -0,891$), titrační aciditou A + H ($r = -0,808$), a dále poměrem $(Ca^{2+} + Mg^{2+} + K^+) / Al^{3+}$

($r = 0,815$). Kladný vliv vápníku a hořčíku a sycení bazemi k sušině (Cavym ($r = 0,719$) a Mgvyv ($r = 0,296$), BS ($r = 0,716$) je vyjádřen v bulku, a v rhizo (Cavym ($r = 0,770$) a Mgvyv ($r = 0,001$), BS ($r = 0,787$).

Negativní vztah k sušině kořene je zjištěn u všech forem draslíku v celkovém vzorku Kvym ($r = -0,808$) a kořenovém balu Kvym ($r = -0,497$).

Pro hodnocení vlivu těžkých kovů na sušinu kořene byl zvolen vztah mezi chemizmem kořene samotného a jeho sušinou.

Množství sušiny kořene je v záporném vztahu k Pb ($r = -0,616$) a Cu ($r = -0,667$). Kladný vztah je zjištěn u fosforu ($r = 0,770$). V případě dusíku je vztah záporný ($r = -0,606$).

DISKUSE

Zatížení půdního prostředí těžkými kovy může vést k poškození funkce kořenů rostlin, z toho plynoucího snížení příjmu živin, případně vody, i schopnosti biosyntézy aminokyselin a látek fytohormonálních. Korelace mezi jednotlivými orgány jsou základním projevem celistvosti rostlin /8/ a vývoj kořene, v našem případě posuzovaný jeho hmotností, je závislý na obsahu bazických kationtů v půdním prostředí /2/, /4/, /5/. Možná toxicita těžkých kovů se týká výše uvedené funkce biosyntézy /6/, /7/ a /9/.

Chemizmus je třeba studovat zvlášť v zemině mimo kořenový bal, v našem případě v průměrném vzorku z nádoby (bulk), a v zemině kořenového balu (rhizo) /1/ a /2/. Rozdílnost souvisí s pohybem prvků v půdě (zemině) a příjmem kořeny. Pohyb podporovaný transpirací sazenic vede k hromadění kationtů Ca^{2+} a Mg^{2+} v kořenovém balu. Naopak v případě draslíku vysvětlujeme negativní vztah jeho přístupné i výměnné formy v zemině k hmotnosti kořene jeho difúzním pohybem půdou /13/ a rychlým odběrem sazenicemi.

Ve snaze vyloučit nedostatečně podložené závěry jsme ve vztahu zemina - sazenice hodnotili pouze toxicitu hliníku, která je doložena řadou autorů /1/, /4/, /9/, /10/ a zvlášť poměr $(Ca^{2+} + Mg^{2+} + K^+) / Al^{3+}$, který je brán jako komplexní ukazatel možného ohrožení hliníkem /10/. Pro posouzení negativního působení těžkých kovů na jeho hmotnost jsme použili jejich množství obsažené v kořenových pletivech.

Negativní vztah obsahů Pb a Cu k hmotnosti kořene sazenic smrku odpovídá předpokladu jejich toxického vlivu na vývoj kořenového systému.

ZÁVĚR

Studium chemizmu zeminy a sazenic pěstovaných v nádobách potvrdilo předpoklad negativního působení těžkých kovů - mědi a olova - na kořenový systém v oblasti, která byla průzkumem výživy lesa označena jako zvlášť zatížená atmosférickými průmyslovými spady. Na vitalitě kořenového systému se rovněž projevilo působení volných forem hliníku, které je typické pro půdy s nedostatkem bazických kationtů.

LITERATURA

- /1/ Collington C., Boudot J.-P., Turpault M. -P.: Time change of aluminium toxicity in the acid bulk soil and the rhizosphere in Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) and beech (*Fagus sylvatica* L.) stands. *Plant Soil*, 357, 2012: 259 – 274.
- /2/ Collington C., Calvaruso C., Turpault J. -P. (2011): Temporal dynamics of exchangeable K, Ca and Mg in acid bulk soil and rhizosphere under Norway spruce (*Picea abies* Karst.) and beech *Fagus sylvatica* L.) stands. *Plant Soil*, 349, 2011: 355 – 366.
- /3/ Fiala P., Reininger D., Samek T.: A survey of forest pollution with heavy metals in the Natural Forest Region (NFR) Moravskoslezské Beskydy with particular attention to Jablunkov Pass, *Journal of Forest Science*, 54, 2008: 64 – 72.
- /4/ Jentschke G., Drexhage M., Fritz H. – W., Fritz E., Schella B., Lee D.-H., Gruber F., Heimann J., Kuhr M., Schmidt J., Schmidt S., Zimmermann R. & Godbold D. L.: Does soil acidity reduce subsoil rooting in Norway spruce (*Picea abies*)? *Plant and Soil* 237, 2001: 91 – 108.
- /5/ Jungk A.: Root hairs and the acquisition of plant nutrients from soil. *Journal Nutrient Soil Science*, 164, 2001: 121 – 129.
- /6/ Kabata-Pendias A.: Trace elements in soils and plants, CRC Press, London, 2011: 409 p.
- /7/ Málek J.: O ekologii václavky a červené hniloby a jejich rozšíření v lesních biocenózách. *Lesnický časopis*, 13, 1967: 545 – 562.
- /8/ Procházka S., Macháčková I., Krekule J., Šebánek J. a kol: Fyziologie rostlin, Academia, 1998, 484 s.
- /9/ Schöll van L., Keltjens W. G., Hoffland E., Breemen van N.: Aluminium concentration versus the base cation to aluminium ratio as predictors for aluminium toxicity in *Pinus sylvestris* and *Picea abies* seedlings. *Forest Ecology and Management*, 195, 2004: 301- 309.
- /10/ Šrámek V., Fadrhonsová V., Jurkovská L.: Ca/Al ratio in Norway spruce fine roots on monitoring plots in the Czech Republic, *Journal of forest science*, 60, 2014: 121 – 131.
- /11/ Šrámek V., Vejpustková M., Novotný R., Hellebrandová K.: Yellowing of Norway spruce stands in the Silesian Beskids – damage extent and dynamics
- /12/ Viewegh J., Kusbach A., Mikeska M.: Czech forest ecosystem classification. *Journal of forest science*, 49, 2003: 74 – 82.
- /13/ Zhang J. & George E.: Changes in the extractability of cations (Ca, Mg and K) in the rhizosphere soil of Norway spruce (*Picea abies*) roots. *Plant and Soil* 243, 2002: 209 - 217.

PODĚKOVÁNÍ

Průzkum výživy lesa a šetření v nádobách bylo financováno Ministerstvem zemědělství České republiky v rámci služeb vlastníkům lesních pozemků. Projekt č.: 13289/2006-16210.



MOŽNOSTI KULTIVÁCIE HUBY *PLEUROTUS OSTREATUS* NA SUBSTRÁTE S PRÍMESOU KOMPOSTU Z ELEKTRONICKÝCH KOMPOSTÉROV

POSSIBILITIES OF *PLEUROTUS OSTREATUS* MUSHROOM CULTIVATION ON THE SUBSTRATE WITH ADDED COMPOST FROM ELECTRIC COMPOSTERS

MARCEL GOLIAN¹, DÁVID CHMELÁR¹, OLEG PAULEN², MARIANNA TROCHOVÁ³

^{1,2}SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA V NITRE, FZKI, ¹KATEDRA ZELENINÁRSTVA, ²KATEDRA OVOČINÁRSTVA VINOHRADNÍCTVA A VINÁRSTVA, TR. ANDREJA HLINKU 2, 949 76 NITRA, SLOVENSKÁ REPUBLIKA

³ÚSTREDNÝ KONTROLNÝ A SKÚŠOBNÝ ÚSTAV POĽNOHOSPODÁRSKY V BRATISLAVE, ODDELENIE VŠEOBECNEJ A KARANTÉNNEJ DIAGNOSTIKY, MATÚŠKOVA 21, 833 16 BRATISLAVA

MARCEL.GOLIAN1@GMAIL.COM

SUMMARY

In the work there are assessed possibilities of *Pleurotus ostreatus* cultivation on the substrate fortified with compost produced in electric composters. Electric composter is a device processing mainly gastro-waste. Within 24 hours specific microorganisms in a composter decompose its content to transform it into a concentrated compost characterized with high phytotoxicity when undiluted. Based on the obtained results we can state that oyster mushroom is able to grow and fructify on the substrate fortified with compost produced in an electric composter. In the produced mushrooms there was observed heavy metals accumulation. Heavy metals content must be observed according to the actual legislation. The produced mushrooms did not exceed allowed limits of selected heavy metals and may be considered safe.

Key words: oyster mushroom; *Pleurotus*; heavy metals; compost

SÚHRN

Práca hodnotí možnosti kultivácie huby *Pleurotus ostreatus* na substráte obohatenom o kompost z elektronických kompostérov. Elektronický komposter je prístroj, spracovávajúci prevažne gastroodpady. V priebehu 24 hodín sa prostredníctvom špeciálnych mikroorganizmov obsah kompostéru rozloží na koncentrovaný kompost, vyznačujúci sa v nezriedenom stave vysokou fytotoxicitou. Na základe výsledkov môžeme konštatovať, že hľiva ustricovitá je na substráte fortifikovanom kompostom z elektronického kompostéru schopná rásť a plodiť. V dopestovaných plodniciach bola sledovaná kumulácia vybraných ťažkých kovov. Tieto je z platnej legislatívy povinné sledovať. Dopestované plodnice neobsahovali nadlimitné hodnoty vybraných ťažkých kovov a preto ich možno považovať za bezpečné.

Kľúčové slová: hľiva ustricovitá; *Pleurotus*; ťažké kovy; kompost

Úvod

Pleurotus ostreatus (Jacq.) P. Kumm. (*Basidiomycota*), hľiva ustricovitá, pochádza z čeľade *Pleurotaceae* z Číny, avšak dnes je rozšírená po celom svete. Metódy na jej kultiváciu boli vyvinuté počas prvej svetovej vojny v Nemecku a následne boli aplikované na komerčnej úrovni /1/. Kompostovanie je využívané na stabilizáciu organického odpadu /2/3/. Takéto biologické ošetrovanie je finančne nenáročná a efektívna stratégia ako kvantitatívne redukovať organické zvyšky vznikajúce v krajine. Faktorom, ktorý vyvoláva záujem o štúdium tejto problematiky je možnosť kompostovania bio a lignocelulózových odpadov s ich následným použitím vzniknutého produktu pre kultiváciu *Pleurotus sp.* Pestovanie jedlých húb je alternatívna biotechnológia, ktorá z dôvodu možnosti recyklácie organických vedľajších produktov z poľnohospodárskej činnosti, dokáže rýchlo, efektívne bez záťaže na životné prostredie vyprodukovať vysoko hodnotnú potravinu s liečivými účinkami. Takáto potravina je výnimočná predovšetkým z dôvodu vysokého obsahu proteínov, minerálov a vybraných látok s medicínsky a farmaceuticky využiteľnými vlastnosťami. Jednoduchá príprava substrátu a nenáročnosť pestovania hľivy ustricovitej umožňuje z dôvodu rozvoja nových technológií jej kultiváciu už aj v domácom prostredí. Elektronické kompostéry určené prioritne na kompostovanie gastroodpadov sú jednou z týchto technológií. Elektronický komposter využíva účinné mikroorganizmy *ACIDULO*, ktoré sa vďaka vysokej teplote nad 70 °C, salinite a kyslosti prostredia rýchlo množia a dokážu biologicky odpad rozložiť už do 24 hodín /4/. Okrem iného sa zdajú byť uplatniteľné pri príprave substrátov pre kultiváciu hľivy ustricovitej.

MATERIÁL A METÓDY

Príprava substrátov, inkubácia, inokulácia a fruktifikácia

Overenie možnosti nádobovej kultivácie huby *Pleurotus ostreatus* na substráte s prímесou kompostu z elektronických kompostérov prebiehala v priestoroch Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre a to predovšetkým v laboratóriách Katedry biochémie a biotechnológie, Fakulty biotechnológie a potravinárstva (FBP) a Katedry zeleninárstva, Fakulty záhradníctva a krajinného inžinierstva (FZKI). Na výrobu substrátu, sme použili elektronický kompostér od firmy JRK Waste. Kompostér sa vyznačuje pomalým procesom fermentácie slamy za neustáleho premiešavania substrátu pri teplote 70 °C. Pre vytvorenie substrátu pre produkciu hľivy ustricovitej sme použili slamené pelety, vodu a kompost z elektronického kompostéru. V predchádzajúcom pokuse sme zistili, že sorpčná schopnosť kompostu je vzhľadom na jeho hydrofóbne vlastnosti minimálna, rozhodli sme sa preto pridať 2 kg slamených peliet, 1kg kompostu z elektronického kompostéru a 5,3 l vody. Takýto substrát sme nechali v elektronickom kompostéri po dobu 24 hodín, za účelom priebehu pasterizácie v celom objeme substrátu pri teplote 70°C. Nasledujúci deň sme vzniknutý substrát uložili do biologicky rozložiteľných tašiek, á 2 kg. Takto pripravené substráty sme nechali voľne schladnúť pre následnú inokuláciu zrnitou sadbou kmeňa hľivy HK35. Substráty sme inkubovali až do úplného zbelenia. Plodenie prebehlo pri teplote 16 °C a optimálnych pestovateľských podmienkach.

Stanovenie obsahu vybraných ťažkých kovov

Ako materiál na mineralizáciu vzoriek boli použité chemikálie v čistote pre stopovú analýzu: HNO₃ (67 až 69 %) (Normatom, VWR), H₂O₂ (Trace Select, SigmaAldrich), deionizovaná voda. Všetky použité laboratórne nádoby boli pred použitím opláchnuté 5,5 % HNO₃. Na kalibráciu ICP-OES bol použitý zmesný štandard prvkov Al, Ag, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Ga, In, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Rb, Sr, Tl, V, Zn (Multielement standard solution V for ICP, SigmaAldrich). Pracovný plyn pre ICP-OES bol argón s čistotou 99,999% (Messer Tatragas, Slovensko).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Substráty boli podrobené tepelnému ošetrovaniu pomocou elektronického kompostéru GG 02 (24 hodín pri 70 °C). Následne bola navážka substrátu o hmotnosti 2 kg umiestnená do biologicky rozložiteľných obalov. Po samovoľnom schladnutí bolo vykonané inokulovanie zrnitou sadbou hľivy ustricovitej, kmeň HK35. Stav kolonizácie substrátov podhubím mycélia bol sledovaný opticky, pričom vo variante s prímесou kompostu boli zistené značné nedostatky substrátov. Po ukončení kolonizácie boli substráty v biologicky rozložiteľných obaloch umiestnené do rýchliarne, v ktorej boli zabezpečené optimálne podmienky pre rast a vývoj plodníc (16 °C a 80 % RVV). Po niekoľkých týždňoch boli pozorované prvé plodnice. Vo variante s pridaným kompostom sa z dôvodu výskytu konkurenčných mikroorganizmov plodenie výrazné oddialilo. Bolo to spôsobené konkurenčným bojom medzi mycéliom kultivovanej huby a konkurenčnými mikroorganizmami. Kurtzman /5/ uvádza niekoľko príčin kontaminácie a metód na ich možné zamedzenie. Uvádza tiež, že potlačanie infekčného tlaku je neodmysliteľnou súčasťou kultivácie húb. Najčastejšie sa vyskytujúca príčina kontaminácie je obyčajne spôsobená rodmi *Penicilium sp.* a *Trichoderma sp.* /6/. Tieto patogény sú zodpovedné za černenie a zelenanie substrátu. Nami kultivované substráty však aj napriek kontaminácii vytvorili plodnice, čo poukazuje na vysokú mieru rezistencie hľivy ustricovitej voči patogénom. Vzhľadom na výskyt konkurenčných mikroorganizmov predpokladáme, že počas pasterizácie substrátu pomocou elektronického kompostéru nedošlo k úplnému zahubeniu termorezistentných mikroorganizmov. Podľa Balasubramanya a Kathe /7/, došlo pri pasterizácii substrátu pravdepodobne k čiastočnému rozkladu celulózy a hemicelulózy, čo sprístupnilo substrát konkurenčným druhom *Penicillium sp.* a *Trichoderma sp.* Zaujímavosťou v tomto prípade bol taktiež výrazný úbytok na hmotnosti substrátu, ktorý sa prejavil po určitom čase od doby umiestnenia pasterizovaného substrátu do biologicky rozložiteľného obalu. Predpokladáme, že daný jav bol spôsobený paropriepustnosťou výrobného materiálu z ktorého bol biologický rozložiteľný obal určený pre kultiváciu húb vyrobený. Mycélium však aj napriek konkurenčnému boju s patogénmi a nízkej vlhkosti kultivačného substrátu dokázalo substrát v menšej miere kolonizovať a po nastavení optimálnych podmienok pre plodenie substráty vytvorili zárodky plodníc i samotné plodnice. Úrody čerstvých plodníc na týchto substrátoch však boli minimálne. Naopak, pri kontrolných variantoch obsahujúcich čisto slamený substrát bez prímесí kompostu z elektrických

kompostérov nebola spozorovaná žiadna kontaminácia. Tak ako iné huby, aj hľiva ustricovitá je známa svojou schopnosťou kumulovať zo substrátu a prostredia rôzne látky, vrátane prvkov ako sú meď, kadmium, olovo, ortuť, mangán, kobalt, nikel, železo, chróm, zinok a iné. V súčasnosti sú z pohľadu kontaminácie plodníc hľivy ustricovitej ťažkými kovmi platné vyhlášky a nariadenia, stanovujúce najvyššie prípustné limity len pre dva vybrané rizikové prvky a to kadmium a olovo. V Nariadení komisie (EÚ) 2015/1005 z 25. júna 2015, ktorým sa mení nariadenie (ES) číslo 1881/2006 /8/, pokiaľ ide o maximálne hodnoty obsahu olova v určitých potravinách, je maximálny prípustný limit pre hľivu ustricovitú určený na konzumáciu do $0,30 \text{ mg.kg}^{-1}$ Pb čerstvej hmoty plodníc. Nariadenie komisie (EÚ) číslo 488/2014 z 12. mája 2014, ktorým sa mení nariadenie (ES) číslo 1881/2006 /9/, sú určené maximálne hodnoty obsahu kadmia v potravinách na úrovni do $0,20 \text{ mg.kg}^{-1}$ Cd čerstvých plodníc. Kadmium sa kumuluje hlavne v obličkách, slezine, a pečeni a jej hladina v krvnom sére sa výrazne zvyšuje po konzumácii húb /10/. Kadmium sa preto javí z pohľadu ťažkých kovov v hubách ako najviac škodlivé. Olovo je podobne ako kadmium ťažký kov, ktorý nemá preukázaný žiadny priaznivý účinok na ľudský metabolizmus a zároveň preukazuje progresívnu toxicitu. Olovo sa do ľudského organizmu môže dostať zo vzduchu, vody alebo potraviny. Kumuluje sa v kostiach a môže prevziať úlohu vápnika. Olovo spôsobuje poruchy zdravia ako je nespavosť, únava, alebo strata hmotnosti /11/. Môžeme však konštatovať, že koncentrácie toxických kovov v nami analyzovaných plodniciach boli nízke. Obsah olova v plodniciach na substráte obohatenom kompostom z elektronického kompostu bol pod prahom detegovateľnosti pre túto analytickú metódu ($\text{LOD} = 0,2439 \text{ mg/kg}$ v čerstvých plodniciach) a obsah kadmia pod prahom detegovateľnosti pre túto analytickú metódu ($\text{LOD} = 0,012 \text{ mg/kg}$ v čerstvých plodniciach). Podľa FAO/WHO a Kalac /12/ je tolerovateľný týždenný príjem kadmia a olova sú $0,007$ a $0,025 \text{ mg/kg}$ telesnej hmotnosti. Hladiny olova a kadmia sú v plodniciach veľmi nízke a preto sú plodnice z hľadiska bezpečnosti vhodné na konzumáciu. Výsledky nami analyzovaných vzoriek boli vzťahované na hmotnosť zmrazenej vzorky v mg/kg . Takúto vzorku môžeme považovať za ekvivalent čerstvej plodnice.

ZÁVER

Pri overovaní prípravy substrátu pomocou elektronického kompostéru GG02 po dobu 24 hodín pri teplote 70°C sme zistili, že takýto postup prípravy substrátu je optimálny iba pre substráty obsahujúce obilnú slamu. Pri substrátoch obohatených o kompost z elektronického kompostéru sme nedokázali zamedziť infekčnému tlaku, ktorý zapríčinil kontamináciu substrátov obsahujúcich pridaný kompost. V práci sme sledovali kumuláciu vybraných rizikových kovov. Obsah týchto prvkov bol v plodniciach na úrovni, kedy hodnoty neboli detekovateľné nami stanovenou metódou. Z výsledkov práce sme zistili, že limit stanovený nariadením európskej komisie, zaoberajúci sa obsahom olova a kadmia v plodniciach *Pleurotus spp.* nebol prekročený a preto, môžeme konštatovať, že plodnice sú kvalitatívne vyhovujúce na dennú konzumáciu.

V ďalších etapách skúmania odporúčame overiť možnosť využitia iného, agresívnejšieho a konkurencie schopnejšieho kmeňa huby *Pleurotus ostreatus* na kultiváciu na substráte fortifikovanom kompostom z elektronického kompostéru. Rovnako odporúčame venovať pozornosť možnej mikrobiálnej kontaminácii plodníc kompostovacími baktériami (ACIDULO) za účelom preskúmania možného zdravotného rizika pre konzumenta.

LITERATÚRA

/1/ Wojewoda, W. 2003. Checklist of Polish Larger Basidiomycetes. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences. 2003. p. 812. ISBN 83-89648-09-1.

/2/ Hachicha, S., Sellami, F., Cegarra, J., Hachicha, R., Drira, N., Medhioub, K., Ammar, E. 2009. Biological activity during co-composting of sludge issued from the OMW evaporation ponds with poultry manure - Physico-chemical characterization of the processed organic matter. Journal of Hazardous Materials, vol. 162, Issue 1, 2009, Pages 402-409, ISSN 0304-3894, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.05.053>.

/3/ Niwagaba, C., Nalubega, M., Vinnerås, B., Sundberg, C., Jönsson, H. 2009. Substrate composition and moisture in composting source-separated human faeces and food waste. Environmental Technology. p. 487-497. DOI: 10.1080/09593330902788236.

- /4/ Anonym 6. Elektrický kompostér GG02. [online] 2019. [cit. 23.05.2019]. Dostupné na internete: <https://www.zemito.sk/elektricke-kompostery/elektricky-komposter-gg02/>.
- /5/ Kurtzman, R. H. 2010. Pasteurization of mushroom substrate and other solids. *Afr. J. Environ. Sci. Technol.*, vol. 4(13), p. 936–941.
- /6/ Oseni, T. O., Dlamini, S. O., Earnshaw, D. M., Masarirambi, M. T. 2012. Effect of substrate pre-treatment methods on oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) production. *Int. J. Agric. Biol.*, vol. 14, p. 251–255.
- /7/ Balasubramanya, H. R., Kathe, A. A. 1996. An inexpensive pretreatment of cellulosic materials for growing edible oyster mushrooms. *Bioresource Technol.*, vol. 57, p. 303–305. 10.1016/S0960-8524(96)00086-7.
- /8/ Regulation (EC) No 2015/1005 of 25 June 2015 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of lead in certain foodstuffs. *OJ L* 161, 26.6.2015, p. 9–13.
- /9/ Regulation (EC) No 488/2014 of the European Parliament and of the Council of 12. May 2014 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of cadmium in foodstuffs. *OJ L* 138, 13.5.2014, p. 75–79.
- /10/ Kalač, P., Svoboda, L. 2000. A review of trace element concentrations in edible mushrooms. *Food Chem.* Vol. 69, p. 273–81.
- /11/ Udochukwu, U., Nekpen, B.O., Udinyiwe, O.C., Omeje, F.I. 2014. Bioaccumulation of Heavy metals and pollutants by edible mushroom collected from Iselu market Benin-city. *Int J Curr Microbiol App Sci.* Vol. 3 (10), p. 52–7.
- /12/ Kalač, P. 2010. Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms: A review for the period 2000–2009. *Food Chem.* 122:2–15.

POĎAKOVANIE

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory výskumného projektu VEGA 1/0087/17 a GA SPU 07-GAS-PU-2018. Vedecká publikácia vznikla s podporou Výskumného centra AgroBioTech vybudovaného v rámci projektu Vybudovanie výskumného centra, „AgroBioTech“ ITMS 26220220180.



HODNOCENÍ TEPLoty PŮDY V SOUVISLOSTI S FENOLOGICKÝM POZOROVÁNÍM JEČMENE JARNÍHO V OBDOBÍ 1991–2012

SOIL TEMPERATURE EVALUATION IN RELATION WITH PHENOLOGICAL OBSERVATION OF SPRING BARLEY DURING PERIOD 1991-2012

LENKA HÁJKOVÁ¹, VĚRA KOŽNAROVÁ²

¹ČESKÝ HYDROMETEOROLOGICKÝ ÚSTAV, ODDĚLENÍ BIOMETEOROLOGICKÝCH APLIKACÍ, NA ŠABATCE 17, 143 06 PRAHA 4 - KOMOŘANY, HAJKOVA@CHMI.CZ

²KATEDRA AGROEKOLOGIE A ROSTLINNÉ PRODUKCE, FAKULTA AGROBIOLOGIE, POTRAVINOVÝCH A PŘÍRODNÍCH ZDROJŮ, ČZU V PRAZE, 165 21 PRAHA 6 - SUCHDOL

SUMMARY

Soil is an essential component of the environment - it makes the main conditions for life on the Earth. It plays an important role in the stability of ecosystems by influence of balance of matter and energy and in the hydrological cycle. That's why physical properties of the soil have a significant role in many processes, especially in the chemical and biological interactions which are bound to the soil environment. Phenological observations play important role in investigation of agroclimatic conditions of the area. The soil temperature is measured at stations of CHMI depths of 5, 10, 20, 50 and 100 cm below the lawn. Field crop phenological observations was part of CHMI phenological observing programme. In this paper were analysed mean decade values in April, May and June of soil temperature at depth of 5 cm and phenological observations of spring barley within period 1991–2012 from selected CHMI stations using Microsoft Excel and GIS CLIDATA software.

Key words: soil temperature; spring barley; phenophase; decade; Czech Hydrometeorological Institute; GIS

SOUHRN

Půda patří mezi základní složky životního prostředí, které podmiňují udržení života na Zemi. Podílí se na stabilitě ekosystémů, ovlivňování bilance látek a energie, a hydrologického cyklu. Proto mají fyzikální vlastnosti půdy významnou roli v mnoha procesech, především v chemických a biologických interakcích, které jsou vázány na půdní prostředí. Fenologická pozorování zachycují časový chod vývoje rostlin a jsou důležitá při poznávání a zkoumání agroklimatických podmínek území. Teplota půdy je na stanicích Českého hydrometeorologického ústavu standardně měřena v hloubkách 5, 10, 20, 50 a 100 cm pod posekaným trávnikem. Fenologie polních plodin byla součástí fenologického pozorovacího programu ČHMÚ do roku 2012. V příspěvku byly vyhodnoceny průměrné dekádní hodnoty teploty půdy v dubnu, květnu a červnu v hloubce 5 cm a nástupy vybraných fenologických fází ječmene jarního za období 1991–2012 ze stanic ČHMÚ pomocí Microsoft Excel a Clidata-GIS.

Klíčová slova: teplota půdy; ječmen jarní; fenofáze; dekáda; Český hydrometeorologický ústav; GIS

Úvod

Mezi základní složky životního prostředí, které podmiňují udržení života na Zemi, patří půda, která hraje nezastupitelnou roli ve stabilitě ekosystémů prostřednictvím bilance látek a energie, a v hydrologickém cyklu. Půda je výsledkem půdotvorných procesů, kde faktory působící na půdotvorný substrát jsou příčinou vzniku různých půdních druhů a typů /1/. Fyzikální vlastnosti půdy se podílejí na mnoha procesech, především v chemických a biologických interakcích, které jsou vázány na půdní prostředí.

Jednou z významných agrometeorologických charakteristik je teplota půdy, která ovlivňuje růst a vývoj půdních organismů a kořenů, a zároveň se tak podílí na úrodnosti půdy /2/. Variabilita teploty půdy určuje dobu setí, klíčení, vzcházení a přezimování rostlin a mikroklimatické podmínky. Dle /1, 2 a 3/ je denní chod teploty půdy ve všech hloubkách nejvíce ovlivňován současným působením mnoha faktorů (zejména obsahu vodní páry a vzduchu), utužení, nebo naopak prokypření, jak povrchových, tak i hlubších vrstev, výšce a hustotě porostu, sněhové pokrývky, případně na nastýlaných materiálech). Významný vliv má také počasí determinované synoptickou situací a lokálními podmínkami a podnebím, které je určeno zejména zeměpisnou šířkou, maritimitou a kontinentalitou. /4/. Tyto skutečnosti se pak promítají do nástupu, trvání a konci fenologických

fází rostlin /5/ a tím se i podílejí na výsledném produktu – výnosu a kvalitě zemědělských plodin. Proto jsou informace o teplotě půdy velmi důležité, ve svém důsledku mohou rozhodovat i o ekonomice zejména v oblasti precizního zemědělství /4/.

MATERIÁL A METODY

Analýza variability půdní teploty je založena na údajích ze stanic Českého hydrometeorologického ústavu, kde se teplota půdy měří podle mezinárodní metodiky World Meteorological Organization /6/ tj. pod travnatým povrchem. Databáze byla vytvořena z termínových měření v 07:00, 14:00 a 21:00 h středního místního slunečního času. Průměrná denní teplota půdy byla vypočtena na základě vztahu: $t_{\text{prům}} = (t_{7h} + t_{14h} + t_{21h})/3$. Z denních hodnot jsou následně počítány dekádní, měsíční a roční průměry. Hodnoty teploty půdy v hloubce 5 cm byly exportovány z klimatologické databáze ČHMÚ CLIDATA.

Vliv teploty půdy na mikroklimatické podmínky byl posuzován pomocí nástupu fenologických fází zemědělsky významné plodiny - ječmene jarního (*Hordeum vulgare*), který zároveň patří mezi významné pylové alergen. Zpracována byla data z 80 fenologických stanic ČHMÚ, které se nacházejí na území České republiky v různé nadmořské výšce (od 155 m n. m. - Doksany do 725 m n. m. - Nedvězí). Z fenologických fází byly vybrány etapy charakterizující ontogenetický vývoj ječmene jarního během vegetačního období. Fenofáze jsou označeny kódy BBCH /7/, které se používají v mezinárodní fenologické spolupráci.

Jedná se o fenologické fáze:

- **vzcházení (BBCH 10)**, kdy nad povrch půdy pronikly první nadzemní orgány (u obilovin se jedná o první list, který vyrůstá z koleoptile);
- **odnožování (BBCH 21)**, kdy je u obilovin jasné viditelné první list první odnože - postranního výhonu;
- **druhé kolénko (BBCH 31 a BBCH 32)** - v těchto fázích se od sebe neoddalují jen báze čepelí, ale také kolénka, která oddělují jednotlivé části stébela a z nichž vyrůstají listy;
- **metání (BBCH 55)**, při kterém z pochvy praporcového listu vyčnívá právě polovina květenství;
- **počátek kvetení (BBCH 61)**, kdy ve střední části květenství (klasu) dojde k prasknutí prašníků na již vyvinutých z květů vyčnívajících tyčinkách a následnému uvolňování pylu.

Fenologická data byla exportována z databáze FE-NODATA.

Do mapového zpracování byla použita měření půdní teploty z meteorologických stanic, které se nacházejí v rozmezí nadmořské výšky od 158 m (Doksany) po 1118 m (Churáňov). Mapy byly vykresleny v prostředí Clidata-GIS (ArcGIS 10) metodou Clidata-DEM se závislostí na nadmořské výšce. Vstupní hodnotou pro vykreslení mapy teploty půdy byly průměry za dekády v měsících duben, květen a červen za období 1991–2012. Fenologické mapy byly vykresleny z průměrného data nástupu příslušné fenologické fáze za stejné období jako teplota půdy. Pro zjištění vztahu mezi teplotou půdy a datem nástupu fenofáze byla použit Pearsonův korelační koeficient (PCC), výpočty byly provedeny v prostředí Microsoft Excel.

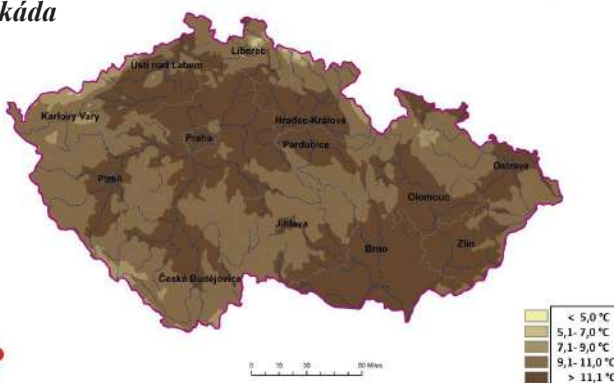
1. dekáda



2. dekáda



3. dekáda



Obr. 1: Průměrná dekádní teplota půdy v hloubce 5 cm v dubnu

VÝSLEDKY A DISKUSE

Plošné vyhodnocení průměrné teploty půdy po dekádách v měsících duben, květen a červen je uvedeno v následujícím grafickém vyjádření (obr. 1 až 3).

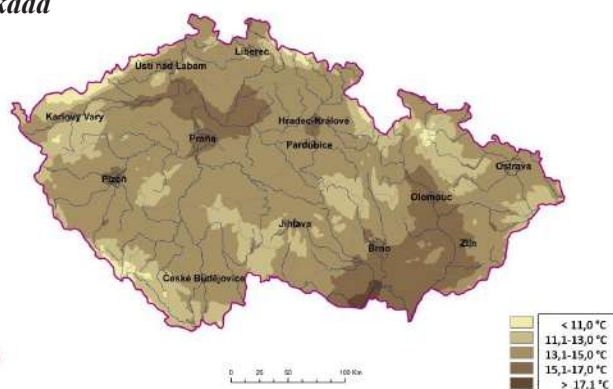
1. dekáda



1. dekáda



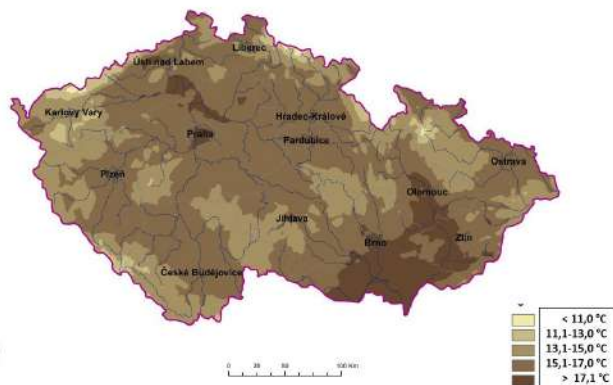
2. dekáda



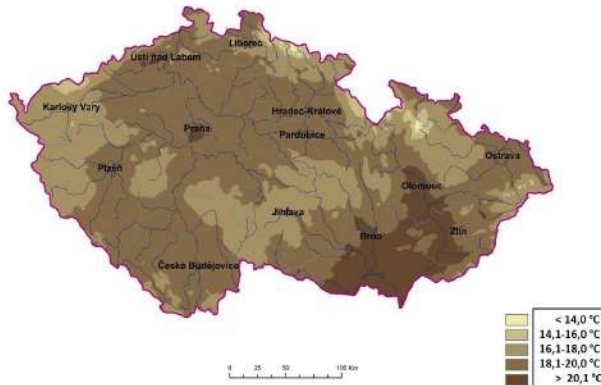
2. dekáda



3. dekáda



3. dekáda

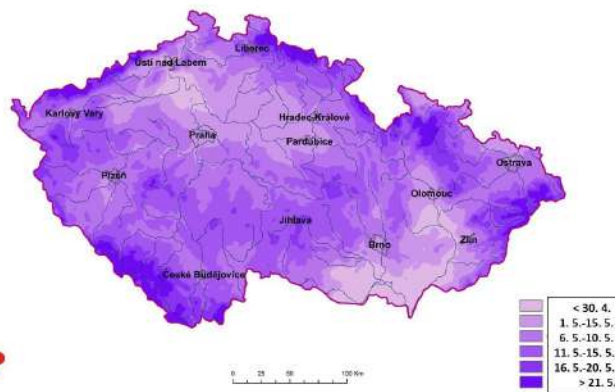


Obr. 2: Průměrná dekádní teplota půdy v hloubce 5 cm v květnu

Obr. 3: Průměrná dekádní teplota půdy v hloubce 5 cm v červnu



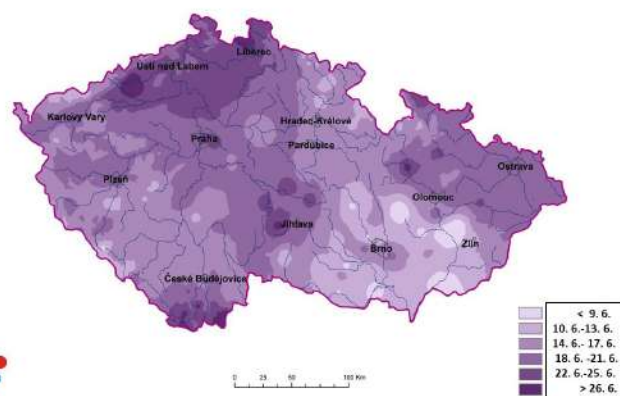
Obr. 4: Průměrné datum fáze vzcházení (BBCH 10)



Obr. 5: Průměrné datum fáze odnožování (BBCH 21)



Obr. 6: Průměrné datum fenofáze druhého kolénka (BBCH 31 a 32)

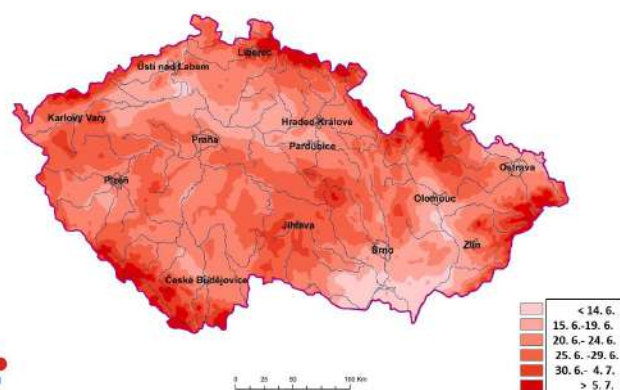


Obr. 7: Průměrné datum fenofáze metání (BBCH 51)

Další mapy (obr. 4 až 8) představují časový nástup (průměrné datum za analyzované období 1991–2012) vybraných fenologických fází (vzcházení, odnožování, druhého kolénka, metání a počátku kvetení) ječmene jarního.

Analýza vztahu mezi teplotou půdy a datem nástupu fenologické fáze byla provedena pomocí Pearsonova korelačního koeficientu (PCC), výsledky jsou uvedeny v tabulce 1.

Tab. 1: Pearsonův korelační koeficient



Obr. 8: Průměrné datum počátku kvetení (BBCH 61)

		vzcházení (BBCH 10)	odnožování (BBCH 21)	druhé kolénko (BBCH 31 a 32)	metání (BBCH 55)	počátek kvetení (BBCH 61)
Duben	1. dekáda	-0.331	-0.224	-0.114	-0.222	-0.294
	2. dekáda	-0.334	-0.323	-0.228	-0.310	-0.353
	3. dekáda	-0.359	-0.285	-0.176	-0.248	-0.295
Květen	1. dekáda	-0.236	-0.257	-0.164	-0.236	-0.289
	2. dekáda	-0.228	-0.214	-0.130	-0.198	-0.254
	3. dekáda	-0.194	-0.279	-0.137	-0.243	-0.295
Červen	1. dekáda	***	***	-0.104	-0.181	-0.204
	2. dekáda	***	***	-0.181	-0.284	-0.291
	3. dekáda	***	***	-0.175	-0.282	-0.278

*** - v této době se fáze nevyskytuje

ZÁVĚR

V příspěvku byla plošně vyhodnocena průměrná dekádní teplota půdy v hloubce 5 cm v dubnu, květnu a červnu a průměrná data nástupu vybraných fenologických fází (vzcházení, odnožování, druhé kolénko, metání a počátek kvetení) ječmene jarního v době, kdy se vyvíjí kořenový systém a později nastává kvetení (pylové alergie). Bylo zjištěno, že v době vzcházení je teplota půdy v rozmezí 5 až 11 °C, při odnožování 11 až 17 °C, v době druhého kolénka 11 až 20 °C, při metání a kvetení je teplota půdy 14 až 20 °C. Hodnoty PCC jsou záporné, což odpovídá hypotéze, čím vyšší je teplota půdy, tím rychlejší je ontogenetický vývoj rostliny. Nejvyšší hodnoty PCC jsou u fází odnožování (BBCH 21), druhé kolénko (BBCH 31 a 32), metání (BBCH 55) a počátek kvetení (BBCH 61) ve 2. dekádě dubna, u vzcházení (BBCH 10) ve 3. dekádě dubna.

LITERATURA

/1/ Kožnarová, V., Klabzuba, J., Sulovská, S. (2011): Příspěvek ke studiu teplotních podmínek v půdě. Sborník Vliv abiotických a biotických faktorů na vlastnosti rostlin 2011. ČZU v Praze a VÚRV Ruzyně. Powerprint. ISBN 978-80-213-2160-1. p. 14-19.

/2/ Hájková, L., Kožnarová, V., Hnilička, F. (2017): Vyhodnocení vybraných agroklimatických charakteristik ve vegetačním období na území ČR za období 1961–2010. Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2017 (Sborník recenzovaných vědeckých prací) Influence of abiotic and biotic stresses on properties of plants 2017 (Proceedings of scientific articles) Česká zemědělská univerzita v Praze, 2017 ISBN: 978-80-213-2767-2. str. 3–11.

/3/ Klabzuba, J. (2001): Bilance tepla na aktivním povrchu, teplota půdy, vzduchu a vody. Řada Aplikovaná meteorologie a klimatologie. Powerprint Praha, ISBN 80-213-0778-1, 46 s.

/4/ Kožnarová, V., Voborníková, J., Hamouz, K. (2000): Monitoring teploty půdy v porostu raných brambor. Zamýšlení nad rostlinnou výrobou 2000/ Česká zemědělská univerzita v Praze a katedra rostlinné výroby na ČZU / ISBN 80-213-0692-0. str. 372-378.

/5/ Hájková, L., Kožnarová, V., Sulovská, S., Nekovář, J. (2013): Fenologické charakteristiky vybraných lesních bylin v Česku, ČHMÚ. Praha 90 s.

/6/ Anonymus (1992): Measurement of temperature and humidity: specification, construction, properties and use of the WMO psychrometer (R. G. Wylie, T. Lalas, T.). Technical Note, no. 759, Ženeva: WMO, 71 s.

/7/ Meier U. (ed.) 2001: Growth stages of mono- and dicotyledonous plants. BBCH Monograph (2. ed.). Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, Berlin (<https://www.politicheagricole.it/flex/AppData/WebLive/Agrometeo/MIEPFY800/BBCHengl2001.pdf> 25. 6. 2018).

PODĚKOVÁNÍ

Příspěvek vznikl s institucionální podporou Programu pro dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné instituce poskytované MŠMT ČR.



RŮSTOVÉ A BIOCHEMICKÉ ZMĚNY KOŘENŮ HRACHU A KUKUŘICE POD VLIVEM ANTROPOGENNÍHO STRESU

GROWTH AND BIOCHEMICAL CHANGES IN ROOTS OF PEA AND MAIZE UNDER ANTHROPOGENIC STRESS

MARKÉTA HÁJKOVÁ¹, MARIE KUMMEROVÁ¹, ŠTĚPÁN ZEŽULKA¹, PETR BABULA²,
KATEŘINA SVOBODOVÁ³, JÁN ŠMERINGAI¹

¹ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ BIOLOGIE – ODDĚLENÍ FYZIOLOGIE A ANATOMIE ROSTLIN, PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA, MASARYKOVA UNIVERZITA BRNO, KOTLÁŘSKÁ 2, 611 37 BRNO, ZEŽULKA@SCI.MUNI.CZ

²FYZIOLOGICKÝ ÚSTAV, LÉKAŘSKÁ FAKULTA, MASARYKOVA UNIVERZITA, KAMENICE 753/5, 625 00 BRNO

³LABORATOŘ METABOLOMIKY A IZOTOPOVÝCH ANALÝZ, ÚSTAV VÝZKUMU GLOBÁLNÍ ZMĚNY, AV ČR, V.V.I., BĚLIDLA 4A, 603 00 BRNO

SUMMARY

Diclofenac (DCF; 0.1 to 10 mg/L) accumulated in roots of 20-day-old pea and maize plants caused a decrease in their biomass and changes in morphology. Contents of H₂O₂ and superoxide increased in both species. Activity of antioxidant defence mechanisms was elevated in pea under low DCF treatments, but decreased in maize under all treatments. Oxidative injury of root cells expressed as lowered oxidoreductase activity together with the membrane integrity disruption confirmed higher sensitivity of maize as a monocot plant to DCF.

Key words: *Pisum sativum*; *Zea mays*; diclofenac; root system; oxidative stress

SOUHRN

Diklofenak (DCF; 0.1 až 10 mg/L) akumulovaný v kořenech dvacetidenních rostlin hrachu a kukuřice způsobil pokles biomasy a změny v jejich morfologii. Obsah H₂O₂ a superoxidu se zvýšil u obou druhů. Aktivita antioxidačních obranných mechanismů byla zvýšená u hrachu při nízkých zatíženích DCF, u kukuřice se však snížila pod vlivem všech zatížení. Oxidativní poškození buněk kořenů vyjádřené jako snížená oxidoreduktázová aktivita a narušení integrity membrán potvrdilo vyšší citlivost kukuřice jako jednoděložné rostliny k DCF.

Klíčová slova: *Pisum sativum*; *Zea mays*; diklofenak; kořeny; oxidativní stres

Úvod

Terestrické prostředí, zejména zemědělské půdy jsou stále více kontaminovány léčivy a produkty jejich transformace v důsledku aplikace odpadních vod a kalů /1, 2/ nebo přímo z profylaktické léčby zvířat /3/. Účinek kontaminace na necílové organismy /4/ včetně rostlin jako primárních producentů v potravním řetězci, je v současnosti předmětem intenzivního studia. Široce používaná nesteroidní protizánětlivá léčiva, jako je diklofenak (DCF), mohou jako stresový faktor ovlivnit všechna stádia vývoje kulturních plodin od klíčení po reprodukci. Jejich vliv na biochemické a fyziologické procesy se může kvalitativně i kvantitativně odrazit v produkci biomasy. Akumulace a transformace léčiv v pletivech a buňkách může způsobit změny v enzymatických i neenzymatických složkách antioxidačních obranných mechanismů.

Tato studie porovnává vliv DCF na kořeny jednoděložné a dvouděložné rostliny jako primární místo kontaminace s cílem vyhodnotit:

- rozdíly v citlivosti mezi nimi,
- morfologické, růstové a biochemické parametry, které by včasné a citlivě indikovaly účinek léčiva.

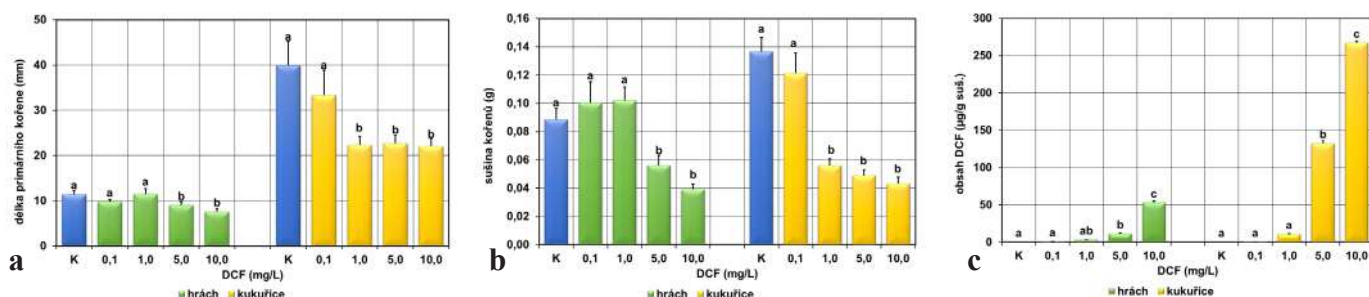
MATERIÁL A METODY

Hrách setý (*Pisum sativum*, cv. Oskar) a kukuřice setá (*Zea mays*, cv. Agnan) byly kultivovány v Reid-York živném roztoku bez (kontrola) a s přidavkem DCF 0.1; 1; 5 a 10 mg/L. Po 20 dnech kultivace v řízených podmínkách (teplota 20 ± 2 °C, relativní vzdušná vlhkost 60 %, ozáření 150–200 μmol/m².s, fotoperioda 14/10; provzdušňování; výměna média po 7 dnech) byly u 5 rostlin z každého zatížení hodnoceny délka primárního kořene, hmotnost sušiny kořenů a zdokumentována jejich morfologie. Obsah reaktivních forem kyslíku /5/,

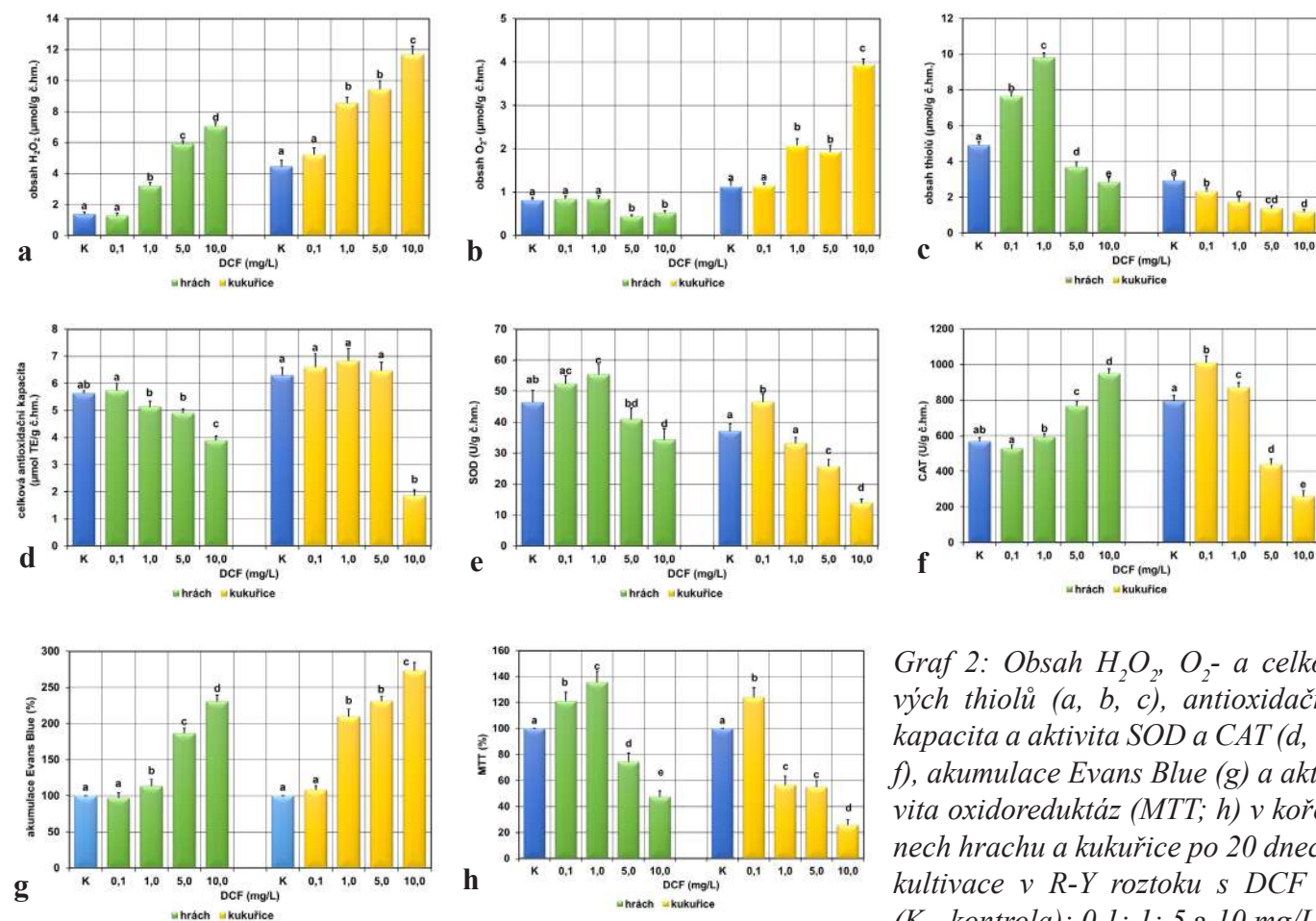
celková antioxidační kapacita, obsah celkových thiolů /6/, aktivita superoxid dismutázy (SOD) a katalázy (CAT) /7/, aktivita mitochondriálních dehydrogenáz (MTT) a integrita membrán jako akumulace Evans Blue /8/ byly stanoveny spektrofotometricky. V sušině kořenů byl metodou kapalinové chromatografie detekován obsah DCF. Výsledky byly vyhodnoceny jednocestnou analýzou rozptylu (ANOVA) a Tukey HSD testem při $P < 0.05$.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Schopnost rostlin přijímat, translokovat a akumulovat DCF je základní podmínkou pro jeho fyto toxický účinek. Při nejvyšším zatížení DCF (10 mg/L) byla délka primárního kořene u kukuřice redukována o 32 % a sušina kořenů o 62%, u hrachu délka primárního kořene pouze o 22 % a sušina o 47 % (graf 1a, b). V kořenech, které byly v přímém kontaktu s léčivem v živném roztoku, se jeho obsah zvyšoval se stupněm zatížení. V kořenech kukuřice bylo akumulováno až pětinašobně více DCF než u hrachu (graf 1c).



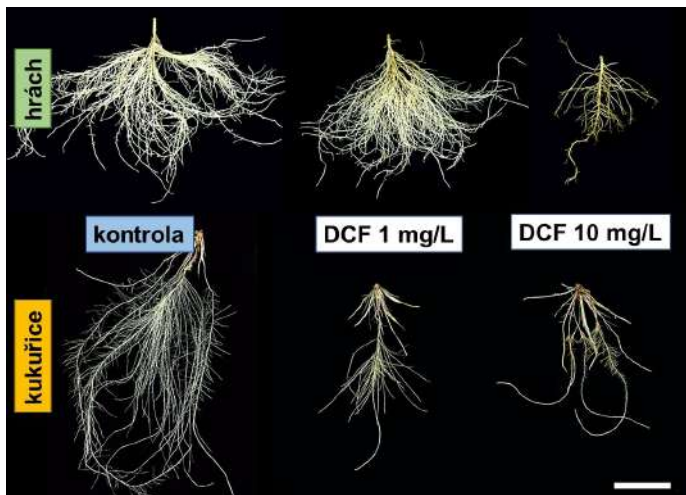
Graf 1: Délka primárního kořene (a), sušina kořenů (b) a obsah DCF (c) v kořenech hrachu a kukuřice kultivovaných 20 dnů v R-Y roztoku s DCF 0 (K - kontrola), 0.1; 1; 5 a 10 mg/L (průměr ± směrodatná odchylka, ANOVA, Tukey HSD test, $p < 0.05$)



Graf 2: Obsah H_2O_2 , O_2^- a celkových thiolů (a, b, c), antioxidační kapacita a aktivita SOD a CAT (d, e, f), akumulace Evans Blue (g) a aktivita oxidoreduktáz (MTT; h) v kořenech hrachu a kukuřice po 20 dnech kultivace v R-Y roztoku s DCF 0 (K - kontrola); 0.1; 1; 5 a 10 mg/L.

(průměr ± směrodatná odchylka, ANOVA, Tukey HSD test, $p < 0.05$)

Přímý kontakt meristematických pletiv kořenů s kontaminantem limituje jejich růst (obr. 1) a významně tak redukuje i absorpční plochu kořene pro příjem vody a živin. Růstové změny kořenů rostlin vystavených účinku léčiva jsou však důsledkem i změn v biochemických a fyziologických procesech probíhajících v buňkách a pletivech nejen kořenů, ale i v nadzemních částech rostlin /9/. Hodnoty sledovaných biochemických parametrů v kořenech obou rostlinných druhů ukázaly,



Obr. 1: Kořenový systém rostlin hrachu a kukuřice po 20 dnech kultivace v R-Y roztoku s DCF 0 (kontrola), 1 a 10 mg/L. Úsečka znázorňuje délku 5 cm.

že DCF indukoval oxidativní stres. Obsah reaktivních forem kyslíku koreloval se stupněm zatížení, nejvyšší obsah H_2O_2 a O_2 byl zjištěn u kukuřice (graf 2a, b).

Antioxidační obranné mechanismy, zahrnující jak neenzymatickou (obsah thiolových sloučenin; graf 2c), tak i enzymatickou složku (superoxid dismutáza-SOD, kataláza-CAT; graf 2e, f), vykazaly změny v aktivitě. Možný stimulační účinek léčiva byl prokázán při nízkých koncentracích 0.1 a 1 mg/l DCF, významné snížení celkové antioxidační kapacity a aktivity obou enzymů bylo zaznamenáno zejména u kořenů kukuřice při 10 mg/L DCF. Aktivita mitochondriálních oxidoreduktáz (MTT; graf 2h) jako míra viability buněk kořenů ukázala významný pokles u obou druhů zejména pod vlivem 5 a 10 mg/L DCF. Mechanismus fytotoxicity DCF však dosud není zcela známý.

Diklofenakem navozený oxidativní stres se na úrovni buněk odrazil i ve funkčnosti membrán. Míra akumulace Evans Blue (graf 2g) jak u hrachu, tak i u kukuřice se významně zvyšovala již od 1 mg/L DCF. Vedle peroxidace membránových lipidů v důsledku přítomnosti reaktivních forem kyslíku, hydrofobní povaha DCF zvyšuje také pravděpodobnost jeho akumulace v membránách, která může vést až k tzv. narkotické toxicitě /10/. Výsledkem je změna ve stavbě a snížení funkčnosti membrán. Diklofenakem navozený oxidativní stres se na úrovni buněk odrazil i ve funkčnosti membrán. Míra akumulace Evans Blue (graf 2g) jak u hrachu, tak i u kukuřice se významně zvyšovala již od 1 mg/L DCF. Vedle peroxidace membránových lipidů v důsledku přítomnosti reaktivních forem kyslíku, hydrofobní povaha DCF zvyšuje také pravděpodobnost jeho akumulace v membránách, která může vést až k tzv. narkotické toxicitě /10/. Výsledkem je změna ve stavbě a snížení funkčnosti membrán.

ZÁVĚR

Tato studie prokázala, že rostliny reagují na akutní a chronické environmentální zatížení (DCF) a rizika spojená s využíváním odpadních vod a kalů kontaminovaných léčivy nelze podcenit. Pokles produkce biomasy byl pod vlivem DCF významnější u jednoděložné kukuřice v porovnání s dvouděložným hrachem. Změny v biochemických procesech na úrovni buněk předcházejí změnám na úrovni rostlinných orgánů a, jak dokládají uvedené výsledky, mohou být včasným indikátorem vlivu stresoru.

LITERATURA

- 1/ Bo, L., Feng, L., Fu, J., Li, X., Li, P., Zhang, Y.: The fate of typical pharmaceuticals in wastewater treatment plants of Xi'an city in China. *Journal of Environmental Chemistry and Engineering*, 3, 2015: 2203-2211.
- 2/ Li, Y., Zhu, G., Ng, W.J., Tan, S.K.: A review on removing pharmaceutical contaminants from wastewater by constructed wetlands: design performance and mechanism. *Science of the Total Environment*, 468-469, 2014: 908-932.
- 3/ Bártíková, H., Podlipná, R., Skálová, L.: Veterinary drugs in the environment and their toxicity to plants. *Chemosphere* 144, 2016: 2290-2301.
- 4/ Acuña, V., Ginebreda, A., Mor, J.R., Petrovic, M., Sabater, S., Sumpter, J., Barceló, D.: Balancing the health benefits and environmental risks of pharmaceuticals: Diclofenac as an example. *Environment International*, 85, 2015: 327-333.

/5/ Jiao, C.J., Jiang, J.L., Li, C., Ke, L.M., Cheng, W., Li, F.M., Li, Z.X., Wang, C.Y.: β -ODAP accumulation could be related to low levels of superoxide anion and hydrogen peroxide in *Lathyrus sativus* L.. Food Chemistry and Toxicology, 49, 2011: 556-562.

/6/ Ellman, G.L.: Tissue sulfhydryl groups. Archives of Biochemistry and Biophysics, 82, 1959: 70-77.

/7/ García-Limones, C., Hervás, A., Navas-Cortés, J.A., Jiménez-Díaz, R.M., Tena, M.: Induction of an antioxidant enzyme system and other oxidative stress markers associated with compatible and incompatible interactions between chickpea (*Cicer arietinum* L.) and *Fusarium oxysporum* f. sp. ciceris. Physiology and Molecular Biology of Plants 61, 2002: 325-337.

/8/ Babula, P., Vaverková, V., Pobořilová, Z., Ballová, L., Masařík, M., Provazník, I.: Phytotoxic action of naphthoquinone juglone demonstrated on lettuce seedling roots. Plant Physiology and Biochemistry, 84, 2014: 78-86.

/9/ Zezulka, Š., Kummerová, M., Babula, P., Hájková, M., Oravec, M.: Sensitivity of physiological and biochemical endpoints in early ontogenetic stages of crops under diclofenac and paracetamol treatments. Environmental Science and Pollution Research 26, 2019: 3965–3979.

/10/ Corcoll, N., Acuña, V., Barceló, D., Casellas, M., Guasch, H., Huerta, B., Petrovic, M., Ponsatí, L., Rodríguez-Mozaz, S., Sabater, S.: Pollution-induced community tolerance to non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in fluvial biofilm communities affected by WWTP effluents. Chemosphere 112, 2014: 185-193.

PODĚKOVÁNÍ

Uvedená práce byla podpořena projektem GA ČR č. GF 17-33746L.



VLIV ZASOLENÍ NA RYCHLOST VÝMĚNY PLYNŮ JUVENILNÍCH ROSTLIN Z ČELEDI DÝŇOVITÉ

THE INFLUENCE OF SALINITY STRESS ON RATE OF GASE EXCHANGE IN JUVENILE PLANTS OF THE FAMILY CUCURBITACEAE

FRANTIŠEK HNILIČKA¹, HELENA HNILIČKOVÁ¹, JIŘÍ KUDRNA¹, KAMIL KRAUS¹, JÁN KUKLA²,
IVICA PIVKOVÁ², MARGITA KUKLOVÁ²

¹ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE, FAPPZ, KBFR, KAMÝČKÁ 129, 165 21 PRAHA 6 – SUCHDOL,
HNILICKA@AF.CZU.CZ

²ÚSTAV EKOLÓGIE LESA SAV, ŠTÚROVA 2, 960 53 ZVOLEN, SLOVENSKÁ REPUBLIKA
KUKLOVA@SAVZV.SK

SUMMARY

Salinity was induced in plants by various concentrations of sodium chloride solution. There were 4 variants: control (H_2O) and three variants had a concentration of 0.15 M; 0.20 M and 0.25 M NaCl. The experimental plants were three species – cucumber, gourd and lagenaria. In the juvenile stages of development of selected species of vegetables, the gas exchange rate was measured using the infrared gas analyser LCpro+. Cucumber had the highest rate of photosynthesis difference between control and stressed variant 0.25 M ranging from $6.49 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ and $9.03 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. The gourd seems to be resistant to salinity stress. Here was measured the lowest difference between control and stressed groups of photosynthesis rate of $0.96 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, where in the case of control photosynthesis rate was $7.63 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. The rate of transpiration was $0.37 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (0.20 M, gourd) and $0.89 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (control, lagenaria).

Key words: *lagenaria; cucumber; gourd; salinity stress; photosynthesis rate; transpiration rate*

SOUHRN

Ve skleníkových pokusech byla gazometricky měřena rychlost fotosyntézy, transpirace u juvenilních rostlin okurky, tykve a lagenárie.

Schéma pokusu zahrnovalo 4 varianty: kontrola (H_2O) a tři koncentrace NaCl: 0,15 M; 0,20 M a 0,25 M NaCl.

Dle získaných výsledků nejcitlivěji reagovala na zasolení okurka setá 'Markýza F1', u které byl zjištěn nejvyšší rozdíl rychlosti fotosyntézy mezi kontrolní ($9,03 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) a stresovanou variantou 0,25 M ($6,49 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$).

Jako odolná se jeví tykev obecná 'StartGreen F1', kdy v případě rostlin kontrolních byla rychlost fotosyntézy $7,63 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ a u varianty 0,25 M NaCl byla ve výši $6,67 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Rychlost transpirace byla od $0,37 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (0,20 M; tykev obecná) do $0,89 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (kontrola, lagenárie obecná).

Klíčová slova: *okurka; tykev; lagenárie; fotosyntéza; transpirace; zasolení*

Úvod

Za nejvýznamnější chemický vliv na půdu a rostliny lze považovat salinitu /6/. /1/ popisují salinizaci jako celosvětový problém životního prostředí, který se vyskytuje převážně v aridních a semiaridních oblastech a způsobuje degradaci půdy. Prvky jako chlór, sodík a další působí na organismus škodlivě. Při vysokém obsahu soli v půdě nastává úhyn rostlin. Dle /7/ je příčinou tzv. osmotický efekt.

Soli, které jsou ve velkém množství obsažené v půdní vodě, způsobují vzrůst potenciálu půdní vody, tedy energii, kterou je poutána voda v půdě. Průtok vody z půdy do kořenů rostlin je zpomalený v porovnání s průtokem vody, ve které je obsažené minimum soli. Růst rostlin je zpomalený, obdobně jako je to v případě značného poklesu vlhkosti v půdě. Při výrazném zvýšení obsahu soli, rostliny vadnou stejně tak jako při poklesu vlhkosti pod bod vadnutí /7/. Dle /10/ nastává poškození fotosyntetického aparátu a narůstá oxidativní stres a podle /3/ se vlivem zvyšování koncentrace solí v půdě snižuje výnos a tvorba biomasy plodin. /12/ uvádí, že rostliny rostoucí v těchto podmínkách trpí deficitem vody, kdy rychlost transpirace je mnohem vyšší než rychlost absorpce vody. Vliv zasolení byl sledován na vybrané zástupce dýňovitých rostlin, neboť mezi nejčastěji pěstovanou zeleninou ve světě patří právě druhy z čeledi *Cucurbitaceae*, která je odrůdově bohatá.

Do její taxonomie se dle /11/ řadí zhruba 118 rodů a 825 druhů. Tykvovité rostliny patří mezi nejpěstovanější rostliny na světě, neboť okurky jsou z celosvětového hlediska na 3. místě a tykve na 10. místě.

Cílem pokusu bylo zjistit vliv zasolení na primární metabolismus juvenilních rostlin okurky seté, tykve obecné a lagenárie obecné.

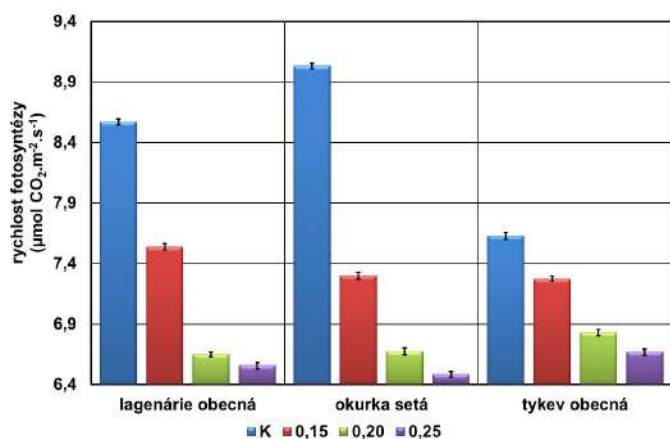
MATERIÁL A METODY

V pokusu byl sledován vliv zasolení na rychlost výměny plynů juvenilních rostlin lagenárie obecné, tykve obecné 'Startgreen F1' a okurky seté 'Markýza F1'. Pokus byl založen v částečně řízených podmínkách skleníku KBFR FAPPZ. Teplota během pokusu byla nastavena na 25 °C ve dne a 19 °C v noci, při přirozeném světelném režimu (14 hodin světla, 10 hodin tmy). Pokusné rostliny z čeledi tykvovité byly pěstované v nádobách o velikosti 11x11x12 cm ve směsi zahradního substrátu s vysokým obsahem organických látek a křemičitého písku v poměru 2:1. Rostliny v kontrolní variantě byly zavlažovány 150 ml vody. Četnost závlahy byla 2x týdně. Tři varianty byly stresované roztokem solí. Vybrané druhy z čeledi tykvovité byly zalévány 150 ml roztoku NaCl o koncentraci: 0,15 M; 0,20 M a 0,25 M.



Obr. 1: Okurka setá

V průběhu pokusu se uskutečnilo 6 měření, při čtyřech opakováních. Rychlost výměny plynů a stomatální vodivost byly sledovány pomocí infračerveného analyzátoru plynů LCpro+ (ADC BioScientific Ltd., Hoddesdon, Velká Británie). K vyhodnocení výsledků byla použita více faktorová analýza rozptylu ANOVA, pomocí programu STATISTICA 12.0 CZ na hladině významnosti 0,05.



Graf 1: Porovnání průměrné rychlosti fotosyntézy ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) u jednotlivých druhů rostlin a variant pokusu

klad /16/ u čtyřboče a špenátu, /8/ u rostlin prosa nebo /2/ u avokáda. Uvedené mezidruhové rozdíly byly potvrzeny také mezi sledovanými druhy zástupců čeledi *Cucurbitaceae*.

V rámci stresové varianty 0,15 M NaCl reagovala na zasolení nejcitlivěji tykev obecná, u které byla naměřena nejnižší hodnota fotosyntézy ($7,274 \mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Naopak nejvyšší rychlost byla naměřena u lagenárie obecné ($7,538 \mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$).

Z grafu 1 dále vyplývá, že nejnižší rychlost fotosyntézy u varianty 0,20 M byla zaznamenána u lagenárie obecné ($6,65 \mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Nejvyšší průměrnou rychlost fotosyntézy ($6,83 \mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) v této variantě vykazovala tykev obecná.

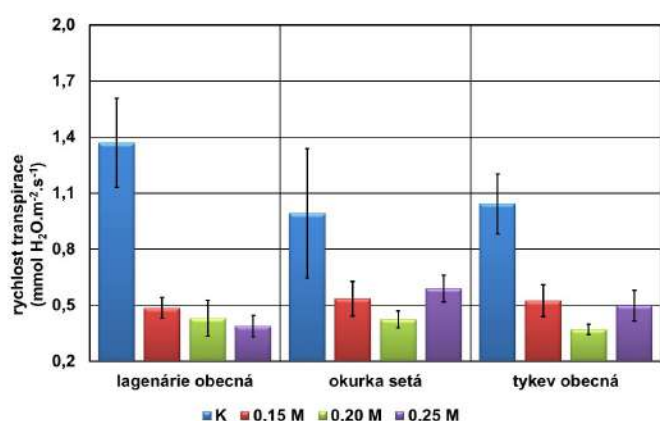
VÝSLEDKY A DISKUSE

Reakce jednotlivých sledovaných druhů rostlin na stres zasolením je uvedena v grafu 1. Z uvedeného grafu je patrný pokles rychlosti fotosyntézy vlivem zasolení. Uvedený závěr potvrzuje např. /5/. Toto tvrzení doplňuje také /14/, podle kterých snížení fotosyntézy závisí také na snížení dostupného oxidu uhličitého, uzavřením průduchů. Z grafu jsou patrné mezidruhové rozdíly, kdy u rostlin kontrolních byla nejvyšší průměrná rychlost fotosyntézy zaznamenána u okurky seté ($9,033 \mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) a nejnižší u tykve obecné ($7,627 \mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Poklesy rychlosti fotosyntézy vlivem salinity lze pozorovat u různých druhů rostlin, což je patrné z prací, napří-

Průkazně nejnižší hodnota fotosyntézy v nejvyšší koncentraci NaCl (0,25 M) byla zjištěna u okurky seté ($6,485 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). Naopak maximální průměrná rychlost fotosyntézy byla naměřena u tykve obecné ($6,668 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$).

Nejcitlivěji na stres zasolením reagovala okurka setá, která měla průkazně nejvyšší rozdíly rychlosti fotosyntézy mezi kontrolními a stresovanými rostlinami. Rozdíl v hodnotě mezi kontrolou a variantou 0,25 M byl $2,548 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. V případě rostlin lagenárie obecné se rozdíl mezi kontrolními a stresovanými variantami pohyboval v rozmezí od $1,029 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (0,15 M) do $2,01 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (0,25 M). Dle grafu 4 je patrné, že nejvíce tolerantní se jeví tykev obecná, u níž byl rozdíl mezi kontrolou a variantou 0,25 M $0,959 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$.

Vliv jednotlivých juvenilních rostlin z čeledě tykvovitě na rychlost transpirace v rámci varianty pokusu je uveden v grafu 2. Z výsledků je zřejmé, že se hodnoty rychlosti transpirace u sledovaných juvenilních rostlin z čeledě *Cucurbitaceae* u všech koncentrací roztoku NaCl snižuje. Výsledky práce jsou v souladu s prací /4/.



Graf 2: Porovnání průměrné rychlosti transpirace ($\text{mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) u jednotlivých druhů rostlin a variant pokusu

Z grafu 2 je dále patrné, že nejnižší rychlost transpirace u kontrolních rostlin byla zaznamenána u okurky seté ($0,99 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). Naopak neprůkazně nejvyšší rychlost byla naměřena u lagenárie obecné ($1,37 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). U varianty 0,15 M byla neprůkazně nejvyšší rychlost dosažena u okurky seté - $0,53 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Minimální hodnota rychlosti transpirace u této varianty byla $0,49 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ u lagenárie obecné. Ve variantě 0,20 M byla rychlost transpirace v intervalu od $0,37 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (tykev obecná) do $0,43 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (lagenárie obecná). V případě koncentrace roztoku NaCl 0,25 M byla nejvyšší rychlost naměřena u okurky seté ($0,60 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) a průkazně nejnižší u lagenárie obecné ($0,39 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$).

Z uvedených výsledků vyplývá rozdílná reakce sledovaných druhů rostlin na salinitu. Mezidruhové rozdíly potvrzují ve své práci např. /15/, kteří sledovali vliv zasolení na lilek vejcoplodý nebo /13/ na transpiraci okurky seté. S tímto tvrzením se shodují také výsledky /9/ u lagenárie.



Obr. 2: Tykev obecná



Obr. 3: Lagenárie obecná

ZÁVĚR

Vlivem zasolení se u všech sledovaných rostlin snížila rychlost výměny plynů. Jako tolerantní vůči zasolení se jeví rostliny tykve obecné a lagenárie obecné. Naopak jako citlivým druhem vůči zasolení se jeví rostliny okurky seté.

LITERATURA

- /1/ Allbed, A., Kumar, L., Sinha, P.: Mapping and Modelling Spatial Variation in Soil Salinity in the Al Hassa Oasis Based on Remote Sensing Indicators and Regression Techniques. *Remote Sensing*, 6, 2014:1137–1157.
- /2/ Alvarez-Acosta, C., Marrero-Dominguez, A., Gallo-Llobet, L., Gonzalez-Rodriguez, A. M.: Effects of NaCl and NaHCO₃ stress on morphological growth and nutrient metabolism on selected avocados (*Persea americana* Mill.). *Journal of Plant Nutrition*, 42 (2), 2019: 164–177.
- /3/ Ashraf, M., Fooland, M. A.: Improving plant abiotic-stress resistance by exogenous application of osmoprotectants glycine, betaine and proline. *Environmental and Experimental Botany*, 59, 2007: 206–216.
- /4/ Bóhm, V., Fekete, D., Balázs, G., Gáspár, L., Kappel, N.: Salinity tolerance of grafted watermelon seedlings. *Acta Biologica Hungarica*, 68, 2017: 412–427.
- /5/ Duarte, B., Sleimi, N., Caçador, I. 2014. Biophysical and biochemical constraints imposed by salt stress: learning from halophytes. *Frontiers in Plant Science*, 5, 2014: 746.
- /6/ Holubec, V.: Stres a adaptace rostlin v přírodních podmínkách. In: Hnilička, F., Středa, T. (Eds.): Rostliny v podmínkách stresu – abiotické stresory. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha, 2016: 39–58.
- /7/ Kutílek, M.: Půda planety Země. Dokořán, Praha, 2012.
- /8/ Liran, S.: The effect of salt stress on photosynthetic characteristics and water use efficiency of various summer foxtail millets. *Agricultural Science and Technology and Equipment*, 10, 2011: 1–5.
- /9/ Mashilo, J., Odindo, A. O., Shimelis, H. A., Musenge, P., Tesfay, S. Z., Magwaza, L. S.: Drought tolerance of selected bottle gourd [*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.] landraces assessed by leaf gas exchange and photosynthetic efficiency. *Plant Physiology and Biochemistry*, 120, 2017: 75–87.
- /10/ Motřková, K., Podlipná, R., Vaněk, T., Kafka, Z.: Halofytní rostliny a jejich možné využití ve fytořemediacích. *Chemické listy*, 108 (6), 2014: 586–591.
- /11/ Pessarakli, M.: Handbook of Cucurbits: Growth, Cultural Practices, and Physiology. 594 in Handbook of Cucurbits: growth, cultural practices, and physiology. CRC Press, Boca Raton, 2016.
- /12/ Prisco, J. T., Filho, E. G., Miranda, R. de S. 2016. Physiology and biochemistry of plants growing under salt stress. In: Gheyi, H. R., Silva Dias, da N., Lacerda, de C. F., Filho, E. G. (Eds.): Manejo da Salinidade na Agricultura: Estudos Básicos e Aplicados. Expressão Gráfica e Editora, 2016: 163–180.
- /13/ Sheng, S., Shi-Rong, G., Jin, S., Ling-Yun, Y.: Effects of salt stress on the structure and function of the photosynthetic apparatus in *Cucumis sativus* and its protection by exogenous putrescine. *Physiologia Plantarum*, 146 (3), 2012: 285–296.
- /14/ Sultana, N., Ikeda, T., Itoh, R.: Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. *Environmental and Experimental Botany*, 42 (3), 1999: 211–220.
- /15/ Wu, X., Zhu, Z., Li, X., Zha, D.: Effects of cytokinin on photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence parameters and antioxidative system in seedlings of eggplant (*Solanum melongena* L.) under salinity stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34, 2012: 2105–2114.
- /16/ Yousif, B. S., Nguyen, N. T., Fukuda, Y., Hakata, H.: Effect of salinity on growth, mineral composition, photosynthesis and water relations of two vegetable crops; New Zealand spinach (*Tetragonia tetragonioides*) and waterspinach (*Ipomoea aquatica*). *International Journal of Agriculture and Biology*, 12 (2), 2010: 211–216.

PODĚKOVÁNÍ

Uvedená práce vznikla za finanční podpory S grantu MŠMT ČR.



VPLYV VYSOKEJ TEPLoty NA FOTOSYNTETICKÉ PREJAVY RÔZNYCH ODRÔD PŠENICE

EFFECT OF HIGH TEMPERATURE ON PHOTOSYNTHETIC RESPONSES OF DIFFERENT VARIETIES OF WHEAT

ERIK CHOVAŇEK¹, MAREK ŽIVČÁK¹, MARIÁN BRESTIČ¹, KRISTÍNA GAŠPAROVIČ¹, JANA FERENCOVÁ¹, IVANA DEMOVÁ¹, LENKA BOTYANSZKÁ¹, MAREK KOVÁR¹, PAVOL HAUPTVOGEL²

¹SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA, FAPZ, KATEDRA FYZIOLOGIE RASTLÍN, TRIEDA A. HLINKU 2, 949 76 NITRA, SLOVENSKÁ REPUBLIKA, E.CHOVANCEK@GMAIL.COM

²NÁRODNÉ POĽNOHOSPODÁRSKE A POTRAVINÁRSKE CENTRUM, VÝSKUMNÝ ÚSTAV RASTLINNEJ VÝROBY PIEŠŤANY, BRATISLAVSKÁ CESTA 122, 921 68 PIEŠŤANY, SLOVENSKÁ REPUBLIKA

SUMMARY

Climate change has a significant impact on the growth and production of cultivated crops. To verify the effects of short-term periods of extremely high temperatures and the effect of genotypic variability on stress, we conducted genotype testing in pot experiments with simulated temperature wave at temperatures up to 38 °C for 4 days.

The high temperature wave was manifestly reflected in the photosynthetic parameters of all eight wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties monitored by us. Differences between genotypes were observed in stress as well as after stress.

Key words: climate change; heat wave; photosystem II; *Triticum aestivum*

SÚHRN

Klimatické zmeny výrazne vplyvajú na rast a produkciu pestovaných plodín. Pre overenie účinkov krátkodobej periódy mimoriadne vysokých teplôt a účinkov genotypovej variability na stres sme realizovali testovanie genotypov v nádobových vegetačných pokusoch so simulovanou teplotnou vlnou s teplotami do 38 °C po dobu 4 dní. Vlna vysokých teplôt sa preukazne prejavila na fotosyntetických parametroch všetkých ôsmich nami sledovaných odrôd pšenice (*Triticum aestivum* L.), pričom sme pozorovali genotypové rozdiely tak v bezprostredných reakciách na stres, ako aj v regenerácii po odznení stresu.

Kľúčové slová: atické zmeny; tepelná vlna; fotosystém II; *Triticum aestivum*

Úvod

Zmena klímy môže priniesť zvýšenie frekvencie a intenzity extrémov počasia, ako sú vlny horúčav a silné suchá /1/. Tepelné vlny (vysoké teploty na krátku dobu) môžu výrazne znížiť produkciu zŕn /2/. Pšenica (*Triticum aestivum* L.) je hlavné základné obilie s celosvetovou produkciou 772 miliónov ton v roku 2017 /3/. Na udržanie alebo dokonca zvýšenie produkcie v budúcnosti pre rastúce potreby zvyšovania ľudskej populácie /4/ bude potrebné pokračovať v adaptácii vo forme šľachtenia a vhodných agronomických stratégií /2/.

Optimálne rastové teploty pre pšenicu sú medzi 17 a 23 °C /5/. Rastlina je vystavená tepelnému stresu, keď je vystavená teplotám nad hornou hranicou dostatočne dlho na to, aby spôsobil nevratné poškodenie /6/. Pre pšenicu sú prahové teploty ovplyvňujúce rast a úrodu najčastejšie uvádzané medzi 31–35 °C /7/, hoci niektoré štúdie zaznamenali teplotné vplyvy už pri 26 °C /8/.

Vysoké teploty spôsobujú denaturáciu a agregáciu proteínov a zvýšenú tekutosť membránových lipidov. Nepriame tepelné poškodenia zahŕňajú degradáciu proteínov, inaktiváciu enzýmov v chloroplastoch a mitochondriách, inhibíciu syntézy proteínov a stratu membránovej integrity /9/. Tieto poranenia vedú k produkcii toxických zlúčenín a reaktívnych foriem kyslíka, zníženému toku iónov, hladovaniu a inhibícii rastu /6/. Veľmi vysoké teploty môžu spôsobiť bunkovú smrť v dôsledku kolapsu bunkovej organizácie /10/.

Zvýšenie teplôt typicky vedie k zníženiu vodivosti prieduchov (g_s) /11/ a tým uzavretiu prieduchov. Avšak pri vysokých teplotách sa môže g_s zvýšiť, aby sa zabránilo slabému ochladzovaniu a dosiahnutiu nebezpečne vysokých teplôt listov /12/. Prieduchová vodivosť a čistá fotosyntéza sú inhibované miernym tepelným stresom v mnohých rastlinných druhoch v dôsledku poklesu aktivačného stavu enzýmu Rubisco /13/.

Miesta fotochemických reakcií patria medzi prvé, ktoré sa pri vysokých teplotách poškodia /14/. Vysoká teplota môže poškodiť fotosystém II (PSII), komplex vyvíjajúci kyslík (OEC) a prenos elektrónov na oboch

donorových a akceptorových stranách PSII fotosyntetického aparátu /15/. PSII nie je pri vysokých teplotách veľmi stabilný a jeho aktivita je značne znížená pri vysokých teplotách /16/. Tepelné napätie môže spôsobiť disociáciu OEC, a teda nerovnováhu medzi tokom elektrónov z OEC smerom k akceptorovej strane PSII /17/. Nie všetky genotypy v rámci druhov majú rovnakú schopnosť vyrovnat' sa s tepelným stresom. Existuje veľký rozdiel medzi druhmi a v rámci druhov. Naším cieľom v tejto štúdii je poskytnúť niektoré fyziologické pohľady na niekoľko starostlivo vybraných odrôd pšenice zo Slovenskej génovej banky a ukázať, ako sa líšia v reakcii na simulovanú vlnu vysokých teplôt.

MATERIÁL A METÓDY

Osem kultivarov pšenice ozimnej (*Triticum aestivum* L.): Equinox (pôvod: GBR), Thesee (FRA), 16/26 (SVK), GRC 867 (GRC), Roter Samtiger Kolbenweizen (DEU), Unmedpur Mummy (EGY), Dušan (SRB) a AZESVK2009-90 (GEO) bolo vysiatych a následne jarovizovaných v rastovej komore pri 5 °C a v jarom období (máj) boli vysadené solitérne a pestované vo vonkajších podmienkach, v nádobách s objemom 3 litre naplnených štandardným rašelinovým substrátom, v bloku s okrajovými rastlinami, ktoré eliminovali hraničný efekt. Nádoby sa pravidelne zavlažovali.

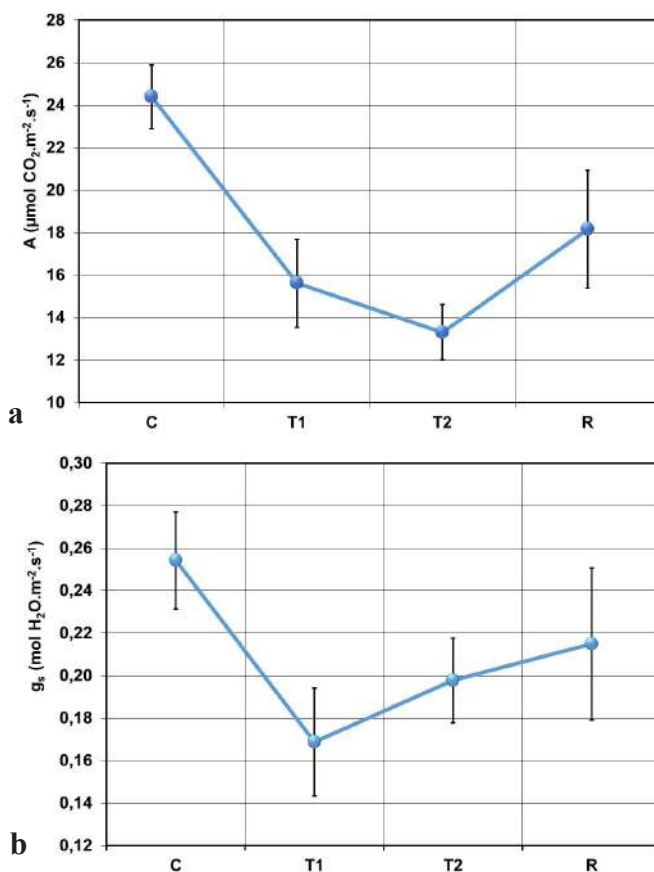
Rastliny boli neskôr umiestnené vo fóliovom tuneli, kde po nástupe slnečného počasia sa na niekoľko dní vytvorili podmienky simulujúce vlnu mimoriadne vysokých teplôt, pri ktorých denné maximá presahovali 38 °C a minimálne teploty v noci sa udržiavali nad 20 °C (fázy T1 a T2). V rovnakom období boli maximálne vonkajšie teploty medzi 25 a 30 °C, čomu zodpovedajú aj teploty pri regenerácii rastlín, po ich opätovnom umiestnení mimo fóliového tunela (fáza obnovy, R). Kontrolné rastliny pestované mimo tunela (C) boli merané tak na začiatku ako aj na konci teplotnej vlny. Merania výmeny plynov a rýchlej kinetiky chlorofylu a boli realizované v laboratórnych podmienkach.

Merania fluorescencie chlorofylu a sa uskutočňovali na neporušených zástavkových listoch rastlín pšenice, ktoré boli pomocou listových klíps adaptované na tmu počas 15 minút. Fluorescencia chlorofylu a bola mieraná prenosným nemodulovaným fluorimetrom Handy-PEA (Hansatech Instruments, UK). Po adaptácii listov na tmu sa aplikoval jeden silný 1 s-svetelný impulz ($3\,500\,\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) pomocou troch svetelných diód (650 nm). Rýchla kinetika fluorescencie (F_0 až F_m) bola zaznamenávaná počas 10 μs až 1 s. Pre každú odrodu a ošetrenie sa použili 3 opakovania. Namerané údaje boli analyzované JIP testom /18, 19/.

Merania výmeny plynov sa uskutočňovali s použitím gazometru Licor 6400 (Licor, USA) so súčasným meraním fluorescencie chlorofylu. Hodnoty F_0 a F_m sa určili po 15 minútach adaptácie na tmu v meracej hlavici. Potom sa vzorka udržiavala pri aktinickom svetle ($1\,500\,\mu\text{mol}\,\text{fotónov}\,\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) pri teplote listu 25 °C, referenčnom obsahu CO_2 pri 400 ppm a vlhkosti okolitého vzduchu. Každé 2 minúty sa merala výmena plynov a fluorešcenčný výťažok až do ustálenia (steady-state), kedy sa získali prezentované hodnoty. Hodnoty parametrov výmeny plynov (rýchlosť asimilácie CO_2 - A; prieduchová vodivosť - g_s) boli vypočítané priamo softvérom prístroja.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

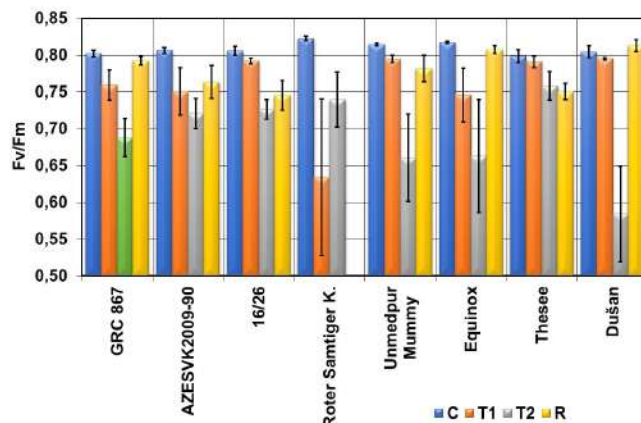
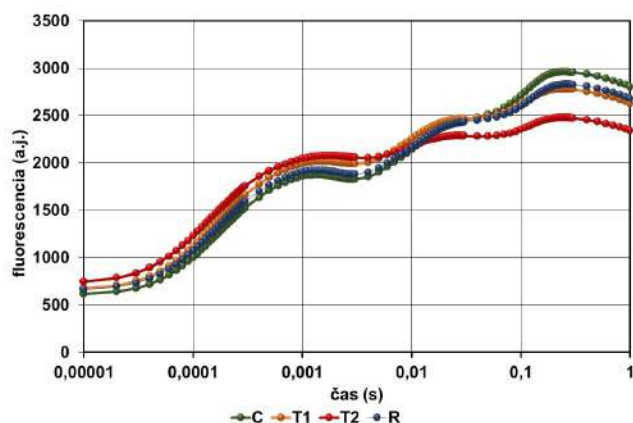
Simulácia tepelnej vlny udržiavaním rastlín uzavretých pod fóliovým tunelom bola účinná: vysoké teploty (denné maximá pri 38 °C a nočné minimá nad



Obr. 1: a - vplyv tepla (T1 a T2) na fotosyntetickú aktivitu a prieduchovú vodivosť (g_s) rastlín pšenice; b - priemery zo všetkých genotypov

20 °C) mali štatisticky významný negatívny vplyv na fotosyntetické funkcie rastlín. Gazometrické merania ukázali, že simulovaná tepelná vlna viedla k zníženiu fotosyntetickej aktivity a prieduchovej vodivosti, v priemere o 40 % v porovnaní s kontrolou (C), s miernym zotavením po ukončení pôsobenia stresu (obr. 1a, b). Rastliny, ktoré sa vrátili do normálnych podmienok (R) po tepelnom strese (T1 a T2), vykazujú trvalé zníženie fotosyntézy v dôsledku viacdenných horúčav.

Vysoká teplota tiež ovplyvňuje tvar O-J-I-P krivky, F_m sa znižuje a F_0 sa zvyšuje /20/. To dokumentujeme aj v našom pokuse (obr. 2). Nárast F_0 môže byť spôsobený uvoľnením LHC II z komplexu PSII, inaktíváciou fotochemických reakcií na PSII alebo inhibíciou toku elektrónov kvôli redukovanému transferu z QA na QB /21/. Pokles F_m môže súvisieť s ireverzibilným poškodením proteínových komplexov fotosystémov následkom vysokých teplôt /22/. Jednotlivé odrody tiež s rôznou mierou reagovali na vysoké teploty, ako ukazuje parameter F_v/F_m (obr. 3).



Obr. 2: Vplyv tepla (T1 a T2) na OJIP krivku rastlín pšenice, priemer zo všetkých genotypov

Obr. 3: Vplyv tepla na F_v/F_m parameter jednotlivých odrôd pšenice

LITERATÚRA

- /1/ IPCC. IPCC fifth assessment synthesis report. Climate change 2014: Longerreport. Stockholm, Sweden.
- /2/ Nuttall, J. G., Barlow, K. M., Delahunty, A. J., Christy, B. P. and O'Leary, G. J. Acute High Temperature Response in Wheat. *Agronomy Journal*, 110 (4), 2018: 1296-1308.
- /3/ FAOSTAT. 2019. Crops. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>.
- /4/ Slafer, G. A., Savin, R. and Sadras, V. O. Coarse and fine regulation of wheat yield components in response to genotype and environment. *Field Crops Research*, 157, 2014: 71-83.
- /5/ Shanmugam, S., Kjaer, K. H., Ottosen, C. O., Rosenqvist, E., Kumari Sharma, D., Wollenweber, B. The alleviating effect of elevated CO₂ on heat stress susceptibility of two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *J. Agron. Crop. Sci.* 199 (5), 2013: 340-350.
- /6/ Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., Foolad, M. R.. Heat tolerance in plants: an overview. *Environ. Exp. Bot.* 61 (3), 2007: 199-223.
- /7/ Fischer, R. A. Wheat physiology: a review of recent developments. *Crop Pasture Sci.* 62 (2), 2011: 95-114.
- /8/ Stone, P., Nicolas, M. Wheat cultivars vary widely in their responses of grain yield and quality to short periods of post-anthesis heat stress. *Funct. Plant Biol.* 21 (6), 1994: 887-900.
- /9/ Howarth, C. J., 2005. Tolerance to High Temperature. In Ashraf, M. and Harris, P. Genetic Improvements of Tolerance to High Temperature. In *Abiotic Stresses*. CRC Press, 2005: 299-322.
- /10/ Schoeffl, F., Prandl, R., Reindl. Molecular responses to heat stress. In: Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. (Eds.). *Molecular responses to Cold, Drought, Heat and Salt Stress in Higher Plants*. R. G. Landes Co., Austin, Texas, 1999: 81-98.
- /11/ Fauset, S., Oliveira, L., Buckeridge, M. S., Foyer, C. H., Galbraith, D., Tiwari, R. and Gloor, M. Contrasting responses of stomatal conductance and photosynthetic capacity to warming and elevated CO₂ in the tropical tree species *Alchornea glandulosa* under heatwave conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 158, 2019: 28-39.

/12/ Drake, J. E., Tjoelker, M. G., Vårhammar, A., Medlyn, B. E., Reich, P. B., Leigh, A., Barton, C. V. M. Trees tolerate an extreme heatwave via sustained transpirational cooling and increased leaf thermal tolerance. *Glob. Change Biol. Bioenergy*. 2018. <https://doi.org/10.1111/gcb.14037>

/13/ Morales, D., Rodríguez, P., Dell'amico, J., Nicolás, E., Torrecillas, A., Sánchez-Blanco, M. J. High-temperature preconditioning and thermal shock imposition affects water relations, gas exchange and root hydraulic conductivity in tomato. *Biol. Plant*. 47, 2003: 203-208.

/14/ Wise, R. R., Olson, A. J., Schrader, S. M., Sharkey, T. D. Electron transport is the functional limitation of photosynthesis in field-grown Pima cotton plants at high temperature. *Plant Cell Environ*. 27, 2004: 717-724.

/15/ Li, P., Cheng, L., Gao, H., Jiang, C., Peng, T. Heterogeneous behavior of PSII in soybean (*Glycine max*) leaves with identical PSII photochemistry efficiency under different high temperature treatments. *J. Plant Physiol*. 166, 2009: 1607-1615.

/16/ Camejo, D., Rodríguez, P., Morales, M. A., Dell'amico, J. M., Torrecillas, A., Alarcón, J. J. High temperature effects on photosynthetic activity of two tomato cultivars with different heat susceptibility. *J. Plant Physiol*. 162, 2005: 281-289.

/17/ De Ronde, J. A. D., Cress, W. A., Kruger, G. H. J., Strasser, R. J., Staden, J. V. Photosynthetic response of transgenic soybean plants containing an *Arabidopsis* P5CR gene, during heat and drought stress. *J. Plant Physiol*. 61, 2004: 1211-1244.

/18/ Strasser R. J., Srivastava A., Govindjee. Polyphasic chlorophyll a fluorescence transients in plants and cyanobacteria. *Photochem. Photobiol.*, 61, 1995: 32-42.

/19/ Strasser R. J., Srivastava A., Tsimilli-Michael M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: Yunus M., Pathre U., Mohanty P. (eds.): *Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation*. Taylor and Francis, London, 2000: 445-483.

/20/ Kalaji, H. M., Jajoo, A., Oukarroum, A., Brestic, M., Zivcak, M., Samborska, I. A., Cetner, M. D., Łukasik, I., Goltsev, V. and Ladle, R. J. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. *Acta physiologiae plantarum*, 38(4), 2016, p.102.

/21/ Mathur S., Mehta P., Jajoo .A, Bharti S. Analysis of elevated temperature induced inhibition of Photosystem II using Chl a fluorescence induction kinetics. *Plant Biology* 13, 2011: 1-6.

/22/ Yamane, Y., Kashino, Y., Koike, H., Satoh, K. Increases in the fluorescence F_0 level and reversible inhibition of Photosystem II reaction center by high-temperature treatments in higher plants. *Photosynth Res* 52, 1997: 57-64.

POĎAKOVANIE

Práca vznikla za finančnej podpory projektov VEGA-1-0831-17 a APVV-15-0721.



PRÍPRAVA SUSPENZNÝCH KULTÚR EMBRYOGÉNNÝCH LÍNIÍ *PINUS NIGRA* ARN.

ESTABLISHMENT OF SUSPENSION CULTURES FROM EMBRYOGENIC CELL LINES OF *PINUS NIGRA* ARN.

VERONIKA IHRADSKÁ, MIROSLAV PERNIŠ, TERÉZIA SALAJ, KATARÍNA KLUBICOVÁ

ÚSTAV GENETIKY A BIOTECHNOLÓGIÍ RASTLÍN CBRB SAV, P.O. Box 39 A, 950 07 NITRA 1, SLOVENSKÁ
REPUBLIKA

SUMMARY

The study is focused on the establishment of suspension cultures from *Pinus nigra* Arn. cell lines. The embryogenic tissues were initiated from immature zygotic embryos cultured on soli DCR medium. Owing to the very early developmental stage the zygotic embryos were enclosed in megagametophyte.

After 3–6 weeks of cultivation the embryogenic tissue was achieved. Induced tissue was used for establishment of suspension cultures. Structure of somatic embryos was characterized using light microscopy technique and acetocarmine staining (2%).

Key words: somatic embryogenesis; sedimented cell volume; maturation

SÚHRN

Práca je venovaná príprave suspenzných kultúr embryogénnych bunkových línií *Pinus nigra*. Na indukciu embryogénnych pletív boli použité nezrelé zygotové embryá kultivované na pevnom médiu DCR. Vzhľadom na veľmi skoré vývinové štádium, embryá boli uzavreté v megagametofyte. Po troch až šiestich týždňoch, *in vitro* kultiváciou sa podarilo získať embryogénne pletivo. Toto pletivo bolo následne použité na založenie suspenzných kultúr. Na charakterizáciu štruktúry získaných organizovaných bipolárnych štruktúr - somatických embryí bola využitá svetelná mikroskopická metóda. Na cytologické pozorovanie bolo použité farbenie pomocou acetokarmínu (2 %).

Kľúčové slová: somatická embryogenéza; objem sedimentovaných buniek; maturácia

ÚVOD

Somatická embryogenéza sa javí ako sľubná technika na *in vitro* vegetatívne rozmnožovanie ihličnatých stromov vo veľkom meradle a predstavuje vhodný experimentálny model pre štúdium rastu a vývinu somatických embryí. Somatické embryá sa vyvíjajú zo somatických, teda telových buniek, bez fúzie gamét, nepohlavnou cestou. Embryogénne bunkové línie môžu byť indukované z rôznych typov pletív, ako sú napr. nezrelé, zrelé zygotové embryá /1, 2, 3/ alebo kotyledonov /4/. Indukcia embryogénnych pletív bola popísaná pri mnohých druhoch ihličnanov /5, 6, 7/. Na dlhodobé pestovanie sa môžu používať pevné alebo tekuté kultivačné médiá. Tekuté kultúry ponúkajú viac výhod oproti pevným médiám, napr. kultúry v tekutom médiu rastú rýchlejšie. Je to spôsobené tým, že sú ponorené do živného roztoku, čo umožňuje rýchlejší príjem živín bunkami a následne rýchlejší transport v bunkovom priestore pomocou difúzie /8/. Rast pletiva v tekutom médiu je ovplyvnený počiatočnou hmotnosťou pletiva, ktoré je použité na založenie suspenznej kultúry, rovnako aj genotypom pletiva. Na to, aby suspenzná kultúra dobre rástla, musí byť v neustálom pohybe, tj. na trepačke alebo roleroch, pretože tak dochádza k neustálemu prevzdušňovaniu, pohybom sa zlepšuje aj difúzia živín a metabolitov. Rovnako tak pohyb suspenzných kultúr napomáha mechanickému rozpadu bunkových zhlukov /9/.

MATERIÁL A METÓDY

Indukcia embryogénnych kultúr

Embryogénne pletivá sme indukovali z nezrelých zygotových embryí na pevnom DCR médiu /10/. Médium DCR bolo doplnené o rastové regulátory 2,4-D (9 μ M) (kyselina 2,4-dichlórfenoxyoctová) a BA (4,4 μ M) (6-benzyladenín) a spevnené geleritom (0,3 %), pH média bolo upravené na 5,8. Počas kultivácie sme pletivá pravidelne prenášali na čerstvé živné médium v dvoj týždňových intervaloch.

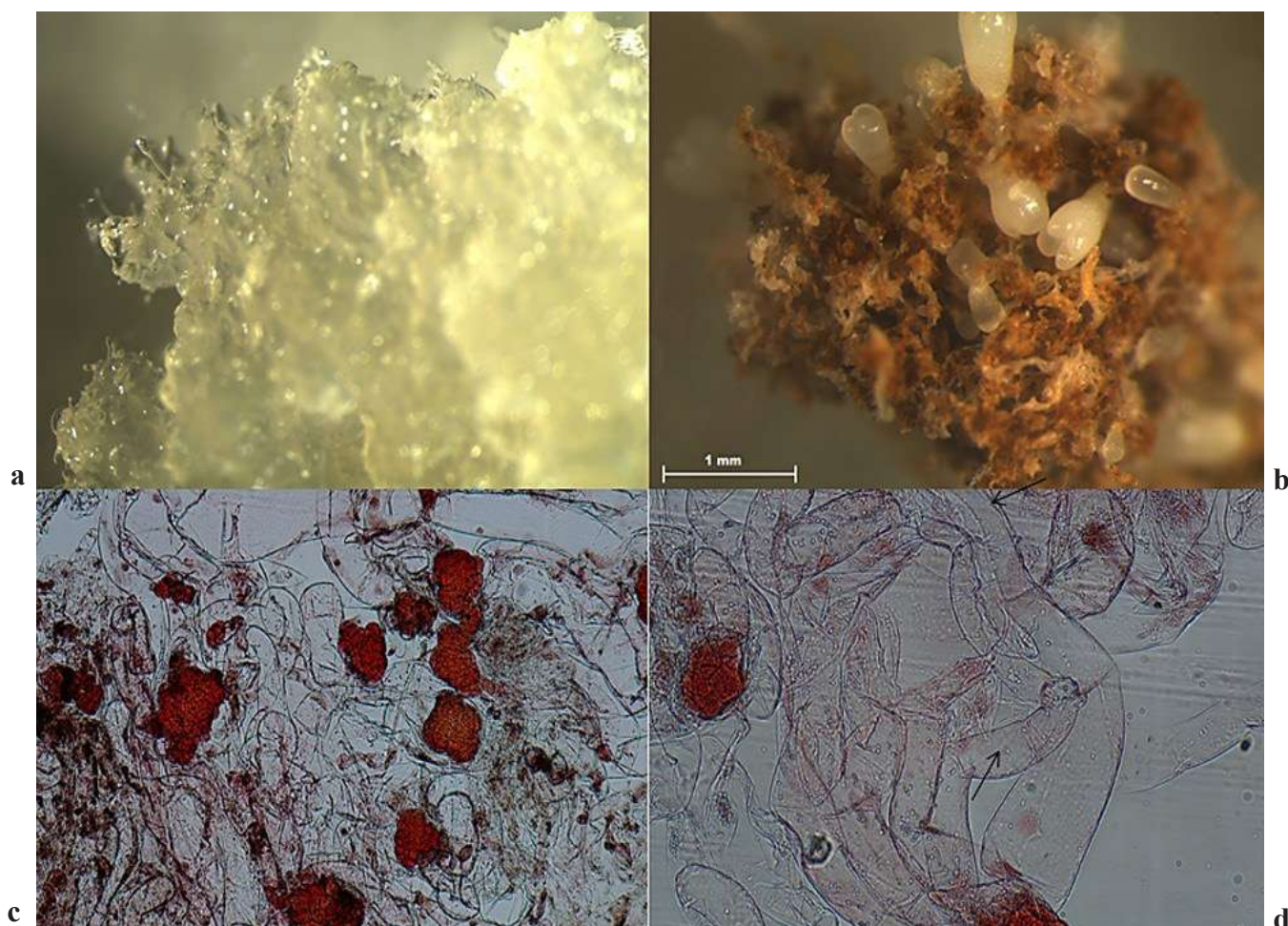
Mikroskopické pozorovanie štruktúry embryogénnych kultúr

Z intenzívne rastúcich pletív sme odoberali miniatúrne kúsky (cca 2 mm), položili ich na podložné sklíčko a roztlačili pomocou ihly. K pletivu sme pridali kvapku acetokarmínu (2 %). Následne sme vzorku prikryli krycím sklíčkom a pomocou filtračného papiera odsali nadbytok farbiva. Takto pripravený preparát bol pripravený na mikroskopovanie pod svetelným mikroskopom Axioplan 2 (Zeiss).

Založenie suspenzných kultúr

Na 8. deň rastovej fázy sme odobrali 2 g čerstvej hmoty a rozsuspendovali sme ju v 25 ml tekutého média DCR. Suspenzie sme kultivovali v 100 ml Erlenmeyerových bankách v tme na trepačke pri 70 rpm. Po 7 dňoch kultivácie sme suspenzie preliali do 25 ml sklenených kalibračných valcov, suspenzie sme nechali sedimentovať 30 min. Rast buniek sme vyhodnotili ako objem sedimentovaných buniek (SCV, sedimented cell volume) v ml.

Následne sme napipetovali 3 ml SCV do 22 ml čerstvého tekutého DCR média, finálny objem bol 25 ml. Kultúry sme udržiavali v tme na trepačke pri 70 rpm. Po 10 dňoch sme opäť vyhodnotili rast suspenzných kultúr (SCV), zároveň sme odobrali supernatant do 50 ml skúmaviek a zamrazili v tekutom dusíku. Rovnako sme v tekutom dusíku zamrazili aj sedimenty z každej línie. Na vyhodnotenie rozdielov v raste medzi bunkovými líniami sme použili jednofaktorovú ANOVu.



Obr. 1:

a - embryogénne pletivo kultivované na pevnom médiu,

b - maturácia somatických embryí, kotyledonárne somatické embryá na maturačnom médiu,

c - meristematické bunkové zhľuky a roztrúsené suspenzorové bunky (lína E453),

d - bipolárne somatické embryo (lína E477).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na indukciu embryogénnych pletív sme použili pevné DCR médium. Embryogénne pletivo (obr. 1a) sa indukovalo približne po 3-6 týždňoch kultivácie explantátov. Maturačnú kapacitu sme vyjadrili ako počet somatických embryí (obr. 1b) v prepočte na 1 g čerstvej hmotnosti. Na prípravu suspenzných kultúr sme vybrali 6 bunkových línií s rôznou maturačnou kapacitou. Línie E420, E456 a E477 sa vyznačovali vysokou maturačnou kapacitou, t.j. počet embryí sa pohyboval v rozsahu od 131-627 do na 1 g čerstvej hmotnosti. Línie E419, E453 a E474 boli charakterizované ako línies s nízkou maturačnou kapacitou. Pri týchto líniiach embryá nedosiahli kotyledonárne vývinové štádium. Mikroskopickými pozorovaniami štruktúry pletiva po farbení acetokarmínom sme zistili rozdiely medzi bunkovými líniami s vysokou a nízkou embryogénnou kapacitou (obr. 1c, d).

Tab. 1: Meranie rastu suspenzných kultúr - SVC

Objem (ml)/Línia	E419	E474	E456	E477
Priemer	11,8	10,9	11,6	17,8
Odchýlka	2,36	2,85	2,21	1,97

Na založenie suspenzných kultúr sme použili pletivá, kultivované na pevnom médiu a tekuté DCR médium. Rast embryogénnych línií sme vyhodnotili ako objem sedimentovaných buniek (tab. 1), rast medzi líniami sme porovnali pomocou jednofaktorovej ANOV-y. Pri sledovaných líniiach SCV dosiahol priemerné hodnoty od 10,9 ml do 17,8 ml. Pozorovali sme štatisticky významný rozdiel v raste medzi líniami. Rast môže byť ovplyvnený rôznymi faktormi, ako napr. počiatková hmotnosť inokula /1/. Suspenzné kultúry z embryogénnych pletív ihličnatých drevín boli pripravené pri rôznych druhoch, ako napr. *Picea abies* /11/, *Picea glauca* /12/, *Picea sitchensis* /13/, *Pinus taeda* /14/, *Pinus strobus* /15/, *Pseudotsuga menziesii* /8/ a *Abies nordmanniana* /16/.

LITERATÚRA

- /1/ Salaj, T., Blehová, B., Salaj, J.: Embryogenic suspension cultures of *Pinus nigra* Arn.: growth parameters and maturation ability. Acta Physiologiae Plantarum 29, 2007: 225–231.
- /2/ Reeves, C., Hargreaves, C., Trontin, J.F., Lelu-Walter, M.A.: Simple and efficient protocols for the initiation and proliferation of embryogenic tissue of Douglas-fir. Trees, 32(1), 2018: 175–190.
- /3/ Salajova, T., Jasik, J., Kormutak, A., Salaj, J., Hakman, I.: Embryogenic culture initiation and somatic embryo development in hybrid firs (*Abies alba* x *Abies cephalonica*, and *Abies alba* x *Abies numidica*). Plant Cell Reports, 15(7), 1996: 527–530.
- /4/ Malabadi, R.B., Van Staden, J.: Somatic embryogenesis from vegetative shoot apices of mature trees of *Pinus patula*. Tree Physiology, 25(1), 2005: 11–16.
- /5/ Jain, M.S., Gupta, P.K., Newton, R.J.: Somatic embryogenesis in woody plants. In: Gymnosperms. vol 3. Kluwer, The Netherlands, 1995: 388.
- /6/ Jain, M.S., Gupta, P.K., Newton, R.J.: Somatic embryogenesis in woody plants, vol 4. Forestry sciences, vol 55. Kluwer, The Netherlands, 1999: 547.
- /7/ Klimaszevska, K., Hragreaves, C., Lelu-Walter, M.-A., Trontin, J.F.: Advances in conifer somatic embryogenesis. In Vitro Embryogenesis in Higher Plants. Eds. Germana, M.A., Lambardi, M., Springer Science and Business Media, New York, 2016: 131–166.
- /8/ Gupta, P.K., Timmis, R.: Mass propagation of conifer trees in liquid cultures—progress towards commercialization. In: Hvoslef-Eide AK, Preil W (eds) Liquid culture systems for *in vitro* plant propagation. Springer, Dordrecht, 2005: 389–402.
- /9/ Salaj, T., Blehová, A.: *In vitro* kultúry vyšších rastlín. Bratislava: Univerzita Komenského, 2006. ISBN 80-223-2061-7.
- /10/ Gupta, P.K., Durzan, D.J.: Shoot multiplication from mature trees of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugar pine (*Pinus lambertiana*). Plant Cell Reports 4, 1985: 177–179.
- /11/ Boulay, M.P., Gupta, P.K., Krogstrup, P., Durzan, D.J.: Development of somatic embryos from cell suspension cultures of Norway spruce (*Picea abies* Karst.). Plant Cell Rep 7, 1988: 134–137.

/12/ Hakman, I., Fowke, L.C.: An embryogenic cell suspension culture of *Picea glauca* (white spruce). Plant Cell Rep 6, 1987: 20–22.

/13/ Krogstrup, P.: Effect of culture densities on cell proliferation and regeneration from embryogenic cell suspensions of *Picea sitchensis*. Plant Sci 72, 1990: 115–123.

/14/ Silveira, V., Floh, E.I.S., Handro, W., Guerra, M.P.: Effect of plant growth regulators on the cellular growth and levels of intracellular protein, starch and polyamines in embryogenic suspension cultures of *Pinus taeda*. Plant Cell Tiss Org Cult 76, 2003: 53–60.

/15/ Finer, J.J., Kriebel, H.B., Becwar, M.R.: Initiation of embryogenic callus and suspension cultures of eastern white pine (*Pinus strobus* L.). Plant Cell Rep 8, 1989: 203–206.

/16/ Nørgaard, J.V., Baldursson, S., Krogstrup, P.: Establishment of embryogenic suspension cultures from embryogenic cultures of *Abies nordmanniana*, osmotic effects. In: Cost 87 Meeting—regeneration from suspension cultures, September 24–27, Drøbak, Norge, 1992: 67–69.

POĎAKOVANIE

Práca bola vypracovaná v rámci projektu VEGA č. 2/0056/18.



ODOZVA SEZÓNNEJ DYNAMIKY PRÍRASTKU OBVODOV KMEŇOV BUKA A SMREKA NA VARIABILITU POČASIA VO VYSOKOHORSKOM PRÍRODNOM LESE POČAS ROKOV 2017–2018 NA ZÁKLADE PROXY DÁT EXTRAHOVANÝCH Z DENDROMETROV
INTRA-SEASONAL RESPONSE OF BEECH AND SPRUCE STEM CIRCUMFERENCE INCREMENTS TO WEATHER VARIABILITY IN MONTANE NATURAL FOREST DURING 2017–2018 BASED ON PROXIES EXTRACTED FROM DENDROMETERS

MAREK JEŽÍK¹, MIROSLAV BLAŽENEC¹, GABRIELA JAMNICKÁ¹, KATARÍNA STŘELCOVÁ²,
 PETER FLEISCHER JR.^{1,2}, ĽUBICA DITMAROVÁ¹

¹ÚSTAV EKOLÓGIE LESA SAV, ŠTÚROVA 2, 960 53 ZVOLEN, SLOVENSKÁ REPUBLIKA, JEZIK@SAVZV.SK

²LESNÍCKA FAKULTA TU VO ZVOLENE, T. G. MASARYKA 24, 960 53 ZVOLEN, SLOVENSKÁ REPUBLIKA

SUMMARY

We studied seasonal dynamics of daily stem circumference increment (SCI) of beech and spruce in montane natural forest during 2017–2018 seasons. They responded partly similarly, partly differently to weather conditions. Both species responded positive to temperature (and its accumulation) from the beginning of season to around the mid-July and this influence last for beech till the end of the main growth period (the end of August–beginning of September). In the case of spruce the main part of seasonal increment was created till the end of July. During July, precipitation gradually became the main factor influencing SCI of spruce and positive influence of temperature started to turn to negative what most probably triggered the processes of increment cessation.

Key words: European beech; Norway spruce; stem circumference increment; weather

SÚHRN

Počas sezón 2017–2018 sme študovali sezónnu dynamiku prírastku obvodu buka a smreka

v prírodnom horskom lese. Obidve dreviny reagovali čiastočne podobne, čiastočne rozdielne na podmienky počasia. Od začiatku sezóny, približne do polovice júla reagovali pozitívne na teplotu (ako aj jej akumuláciu na začiatku sezóny), a tento vplyv pretrvával u buka až do konca hlavného obdobia rastu (koniec augusta až začiatok septembra). V prípade smreka bola hlavná časť sezónneho prírastku vytvorená už do konca júla. V priebehu júla sa hlavným faktorom ovplyvňujúcim prírastok smreka stali postupne zrážky a pozitívny vplyv teploty sa začal meniť na negatívny čo pravdepodobne spustilo proces ukončovania prírastku.

Kľúčové slová: buk lesný; smrek obyčajný; prírastok obvodu; počasie

ÚVOD

Buk lesný a smrek obyčajný predstavujú v lesoch Slovenska dve najrozšírenejšie dreviny, keď v r. 2017 dosahovalo ich percentuálne plošné zastúpenie 33,6 resp. 22,7 % /1/. Buk je drevina s najvyšším prirodzeným zastúpením v lesných ekosystémoch Slovenska, ktoré bolo lesníckou praxou v minulosti znižované práve na úkor smreka ako ekonomicky významnej dreviny. V súčasnosti dochádza naopak ku zvyšovaniu zastúpenia buka, najmä v dôsledku zhoršeného zdravotného stavu a hromadnému hynutiu smrečín. V prirodzených podmienkach sa tieto dve dreviny stretávajú predovšetkým vo vyšších nadmorských výškach kde tvoria zmiešané porasty predovšetkým v 6. LVS (lesný vegetačný stupeň), ktoré prechádzajú do vysokohorských smrečín do ktorých na hranici 6. a 7. LVS preniká buk z nižších nadmorských výšok. V dôsledku klimatických zmien, ako aj meniacich sa požiadaviek na produkčné a ekosystémové služby lesa bude v budúcnosti dochádzať k ďalším zmenám zastúpenia a produkcie jednotlivých drevín v prirodzených, ako aj človekom ovplyvnených ekosystémoch, so snahou o využívanie pozitívnych interakcií medzi týmito drevinami v lesníckej praxi.

MATERIÁL A METÓDY

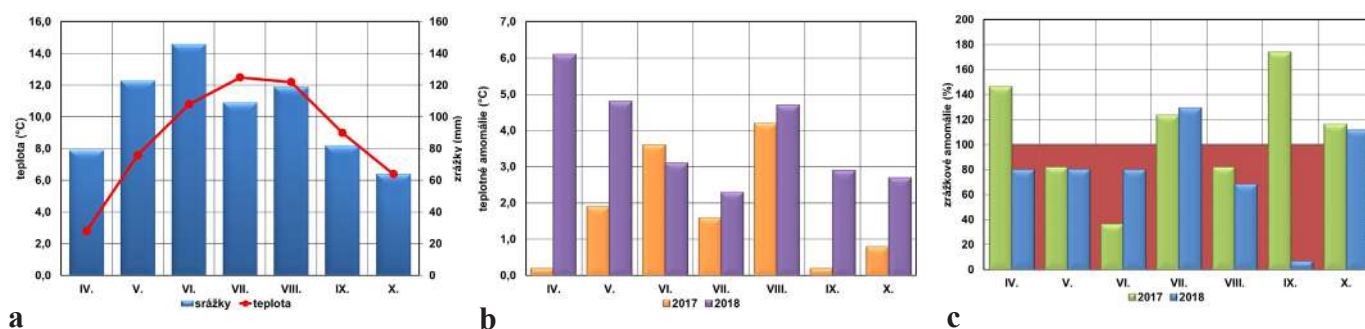
Štúdia prebiehala na Prednej Poľane (cca 1350 m n.m.), blízko vrcholu, na plošine so sklonom do 5° a juhojuhozápadnou orientáciou. Pôdnym typom je andozem kambizemná. Nachádza sa v 7. LVS, s dominujúcimi slt Sorbeto-Piceetum a Acereto-Piceetum. Jedná sa o nerovnoveký prirodzený les (prales), ktorý je súčasťou NPR Zadná Poľana. Dominantným druhom stromovej vrstvy je smrek obyčajný (*Picea abies*, L.) s prímiesou buka lesného (*Fagus sylvatica*, L.) a jarabiny vtáče (*Sorbus aucuparia*, L.). Najstaršie jedince hlavnej smrekovej

vrstvy dosahujú vek 150–190 rokov a priemernú výšku 25 m. Štruktúra je mozaikovitá, medzernatá, hrúbkovo a výškovo diferencovaná, zakmenenie 0,6–0,7. Táto smrečina je považovaná za najjužnejší výskyt prirodzených vysokohorských smrečín v Západných Karpatoch. V týchto podmienkach buk rastie na hornej hranici svojho rozšírenia na Slovensku, najmä na otvorenejších priestranstvách dosahuje horné výšky cez 20 m.

Počas sezón 2017 a 2018 sme pomocou automatických dendrometrov (DLR 26, EMS Brno) inštalovaných na kmeňoch vo výške približne 2,5 m sledovali 3 úrovňové jedince smreka a 3 jedince buka. Jedince buka predstavovali dobre vyvinuté stromové formy v uvoľnenejších častiach s dobrým prístupom ku svetlu a výškou 13–18 m ($d_{1,3} = 30,9\text{--}37,2$ cm). Jedince smreka sa nachádzali vo väčšej mladšej skupine (do 100 rokov), v súčasnosti úrovňovej s výškou 19–23 m ($d_{1,3} = 31,2\text{--}48,1$ cm). Denné nárasty obvodov kmeňov (SCI, ktoré slúžili ako proxy dáta pre prírastok obvodu) boli vypočítané z hodinových priemerov o 6 h rannej (čo je približne vrchol z časti expanzie kmeňa v rámci denného chodu) ako časť ktorou obvod kmeňa presiahol predchádzajúce maximum na sezónnej krivke obvodov /6/. Získané SCI dáta, rovnako ako meteorologické dáta, boli filtrované s použitím 13 dní dlhých Hammingových filtrov pre extrakciu nízko-frekvenčného spektra, na zvýraznenie variability s približnou vlnovou dĺžkou týždeň a viac. Meteorologické premenné (slnečná radiácia, teplota vzduchu, vlhkosť vzduchu a úhrny zrážok) boli merané na otvorenej ploche vo výške 1250 m n. m. vo vzdialenosti cca 650 m. Merania vodného potenciálu pôdy (Ψ_{soil}) prebiehali poraste v 15, 30 a 50 cm hĺbke (kontinuálne do -1.44 MPa, s použitím sádrových bločkov (Delmhorst Inc., USA).

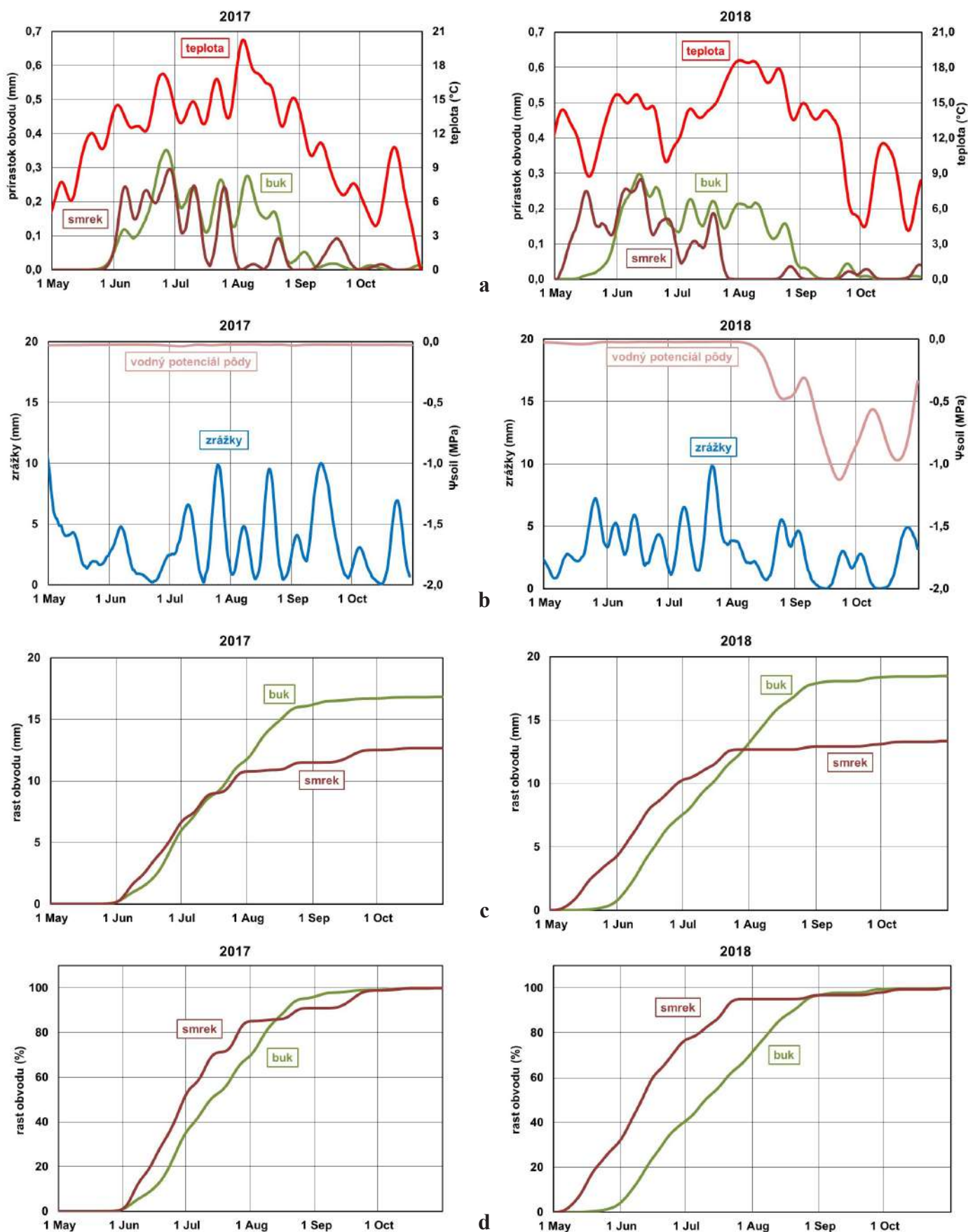
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Celkovo bolo vegetačné obdobie (apríl-september) 2017 teplotne nadnormálne (+1.9 °C) s horúcim letom (jún-august, +3,1 °C) a zrážkovo normálne s mimoriadne nadnormálnymi teplotami v mesiacoch apríl a jún (graf 1b). Zrážkovo deficitný a veľmi suchý bol jún (graf 1c), naopak apríl a september boli vlhké a veľmi vlhké. Obdobie apríl-september 2018 bolo teplejšie (+4,0 °C) s horúcim letom (+3,4 °C), zrážkovo normálne (85 %), s mimoriadne nadnormálnymi teplotami v mesiacoch apríl (graf 1b), máj, jún a august. Od začiatku sezóny 2018 sa kumuloval mierny zrážkový deficit (okrem júla), čo viedlo v synergii s extrémne vysokými teplotami k poklesu Ψ_{soil} v poslednej dekáde augusta, počas septembra a októbra (graf 2). Pod hodnotu $\Psi_{\text{soil}} = -0.5$ MPa ktorá je považovaná za prahovú pre vodný stress pre väčšinu rastlinných druhov /10/, klesol Ψ_{soil} k 10. septembru.



Graf 1: a - dlhodobý priemer teplôt a zrážkových úhrnov; b - teplotné anomálie; c - zrážkové anomálie počas sezón 2017 a 2018

Sezónne chronológie (graf 2) boli počas obidvoch rokov vysoko synchronne. V r. 2017 dosahovali hodnoty EPS (Expressed Population Signal) pre buk 0,99 a smrek 0,97, v r. 2018 to bolo 0,95 resp. 0,99. Korelačnou analýzou (metódou kľavých korelácií s použitím 30 dňových okien z obidvoch sezón) s premennými počasia sme zistili, že na začiatku sezóny (máj, jún) na prírastok obidvoch drevín významne pozitívne vplývala suma teplôt nad 5 °C od začiatku apríla. V priebehu júna sa hlavnou premennou ktorá (pozitívne) vplývala na výšku prírastku stala teplota predchádzajúcich dní a počas dňa tvorby prírastku (viac pri buku). Tento vplyv pretrvával u buka až do doby ukončovania rastu na prelome augusta a septembra. Naopak pri smreku sme zaznamenali, že vplyv teploty sa cca od polovice júla mení na negatívny a výraznejšie začínajú prírastok ovplyvňovať zrážky, čo mohlo spustiť procesy ukončovania prírastku. Vplyv zrážok bol pri buku slabý a prejavil sa najmä v októbri, tj. ovplyvnil rastové procesy zanedbateľne (graf 2).



Graf 2: Priemerné krivky nízkofrekvenčnej časti spektra denných prírastkov obvodu buka a smreka; priemernej dennej teploty (a) v r. 2017 a 2018, denných zrážkových úhrnov a vodného potenciálu pôdy (b), absolútnych (c) a relatívnych (d) sezónnych rastových kriviek buka a smreka.

V r. 2017 začal rast u obidvoch drevín ku koncu mája a následne prudko akceleroval. V r. 2018 v dôsledku extrémne teplého apríla a mája začína rast u buka približne v polovici mája, u smreka už začiatkom mája. Po oboch dvoch rokoch ukončoval buk svoj rast ku koncu augusta až začiatku septembra, keď v auguste ešte vytvoril 27, resp. 28 % zo sezónneho prírastku. V prípade smreka sa ku koncu júla vytvorilo už 85 % v r. 2017, resp. 94 % v r. 2018 z celkového prírastku (u buka len po 68 %). Buk tvoril vyšší prírastok ako smrek a tento rozdiel začína vznikať práve na prelome júla a augusta. Tieto výsledky bližšie osvetľujú výsledky vyplývajúce z dendrochronologických analýz /5/.

LITERATÚRA

/1/ Kolektív (Moravčík, M. a kol.): Správa o lesnom hospodárstve v Slovenskej republike za rok 2017-Zelená správa. MPSR a NLC Zvolen, 2018: 65s. ISBN 978-80-8093-255-8.

/2/ Hijmans R.J., Cameron S.E., Parra J.L., Jones P.G., Jarvis A. (2005). Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 25: 1965-1978. - doi: 10.1002/joc.1276.

/3/ Ježík, M., Blaženec, M., Kučera, J., Střelcová, K., Ditmarová, L.: The response of intra-annual stem circumference increase of young European beech provenances to 2012-2014 weather variability. *iForest, Biogeosciences and Forestry*, 2016: doi: 10.3832/ifor1829-009.

/4/ Masarovičová, E., Repčák M. et al. (2002). *Fyziológia rastlín 1*. Vydavateľstvo Univerzity Komenského, Bratislava: 303 p. ISBN 80-223-2470-0.

/5/ Sedmáková, D., Sedmák, R., Bosela, M., Ježík, M., Blaženec, M., Hlásny, T., Marušák, R.: Growth-climate responses indicate shifts in the competitive ability of European beech and Norway spruce under recent climate warming in East-Central Europe. *Dendrochronologia*, 54, 2019: 37-48.

POĎAKOVANIE

Táto práca sa zrealizovala s finančnou podporou projektov APVV 16-0306 a VEGA 2/0049/18.



VPLYV KADMIA NA RÔZNE EKOTYPY KLÍČNYCH RASTLÍN *ARABIDOPSIS THALIANA*

CADMIUM EFFECT ON DIFFERENT ECOTYPES OF *ARABIDOPSIS THALIANA* SEEDLINGS

OLENA KLIMENKO^{1,2}, MIROSLAV PERNIŠ¹, MAKSYM DANCHENKO³, ĽUDOVÍT ŠKULTÉTY^{3,4},
GALINA SHEVCHENKO², KATARÍNA KLUBICOVÁ¹

¹ÚSTAV GENETIKY A BIOTECHNOLÓGIÍ RASTLÍN, CENTRUM BIOLÓGIE RASTLÍN A BIODIVERZITY SAV, P.O.Box 39 A, AKADEMICKÁ 2, 950 07 NITRA, SLOVENSKÁ REPUBLIKA

²MYKOLA KHOLODNY INSTITUTE OF BOTANY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, TERESHCHENKIVSKA 2, 01004, KYIV, UKRAINE

³VIROLOGICKÝ ÚSTAV, BIOMEDICÍNSKE CENTRUM SAV, DÚBRAVSKÁ CESTA 9, 845 05, BRATISLAVA, SLOVENSKÁ REPUBLIKA

⁴MIKROBIOLOGICKÝ ÚSTAV AV ČR, VÍDEŇSKÁ 1083, 142 20 PRAHA, ČESKÁ REPUBLIKA

SUMMARY

With expansion of industrially polluted areas raises also the urgency of remediation of the contaminated soil. The ability of plants to adapt to such conditions is essential in soil revitalization. In our study we examined the response of two natural ecotypes of *Arabidopsis thaliana* to cadmium induced stress on a protein level. Ecotype 1 was collected near Kyiv, ecotype 2 in Chernobyl excluding zone. Using two dimensional electrophoresis followed by tandem mass spectrometry, we identified 16 (ecotype 1) and 29 (ecotype 2) differentially expressed after cadmium treatment. Proteins were sorted into eight functional categories. Although roughly the same categories were altered by cadmium stress, specific patterns were observed in individual ecotypes. In ecotype 2, accumulation of energy, chlorophyll synthesis, and stress related proteins was observed.

Key words: *Arabidopsis thaliana*; cadmium; heavy metal stress; proteomic analysis

SÚHRN

S rozširovaním priemyselne znečistených oblastí narastá aj potreba remediácie pôdy. Pre tento účel je nevyhnutná schopnosť rastlín prispôbiť sa takýmto podmienkam. V našej práci sme porovnávali reakcie dvoch ekotypov *Arabidopsis thaliana* na stres spôsobený kadmium na proteínovej úrovni. Ekotyp 1 bol zbieraný v blízkosti mesta Kyjev a ekotyp 2 v rámci uzavretej Černobyľskej zóny. Pomocou 2D elektroforézy a tandemovej hmotnostnej spektrometrie sme identifikovali 16 (ekotyp 1) a 29 (ekotyp 2) rozdielne abundančných proteínov po vystavení kadmium. Proteíny sme zatriedili do ôsmich funkčných kategórií. Hoci boli vplyvom kadmia zmenené približne rovnaké funkčné kategórie, u jednotlivých ekotypov sme zaznamenali špecifické reakcie proteínov. V ekotyp 2 sme pozorovali akumuláciu proteínov energetickeho metabolizmu, syntézy chlorofylu a zapojených v odpovedi na stres.

Kľúčové slová: *Arábkovka thalova*; kadmium; ťažké kovy; proteomická analýza

ÚVOD

Masívny rozvoj industrializácie so sebou prináša zvýšené riziko ekologických katastrof. Ich výsledkom sú rozľahlé kontaminované oblasti ako Černobyľská zóna na Ukrajine, Fukušima v Japonsku, staré ťažobné miesta v Západnej Európe a mnoho ďalších. Tieto oblasti predstavujú obrovskú záťaž pre ekosystém a najmä pre rastliny, ktoré nie sú schopné uniknúť zo znečistených území, a preto sa musia adaptovať, alebo si vyvinúť odolnosť voči kontaminantom. Takýmto príkladom sú rastlinné spoločenstvá, ktoré rastú v Černobyľskej oblasti napriek prítomnosti rádionuklidov v pôde /1,2/ a predstavujú potenciál remediácie takto znečistenej pôdy /3/. Napriek viacerým štúdiám zostáva množstvo detailov signálnych a metabolických dráh ovplyvnených ťažkými kovmi alebo chronickou rádiáciou neobjasnených. Na základe štúdií /4,5/, ktoré naznačujú toleranciu klíčnych rastlín *Arabidopsis thaliana* (L.) voči ťažkým kovom, sme v našej práci vyhodnocovali odpoveď dvoch rôznych ekotypov *A. thaliana* na stres spôsobený kadmium. Tento ťažký kov sme vybrali pre jeho ľahký príjem rastlinami a tiež preto, že je dvojmocný rovnako ako Sr^{2+} , ktorý je všadeprítomný v pôde Černobyľskej zóny, odkiaľ pochádza jeden zo sledovaných ekotypov. Kadmium ovplyvňuje viaceré fyziologické

procesy, ako napr. fotosyntézu, príjem vody a živín, rast i ontogenézu /6,7/. U rastlín *A. thaliana* vystavených vplyvu kadmia boli popísané zmeny proteínov, ktoré sa zúčastňujú na metabolizme dusíka, uhlíka a síry ako aj proteínov spojených s odolnosťou voči stresu. Okrem toho bol zaznamenaný aj nárast obsahu fytochelati-
nov /8/. V našej práci sme sa zamerali na porovnanie reakcie dvoch ekotypov *A. thaliana* na stres spôsobený kadmium na proteínovej úrovni.

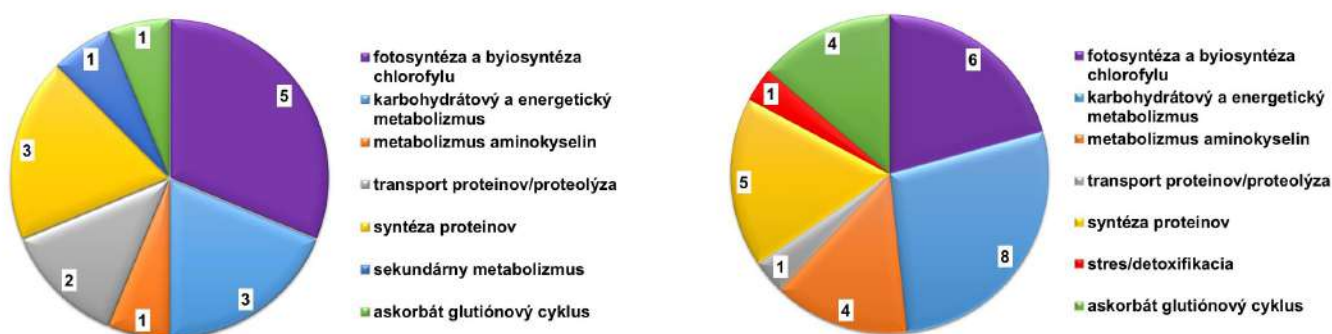
MATERIÁL A METÓDY

Použili sme dva ekotypy *A. thaliana* pôvodom z dvoch rôznych oblastí na Ukrajine. Semená ekotypu 1 boli zbierané v blízkosti obce Koncha-Zaspa južne od Kijeva. Semená ekotypu 2 boli zbierané na výskumných plochách v obci Pripiat' v rámci uzavretej Černobyľskej zóny. Zozbierané semená boli vernalizované a naklíčené na petriho miskách s polovičným Murashige-Skoog médiom v prítomnosti 100 μM CdCl_2 . Semená v kontrolných skupinách klíčili na médiu bez prítomnosti kadmia. Vyklíčené rastliny boli kultivované na uvedených médiách v kontrolovaných podmienkach v troch nezávislých opakovaniach (hustota fotónového toku $\sim 55,5 \pm 5 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, fotoperiódá svetlo/tma 16 h/8 h, teplota deň/noc 22 °C/20 °C). Na proteomické analýzy boli použité sedem dní staré klíčne rastliny. Proteíny boli extrahované s použitím protokolu fenol-amónium acetát /9/. Sediment bol rozpustený v rehydratačnom roztoku (8M močovina, 2M tiomočovina, 2 % CHAPS, 50mM dithiotreitol) a koncentrácia rozpustných proteínov bola stanovená pomocou Bradfordovej metódy.

Vzorky boli ďalej nanosené na IPG stripy s dĺžkou 7cm a rozsahom pH 5-8 pre fokusáciu proteínov. Po izoelektrickej fokusácii a ekvilibracii proteínov bola vykonaná gélová elektroforéza (12 % akrylamid, 80 V). Gély boli farbené pomocou Coomassie brilliant blue, digitalizované na skenery GS-800 (Biorad) a analyzované pomocou softvéru PDQuest 8.0 (Biorad). Gély pre každý ekotyp boli porovnávané párovo (kadmiové ku kontrole) a na identifikáciu boli vybrané proteínové škvrny vykazujúce štatisticky významné rozdiely v hodnotách relatívnych objemov (minimálne 1,5 násobný rozdiel na hladine štatistickej významnosti $p \leq 0,05$). Proteíny boli identifikované pomocou tandemovej hmotnostnej spektrometrie (spektrá merané na prístroji ultrafleXtreme TOF).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Proteomická analýza viedla k identifikácii 16 štatisticky preukazne zmenených proteínov pri ekotype 1 a 29 proteínov pri ekotype 2. Identifikované proteíny sme zatriedili do 8 funkčných kategórií a ich zastúpenie pre jednotlivé ekotypy je znázornené na obrázku 1a (ekotyp 1) a obrázku 1b (ekotyp 2).



Obr. 1: Funkčná klasifikácia identifikovaných proteínov, štatisticky preukazne zmenených, v ekotype 1 (obr. 1a) a ekotype 2 (obr. 1b). Čísla udávajú počet proteínov v jednotlivých kategóriách.

Hoci boli kadmium ovplyvnené približne rovnaké funkčné kategórie proteínov, pre každý ekotyp bola zaznamenaná špecifická kvalitatívna a kvantitatívna reakcia proteínov na prítomnosť kadmia. K najviac ovplyvneným, u oboch ekotypov, patrili proteíny, ktoré sa zúčastňujú na fotosyntéze a biosyntéze chlorofylu. Pri ekotype 1 bola po ošetrení kadmium akumulácia všetkých proteínov v porovnaní s kontrolou znížená. Avšak

pri ekotype 2 sme v kadmiovej skupine rastlín zaznamenali zvýšenú akumuláciu dvoch proteínov kľúčových pre fixáciu uhlíka, asimiláciu dusíka a syntézu chlorofylu. Zaujímavým rozdielom v rámci funkčnej kategórie syntéza proteínov je zvýšená akumulácia chaperónového proteínu pri ekotype 2 po ovplyvnení kadmíom. Okrem funkcie pri syntéze, skladaní a degradácii proteínov počas bunkového vývinu, zohrávajú chaperóny úlohu v odpovedi na soľný stres, sucho, stres spôsobený ťažkými kovmi a vysokou teplotou /10/. Rozdielnu odozvu sme zaznamenali aj pri proteínoch, ktoré sa podieľajú na metabolizme aminokyselín. Zatiaľ čo ekotyp 1 vykazoval v prostredí kadmia zníženú akumuláciu jediného proteínu tejto funkčnej kategórie, všetky štyri proteíny pri ekotype 2 mali zvýšenú akumuláciu v porovnaní s rastlinami kontroly. Išlo najmä o proteíny, ktoré sa podieľajú na metabolizme aminokyselín obsahujúcich síru. Tieto môžu ovplyvňovať biosyntézu polyamínov, ktoré zohrávajú úlohu v ochrane rastliny pri vystavení stresu. Zvýšený pri ekotype 2 bol aj enzým podieľajúci sa na syntéze glutamínu a ktorému je okrem iného pripisovaná úloha pri vývine koreňa /11/. Funkčná kategória stres/ detoxifikácia bola zastúpená iba pri ekotype 2 proteínom zo skupiny annexínov so zvýšenou akumuláciou v skupine stresovaných rastlín. Annexíny sú multifunkčné zväčša membránové proteíny, ktoré sa zúčastňujú na organizácii membránových a signálnych proteínov, ale boli popísané aj funkcie v rámci exocytózy, peroxidázovej aktivity, odpovede rastliny na abiotický stres a iné /12/. Výrazne odlišnú odpoveď ekotypov *A. thaliana* na stres indukovaný kadmíom sme zaznamenali aj pri proteínoch karbohydrátového a energetického metabolizmu. Zatiaľ čo pri ekotype 1 nastalo v tejto funkčnej kategórii zníženie akumulácie všetkých proteínov, pri ekotype 2 sme pozorovali jednak uniformne zvýšenú akumuláciu, tak aj zapojenie väčšieho množstva proteínov energetického metabolizmu.

ZÁVER

Výsledky proteomických analýz poukazujú na výraznú vnútro druhovú variabilitu v rámci ekotypov *Arabidopsis thaliana* v odpovedi na stres indukovaný kadmíom. Hoci boli ovplyvnené prakticky rovnaké funkčné kategórie proteínov, výskyt a tendencia akumulácie jednotlivých proteínov sa medzi oboma ekotypmi značne odlišuje.

LITERATÚRA

- /1/ Caplin, N., Willey, N., 2018. Ionizing radiation, higher plants, and radioprotection: From acute high doses to chronic low doses. *Front. Plant Sci.* 9, 847.
- /2/ Kovalchuk, I., Abramov, V., Pogribny, I., Kovalchuk, O., 2004. Molecular aspects of plant adaptation to life in the Chernobyl zone. *Plant Physiol.* 135, 357–363.
- /3/ Nehnevajova, E., Lyubenova, L., Herzig, R., Schröder, P., Schwitzguébel, J.-P., Schmülling, T., 2012. Metal accumulation and response of antioxidant enzymes in seedlings and adult sunflower mutants with improved metal removal traits on a metal-contaminated soil. *Environ. Exp. Bot.* 76, 39–48.
- /4/ Shevchenko, G.V., Talalaiev, O.S., 2017. Efficient mechanism of DNA repair stabilizes genome of *Arabidopsis thaliana* from the Chernobyl zone. *Dopov. Nac. akad. nauk Ukr.* 84–90.
- /5/ Shevchenko, G.V., Talaliev, A.S., Doonan, J., 2012. *Arabidopsis thaliana* seedlings from the Chernobyl NPP zone are tolerant to DNA-damaging agents (in Russian). *Dopov. Nac. akad. nauk Ukr.* 157–162.
- /6/ Faller, P., Kienzler, K., Krieger-Liszkay, A., 2005. Mechanism of Cd²⁺ toxicity: Cd²⁺ inhibits photoactivation of Photosystem II by competitive binding to the essential Ca²⁺ site. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.* 1706, 158–164.
- /7/ Kwinta, J., Koźlik, D., 2006. Glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in cadmium-stressed triticale seedlings. *Acta Physiol. Plant.* 28, 339–347.
- /8/ Sarry, J.-E., Kuhn, L., Ducruix, C., Lafaye, A., Junot, C., Hugouvieux, V., Jourdain, A., Bastien, O., Fievet, J.B., Vailhen, D., Amekraz, B., Moulin, C., Ezan, E., Garin, J., Bourguignon, J., 2006. The early responses of *Arabidopsis thaliana* cells to cadmium exposure explored by protein and metabolite profiling analyses. *Proteomics* 6, 2180–2198.
- /9/ Hajduch, M., Ganapathy, A., Stein, J.W., Thelen, J.J., 2005. A systematic proteomic study of seed filling in soybean. Establishment of high-resolution two-dimensional reference maps, expression profiles, and an interactive proteome database. *Plant Physiol.* 137, 1397–1419.
- /10/ Yer, E.N., Baloglu, M.C., Ayan, S., 2018. Identification and expression profiling of all Hsp family member genes under salinity stress in different poplar clones. *Gene* 678, 324–336.

/11/ Funayama K, Kojima S, Tabuchi-Kobayashi M, Sawa Y, Nakayama Y, Hayakawa T, Yamaya T. 2013. Cytosolic glutamine synthetase1;2 is responsible for the primary assimilation of ammonium in rice roots. *Plant and Cell Physiology* 54, 934–943.

/12/ Baucher, M., Perez-Morga, D., El Jaziri, M., 2012. Insight into plant annexin function: from shoot to root signaling. *Plant Signal Behav.* 7, 524–528.

POĎAKOVANIE

Práca vznikla za finančnej podpory projektu VEGA 2-0056-18.



AKTUÁLNÍ POZNATKY Z VÝZKUMU KOŘENOVÉHO SYSTÉMU POLNÍCH PLODIN

CURRENT FINDINGS FROM THE RESEARCH ON ROOT SYSTEM SIZE OF FIELD CROPS

JANA KLIMEŠOVÁ¹, HANA STŘEDOVÁ², EVA STEHNOVÁ², TOMÁŠ STŘEDA¹

¹MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ, AGRONOMICKÁ FAKULTA, ÚSTAV PĚSTOVÁNÍ, ŠLECHTĚNÍ ROSTLIN A ROSTLINOLÉKAŘSTVÍ, ZEMĚDĚLSKÁ 1, 613 00 BRNO – ČERNÁ POLE, TOMAS.STREDA@MENDEL.U.CZ

²MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ, AGRONOMICKÁ FAKULTA, ÚSTAV APLIKOVANÉ A KRAJINNÉ EKOLOGIE

SUMMARY

Root system size (RSS) based on measurement of its electrical capacitance and grain yield of selected winter wheat varieties and their hybrids were evaluated in a two-year field trial. The genotypic variability of RSS in parental varieties and their hybrids was confirmed, allowing selection for this trait. Genotypes with higher RSS provided hybrids with a larger root system especially at the stage of grain filling. At the same time, the RSS in the heading phenophase significantly correlated with grain yield ($r = 0.385^*$). Thus, the specific parental combinations produced the F_4 genotypes, which along with the larger root system provided a higher grain yield and were positively selected into the F_5 generation.

Key words: electrical capacitance; plant breeding; adaptation measures; drought; yield

SOUHRN

Ve dvouletém polním pokusu s vybranými liniemi ozimé pšenice a jejich kříženci byla hodnocen výnos zrna a velikost kořenového systému (VKS) metodou měření elektrické kapacity kořenového systému. Byla potvrzena genotypová variabilita VKS u rodičovských linií i jejich kříženců, což umožnilo selekci na tento znak. Linie s vyššími hodnotami VKS poskytl křížence, kteří vytvářeli větší kořenový systém zejména v době plnění zrn. Zároveň VKS kříženců ve fázi metání byla průkazně korelována s výnosem zrna ($r = 0,385^*$). Specifické rodičovské kombinace tak vytvořily genotypy generace F_4 , které společně s větším kořenovým systémem poskytl vyšší výnos zrna a byly pozitivně selektovány do generace F_5 .

Klíčová slova: elektrická kapacita; šlechtění rostlin; adaptační opatření; sucho; výnos

ÚVOD

Kořenový systém hraje klíčovou roli v příjmu vody a je důležitou součástí přizpůsobení se rostlin na rozdílné podmínky prostředí /1/, zejména při adaptaci k suchu /2, 3/ nebo pro zvýšení efektivity získávání zdrojů /4/. Nepříznivé účinky sucha mohou být zmírněny například díky vybudování hlubokého kořenového systému ještě předtím, než sucho nastane /5, 6/. Často je za univerzální reakci označována tvorba rozsáhlého kořenového systému, ačkoli mezi vědci zatím nepanuje konsenzus o tom, zda takový kořenový systém má význam /7/. Odpověď na to, které konkrétní vlastnosti kořenového systému jsou ve vztahu k výnosu za nepříznivých podmínek klíčové, je stále součástí výzkumu. Kořenový systém je velmi proměnlivý a výsledky studií jsou odlišné v závislosti na typu půdy, průběhu počasí a závažnosti stresu i použitého genetického materiálu. Samostatnou kapitolou jsou nádobové pokusy, jejichž výsledky nelze vždy úspěšně ověřit i v polních podmínkách. Přesto /8/ považují kořenový systém za perspektivní objekt zájmu šlechtitelů zejména proto, že je méně probádán než nadzemní část rostlin, většina znaků kořenového systému je kompatibilní s vysokým výnosovým potenciálem a existuje zde značná genetická diverzita.

MATERIÁL A METODY

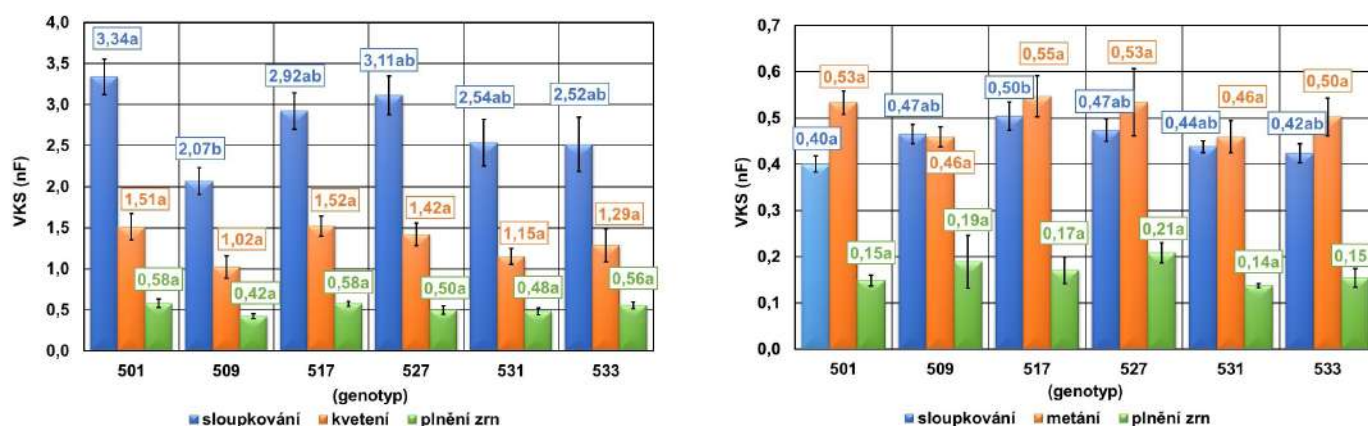
Linie a kříženci generace F_3 a F_4 pšenice seté (*Triticum aestivum* L.) byly hodnoceny v maloparcelovém polním pokusu v roce 2017 a 2018. Kříženci byli získáni dialelním nakřížením 6 rodičovských genotypů pšenice (501, 509, 517, 527, 531, 533) vybraných po předchozím screeningu a bylo vytvořeno 30 rodičovských kombinací. Po přemnožení osiva do generace F_3 byla veškerá získaná zrna vyseta na podzim 2016 na lokalitě Miroslav (jižní Morava, Česká republika, přibližné GPS 48.9472631N, 16.3296392E). Ze sortimentu ozna-

čených F_3 rostlin bylo pro každou kombinaci vybráno 10 rostlin, jejichž semena byla na podzim roku 2017 vyseta jako generace F_4 (300 genotypů). Každý genotyp generace F_4 byl vyset bez opakování do dvou řádků do parcely ($1,8 \text{ m}^2$) a obset rodičovskými liniemi. V každé parcele byla ve vegetačním období ročníku 2018 hodnocena (VKS) u 4 rostlin ve třech vegetačních fázích - sloupkování (BBCH 31-36), metání (BBCH 50-60) a plnění zrn (BBCH 70-85). Zrno všech rostlin potomstva F_4 vysetých ve dvouřádku bylo sklizeno v době plné zralosti společně. Velikost kořenového systému (VKS) rostlin byla hodnocena metodou měření elektrické kapacity [nF] dle /9/ LCR metrem Extech 380193 (Extech instruments, NH, USA) při frekvenci 1 kHz.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Velikost kořenového systému rodičovských genotypů

Pro vyhodnocení efektivity selekce na velikost kořenového systému pšenice je nutné hodnotit VKS rodičovských genotypů a potomstev v identických půdních a meteorologických podmínkách prostředí. V obou sledovaných ročnících tedy byla evaluována VKS rodičovských genotypů společně s VKS potomstva a byl popsán jejich vztah k výnosu zrna jako primárního selekčního kritéria, které rozhoduje o uplatnění genotypu/odrůdy v praxi. Použitá metoda měření elektrické kapacity umožňuje pouze relativní srovnání pozorovaných genotypů v daném čase a místě. Statisticky významný rozdíl ve VKS byl v obou ročnících zjištěn pouze ve fázi sloupkování, nicméně vyšší hodnoty VKS byly u některých genotypů zaznamenány opakovaně v průběhu vegetace. V roce 2017 byla větší VKS sledována u genotypů 501, 527 a 517, menší pak pro genotypy 509 a 531. V roce 2018 byla vyšší VKS zjištěna rovněž u genotypu 517 a 527, nejmenší u genotypu 531 (graf 1).



Graf 1: Velikost kořenového systému (VKS) [nF] ve fázi sloupkování, metání (kvetení) a plnění zrn šesti rodičovských genotypů 501, 509, 517, 527, 531 a 533 v roce 2017 (vlevo) a 2018 (vpravo).

Statisticky významně odlišné páry hodnot jsou označeny rozdílnými písmeny ($p \leq 0,05$). Chybové úsečky označují střední chybu průměru (SE).

Obdobné relativní rozdíly ve velikosti kořenového systému genotypů byly pozorovány také v předcházejících sezónách 2015 a 2016 (data neuvedena). Je tedy možné předpokládat, že velikost kořenového systému popsaná metodou měření el. kapacity je geneticky fixovaná vlastnost, která vykazuje nižší interakci genotypu s prostředím. Tento předpoklad je důležitý pro efektivní využití tohoto znaku jako selekčního kritéria. Nicméně komplexní velikost kořenového aparátu je kvantitativně děděným znakem, kde se podobně jako u výnosu projevuje nižší dědivost /10/.

Velikost kořenového systému potomstva F_4 generace

Genotypová variabilita velikosti kořenového systému byla prokázána také mezi rostlinami potomstva generace F_4 v roce 2018. Generace F_4 pochází z 300 rostlin vybraných v generaci F_3 v roce 2017 dle velikosti kořenového systému. Bylo zjištěno, že statisticky významný vliv genotypu se projevil ve sloupkování a plnění zrn, nikoliv v metání (data neuvedena). Vzhledem k velkému počtu hodnocených genotypů budou dále podrobně popsány výsledky z pohledu vlivu rodičovských komponent na VKS potomstva.

Efekt kombinace rodičovských genotypů na VKS potomstva byl pozorován v obou ročnících. V roce 2018 dosahovala nejvyšších, respektive nejnižších, hodnot VKS ve fázi metání i plnění zrn potomstva totožných

rodičovských kombinací (data neuvedena). V roce 2017 byla pozorována podobná tendence. Při selekci do generace F_5 na základě selekčního kritéria - velikosti kořenového systému byl zásadní tedy zejména původ rostlin. Hodnoty VKS tedy byly ovlivněny specifickou rodičovskou kombinací, ale také využitím linií rodičů dle VKS na pozici matky nebo otce. Kořenový systém rodičovských linií byl v každém z ročníků testován společně s potomstvem. Na základě víceletých výsledků byly jako linie s větší VKS potvrzeny genotypy vybrané již v roce 2015: 527, 517 a 501. Naopak menší VKS statisticky průkazně projevily genotypy 533, 509 a 531. Bylo potvrzeno, že kombinace matky a otce s větší VKS poskytla potomstvo vyznačující se větším kořenovým systémem než kombinace obou rodičů s menší VKS, zejména ve fázi plnění zrn (tab. 1).

Tab. 1: Průměrné hodnoty VKS (nF) potomstva generace F_4 ve třech fenologických fázích dle linie použité na pozici matky ♀ nebo otce ♂ (1 - linie s velkou VKS, 2 - linie s malou VKS).

Sloupkování				Metání				Plnění zrn			
♀	♂	F4	SD	♀	♂	F4	SD	♀	♂	F4	SD
2	2	0,432a	0,091	1	2	0,476a	0,139	2	1	0,148a	0,038
1	2	0,442a	0,092	2	1	0,479a	0,151	2	2	0,153a	0,036
2	1	0,448a	0,108	2	2	0,486a	0,147	1	2	0,160ab	0,090
1	1	0,450a	0,108	1	1	0,495a	0,143	1	1	0,170b	0,075

Statisticky průkazně odlišné páry hodnot jsou označeny rozdílnými písmeny ($p \leq 0,05$), SD – směrodatná odchylka.

Výnos zrna potomstva generace F_4

Výnos zrna sledovaných genotypů F_4 byl rovněž ovlivněn kombinací rodičů. Vyšší výnos byl častěji zaznamenán u rostlin, které se vyznačovaly větším kořenovým systémem ve fázi metání. I přesto, že se některá potomstva vyznačovala vyšším výnosem a současně disponovala větším kořenovým systémem, byla korelační analýzou prokázána průkazná souvislost mezi těmito znaky pouze ve fázi metání ($r = 0,385^*$, $n = 30$). Ve fázi sloupkování ($r = -0,288$) a plnění zrn ($r = 0,017$) nebyla velikost kořenového systému průkazně korelována s dosaženým výnosem zrna. Podobně vliv rodičů s větší VKS na výnos zrna potomstva, ačkoliv neprůkazný, byl spíše negativní, protože větší produkci vykazovalo potomstvo rodičů s menším kořenovým systémem.

ZÁVĚR

Genotypová variabilita ve velikosti kořenového systému pšenice umožnila křížení a selekci na tento znak. Ve vláhově nepříznivých podmínkách ročníku 2018 bylo potvrzeno, že potomstvo rodičovských linií disponujících větším kořenovým systémem, rovněž vytvořilo větší VKS. Byly identifikovány potomstvo z křížení některých linií, které i za závažného stresu suchem vytvořilo větší kořenový systém a některé genotypy zároveň poskytly vyšší výnos zrna.

Ačkoliv se obecně uvádí, že se velikost kořenového systému po odkvětu pšenice již nezvyšuje, rostliny s větší VKS v době plnění zrn dosahovaly spíše vyššího výnosu zrna. Lze tedy přepokládat, že genotypy s vyšší biomasou kořenů alokovanou vzhledem půdním podmínkám lokality především v povrchových vrstvách půdy, byly schopny získat vodu pro tvorbu zrna.

LITERATURA

- /1/ Lynch, J. P., Chimungu, J. G., Brown, K. M.: Root anatomical phenes associated with water acquisition from drying soil: targets for crop improvement. *Journal of Experimental Botany*, 65, 2014: 6155–6166.
- /2/ Vadez, V.: Root hydraulics: the forgotten side of roots in drought adaptation. *Field Crops Research*, 165, 2014: 15–24.
- /3/ Lopes, M. S., Reynolds, M. P.: Partitioning of assimilates to deeper roots is associated with cooler canopies and increased yield under drought in wheat. *Functional Plant Biology*, 37, 2010: 147–156.
- /4/ Kell, D. B.: Breeding crop plants with deep roots: their role in sustainable carbon, nutrient and water sequestration. *Annals of Botany*, 108, 2011: 407–418.

/5/ O'toole, J. C., Bland, W. L.: Genotypic variation in crop plant root systems. *Advances in Agronomy*, 41, 1987: 91–145.

/6/ Manschadi, A. M., Christopher, J., Hammer, G. L.: The role of root architectural traits in adaptation of wheat to water – limited environments. *Functional Plant Biology*, 33, 2006: 823–837.

/7/ Palta, J. A., Chen, X., Milroy, S. P., Rebetzke, G. J., Dreccer, M. F., Watt, M.: Large root systems: are they useful in adapting wheat to dry environments? *Functional Plant Biology*, 38, 2011: 347–354.

/8/ Bodner, G., Nakhforoosh, A., Kaul, H. P.: Management of crop water under drought: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35, 2015: 401–442.

/9/ Chloupek, O.: Evaluation of the size of a plant's root system using its electrical capacitance. *Plant and Soil*, 48, 1977: 525–532.

/10/ Nyquist, W. E., Baker, R. J.: Estimation of heritability and prediction of selection response in plant populations. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 10, 1991: 235–322.

PODĚKOVÁNÍ

Práce vznikla za finanční podpory výzkumného projektu Národní agentury pro zemědělský výzkum č. QJ1510098.



VLIV INOKULACE *FUSARIUM CULMORUM* A APLIKACE MYKOTOXINU DEOXYNIVALENOLU NA VYVÍJEJÍCÍ SE KLASY PŠENICE ODRŮDY SUMAI 3 A SW KADRILJ S KONTRASTNÍ ODOLNOSTÍ VŮČI KLASOVÝM FUSARIOSÁM
THE EFFECT OF *FUSARIUM CULMORUM* INOCULATION AND MYCOTOXIN DEOXYNIVALENOL APPLICATION ON DEVELOPING SPIKES OF WHEAT CULTIVARS SUMAI 3 AND SW KADRILJ WITH CONTRASTING RESISTANCE TO *FUSARIUM* HEAD BLIGHT DISEASE

KLÁRA KOSOVÁ¹, JANA CHRPOVÁ¹, JIŘÍ ŠANTRŮČEK², PAVEL VÍTÁMVÁS¹,
 RADOVAN HYNEK², ILJA TOM PRÁŠIL¹

¹ODBOR GENETIKY A ŠLECHTĚNÍ ROSTLIN, VÝZKUMNÝ ÚSTAV ROSTLINNÉ VÝROBY, V.V.I., DRNOVSKÁ 507, 161 06 PRAHA 6 - RUŽYŇ, ČESKÁ REPUBLIKA; KOSOVA@VURV.CZ

²ÚSTAV BIOCHEMIE A MIKROBIOLOGIE, VYSOKÁ ŠKOLA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ, TECHNICKÁ 1903/3, 160 00 PRAHA 6, ČESKÁ REPUBLIKA

SUMMARY

Fusarium head blight (FHB) represents a damaging disease of cereal spikes caused by mycotoxin-producing *Fusarium* fungi revealing adverse effects on grain quality and yield. Chinese spring wheat Sumai 3 represents a major source of FHB resistance harbouring Fhb1 QTL on 3BS conferring resistance to FHB and encoding a lectin-like protein. The aim of our study lied in a comparison of proteome response to *Fusarium culmorum* inoculation and mycotoxin deoxynivalenol (DON) application on spikes of resistant wheat cultivar Sumai 3 and susceptible wheat cultivar SW Kadrilj 10 days after fungus inoculation (dai) and mycotoxin application, respectively. Proteome analysis revealed profound impact of *Fusarium* inoculation and mycotoxin application on plant energy metabolism resulting in a decrease in photosynthesis, ATP biosynthesis while an increase in stress-protective proteins (chaperones such as Hsc70, lectins). Genotypic differences observed at 10 dai indicate an active acclimation in Sumai 3 as indicated by increased levels of some enzymes involved in phenolics biosynthesis (phenylalanine ammonia lyase PAL, BAHD acyltransferase), jasmonate biosynthesis (lipoxygenase LOX), and oligosaccharide biosynthesis (sucrose synthase SuSy, UDP-glucose uridylyltransferase) which represent an important part of glycoproteins such as lectins and other pathogen-responsive biomolecules. The study thus provides data on plant acclimation to *Fusarium* infection which may underlie superior resistance of Sumai 3 cultivar.

Key words: FHB resistance; deoxynivalenol; *Fusarium culmorum*; proteomic analysis; energy metabolism; stress-related proteins; protective proteins biosynthesis

SOUHRN

Klasové fusariosy (FHB) představují významnou chorobu obilných klasů indukovanou houbovými patogeny rodu *Fusarium*, které produkují trichothecenové mykotoxiny znehodnocující kvalitu zrna. Čínská jarní pšenice Sumai 3 představuje významný zdroj rezistence k FHB v genofondu pšenice.

Cílem naší studie bylo srovnání proteomické odezvy rezistentní odrůdy Sumai 3 a citlivé odrůdy SW Kadrilj inokulovaných *F. culmorum* anebo vystavených aplikaci mykotoxinu deoxynivalenolu (DON) ve srovnání s kontrolními rostlinami 10 dnů po inokulaci (10 dai), kdy byly odebrány vzorky pro 2D-DIGE analýzu, a 40 dai, kdy byly odebrány vzorky pro analýzu DON.

Rezistentní Sumai 3 měla významně nižší obsah DON oproti citlivé odrůdě SW Kadrilj.

Komparativní proteomická analýza prokázala aktivní aklimaci odrůdy Sumai 3 indikovanou adaptací energetického metabolismu (ATP biosyntéza, fotosyntéza), zvýšenou abundancí enzymů podílejících se na biosyntéze ochranných látek (biosyntéza fenolických látek, biosyntéza jasmonátu a kys. salicylové, biosyntéza oligosacharidů jako součástí ochranných glykoproteinů - lektinů).

Příspěvek tak předkládá molekulární data podmiňující zvýšenou rezistenci Sumai 3 k FHB.

Klíčová slova: klasové fusariosy; mykotoxiny; rezistence; *Fusarium culmorum*; proteomická analýza; energetický metabolismus; ochranné proteiny

Úvod

Klasové fusariosy (FHB) představují závažné onemocnění vyvíjejících se zrn obilnin způsobené houbovými patogeny (anaformami) rodu *Fusarium*, především *F. culmorum* a *F. graminearum*. Houbové patogeny rodu *Fusarium* mají negativní vliv na kvalitu zrna díky produkci mykotoxinu deoxynivalenolu (DON). Různé genotypy obilnin se liší mírou rezistence vůči fusariové infekci, která se projevuje nižší mírou akumulace mykotoxinů u odolných genotypů (blíže viz /2/). Sumai 3 je čínská odrůda jarní pšenice, která nese Fhb1 QTL na chromosomu 3BS podmiňující rezistenci k FHB. Nedávno byl identifikován kandidátní gen podmiňující rezistenci k FHB, který kóduje tzv. lektin-like protein /6/.

Proteiny představují efekторы stresové odezvy rostlin podílející se přímo na utváření fenotypu rostliny. Odezva rostliny na patogena vedoucí ke zvýšené rezistenci představuje komplexní proces regulovaný fytohormony, který vede k významným změnám v abundanci nejen proteinů spojených přímo se stresovou odezvou, ale i celé řady proteinů (enzymů) spojených s energetickým metabolismem a s biosyntézou ochranných látek (např. glykoproteinů, flavonoidů).

Cílem našeho experimentu bylo srovnání odezvy rezistentní odrůdy čínské jarní pšenice Sumai 3 a citlivé švédské odrůdy SW Kadrilj na úrovni akumulace mykotoxinu DON a odezvy totálního proteomu analyzovaného metodou 2D-DIGE a tandemovou hmotnostní spektrometrií LC-MS/MS.

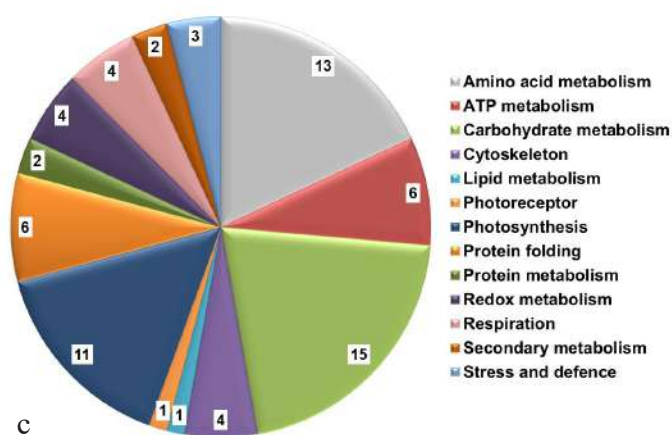
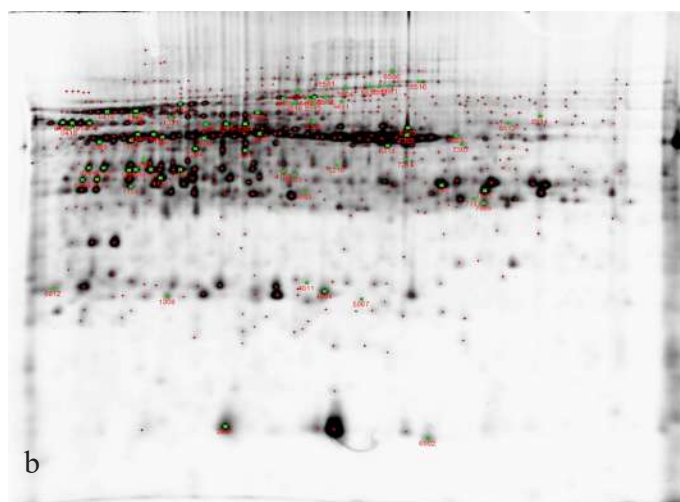
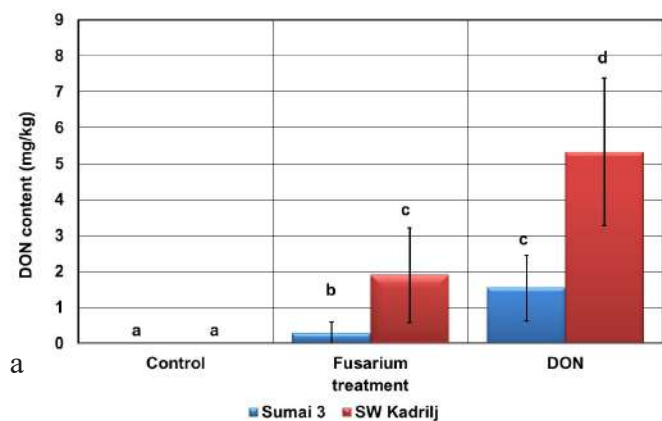
MATERIÁL A METODY

Rostliny čínské jarní pšenice Sumai 3 (CIMMYT) a citlivé švédské odrůdy SW Kadrilj (ÚKZÚZ) byly vysety na počátku dubna 2017 do skleníku ve VÚRV, v.v.i., Praha-Ruzyně. Rostliny byly v době kvetení (BBCH 65) inokulovány izolátem *F. culmorum* B pěstovaném na bramborovém agaru pomocí tzv. single-floret method, anebo byl na kvetoucí klasy aplikován mykotoxin DON (10 mm³ DON v PBS, 0.05% Tween-20, pH 7,5; 10 µg/mm³). Po 10 dnech od inokulace (10 dai) a aplikace DON byly odebrány vyvíjející se klasy pro analýzu proteomu a po 45 dai byla odebrána zralá zrna pro analýzu DON, který byl stanoven metodou RIDASCREEN ELISA ve stadiu voskové zralosti obilí (BBCH 85; blíže viz /3/) a významné rozdíly byly stanoveny pomocí analýzy ANOVA, Duncanova testu rozpětí (DMRT) na hladině 0.05 (STATISTICA, verze 13, TIBCO Inc.).

Totální proteom z klasů kontrolních rostlin (Kadrilj kontrola KC, Sumai kontrola SC), rostlin inokulovaných *F. culmorum* (Kadrilj *Fusarium* KF, Sumai *Fusarium* SF) a rostlin po aplikaci mykotoxinu (Kadrilj DON KD, Sumai DON SD), čtyři biologická opakování, byl extrahován metodou TCA/acetone/fenol dle /7/. Proteinový extrakt byl vysrážen acetátem amonným v methanolu a po promytí čistým acetonem a vysušení byl rozpuštěn v lysačním pufru (GE Healthcare manuál) a byla stanovena koncentrace rozpuštěných proteinů pomocí 2D Quant kit (Bio-Rad); následně bylo 30 µg proteinů od každého vzorku označeno pomocí fluorescenčních barviv CyDyes (GE Healthcare), přebytečné barvivo bylo inaktivováno přidávkem lysinu. Dva vzorky označené barvivy Cy3 a Cy5 (30 µg proteinu) a 15 µg směšného vzorku označeného Cy2 sloužícího jako interní standard bylo naneseno spolu s 450 mm³ rehydratačního pufru na lineární IPG strip pI 5–8 a byla provedena isoelektrická fokusace o celkové době 70,000 Vh (blíže viz /3/). Druhý rozměr SDS-PAGE byl proveden na 24 cm 12,5% polyakrylamidových gelech přes noc (1 h při 10 mA/gel; 13 h při 25 mA/gel) a rozdělené proteiny byly oskenovány pomocí Pharos FX Fluorescent Imager (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Denzitometrická analýza 2D-DIGE gelů byla provedena pomocí softwaru PD Quest Advanced, verze 8.0.1., multikanálová aplikace pro 2D-DIGE, a byly identifikovány tzv. diferenciálně abundantní proteinové spoty mající min. 2-násobný rozdíl denzity minimálně v jednom z devíti biologicky relevantních poměrů (SF/SC, SD/SC, SF/SD, KF/KC, KD/KC, KF/KD, SC/KC, SF/KF, SD/KD) na hladině významnosti 0.05 (Student T-test). Následně byly tyto spoty vyřezány ze dvou preparativních gelů (1000 µg proteinů na gel obarvené CBB G-250) pomocí EX Quest Spot Cutter (Bio-Rad), byly naštěpeny trypsinem a identifikovány pomocí LC-MS/MS za užití databáze Uniprot (www.uniprot.org; staženo únor 2019), taxonomie *Triticum aestivum* - *Fusarium graminearum*, pomocí tzv. MASCOT Search Engine. V případě vícečetných identifikací byl jako relevantní brán protein s významným MASCOT score (vyšší než 70) identifikovaný v obou paralelních gelech, anebo pokud byla pro daný spot získána relevantní data pouze pro jeden gel, protein s nejvyšším MASCOT score (vyšší než 70). Biologická funkce identifikovaných proteinů byla stanovena na základě dat v databázi Gene Ontology (www.geneontology.org) pro kategorii „biologický proces.“

VÝSLEDKY A DISKUSE

Vizuální hodnocení poškození zrn i stanovení obsahu DON v zrnech (45 dai; BBCH 85) prokázalo významné rozdíly mezi oběma kultivary, přičemž rezistentní Sumai 3 akumulovala významně méně DON ve srovnání s citlivou odrůdou SW Kadrilj (obr. 1a), což odpovídá výsledkům další studií /5/.

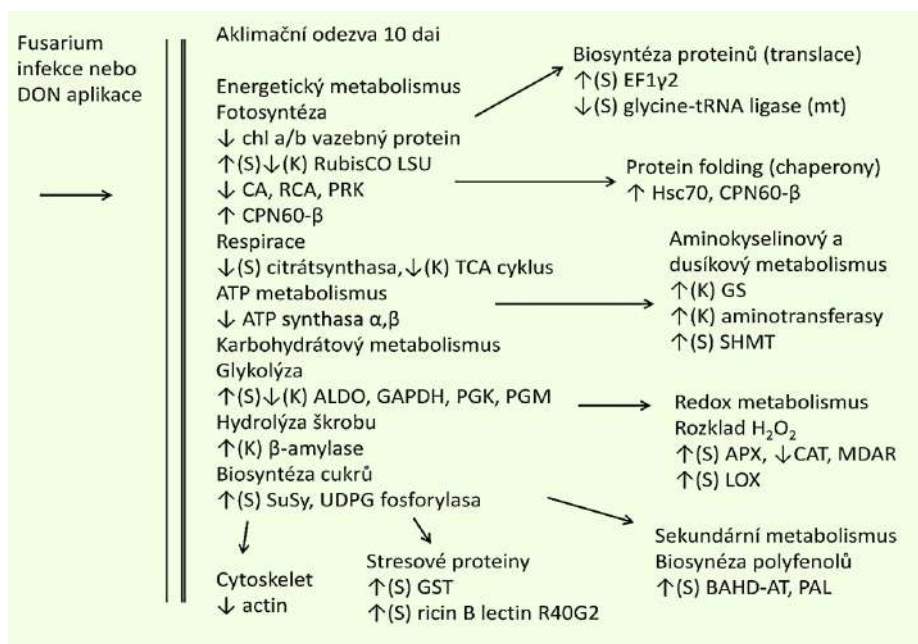


Obr. 1 Obsah deoxynivalenolu (DON) v zrnech ve stadiu voskové zralosti (BBCH 85) u odrůd Sumai 3 a SW Kadrilj (1a); hodnoty představují průměr min. ze tří opakování ($n = 3$), chybové úsečky značí střední chybu průměru (SE), odlišná písmena značí významné rozdíly na hladině 0.05 stanovené pomocí Dunčanova testu rozpětí (DMRT). Reprezentativní 2D-DIGE gel s interním standardem značeným Cy2, kde jsou vyznačeny pozice 72 diferenciálně abundantních spotů (1b) a přehled identifikovaných proteinů dle funkčních kategorií v rámci kritéria „biologický proces“ (1c). Pořadí kategorií ve směru hodinových ručiček, čísla značí počet proteinů v dané kategorii: metabolismus aminokyselin, ATP metabolismus, karbohydrátový metabolismus, cytoskelet, metabolismus lipidů, fotoreceptor, fotosyntéza, „protein folding“ - chaperony, proteinový metabolismus, redox metabolismus, respirace, sekundární metabolismus, stresové proteiny.

Srovnání obou kultivarů ukázalo, že Sumai 3 se v etapě 10 dai dokázala adaptovat ke změnám podmínek a mobilizovat energetický metabolismus (fotosyntéza, ATP biosyntéza, navazující karbohydrátový metabolismus - glykolýza) a aktivovat metabolické procesy směřující k biosyntéze ochranných proteinů a dalších biomolekul (enzymy podílející se na biosyntéze cukrů jako možných residuů pro glykoproteiny - lektiny, enzymy podílející se na biosyntéze fytohormonů kyseliny jasmonové a salicylové, enzymy podílející se na biosyntéze fenolických látek - flavonoidů, aj.) a dalších molekul v odezvě na patogena (obr. 2). Ve srovnání s prací autorů Ding et al. /1/ zaměřenou na srovnání odezvy Sumai 3 a citlivé odrůdy pšenice Huaimai 1 dai po inokulaci *F. graminearum* jsme detekovali v čase 10 dai více proteinů souvisejících s aklimací buněčného metabolismu charakteristických pro tzv. aklimační fázi stresové odezvy, a naopak nám chyběly proteiny spojené s buněčnou signalizací charakteristické pro časnou tzv. alarm fázi stresové odezvy (fáze stresové odezvy viz /4/). Experiment přispěl k osvětlení molekulární podstaty zvýšené rezistence odrůdy Sumai 3 k FHB.

ZÁVĚR

Získaná experimentální data prokázala vyšší rezistenci odrůdy Sumai 3 ve srovnání s odrůdou SW Kadrilj, což se projevilo významně nižší akumulací DON i odlišnou odezvou proteomu, která spočívala v menší míře útlumu klíčových proteinů energetického metabolismu (ATP biosyntéza, fotosyntéza - asimilace CO_2), a naopak v aktivaci procesů vedoucích k biosyntéze ochranných látek (fenolické látky) a látek podílejících se na stresové odezvě (fytohormony, glykoproteiny).



Obr. 2: Souhrnné schéma odezvy proteomu odrůdy Sumai 3 (S) a SW Kadrilj (K) na inokulaci *F. culmorum* anebo aplikaci deoxynivalenolu (DON). Šipky (↑) značí zvýšenou rel. abundanci proteinů v rostlinách inokulovaných *F. culmorum* nebo ošetřených DON, šipky (↓) značí sníženou rel. abundanci proteinů v rostlinách inokulovaných *F. culmorum* nebo ošetřených DON.

Zkratky: ALDO - aldolasa; APX - askorbátperoxidasa; BAHD-AT - BAHD acyltransferasa; CA - karbonická anhydrasa; CAT - katalasa; dai - dny po inokulaci; EF1γ2 - elongační faktor

ly2; GAPDH - glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenasa; GS - glutamin synthasa; GST - glutathione-S-transferase; Hsc70 - heat shock cognate protein 70; LOX - lipoxigenasa; MDAR - monodehydroaskorbátreduktasa; mt - mitochondriální isoforma; PAL - fenylalaninammoniumlyasa; PGK - fosfoglycerátkinasa; PGM - 2,3-bisfosfát-fosfoglycerát mutasa; PRK - fosforibulokinasa; RCA - RubisCO aktivasa A; RubisCO LSU - velká podjednotka ribulose-1,5-bisfosfát-karboxylasa/oxygenasa; SHMT - serin hydroxymethyltransferasa; SuSy - sacharosynthasa; TCA - cyklus trikarboxylových kyselin; UDPG fosforylasy - UTP — glukoso-1-fosfát uridylyltransferasa

LITERATURA

- /1/ Ding, L., Li, M., Li, P., Cao, J.: Comparative Proteomics analysis of young spikes of wheat in response to *Fusarium graminearum* infection. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39, 2017: 271.
- /2/ Kosová, K., Chrpová, J., Šíp, V.: Cereal resistance to *Fusarium* head blight and possibilities of its improvement through breeding. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 45(3), 2009: 87–105.
- /3/ Kosová, K., Chrpová, J., Šantrůček, J., Hýnek, R., Štěrbová, L., Vítámvás, P., Bradová, J., Prášil, I.T.: The effect of *Fusarium culmorum* infection and deoxynivalenol (DON) application on proteome response in barley cultivars Chevron and Pedant. *Journal of Proteomics*, 169, 2017: 112–124.
- /4/ Kosová, K., Vítámvás, P., Prášil, I.T., Renaut, J.: Plant proteome changes under abiotic stress - Contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. *Journal of Proteomics*, 74(8), 2011: 1301–1322.
- /5/ Mesterházy, A., Tóth, B., Varga, M., Bartók, T., Szabó-Hevér, A., Farády, L., Lehoczki-Krsjak, S: Role of fungicides, application of nozzle types, and the resistance level of wheat varieties in the control of *Fusarium* head blight and deoxynivalenol. *Toxins (Basel)*, 3, 2011: 1453–1483.
- /6/ Rawat, N., Pumphrey, M.O., Liu, S., Zhang, X., Tiwari, V.K., Ando, K., Trick, H.N., Bockus, W.W., Akhunov, E., Anderson, J.A., Gill, B.S.: Wheat Fhb1 encodes a chimeric lectin with agglutinin domains and a pore-forming toxin-like domain conferring resistance to *Fusarium* head blight. *Nature Genetics*, 48(12), 2016: 1576–1580.
- /7/ Wang, W., Vignani, R., Scali, M., Cresti, M.: A universal and rapid protocol for protein extraction from recalcitrant plant tissues for proteomic analysis. *Electrophoresis*, 27(13), 2006: 2782–2786.

PODĚKOVÁNÍ

Práce byla podpořena institucionálním projektem MZe-RO0418 a projekty MZe ČR QK1710302 a MŠMT ČR LD14087.



VPLYV POSTUPNEJ DEHYDRATÁCIE NA OBSAH ASIMILAČNÝCH PIGMENTOV V RASTLINÁCH SÓJE S APLIKÁCIOU INOKULANTOV

INFLUENCE OF PROGRESSIVE DEHYDRATION ON THE CONTENT OF PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS IN SOYBEAN WITH APPLICATION OF INOCULANTS

ELEONÓRA KRIVOSUDSKÁ

SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA V NITRE, FAKULTA AGROBIOLOGIE A POTRAVINOVÝCH ZDROJOV, KATEDRA FYZIOLOGIE RASTLÍN, TR. A. HLINKU 2, 949 01 NITRA, SLOVENSKO
ELEONORA.KRIVOSUDSKA@UNIAG.SK

SUMMARY

During the experiment were monitored the following soybean genotypes: Medaillon and Zora and their reactions to progressive dehydration. The amounts of chlorophyll a, b and carotenoids in leaves were determined by the modified method by Lichtenthaler. The study presented here did find a significant effect of inoculation on the concentration of the estimated photosynthetic pigments in water stress conditions.

Key words: soybean; dehydration; inoculant; photosynthetic pigments

SÚHRN

Počas experimentu boli sledované vybrané genetické zdroje sóje fazuľovej: Medaillon a Zora a ich reakcie na postupnú dehydratáciu. Obsah chlorofylu a, b a karotenoidov v listoch boli určené modifikovanou metódou podľa Lichtenthalera. V tejto štúdii sa zistil významný vplyv inokulácie na koncentráciu asimilačných pigmentov v podmienkach vodného stresu.

Kľúčové slová: sója; dehydratácia; inokulant; asimilačné pigmenty

Úvod

Hlavným zdrojom vstupu dusíka v poľnohospodárstve je symbiotická fixácia dusíka a zohráva dôležitú úlohu pri zlepšovaní úrodnosti pôdy a produkcie. Strukoviny majú veľký potenciál pre fixáciu dusíka a zlepšovanie úrodnosti pôdy /12/. Jedná sa o symbiózu hrčkotvorných baktérií rodu *Rhizobium* s rastlinami z čeľade bôbovitých (*Fabaceae* L.). Podľa poznatkov je väčšina druhov bôbovitých schopná tejto symbiotickej fixácie, ktorou sa púta atmosferický dusík. Pri tejto fixácii sa využíva energia získaná v procese fotosyntézy na premenu N_2 na NH_3 . Ročná fixácia predstavuje u strukovín 50 až 200 kg N/ha. Inokulácia osiva sóje baktériami rodu *Rhizobium* vedie k zvýšenej tvorbe hrčiek na koreňoch, čím zlepšuje fixáciu elementárneho dusíka a úrodu semien /2/. Správne vykonaná inokulácia môže byť pre pestovateľov veľkým prínosom, pretože pomáha rastlinám prekonať tzv. hladové obdobie. Týka sa to prvých dní od začiatku klíčenia semien, keď sa vyčerpajú rezervy dusíka, až do fázy, kedy rastliny začnú využívať dusík fixovaný baktériami. Inokuláciou môžeme dosiahnuť predčasnú tvorbu hrčiek, a tým aj skoršie zahájenie fixácie dusíka /10/. Celkovo vedie inokulácia k rýchlejšiemu rastu rastlín a zníženiu nákladov na udržanie porastov /3/. Inokulácia osiva sa preto považuje za efektívny a pohodlný spôsob, ako zaviesť do pôdy a následne do rizosféry rastlín baktérie *Rhizobium*. Avšak, jeho potenciál je ešte potrebné si uvedomiť /3/. Sú to bakteriálne výrobky (*Rhizobín*), ktoré slúžia ako očkovacie látky semien strukovín /13/. Vodný stres sa stal hlavným faktorom abiotického obmedzenia produkcie sóje pri otepľovaní. Na boj proti stresu a suchu je potrebné preskúmať odolné genetické zdroje a ich využitie v šľachtiteľskom programe.

MATERIÁL A METÓDY

Pri založení nádobových pokusov v prvej dekáde mája boli použité genetické zdroje sóje (Génová banka SR, Piešťany) rôzneho pôvodu Medaillon (Kanada) a Zora (Slovensko). Do každej z nádob s objemom 15 litrov sa vysialo po desať semien. V rámci oboch genotypov sme do polovice použitých nádob zasiali inokulované osivo a do druhej polovice osivo bez použitia inokulantov.

Inokulant *Nitrazon* (ČR) má vysoký obsah živých baktérií - na 1g substrátu min 5x10⁸. Priamo zvyšuje obsah

bielkovín u pestovaných plodín, prispieva ku zvýšeniu výnosov a lepšej mikrobiálnej činnosti pôdy. Vysokú sterilitu substrátu zabezpečujú účinné dávky Kobaltu 60.

Inokulant **Rizobin LF** (Veľká Británia) má vysoký obsah živých baktérií - na 1g substrátu až 5×10^9 . Ako spojivo je v preparáte použitý organický polymér. Vlhkosť preparátu je 48 %.

Rastliny sme pestovali v prirodzených klimatických podmienkach. Predmetom výskumu bolo sledovanie reakcie rastlín na podmienky vodného stresu, preto sme vo fenofáze kvitnutia v rámci oboch genotypov indukovali vodný stres zamedzením zrážok a závlahy. Ďalej sme sledovali vplyv inokulácie osiva na obsah asimilačných pigmentov v rastlinách sóje.

Koncentráciu asimilačných pigmentov v listoch sóje sme stanovili spektrofotometricky, meraním absorbancie acetónového extraktu pri vlnových dĺžkach 663 nm (chlorofyl a), 647 nm (chlorofyl b) a 470 nm (celkové karotenoidy). Koncentrácie jednotlivých pigmentov boli vypočítané v mg.l^{-1} /8/:

$$\text{Chl a} = (12,25 \cdot A_{663} - 2,79 \cdot A_{647}) \cdot D$$

$$\text{Chl b} = (21,50 \cdot A_{647} - 5,10 \cdot A_{663}) \cdot D$$

$$\text{Chl a+b} = (7,15 \cdot A_{663} - 18,71 \cdot A_{647}) \cdot D$$

$$\text{Celkové karotenoidy} = [(1000 \cdot A_{470} - 1,82 \cdot (\text{Chl a}) - 85,02 \cdot (\text{Chl b})) / 198] \cdot D$$

Koncentrácia pigmentov bola následne prepočítaná na jednotku listovej plochy .

Merania obsahu chlorofylov chlorofylmetrom sú na rozdiel od klasického spektrofotometrického merania nedeštruktívne. Na tento účel bol použitý chlorofylmeter typu SPAD-502, prístroj ktorý slúži na meranie množstva chlorofylu a a b v listoch, vyjadreného v relatívnych hodnotách.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri nedostatku vody v rastline dochádza k poruchám fyziologických procesov /11/. Stres zo sucha spôsobuje nielen závažné poškodenie fotosyntetických pigmentov, ale taktiež vedie k zničeniu tylakoidných membrán /1/. Pokles obsahu chlorofylu je bežne sledovaným fenoménom v podmienkach vodného stresu /4/ a je považovaný za typický symptóm oxidačného stresu, pričom môže mať za následok fotooxidáciu pigmentov a degradáciu chlorofylu /1/. V podmienkach stresu dochádza k zníženiu obsahu fotosyntetických pigmentov v dôsledku nestability proteínových komplexov a deštrukcie chlorofylu. Uvedené konštatovania sú zhodné s našimi zisteniami (tab. 1 a 2), pričom v rámci sledovaných genotypov Zora a Medaillon nastal počas postupnej dehydratácie pokles asimilačných pigmentov, čo sa zhoduje s inými tvrdeniami /6/, že nedostatok vody na úrovni zavlažovania 66 % a 33 % zrejme degraduje fotosyntetické pigmenty a spôsobuje zmeny v listovej morfológii rastlín. Obdobie dehydratácie v rámci nášho experimentu trvalo 13 dní, pričom sledovaním významných fyziologických parametrov a sledovaním obsahu vody v listoch i poklesu osmotického potenciálu bolo možné konštatovať, že počas vodného stresu vplyvom inokulácie bol v listoch sóje zaznamenaný vyšší podiel chlorofylu a, b aj karotenoidov u oboch genotypov. Genotypy bez inokulácie mali nižší obsah pigmentov. Znížená alebo zmenená hladina chlorofylu bola zaznamenaná v mnohých rastlinných druhoch, v závislosti od dĺžky trvania a stupňa závažnosti (intenzity) sucha /14/. Z pozorovaní počas vodného stresu /9/ zistili značný pokles fotosyntetických pigmentov s tým, že vodný stres inhibuje syntézu chlorofylu, zatiaľ čo

Tab. 1: Obsah asimilačných pigmentov v listoch sóje genotypu Zora na konci dehydratácie

Genotyp Zora	Chlorofyl a [mg.m^{-2}]	chlorofyl b [mg.m^{-2}]	chlorofyl a+b [mg.m^{-2}]	Karotenoidy [mg.m^{-2}]	chlorofyl a/b	chlorofyl a+b/ karot.
Kontrola (bez inokulácie)	$271,5 \pm 26,4$	$82,9 \pm 9,1$	$357,6 \pm 32,3$	$94,2 \pm 10,6$	$3,3 \pm 0,2$	$3,6 \pm 0,3$
Stres (bez inokulácie)	$157,8 \pm 4,5$	$25,3 \pm 8,6$	$184,8 \pm 12,7$	$56,7 \pm 10,1$	$7,0 \pm 1,4$	$3,2 \pm 0,4$
Nitrazon -kontrola	$312,7 \pm 5,0$	$76,9 \pm 28,3$	$389,6 \pm 33,3$	$109,2 \pm 3,6$	$4,1 \pm 1,5$	$3,6 \pm 0,4$
Nitrazon - stres	$284,5 \pm 4,7$	$67,4 \pm 1,3$	$351,9 \pm 5,5$	$89,6 \pm 12,7$	$4,2 \pm 0,1$	$3,9 \pm 0,1$
Rizobin LF - kontrola	$227,1 \pm 1,9$	$62,1 \pm 4,9$	$289,1 \pm 5,3$	$89,4 \pm 0,8$	$3,7 \pm 0,3$	$3,3 \pm 0,1$
Rizobin LF - stres	$210,4 \pm 5,7$	$37,9 \pm 10,1$	$248,2 \pm 6,5$	$74,6 \pm 6,1$	$6,2 \pm 2,0$	$3,3 \pm 0,2$

karotenoidy sú menej citlivé. Sledovaním účinku *Bradyrhizobium japonicum* a fosforu na rast listov a obsah chlorofylu v sóji bolo zistené, že očkovanie *B. japonicum* výrazne zvýšilo výšku rastlín, počet listov, obsah chlorofylu, listovú plochu. Použitie účinného kmeňa inokulácie a fosforu bola veľmi účinná metóda, ako aj zvýšiť rast sóje /2/. Ako ďalej vyplýva z tabuľky 1, použitím inokulácie vo fáze vodného stresu bol okrem chlorofylu a a b zistený aj zvýšený obsah karotenoidov.

Pri strese zo sucha bolo taktiež pozorované /7/ vyvolanie dlhodobých zmien v štruktúre, obsahu a aktivite jednotlivých fotosyntetických pigmentov. Konkrétne, stres zo sucha je spojený s poklesom listovej absorbancie, čo vedie k zníženému obsahu chlorofylu, zvýšenému xantofylovému poolu, poklesu expresie ATP syntázy, zníženej expresii cytochrómu b6/f. Výsledky štúdií chlorofylázy a peroxidázy /5/ ukázali, že pokles chlorofylu môže byť pripisovaný skôr jeho zvýšenej degradácii ako pomalej syntéze. Je všeobecne známe, že pod stresom zo sucha dochádza k väčšej redukcii chlorofylu b ako chlorofylu a.

Hodnota SPAD predstavuje bezrozmerné číslo, ktoré sa vypočíta na základe kvantity svetla, ktoré je transmitované listom v dvoch vlnových dĺžkach, pričom absorpcia chlorofylov je rozdielna. V rámci genotypov Medaillon a Zora bol zaznamenaný pozitívny efekt inokulácie v podmienkach vodného stresu, pričom vyššie hodnoty SPAD čísla boli zaznamenané pri genotypu Medaillon pri oboch inokulantoch.

Tab. 2: Obsah asimilačných pigmentov v listoch sóje genotypu Medaillon na konci dehydratácie

Genotyp Medaillon	Chlorofyl a [mg.m ⁻²]	chlorofyl b [mg.m ⁻²]	chlorofyl a+b [mg.m ⁻²]	Karotenoidy [mg.m ⁻²]	chlorofyl a/b	chlorofyl a+b/ karot.
Kontrola (bez inokulácie)	310,6 ± 27,5	81,1 ± 17,8	391,7 ± 45,2	100,9 ± 9,7	3,8 ± 0,5	3,9 ± 0,1
Stres (bez inokulácie)	207,7 ± 21,8	66,8 ± 9,3	274,5 ± 28,8	95,9 ± 2,6	3,1 ± 0,1	2,8 ± 0,2
Nitrazon -kontrola	313,9 ± 18,9	88,1 ± 5,0	397,2 ± 19,2	97,0 ± 27,3	3,7 ± 0,3	4,4 ± 1,0
Nitrazon - stres	258,5 ± 2,0	66,2 ± 9,4	304,2 ± 11,4	80,6 ± 3,5	3,9 ± 1,1	3,8 ± 0,3
Rizobin LF - kontrola	344,3 ± 8,8	107,5 ± 39,8	451,8 ± 48,6	126,9 ± 33,7	3,4 ± 0,4	3,5 ± 0,1
Rizobin LF - stres	208,6 ± 4,7	48,4 ± 8,1	260,4 ± 12,8	64,0 ± 11,6	4,2 ± 1,0	3,9 ± 0,2

ZÁVER

Z analýz počas dehydratácie možno pozorovať pokles asimilačných pigmentov v rastlinách sóje fazuľovej u variantov bez inokulácie. Preto samotné využitie inokulantov môže prispieť k lepšej tolerancii rastlín voči suchu, vzhľadom k tomu, že aplikované rizóbiá majú väčšiu schopnosť udržať sa v pôde v živom stave aj dlhší čas v podmienkach vodného deficitu.

LITERATÚRA

- /1/ Anjum, S. A., Xie, X., Wang, L. et al.: Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. In African Journal of Agricultural Research, vol. 6, 2011. pp. 20262032.
- /2/ Barbosa, M. A., Lobato, A. K., Tan, D. K.: Bradyrhizobium improves nitrogen assimilation, osmotic adjustment and growth in contrasting cowpea cultivars under drought. In Australian Journal of Crop Science. 2013. p. 1983- 1989. ISSN:1835-2707.
- /3/ Deaker R.: Legume seed inoculation technology – a review. Soil Biology and Biochemistry [online], vol. 36, 2004. pp. 1275-1288 [cit. 2017-03-14]. Dostupné na internete: DOI: doi:10.1016/j.soilbio.2004.04.009
- /4/ Din, J., Khan, S. U., Ali, L., Gurmani, A. R.: Physiological and agronomic response of canola varieties to drought stress. In Journal of Animal and Plant Sciences, vol. 21, 2011. pp. 78-82.
- /5/ Harpaz-Saad, S., Azoulay, T., Arazi, T., Mett, A., Shibolet, Y. M.: Chlorophyllase is a rate-limiting enzyme in chlorophyll catabolism and is posttranslationally regulated. In Plant Cell, vol. 19, 2007. pp. 1007-1022.
- /6/ Kizil, Ü., Genc, L., İnalpulat, M., Şapolyo, D.: Lettuce (*Lactuca sativa* L.) yield prediction under water stress using artificial neural network (ANN) model and vegetation indices. In Žemdirystė=Agriculture, vol. 99, no. 4, 2012. pp. 409-417.

- /7/ Kohzuma, K., Cruz, J. A., Akashi, K., Hoshiyasu, S., Munekage, Y. N.: The long-term responses of the photosynthetic proton circuit to drought. In *Plant, Cell & Environment*, vol. 32, 2009. pp. 209-219.
- /8/ Lichtenthaler, H. K.: Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. In *Methods in Enzymology*, vol. 148, 1987. pp. 350-382.
- /9/ Lisar, S. Y. S., Motafakkerzad, R., Hossain, M. M., Rahman, I. M. M.: Water stress in plants: Causes, effects and responses. In Rahman, I. M. M. - Hasegawa, H. (eds). *Water Stress*. Rijeka : InTech, 2012. pp. 1 – 14. ISBN 978-953-307-963-9.
- /10/ Machaculeha, A. et al.: Co-Inoculation of Soybean with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* Promotes Early Nodulations. *American Journal of Plant Sciences* [online], vol. 5, 2015. pp. 1641 – 1649 [cit. 2017-03-15]. Dostupné na internete: <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2015.610164>.
- /11/ Machado, S., Paulsen, G. M.: Combined effects of drought and high temperature on water relations of wheat and sorghum. In: *Plant and Soil*, 2001, 233, s. 179 – 187.
- /12/ Manikhuri, R. K., Danguel, D., Rawal, L. S.: Evaluation of symbiotic nitrogen fixing ability of legume. *Crops in Central Himalaya, India Physiology* [online], vol. 1, 2016. pp. 26 – 28 [cit. 2017-03-18]. Dostupné na internete: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rhisp.2016.06.001>
- /13/ Mhadhbi, H. et al.: A highly osmotolerant rhizobial strain confers a better tolerance of nitrogen fixation and enhances protective activities to nodules of *Phaseolus vulgaris* under drought stress. *African Journal of Biotechnology* [online], vol. 10, 2013. pp. 4555 – 4563 [cit. 2017-03-18]. Dostupné na internete: DOI: 10.1016/j.jpro.2013.12.
- /14/ Sayari, M., Ghavami, M., Ghanbari, F., Kordi, S.: Assessment of salicylic acid impacts on growth rate and some physiological parameters of lettuce plants under drought stress conditions. In *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, vol. 5, 2013. no. 17, pp. 1951-1957.

POĎAKOVANIE

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory grantovej agentúry VEGA-1-0831-17 a APVV-15-0721. Poďakovanie tiež patrí spoločnosti Agrokom s. r. o. v Modre, ktorá nám poskytla inokulant Nitrazon a Rizobin LF.



VZŤAH MEDZI RASTOM, KONCENTRÁCIOU FOTOSYNTETICKÝCH PIGMENTOVA MINERÁL- NYCH PRVKOV V BUNKÁCH KALUSU TOPOĽA V PRÍTOMNOSTI ANTIMÓNU A KREMÍKA

THE RELATIONSHIP BETWEEN GROWTH, THE CONCENTRATION OF PHOTOSYNTETIC PIGMENTS AND THE CONCENTRATION OF NUTRIENTS IN POPLAR CALLUS CELLS IN THE PRESENCE OF ANTIMONY AND SILICON

DANICA KUČEROVÁ¹, EVA LABANCOVÁ^{1,2}, ZUZANA VIVODOVÁ¹,
DESANA LIŠKOVÁ¹, KARIN KOLLÁROVÁ¹

¹INSTITUTE OF CHEMISTRY, SLOVAK ACADEMY OF SCIENCES, DÚBRAVSKÁ CESTA 9, 845 38 BRATISLAVA, SLOVAKIA

²PLANT SCIENCE AND BIODIVERSITY CENTER, SLOVAK ACADEMY OF SCIENCES, DÚBRAVSKÁ CESTA 9 845 23 BRATISLAVA, SLOVAKIA

SUMMARY

The aim of the study was to ascertain the effects of antimony (Sb) and/or silicon (Si) on the growth, the concentration of photosynthetic pigments and the concentration of elements (K, Ca, Mg, P, Fe, Zn, Sb, Si) in poplar callus cells. To obtain a complex view on this research, we used a principal component analysis (PCA). The presence of Sb decreased the above-mentioned parameters; however, the addition of Si ameliorated the effects of Sb. PCA revealed the correlation between growth, the concentration of photosynthetic pigments and the concentration of nutrients. The concentration of photosynthetic pigments strongly correlated with Mg, Zn and Ca; whereas the dry mass strongly correlated with K, P and Fe.

Key words: antimony; growth; nutrients; photosynthetic pigments; poplar; silicon

SÚHRN

Cieľom práce bolo zistiť vplyv antimónu (Sb) a/alebo kremíka (Si) na rast, koncentráciu fotosyntetických pigmentov a prvkov (K, Ca, Mg, P, Fe, Zn, Sb, Si) v bunkách kalusu topoľa.

Na získanie komplexného pohľadu sme použili analýzu hlavných komponentov (PCA). Antimón znižoval horeuvedené parametre, kým pridanie Si zmiernilo pôsobenie Sb. PCA ukázala vzájomnú koreláciu medzi rastom, koncentráciou fotosyntetických pigmentov a minerálnych prvkov.

Koncentrácia fotosyntetických pigmentov silne korelovala s Mg, Zn a Ca, zatiaľ čo suchá hmotnosť silne korelovala s K, P a Fe.

Kľúčové slová: antimón; fotosyntetické pigment; kremík; minerálne prvky; rast; topoľ

INTRODUCTION

The wide use of antimony (Sb) has led to considerable inputs of this element into the environment /1/. Important anthropogenic sources of antimony in the environment are emissions from vehicles, waste disposal and incineration, fuel combustion, metal smelters, and shooting activities /2, 3/. Similar to other trace elements, it can be toxic at elevated concentrations, and some Sb compounds are even considered potentially carcinogenic /4/. A potentially important exposure pathway of humans and animals to antimony in areas with contaminated soils is through food and feed plants /5/. The reuse of material from mining dumps has also been identified as a cause of severe Sb contamination of agricultural land /6/. Poplar plants, typified by fast growth and high biomass production, often colonize areas near agricultural land and can adapt to, and grow in, contaminated areas and are capable of accumulating metals /7, 8/. Their phytoremediation potential can be determined by the use of in vitro screening /7/. Silicon (Si) is a beneficial element for plant growth and also a multifaceted element for alleviating the toxicity of various metals in plants /9/. To explore the potential of poplars to tolerate Sb, the effects of Sb and/or Si on the growth, the concentration of photosynthetic pigments and the concentration of nutrients were analysed.

MATERIALS AND METHODS

Poplar callus, prepared from the leaves of a white poplar (*Populus alba* L. *pyramidallis*), was cultivated on an agar medium /10/ with the addition of a $K_2(SbO)_2 \cdot C_8H_4O_{10} \cdot 3H_2O$ solution (50 mg.ml⁻¹) and/or silicon (5 mM in the form of sodium silicate solution, 27% SiO₂ dissolved in 14% NaOH) with pH adjusted to 5.6. The callus

was cultivated in controlled conditions (24 °C, 60% ambient humidity, in 45–60 E m⁻².s⁻¹ light conditions, over 16 h photoperiod). Each growth experiment, repeated three times on separate days, consisted of 30 calli per treatment. The calli were harvested, and the fresh and dry mass were determined after 3 weeks of Sb and/or Si exposure. The concentration of chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, and carotenoids was determined spectrophotometrically and calculated based on the formulas of Lichtenthaler /11/. Analyses of the concentrations of Sb and Si were carried out by flame atomic absorption spectrometry (AAS), and the concentrations of micro- (Fe and Zn) and macro-nutrients (K, Ca, Mg, P) were measured using inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) at the Institute of Laboratory Research on Geomaterials, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, in Bratislava. Statistical analyses followed the analysis of variance and LSD test (least significant difference) at $P < 0.05$. The principal component analysis (PCA) was applied to the dataset of dry mass, the concentration of photosynthetic pigments, and the concentration of elements (K, Ca, Mg, P, Fe, Zn, Sb, Si). The PCA was performed using R software version 3.5.2 (2018-12-20).

RESULTS AND DISCUSSION

Antimony inhibited callus growth; the dry mass decreased about 31% in comparison with the control (Fig. 1a). The addition of Si decreased the dry mass (22%) compared to the control. However, in the presence of Sb, Si promoted callus growth (about 11%) compared to the Sb treatment. Similar results were ascertained also in the case of the influence of Si and Sb on rice /12/.

The concentration of photosynthetic pigments (chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, carotenoids) in the Sb treatment decreased about 67%, 68%, 64%, in comparison with the control, respectively (Fig. 1b). The addition of Si did not change the concentration of photosynthetic pigments when compared to the control. On the other hand, the Sb+Si treatment increased the concentration of photosynthetic pigments compared to the Sb treatment and the values reached approximately the values of the control. A similar difference in the concentration of photosynthetic pigments in the Sb and Sb+Si treatments has also been observed in maize /13/.

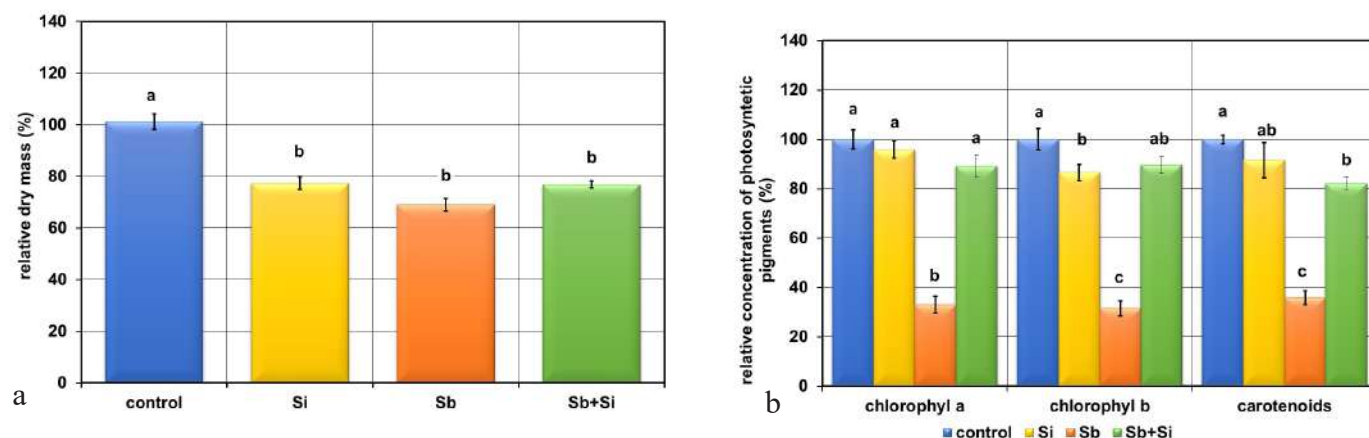


Fig. 1: Dry mass and concentration of chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and carotenoids in poplar calli after 3 weeks of cultivation.

The data are expressed as a percentage of the control (means $\pm$ standard error). Control is 100%. Different letters denote statistically significant differences in the parameters between the treatments at $P < 0.05$.

The concentrations of micro- and macro-nutrients in the Sb treatment decreased in comparison with the control. However, the Sb+Si treatment increased the concentration of nutrients compared with the Sb treatment. The addition of Si into the Sb medium conducted to lower Sb accumulation.

The dataset of dry mass, the concentration of photosynthetic pigments and the concentration of elements was analysed using PCA, to show possible associations among these parameters in poplar callus and to test for variability between treatments (control, Si, Sb, Sb+Si) (Fig. 2). The first three principal components, PC1, PC2 and PC3, amounted to 89% of the total explained variance. The first principal component PC1, which accounted for 70.1% of the total variance, was characterised by the high positive loading of Sb and negative loading of all the other parameters. Thus, the PC1 can be described as an Sb factor. All parameters except Sb

and Si show positive correlations between each other. The concentration of photosynthetic pigments strongly correlated with Mg, Zn and Ca, whereas the dry mass strongly correlated with K, P and Fe. The major element contributes to PC2 (13% of the total variance) was Si. The second factor responsible for variability in the dataset was Si. The PC3, which accounted for 6% of the total variance, was characterised mostly by the positive loading of Mg and the negative loading of P.

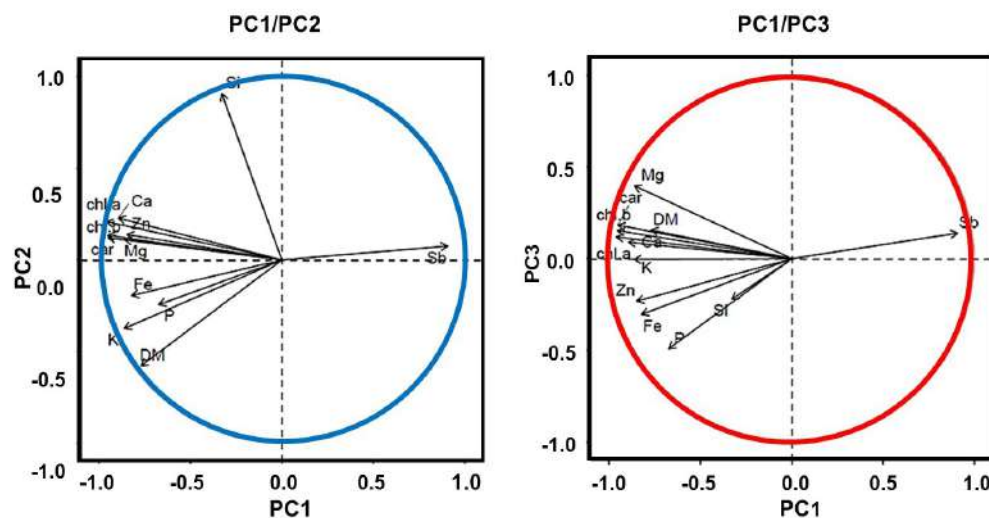


Fig. 2: The PCA loading plot shows the correlation of variables to principal components PC1, PC2 and PC3.

Chl.a - chlorophyll a, chl.b - chlorophyll b, car - carotenoids, DM - dry mass

The PC1/PC2 graph of the individuals with differently labelled treatments shows separation between the Sb treatment and both the control and the Si treatment, along the PC1 axis (antimony factor) (Fig. 3).

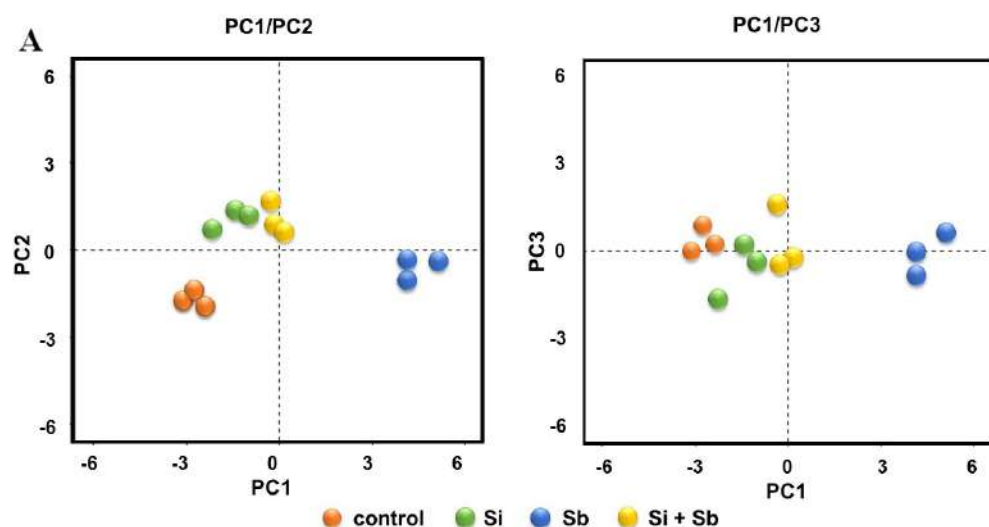


Fig. 3: The PCA score plot shows the clustering/separation of different treatments (control, Si, Sb, Sb+Si).

The values representing the Sb+Si treatment are situated on the PC1 axis near the Si and control values, while the values representing the Sb treatment are situated separately. The PC2 axis splits the Sb and the Sb+Si treatment, as well as the control and Si treatment. The Si and Sb+Si treatment correlated positively with this axis, while the control and the Sb treatment correlated negatively. The PC1/PC2 graph illustrated the fact that Si addition increased the variability of Sb more than the control.

CONCLUSION

The Si ameliorated the negative effects of Sb on the growth and concentration of photosynthetic pigments in poplar calli cells. Both parameters correlated with each other and also with the concentration of nutrients. Dry mass strongly correlated with P, K and Fe, while the concentration of photosynthetic pigments strongly correlated with Mg, Zn and Ca.

REFERENCES

- /1/ Tschan, M., Robinson, B. H., Schulin, R.: Antimony in the soil–plant system – a review. *Environmental Chemistry*, 6, 2009: 106–115.
- /2/ Cal-Prieto, M. J., Carlosena, A., Andrade, J. M., Martínez, M. L., Muniategui, S., López-Mahía, P., Prada, D.: Antimony as a tracer of the anthropogenic influence on soils and estuarine sediments. *Water Air and Soil Pollution*, 129, 2001: 333–348.
- /3/ Amereih, S., Meisel, T., Scholger, R., Wegscheider, W.: Antimony speciation in soil samples along two Austrian motorways by HPLC-ID-ICP-MS. *Journal of Environmental Monitoring*, 7, 2005, 7, 1200–1206.
- /4/ Leonard, A., Gerber, G. B.: Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of antimony compounds. *Mutation Research* 366, 1996: 1–8.
- /5/ Ainsworth, N., Cooke, J. A., Johnson, M. S.: Distribution of antimony in contaminated grassland. 2. Small mammals and invertebrates. *Environmental Pollution*, 65, 1990: 79–87.
- /6/ Hammel, W., Debus, R., Steubing, L.: Mobility of antimony in soil and its availability to plants. *Chemosphere*, 41, 2000: 1791–1798.
- /7/ Di Lonardo, S., Capuana, M., Arnetoli, M., Gabbrielli, R., Gonnelli, C.: Exploring the metal phytoremediation potential of three *Populus alba* L. clones using an in vitro screening. *Environmental Science and Pollution Research*, 18, 2011: 82–90.
- /8/ Romeo, S., Francini, A., Sebastiani, L., Morabito, D.: High Zn concentration does not impair biomass, cutting radial growth, and photosynthetic activity traits in *Populus alba* L. *Journal of Soils and Sediments*, 17, 2017: 1394–1402.
- /9/ Bhat, J. A., Shivaraj, S. M., Singh, P., Navadagi, D.B., Tripathi, D.K., Dash, P.K., Solanke, A.U., Sonah, H., Deshmukh, R.: Role of silicon in mitigation of heavy metal stresses in crop plants. *Plants* 8, 2019: 1, 20 pages.
- /10/ Diaz-Colon, J.D., Bovey, R.W., Davis, F.S., Baur, J.R.: Comparative effects and concentration of picloram, 2,4,5-T and dicamba in tissue culture. *Physiologia Plantarum* 27, 1972: 60–64.
- /11/ Lichtenthaler, H.K.: Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148, 1987: 350–382.
- /12/ Zhang, L., Yang, Q., Wang, S., Li, W., Jiang, S., Liu, Y.: Influence of silicon treatment on antimony uptake and translocation in rice genotypes with different radial oxygen loss. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 144, 2017: 572–577.
- /13/ Vaculíková, M., Vaculík, M., Tandy, S., Luxová, M., Schulin, R.: Alleviation of antimonate (SbV) toxicity in maize by silicon (Si). *Environmental and Experimental Botany*, 128, 2016: 11–17.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported by the Slovak Research and Development Agency, contract No. APVV-17-0164.



VLIV ROZDÍLNÉ KONCENTRACE PARACETAMOLU NA VODNÍ REŽIM JUVENILNÍCH ROSTLIN SALÁTU

THE EFFECT OF DIFFERENT CONCENTRATIONS OF AMINOPHENOL ON THE WATER REGIME OF JUVENILE LETTUCE PLANTS

JIŘÍ KUDRNA, FRANTIŠEK HNILIČKA, JAN KUBEŠ, HELENA HNILIČKOVÁ, KAMIL KRAUS

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE, FAPPZ, KATEDRA BOTANIKY A FYZIOLOGIE ROSTLIN, KAMÝČKÁ 129, 165 21 PRAHA 6 – SUCHDOL, KUDRNAJ@AF.CZU.CZ

SUMMARY

The effect of different doses of aminophenol on the water potential of plant plants (0, 5 μ M, 50 μ M, 500 μ M, 5 mM) in the acute (1x application) and chronic (regular application) variants was studied in a greenhouse experiment. Lettuce plants were grown in containers in a special garden substrate and sand. The results of increasing concentrations of aminophenol in both application variants are available for use in water plants in control plants. In the event of an acute paracetamol effect, the water potential is reduced by the target: control (-0.94 MPa) - 5 μ M (-1.36 MPa) - 50 μ M (-1.39 MPa) - 500 μ M (-1.37 MPa) - 5 mM (-1.57 MPa). In chronic effects of medicines on the water surface, it is possible to calculate the average values of water potential, depending on the variant and in your sequence: -0.94 MPa (control) > -1.46 MPa (5 mm) > -1.51 MPa (50 μ M) > -1.60 MPa (500 μ M) > -1.82 MPa (5 mM).

Key words: lettuce; water potential; aminophenol; Lactuca sativa

SOUHRN

Vliv rozdílné koncentrace paracetamolu na vodní potenciál rostlin salátu (0, 5 μ M, 50 μ M, 500 μ M, 5 mM) v akutní (1x aplikace) a chronické (pravidelná aplikace) variantě byl sledován ve skleníkovém pokusu. Rostliny salátu byly pěstovány v nádobách ve směsi zahradního substrátu a písku. Ze získaných výsledků vyplývá, že se zvyšující se koncentrací paracetamolu v obou variantách aplikace dochází k poklesu vodního potenciálu v porovnání s kontrolními rostlinami. V případě akutního působení paracetamolu se vodní potenciál snižoval v následujícím pořadí: kontrola (-0,94 MPa) - 5 μ M (-1,36 MPa) - 50 μ M (-1,39 MPa) - 500 μ M (-1,37 MPa) - 5 mM (-1,57 MPa). U chronického působení léčiva na vodní potenciál listů salátu byly průměrné hodnoty vodního potenciálu v závislosti na variantě v následujícím pořadí: -0,94 MPa (kontrola) > -1,46 MPa (5 μ M) > -1,51 MPa (50 μ M) > -1,60 MPa (500 μ M) > -1,82 MPa (5 mM).

Klíčová slova: salát; paracetamol; vodní potenciál; Lactuca sativa

ÚVOD

Léčiva jsou nedílnou součástí života moderního člověka. Paracetamol vycházející z látky aminofenol (APAP) patří mezi nejběžněji používané, volně prodejné, léky, které jsou dostupné v mnoha formách /1/. V ekosystému lze APAP a jeho metabolity nalézt v odpadních vodách, skládkách a čistírenských kalech /2-6/.

S možným využíváním čistírenských kalů jako hnojiva do zemědělství, ale také využívání povrchové vody, jako zdroje závlahy. Vystává otázka, jakým způsobem může APAP, případně související metabolity, působit na pěstované plodiny a rostliny všeobecně. V tomto případě rostlina přichází do kontaktu s xenobiotikem a musí zapojit systém obranných mechanismů vedoucích k detoxifikaci. Stresová reakce u rostlin má mnoho mechanismů účinku a může docházet k ovlivnění více fyziologických charakteristik. Jedná se nejenom o akutní, ale i chronické poškození /7, 8/, hromadění v pletivech /9, 10/, inhibice prodlužování buněk /11/.

Vzhledem k částečně chybějícím literárním datům bylo cílem pokusu stanovit vliv rozdílných koncentrací paracetamolu na vodní režim rostlin salátu, neboť vliv xenobiotik na fyziologické parametry je obecně studován u vodních rostlin a v omezené míře u rostlin terestrických.

MATERIÁL A METODY

V pokusu byl sledován vliv rozdílné koncentrace paracetamolu v závlahové vodě na obsah pigmentů a fluorescenci rostlin lociky seté 'Král Máje'.

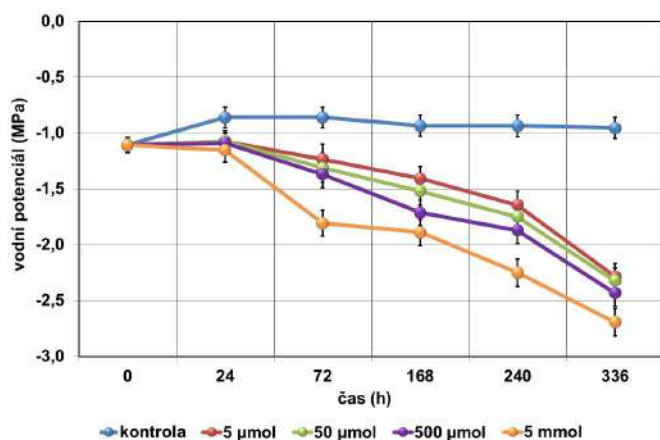
Pokus byl založen v částečně řízených podmínkách skleníku KBFR FAPPZ. Teplota během pokusu byla nastavena na 25 °C ve dne a 19 °C v noci, při přirozeném světelném režimu (14 hodin světla, 10 hodin tmy). Pokusné rostliny byly pěstované v nádobách o velikosti 11x11x12 cm ve směsi zahradního substrátu s vysokým obsahem organických látek a křemičitého písku v poměru 2:1. Rostliny v kontrolní variantě byly zavlažovány 150 ml vody. Četnost závlahy byla 2krát týdně. Zbývající varianty zahrnovaly rozdílné koncentrace paracetamolu, který vychází z látky aminofenol (APAP). APAP byl dodáván v podobě čisté látky formou závlahy o koncentracích 5 µM, 50 µM, 500 µM, 5 mM. Všechny varianty byly založeny v režimu akutní (1x aplikace) i chronické (pravidelná aplikace) kontaminace.

V průběhu pokusu se uskutečnilo 6 odběrů, při čtyřech opakováních. Termíny odběrů byly v následujících časových intervalech: 0, 24, 72, 168, 240 a 336 hodin. Vodní potenciál listů byl měřen pomocí přístroje WP4C (Decagon Devices, Inc., Pullman, USA).

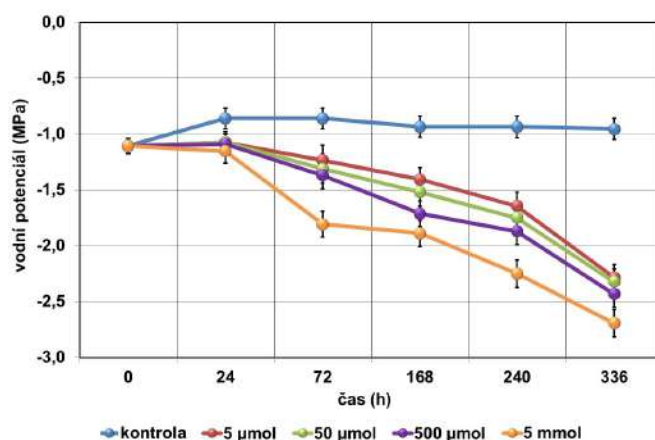
K vyhodnocení výsledků byla použita vícefaktorová analýza rozptylu ANOVA, pomocí programu STATISTICA 12.0 CZ na hladině významnosti 0,05.

VÝSLEDKY A DISKUSE

V grafu 1 jsou uvedeny rozdíly vlivu koncentrace paracetamolu na vodní potenciál listů lociky seté. V uvedeném grafu jsou uvedeny změny vodního potenciálu způsobené akutním vlivem xenobiotika. Změny vodního potenciálu listů není ovlivněn pouze koncentrací paracetamolu v závlahové vodě, ale také vlivem ontogenetického vývoje. Změny vodního potenciálu v závislosti na ontogenetickém vývoji rostlin jsou v souladu s prací /12/ u fazolu a bavlíku /13/



Graf 1: Vliv akutní kontaminace paracetamolu na vodní potenciál (MPa) listů lociky seté



Graf 2: Vliv chronické kontaminace paracetamolu na vodní potenciál (MPa) listů lociky seté

Vodní potenciál byl průkazně ovlivněn koncentrací paracetamolu v závlahce, kdy se průměrná hodnota vodního potenciálu listů lociky seté snižovala v následujícím pořadí: kontrola (-0,94 MPa) - 5 µM (-1,36 MPa) - 50 µM (-1,39 MPa) - 500 µM (-1,37 MPa) - 5 mM (-1,57 MPa). Vliv koncentrace potvrzují u zasolení např. /14/.

Z uvedeného grafu dále vyplývá, že v případě kontrolních rostlin nedochází k výrazným změnám v hodnotách vodního potenciálu v porovnání s rostlinami ovlivněnými paracetamolem. Ze získaných výsledků je patrné, že v průběhu ontogeneze rostlin se průkazně nejvíce snížil vodní potenciál u nejvyšší koncentrace paracetamolu v roztoku (5 mM). U této koncentrace byl naměřený interval hodnot vodního potenciálu od -1,11 MPa (0 h) do -2,60 MPa (336 h). Na straně druhé nejnižší snížení bylo zaznamenáno u koncentrace 5 µM v případě této varianty byl vodní potenciál nejvyšší na počátku měření (-1,11 MPa) a naopak nejvyšší za 14 dnů po aplikaci paracetamolu (-2,60 MPa). Tyto výsledky potvrzují v případě sucha také /15, 16/.

Z grafu 2 je patrné, že vodní potenciál listů lociky seté (salátu) je průkazně ovlivněn koncentrací paracetamolu

v zálivkové vodě. V rámci chronického působení tohoto xenobiotika dochází v časovém úseku k postupnému snižování vodního potenciálu. Uvedený výsledek u sucha také potvrzují např. /17, 18/.

V případě rostlin zavlažovaných pouze destilovanou vodou byl vodní potenciál listů v rámci jednotlivých termínů měření relativně stabilní, neboť naměřený interval hodnot vodního potenciálu byl od -0,86 MPa (24 a 72 h) do -1,11 MPa (0 h). Nejvýraznější pokles hodnot vodního potenciálu listů v rámci délky působení koncentrace paracetamolu byla zjištěna u koncentrace 5 mM. U této koncentrace činil rozdíl mezi prvním a posledním odběrem činil -1,59 MPa, kdy na konci pokusu byla hodnota vodního potenciálu -2,70 MPa. Naopak nejnižší rozdíl mezi výše uvedenými odběry byl zjištěn u nejnižší koncentrace paracetamolu - 5 μ M. Na počátku měření byla hodnota vodního potenciálu -1,11 MPa a na jeho konci -2,29 MPa. Rozdíly v hodnotách vodního potenciálu listů uvádí také /19-21/ v případě zasolení.

Průměrné hodnoty vodního potenciálu v závislosti na variantě byly v následujícím pořadí: -0,94 MPa (kontrola) > -1,46 MPa (5 μ M) > -1,51 MPa (50 μ M) > -1,60 MPa (500 μ M) > -1,82 MPa (5 mM).

ZÁVĚR

Vlivem působení paracetamolu se u všech sledovaných variant snížila hodnota vodního potenciálu listů salátu. Nejvýraznější pokles vodního potenciálu byl zaznamenán u chronické a akutní aplikace paracetamolu v porovnání s kontrolními rostlinami. Efekt zvýšené koncentrace paracetamolu je obdobný jako v případě dalších abiotických stresorů, např. sucha.

LITERATURA

- /1/ Nagaraja, P., Yathir Ajan, H., Raju, C., Vasantha, R., Nage Ndra, P., Kum, A. R. M.: 3-aminophenol as a novel coupling agent for the spectrophotometric determination of sulfonamide derivatives. *Il Farmaco*, 58, 2003: 1295.
- /2/ Arcand-Hoy, L. D., Nimrod, A. C., Bensom, W. H.: Endocrinemodulating substances in the environment estrogenic effects of pharmaceutical products. *International Journal of Toxicology*, 17, 1998: 139-158.
- /3/ Nieuwenhuijsen, M. J.: Adverse reproductive health effects of exposure to chlorination disinfection by products. *Global NEST Journal*. 7, 2005: 128-144.
- /4/ Andrzejewski, P., Kasprzyk-Hordern, B., Nawrocki, J.: N-nitrosomethylethylamine (NMEA) and N-nitrosodiethylamine (NDEA), two new potential disinfection byproducts; formation during water disinfection with chlorine. *Global NEST Journal*. 7, 2005: 17-26.
- /5/ Temes, T. A.: Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers, *Water Research*, 32, 1998: 3245-3260.
- /6/ Daughton, C. G., Temes, T. A.: Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? *Environmental Health Perspectives*, 107, 1999: 907-938.
- /7/ Quinn, B.; Gagne, F.; Blaise, C.: An investigation into the acute and chronic toxicity of eleven pharmaceuticals (and their solvents) found in wastewater effluent on the cnidarian, *Hydra attenuata*. *Science of the Total Environment*. 389, 2008: 306-314.
- /8/ Crane, M.; Watts, C.; Boucard, T. Chronic aquatic environmental risks from exposure to human pharmaceuticals. *Science of the Total Environment*. 367, 2006: 23-41.
- /9/ Schulz, M. M.; Furlong, E. T., Kolpin, D. W., Werner, S. L., Schoenfuss, H. L., Barber, L. B., Blazer, V. S., Norris, D. O., Vajda, A. M.: Antidepressant pharmaceuticals in two U.S. effluent-impacted streams: Occurrence and fate in water and sediment and selective uptake in fish neural tissue *Environmental Science & Technology*, 44, 2010: 1918-1925.
- /10/ Brooks, B. W., Turner, P. K., Stanley, J. K., Weston, J. J., Glidewell, E. A., Foran, C. M., Slattery, M., La Point, T. W., Huggett, D. B.: Waterborne and sediment toxicity of fluoxetine to select organisms. *Chemosphere*, 52, 2003: 135-142.
- /11/ Pomati, F., Castiglioni, S., Zuccato, E., Fanelli, R., Vigetti, D., Rossetti, C., Calamari, D.: Effects of a complex mixture of therapeutic drugs at environmental levels on human embryonic cells. *Environmental Science & Technology*, 40, 2006: 2442-2447.
- /12/ Martinez, J. P., Silva, H., Ledent, J. F., Pinto, M.: Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall

elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). European Journal of Agronomy. 26, 2007:30-38.

/13/ Zhang, Y., Hu, Y., Luo, H., Chow, W., Zhang, W.: Two distinct strategies of cotton and soybean differing in leaf movement to perform photosynthesis under drought in the field. Functional Plant Biology. 38, 2016: 567-575.

/14/ Eisa, S., Hussin, S., Geissler, N., Koyro, H. W. (2012). Effect of NaCl salinity on water relations, photosynthesis and chemical composition of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) as a potential cash crop halophyte. Australian Journal of Crop Science. 6 (2), 2012: 357.

/15/ Anjum, S. A., Xie, X. Y., Wang, L. C., Saleem, M. F., Man, C., Lei, W.: Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. African Journal of Agricultural Research, 6 (9), 2011: 2026-2032.

/16/ Martínez-Vilalta, J., García-Forner, N.: Water potential regulation, stomatal behaviour and hydraulic transport under drought: deconstructing the iso/anisohydric concept. Plant, Cell and Environment, 40 (6), 2017: 962-976.

/17/ Nayyar, H., Gupta, D.: Differential sensitivity of C3 and C4 plants to water deficit stress: association with oxidative stress and antioxidants. Environmental and Experimental Botany. 58, 2006: 106-113.

/18/ Siddique M. R. B., Hamid, A., Islam, M. S.: Drought stress effects on water relations of wheat. Botanical bulletin of Academia Sinica 41, 2001: 35-39.

/19/ Zlatev, Z., Lidon, F. C.: An overview on drought induced changes in plant growth, water relations and photosynthesis. Emirates Journal of Food and Agriculture, 2012: 57-72.

/20/ Silva, E. D., Ribeiro, R. V., Ferreira-Silva, S. L., Viégas, R. A., Silveira, J. A. G.: Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and growth of *Jatropha curcas* plants. Journal of Arid Environments, 74 (10), 2010: 1130-1137.

/21/ Hariadi, Y., Marandon, K., Tian, Y., Jacobsen, S. E., Shabala, S.: Ionic and osmotic relations in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) plants grown at various salinity levels. Journal of Experimental Botany. 62, 2011: 185-193.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce vznikla za podpory projektu „Centrum pro studium vzniku a transformací nutričně významných látek v potravním řetězci v interakci s potenciálně rizikovými látkami antropogenního původu: komplexní posouzení rizika kontaminace půdy pro kvalitu zemědělské produkce“ reg.č.: CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/00 00845 financovaného z EFRR.



OBSAH ARZÉNU V PŮDACH A RASTLINÁCH OVPLYVNENÝCH EMISIA-MI Z RÝCHLOSTNEJ CESTY R4 KOŠICE - MILHOŠŤ

THE ARSENIC CONTENT IN SOILS AND PLANTS AFFECTED BY EMISSIONS FROM EXPRESSWAY R4 KOŠICE - MILHOŠŤ

MARGITA KUKLOVÁ¹, IVICA PIVKOVÁ¹, FRANTIŠEK HNILIČKA²,
HELENA HNILIČKOVÁ², JÁN KUKLA¹

¹ÚSTAV EKOLÓGIE LESA SAV, ŠTÚROVA 2, 960 53 ZVOLEN, SLOVENSKÁ REPUBLIKA, KUKLOVA@SAVZV.SK

²ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE, KATEDRA BOTANIKY A FYZIOLOGIE ROSTLIN, KAMÝČKÁ 129, 165 21 PRAHA 6 - SUCHDOL, ČESKÁ REPUBLIKA; KUKLOVA@SAVZV.SK

SUMMARY

The contribution assesses the impact of road transport on the accumulation of arsenic in soils and dominant plants at 30 and 500 m away from the highway R4 Košice - Milhošť.

The As concentration increased from organic (0.17 ± 0.05 – 0.96 ± 0.31 mg/kg) towards the mineral soil horizons. Its content peaked in 20–30 cm soil layers (19.56 ± 5.7 – 19.22 ± 5.5 mg/kg), while in 0–5 cm layers the values varied from 14.75 to 16.22 mg/kg. The contents in soils almost 2 times exceed the middle (median) arsenic value presented in the soils of Slovakia. For the 5 plants surveyed, the total As content was almost identical (0.15 mg/kg) and its transfer from the soil to the plants was low (transfer coefficient 0.01).

Key words: forest soils; plant species; traffic pollution; arsenic

SÚHRN

Príspevok hodnotí vplyv cestnej dopravy na akumuláciu arzénu v lesných pôdach a rastlinách vybraných v 30 a 500 m vzdialenostiach od rýchlostnej cesty R4 Košice - Milhošť.

Obsah As vzrastal od organických ($0,17 \pm 0,05$ – $0,96 \pm 0,31$ mg/kg) smerom k minerálnym horizontom pôd, s maximom v 20–30 cm pôdnych vrstvách ($19,56 \pm 5,7$ – $19,22 \pm 5,5$ mg/kg). V 0–5 cm vrstvách pôd boli hodnoty As podstatne nižšie a kolísali od 14,75 do 16,22 mg/kg. Hodnoty zistené v pôdach takmer dvojnásobne prekračujú strednú (mediánovú) hodnotu As stanovenú pre pôdy Slovenska. V 5 skúmaných rastlinách bol celkový obsah As takmer identický (cca 0,15 mg/kg) a jeho presun do rastlín bol nízky (transferový koeficient 0,01).

Kľúčové slová: lesné pôdy; rastliny; znečistenie z dopravy; arzén

Úvod

Anorganické kontaminanty, a najmä arzén (As), sú vážnym ekologickým problémom všetkých zložiek životného prostredia. Ich rozpustné formy predstavujú veľké environmentálne riziko pre prírodu a človeka, pretože tento element má značnú selektívnu schopnosť akumulovať sa v určitých organizmoch alebo orgánoch [1/].

V súčasnosti sa na celkovom znečistení ovzdušia Košickej kotliny podieľa predovšetkým hutnícky, chemický a ďalší spracovateľský priemysel. Avšak k významným zdrojom znečistenia ovzdušia sa stále viac radí aj automobilová doprava, a to najmä v hlavných dopravných koridoroch vstupujúcich do miest, ako aj tranzitná automobilová doprava vedená cez obytné zóny obcí a zložky okolitej krajiny.

Výskum sme realizovali v J časti Košickej kotliny, na plochách vybraných v blízkosti rýchlostnej cesty R4 Košice – Milhošť. Cieľom štúdie bolo zistiť, aký vplyv majú emisie produkované cestnou dopravou na distribúciu a akumuláciu arzénu v pôdach a rastlinných druhoch (*Quercus rubra* L., *Quercus cerris* L., *Fraxinus excelsior* L., *Negundo aceroides* Moench, *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm.) rastúcich v lesných ekosystémoch v blízkosti diaľnice.

MATERIÁL A METÓDY

Výskumné plochy sa nachádzajú na lokalite A SZ od obce Seňa ($48^{\circ}33'22,3''N$, $21^{\circ}13'51,8''E$; 2 plochy v 30 m a 2 plochy v 500 m od rýchlostnej cesty; kambizem modálna) a na lokalite B Z od obce Kechec

(48°34'17.7"N, 21°14'44.4"E; 2 plochy v 30 m od rýchlostnej cesty; fuvizem kambizemná glejová). Výskum bol vykonávaný v roku 2016 počas letného aspektu fytocenóz. Rok 2016 charakterizuje plnú prevádzku cesty R4, ktorá bola odovzdaná do užívania v prvej polovici novembra 2013. Vzorky organických (O) horizontov pôd sa odoberali z každej lokality v troch opakovaníach. Vzorky minerálnej pôdy odobrané z hĺbok 0–5 cm, 10–20 cm a 20–30 cm sa vysušili na vzduchu, preosiali cez sito a následne sa v suspenzii jemnozeme stanovili hodnoty aktívnej reakcie pôd potenciometricky, pomocou digitálneho pH-metra Inolab pH 720. Celkový obsah pôdneho arzénu (As) sa stanovil vo výluhu lúčavky kráľovskej metódou AAS-GTA na prístroji GBC SensAA. Asimilačné orgány rastlín (listy *Quercus rubra* L., *Quercus cerris* L., *Fraxinus excelsior* L., *Negundo aceroides* Moench a bylinného druhu *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm.) boli odoberané na oboch lokalitách stratifikovaným výberom v troch opakovaníach (100 až 200 kusov). Celkové obsahy As vo vzorkách boli stanovené v extrakte koncentrovanej HNO_3 metódou AAS-GTA na prístroji GBC SensAA. Vyhodnotenie výsledkov sa vykonalo v programe Statistica 9 (StatSoft, 2008).

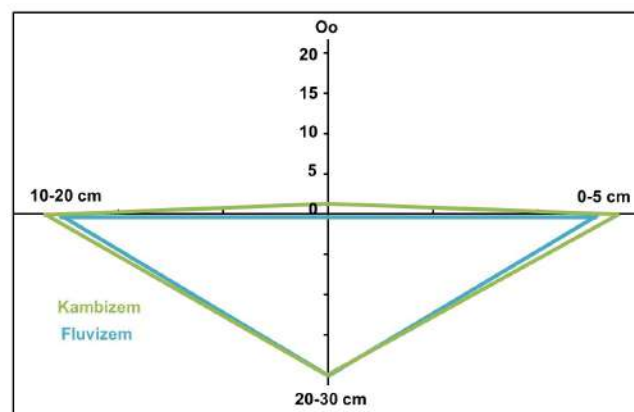
VÝSLEDKY A DISKUSIA

V 30 m vzdialenosti od cesty bol obsah As v O-horizontoch pôd celkovo nízky (fluvizem: $0,17 \pm 0,05$ mg/kg; kambizem: $0,96 \pm 0,31$ mg/kg). Koncentrácia As narastala od organických smerom k minerálnym horizontom pôd. V kambizemiach aj fluvizemiach jeho obsah vrcholil v 20–30 cm minerálnych vrstvách ($19,56 \pm 5,7$ – $19,22 \pm 5,5$ mg/kg), kým v 0–5 cm vrstvách hodnoty As kolísali od 14,75 do 16,22 mg/kg. Štatistické charakteristiky priemerného obsahu arzénu v pôdach lesných ekosystémov sú na obr. 1.

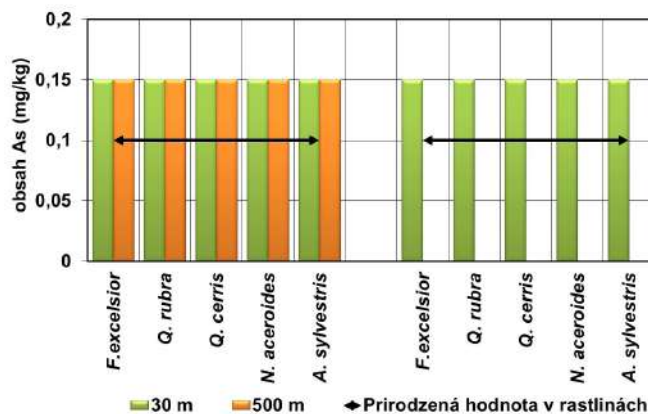
Hodnoty variačných koeficientov (62,8 %; resp. 67,3 %) poukazujú na vysokú variabilitu As v pôdnych vrstvách. Obsah As v A-horizontoch pôd Slovenska varíruje prevažne v intervaloch 5,5–7,5 a 7,5–10,4 mg/kg a v C-horizontoch v rozsahu 4,6–6,6 mg/kg /2/. Reakcia 0–5 cm vrstvy pôd na lokalite A je neutrálna ($\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ 6,71; pH_{KCl} 6,13), na lokalite B slabokyslá ($\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ 5,99; pH_{KCl} 5,36). Priemerné hodnoty As namerané v pôdnych vzorkách na lokalite A ($13,65 \pm 8,57$ mg/kg kg⁻¹), a na B lokalite ($12,82 \pm 8,63$ mg/kg) takmer dvojnásobne prekračujú mediánovú hodnotu obsahu As (7,5 mg/kg) uvádzanú pre pôdy Slovenska /2/ a predstavujú potenciálny zdroj mobilizovateľných foriem As, ktoré sa v procesoch zvetrávania a vymývania zrážkovou činnosťou môžu dostávať do povrchových a podzemných vôd s potenciálom vstupovať do živých organizmov. Vo všeobecnosti platí, že v kyslejších pôdach sa zvyšuje pohyblivosť As, najmä pri pH hodnotách pod 5, čím sa zvyšuje možnosť jeho odberu rastlinami.

Obsah As v O-horizontoch skúmaných pôd je porovnateľný s obsahom As zisteným v O-horizontoch lesných geobiocenóz situovaných v tesnej blízkosti rýchlostnej cesty R1 Nitra – Tekovské Nemce /3/, avšak v prípade 20–30 cm minerálnych vrstiev je vyšší. V blízkosti cesty R1 dosahovala koncentrácia As maximum v 20–30 cm vrstvách luvizemí ($7,54 \pm 2,4$ – $8,28 \pm 2,6$), zatiaľ čo v kambizemiach bola najvyššia v minerálnych vrstvách 0–5 cm ($5,69 \pm 1,8$ – $6,84 \pm 2,2$ mg/kg). V porovnaní s pôdami situovanými pri R4 sú tieto hodnoty podstatne nižšie.

V skúmaných rastlinných druhoch bol celkový obsah As takmer identický (0,15 mg/kg), a to tak vo vzdialenosti 30 m ako aj 500 m od cesty R4 (obr. 2). V po-



Obr. 1: Obsah arzénu (mg/kg) v organickom (Oo) horizonte a v 0–30 cm vrstvách skúmaných pôd (ANOVA: $F(1,6) = 0,0186$; $p > 0,05$)



Obr. 2: Priemerný obsah arzénu v rastlinných druhoch v závislosti od pôdnych typov a vzdialenosti výskumných plôch od cesty R4

rovnání s pozadřovou hodnotou v rastlinách - 0,1 mg/kg /4/, boli hodnoty As stanovené v listoch skúmaných rastlín na oboch lokalitách len mierne zvýšené. Pre *Quercus* sp. uvádza /5/ limitnú hodnotu 0,21 mg/kg. O niečo vyšší v porovnaní s našimi výsledkami bol obsah As v listoch druhu *P. spinosa* (0,24 mg/kg) v tesnej blízkosti rýchlostnej cesty R1 /3/, kým na ostatných plochách boli hladiny As značne podobné hladinám As zisteným v Košickej kotline.

ZÁVER

Emisie As pochádzajú zo spracovania kovových rúd, spaľovania fosílnych palív a automobilovej dopravy. Niektoré druhy vyšších rastlín akumulujúce väčšie množstvo As vo svojich pletivách môžu predstavovať potenciálne nebezpečenstvo pre herbivorné živočíchy /6/. Prijem a akumulácia As v rastlinách je ovplyvňovaná najmä vlastnosťami pôdy a prítomnosťou iónov /7/. Hodnotenie stavu životného prostredia sa preto nezaobíde bez poznania miery prístupnosti arzénu do nadzemných orgánov vyšších rastlín. Arzén bol ťažšie prístupný tak pre rastliny rastúce na kambizemiach, ako aj na fluvizemiach, v dôsledku čoho bol jeho presun do rastlín nízky (transferový koeficient 0,01). Priemerné hodnoty arzénu zistené v pôdach Košickej kotliny takmer dvojnásobne prekročili strednú (mediánovú) hodnotu As stanovenú pre pôdy Slovenska a predstavujú potenciálny zdroj mobilizovateľných foriem As pre živé organizmy. Taktiež koncentrácie As v nadzemnej časti vyšších rastlín prevyšujú referenčnú hodnotu v rastlinách, zrejme ako dôsledok plynných produktov zo spaľovacích motorov prenikajúcich cez povrch rastlín.

LITERATÚRA

- //1/ Maňková B., Oszlányi J. 2010. Temporal trends (1990–1997) in element accumulation in oak leaves and soil on Báb sites. *Ekológia* (Bratislava), 29, 3, 247–257.
- /2/ Čurlík J., Šefčík P. 2012. Geochemický atlas Slovenskej republiky, časť V: Pôdy [online]. Bratislava: Štátny geologický ústav Dionýza Štúra. Dostupné na internete: <http://apl.geology.sk/atlasypody>.
- /3/ Kuklová M., Pivková I., Hnilička F., Hniličková H., Sládek K., Kukla J. 2018. Vplyv rýchlostnej cesty na akumuláciu arzénu v lesných ekosystémoch = Impact of expressway on arsenic in forest ecosystems. In *Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2018 : sborník recenzovaných vědeckých prací*, 5.- 6. 9. 2018. - Praha ; Zvolen ; Ústav ekologie lesa Slovenskej akademie vied : Česká zemědělská univerzita v Praze, s. 165–168.
- /4/ Markert B. 1995. Instrumental multielement analysis in plant materials – a modern method in environmental chemistry and tropical systems research. Rio de Janeiro: CETEM/CNPq, (Série Tecnologia Ambiental, 8), 32 p.
- /5/ Maňková B. 1996. Geochemický atlas Slovenska, časť II: Lesná biomasa [online]. Bratislava: Geologická služba Slovenskej republiky, Bratislava: Dostupné na internete: <https://www.geology.sk/geoinfoportal/mapovy-portal/atlasypody/geochemicky-atlas-slovenska/>
- /6/ Jurkovič Ľ., Veselská V., Gučková V., Frankovská J. 2008. Geochemické zhodnotenie kontaminácie pôd arzénom v oblasti Zemianskych Kostolian. *Acta Environmentalica Universitatis Comenianae* (Bratislava), 16, 1, 47–55.
- /7/ Overesch M., Rinklebe J., Broll G., Neue H.-U. 2007. Metals and arsenic in soils and corresponding vegetation at Central Elbe river floodplains (Germany). *Environmental Pollution*, 145, 800–812.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporovaná Vedeckou grantovou agentúrou MŠ SR a SAV (projekt č. 2/0005/17).



**VPLYV GALAKTOGLUKOMANÁNOVÝCH OLIGOSACHARIDOV NA DISTRIBÚCIU A AKUMULÁCIU
OXIDU DUSNATÉHO A PEROXIDU VODÍKA V KOREŇOCH RASTLÍN VYSTAVENÝCH KADMIU**

**THE INFLUENCE OF GALACTOGLUCOMANNAN OLIGOSACCHARIDES ON THE DISTRIBUTION AND
ACCUMULATION OF NITRIC OXIDE AND HYDROGEN PEROXIDE IN PLANT ROOTS EXPOSED TO
CADMIUM**

EVA LABANCOVÁ^{1,2}, KRISTÍNA VOJTEKOVÁ³, DANICA KUČEROVÁ¹, ZUZANA VIVODOVÁ¹,
DESANA LIŠKOVÁ¹, KARIN KOLLÁROVÁ¹

¹INSTITUTE OF CHEMISTRY, SLOVAK ACADEMY OF SCIENCES, DÚBRAVSKÁ CESTA 9, 845 38 BRATISLAVA, SLOVAKIA

² PLANT SCIENCE AND BIODIVERSITY CENTER, SLOVAK ACADEMY OF SCIENCES, DÚBRAVSKÁ CESTA 9, 845 23 BRATISLAVA, SLOVAKIA

³DEPARTMENT OF PLANT PHYSIOLOGY, FACULTY OF NATURAL SCIENCES, COMENIUS UNIVERSITY IN BRATISLAVA, MLYNSKÁ DOLINA, ILKOVIČOVA 6, 84215 BRATISLAVA, SLOVAKIA

SUMMARY

The objective of the present work is to study the differences in the distribution and accumulation of nitric oxide (NO) and hydrogen peroxide (H_2O_2) in the primary root of *Arabidopsis thaliana* cultivated with the addition of Cd^{2+} and/or galactoglucomannan oligosaccharides (GGMOs). The plants were cultivated in vitro for 7 days and the accumulation of NO, H_2O_2 and Cd^{2+} was detected histochemically and estimated with the use of an image program (ImageJ). The distribution of both H_2O_2 and NO was not regular in the primary root, and varied in the meristem, and the elongation and differentiation zones. Cadmium treatment increased the concentration of both NO and H_2O_2 . The GGMOs decreased the accumulation of NO in the elongation zone and decreased the accumulation of H_2O_2 in the differentiation zone compared to Cd treatment.

Key words: galactoglucomannanové oligosacharidy; kadmium; oxid dusnatý; peroxid vodíka

SÚHRN

Cieľom tejto práce je určiť rozdiely v distribúcii a akumulácii oxidu dusnatého (NO) a peroxidu vodíka (H_2O_2) v primárnych koreňoch Arábkovky Thalovej kultivovanej v prítomnosti Cd^{2+} a/alebo galaktoglucomanánových oligosacharidov (GGMOs). Rastliny sme kultivovali 7 dní v in vitro podmienkach a akumuláciu NO, H_2O_2 , a Cd^{2+} detegovali histochemicky a stanovili použitím programu ImageJ.

Distribúcia H_2O_2 a NO nebola pravidelná v celej dĺžke primárneho koreňa, odlišovala sa v meristeme, elongačnej a diferenciačnej zóne.

V prítomnosti Cd^{2+} sa zvýšila koncentrácia NO a H_2O_2 , pričom aplikácia GGMOs znížila akumuláciu NO v elongačnej zóne a akumuláciu H_2O_2 v diferenciačnej zóne v porovnaní s Cd variantom.

Kľúčové slová: galactoglucomanánové oligosacharidy; kadmium; oxid dusnatý; peroxid vodíka

INTRODUCTION

Reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) are continually produced in plants, while acting as messengers or triggering important metabolic reactions /1, 2/. However, in stress conditions, the production of both ROS and RNS increases, which can cause secondary damages of the cells or tissues /3, 4/. Recently, galactoglucomannan oligosaccharides (GGMOs) have been reported to positively influence the growth of plants in physiological as well as in stress conditions /5, 6/. GGMOs have also been reported to interact with auxin by decreasing the amount of flavonoids in plants /7/; flavonoids have a role in auxin transport. Nitric oxide (NO), one of the RNS molecules, can also interact with auxins and change the morphology of the plants /8/. Therefore, investigating the interactions between GGMOs, NO, and ROS (H_2O_2) is an important step in understanding the enhanced stress tolerance induced by GGMOs. The aim of this short paper was to detect and evaluate the distribution and accumulation of NO and H_2O_2 in three zones of the primary root treated with Cd^{2+} and/or GGMOs.

MATERIAL AND METHODS

For all analyses, in vitro cultivated *Arabidopsis thaliana* (L.) plants were used. *Arabidopsis* was cultivated in controlled conditions ($24 \pm 1^\circ\text{C}$, 60% relative humidity, over a 16 h photoperiod, at an irradiance of $50\text{--}60 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) on solid MS medium [9] supplemented with $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ (10^{-4} M), GGMOs (10^{-9} M), or GGMOs (10^{-10} M) + $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ (10^{-4} M). After 7 days, the length of the primary root was determined. The relative accumulations of NO, H_2O_2 and Cd^{2+} were determined histochemically. The relative accumulation of NO was determined with the use of fluorescent dye - diaminofluoresceindiacetate (DAF) according to Pető et al. [10] and Corpas et al. [11]. The relative accumulation of H_2O_2 was detected according to Thordal-Christensen et al. [12] and Yokawa et al. [13] with 3,3-aminobenzidine (DAB). The relative accumulation of Cd^{2+} was estimated with the use of fluorescent dye – LeadmiumTM Green AM [14, 15]. The roots were observed using an inverted fluorescence microscope (Leica DMI3000 B, Wetzlar, Germany) equipped with an appropriate set of excitation/emission filters (490Ex/515Em). The intensity of fluorescence was determined in the meristem, and at the beginning of the elongation and differentiation zones (100 μm length of root in the zones). The intensity of fluorescence was estimated by measuring the mean weighted intensity of the green (for NO and Cd^{2+}) or the red (H_2O_2) channel using the Fiji distribution of ImageJ [16]. Statistical analyses followed the analysis of variance (ANOVA) and LSD test (least significant difference) at $P < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Cadmium application decreased the length of the root –by 25.7% when compared to control (Fig. 1a). On the other hand, GGMOs influenced this parameter positively. The GGMOs+Cd treatment increased root length by 21.4% when compared to the Cd treatment. The positive influence of GGMOs on the root growth has been previously reported in mungo beans [17]. In addition, GGMOs were also able to alleviate the negative impact of Cd^{2+} on maize roots [18].

The relative accumulation of Cd^{2+} was the highest in the Cd treatment and in the GGMOs+Cd treatment in all three root zones (Fig. 1b). We found no statistically significant differences between the GGMOs+Cd and the Cd treatments. This result suggests that GGMOs do not directly influence the uptake of Cd^{2+} . However, GGMOs might participate in other actions that alleviate Cd^{2+} toxicity. Similar results have been obtained in maize, where GGMOs did not affect the concentration of Cd^{2+} in tissues [18].

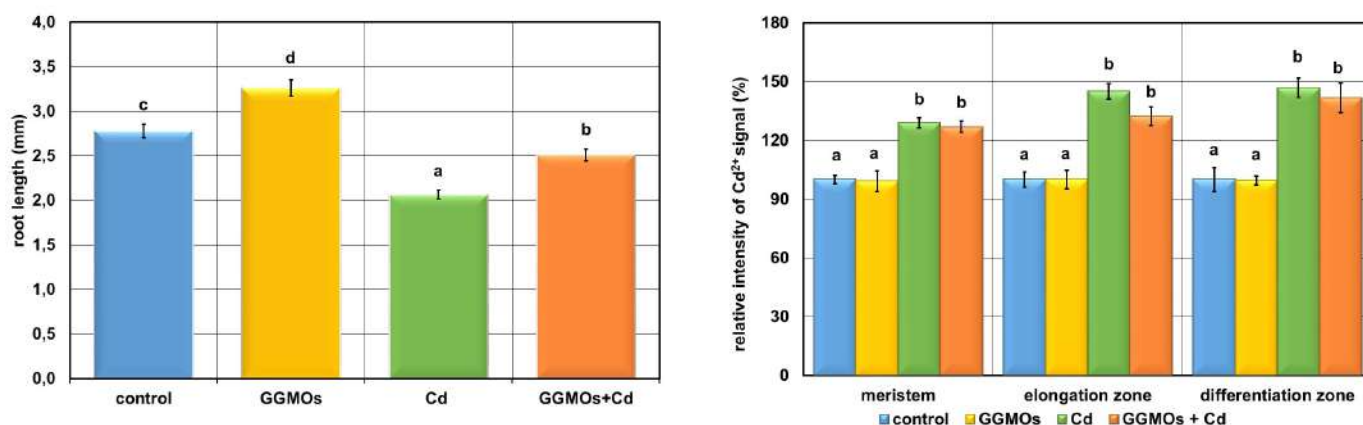


Fig. 1. Root length after 7-days of cultivation (1a) and the relative intensity of the NO signal in three zones of primary root (1b).

The fluorescence was measured using ImageJ software and is expressed as % of the fluorescence intensity of the control. Different letters denote statistically significant differences in the parameter between the treatments at $P < 0.05$.

The relative accumulation of NO was the highest in the Cd treatment, in all three root zones (Fig. 2a). The application of GGMOs did not statistically significantly affect the relative accumulation of NO compared to the control. On the other hand, the accumulation of NO decreased in all three zones of primary root in the GGMOs+Cd treatment compared to the Cd treatment. However, this decrease was statistically significant only in the elongation zone. We assume that the action of GGMOs in plants is probably connected with NO, similarly

to alginate /20/ and chitosan oligosaccharides /21/.

The relative accumulation of H_2O_2 was higher in the Cd treatment, in all three root zones, compared to the control (Fig. 2b). GGMOs statistically significantly increased the relative accumulation of H_2O_2 in meristem and differentiation zone compared to the control. The relative accumulation of H_2O_2 decreased in the differentiation zone in the GGMOs+Cd treatment compared to the Cd treatment. Hydrogen peroxide is involved in the actions of peroxidases, which are responsible for the growth of lateral roots and root hairs /22/. Thus, the elevated relative accumulation of H_2O_2 in GGMOs treatment might also be linked to elevated root growth. In addition, oligosaccharides might be active as ROS scavengers during stress /23/.

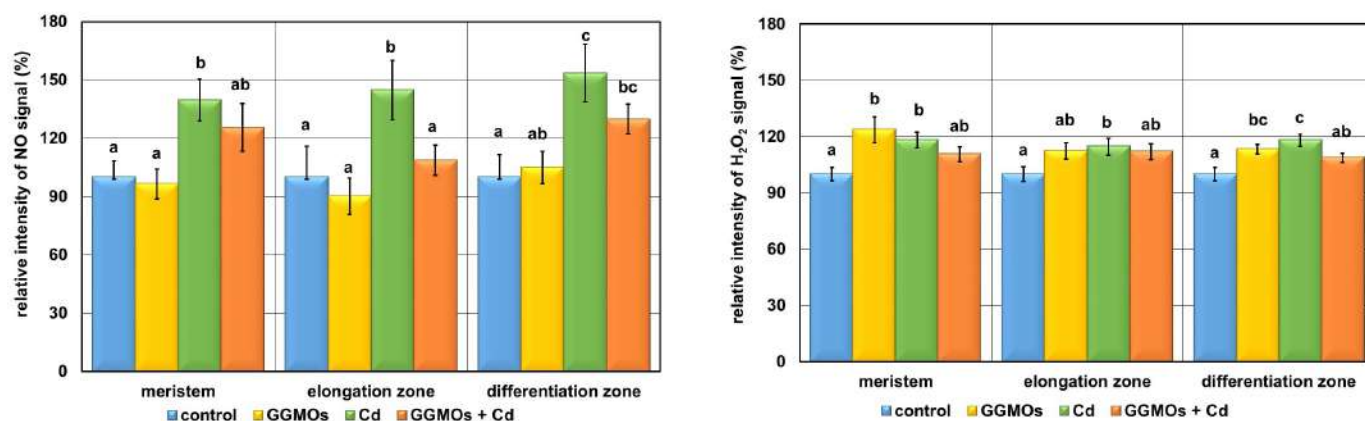


Fig. 2. The relative intensity of the NO signal in three zones of primary root (2a) and the relative intensity of the H_2O_2 signal in three zones of primary root (2b).

The signals (NO, H_2O_2) were measured using ImageJ software and are expressed as a percentage of the fluorescence/staining intensity of the control. Different letters denote statistically significant differences in the parameter between the treatments at $P < 0.05$.

CONCLUSION

In conclusion, we can assume that GGMOs can interact with different ROS and RNS signalling pathways in the plants. However, their actions depend on the plant's current requirements – the accumulation and distribution of NO and H_2O_2 is influenced differently during stress than in physiological conditions.

REFERENCES

- 1/ Khan, A .U., Wilson, T.: Reactive oxygen species as cellular messengers. *Chemistry and Biology*, 2, 1995: 437–445.
- 2/ Wilson, I. D., Neill, S. J., Hancock, J. T.: Nitric oxide synthesis and signalling in plants. *Plant Cell and Environment*, 31, 2008: 622–631.
- 3/ Mittler, R.: Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7, 2002: 405–410.
- 4/ Simontacchi, M., Galatro, A., Facundo, R. A., Santa-María, G. E.: Plant survival in a changing environment: The role of nitric oxide in plant responses to abiotic stress. *Frontiers in Plant Science*, 6, 2015: 977.
- 5/ Kollárová, K., Richterová, D., Slováková, L., Henselová, M., Capek, P., Lišková, D.: Impact of galactoglucomannan oligosaccharides on elongation growth in intact mung bean plants. *Plant Science*, 177, 2009: 324–330.
- 6/ Kučerová, D., Kollárová, K., Zelko, I., Vatehová, Z., Lišková, D.: Galactoglucomannan oligosaccharides alleviate cadmium stress in *Arabidopsis*. *Journal of Plant Physiology*, 171, 2014: 518–524.
- 7/ Kučerová, D., Kollárová, K., Vatehová, Z., Lišková, D.: Interaction of galactoglucomannan oligosaccharides with auxin involves changes in flavonoid accumulation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 98, 2016: 155–161.
- 8/ Sun, H., Feng, F., Liu, J., Zhao, Q.: The interaction between auxin and nitric oxide regulates root growth in response to iron deficiency in rice. *Frontiers in Plant Science*, 8, 2017: 2169.
- 9/ Murashige, T., Skoog, F.: A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Plant Physiology*, 15, 1962: 473–497.

- /10/ Pető, A., Lehotai, N., Lozano-Juste, J., León, J., Tari, I., Erdei, L., Kolbert, Z.: Involvement of nitric oxide and auxin in signal transduction of copper-induced morphological responses in *Arabidopsis* seedlings. *Annals of Botany*, 108, 2011: 449–457.
- /11/ Corpas, F. J., Hayashi, M., Mano, S., Nishimura, M., Barroso, J. B.: Peroxisomes are required for in vivo nitric oxide accumulation in the cytosol following salinity stress of *Arabidopsis* plants. *Plant Physiology*, 151, 2009: 2083–2094.
- /12/ Thordal-Christensen, H., Zhang, Z., Wei, Y., Collinge, D. B.: 1997. Subcellular localization of H_2O_2 in plants. H_2O_2 accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley – powdery mildew interaction. *The Plant Journal*, 11, 1997: 1187–1194.
- /13/ Yokawa, K., Kagenishi, T., Baluška, F.: UV-B induced generation of reactive oxygen species promotes formation of BFA-induced compartments in cells of *Arabidopsis* root apices. *Frontiers in Plant Science*, 6, 2016: 1162.
- /14/ Kováčik, J., Babula, P., Klejdus, B., Hedbavny, J., Jarosova, M.: Unexpected behavior of some nitric oxide modulators under cadmium excess in plant tissue. *PLoS One*, 9, 2014: e91685.
- /15/ Kollárová, K., Vatehová, Z., Kučerová, D., Lišková, D. Cadmium impact, accumulation and detection in poplar callus cells. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 2017: 15340–15346.
- /16/ Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Tinevez, J. Y.: Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods*, 9, 2012: 676.
- /17/ Richterová-Kučerová, D., Kollárová, K., Zelko, I., Vatehová, Z., Lišková, D.: How do galactoglucomannan oligosaccharides regulate cell growth in epidermal and cortical tissues of mung bean seedlings? *Plant Physiology and Biochemistry*, 57, 2012: 154–158.
- /18/ Kollárová, K., Kamenická, V., Vatehová, Z., Lišková, D.: Impact of galactoglucomannan oligosaccharides and Cd stress on maize root growth parameters, morphology, and structure. *Journal of Plant Physiology*, 222, 2018: 59–66.
- /19/ Bucker-Neto, L., Paiva, A. L. S., Machado, R. D., Arenhart, R. A., Margis-Pinheiro, M.: Interactions between plant hormones and heavy metals responses. *Genetics and Molecular Biology*, 40, 2017: 373–386.
- /20/ Zhang, Y., Liu, H., Yin, H., Wang, W., Zhao, X., Du, Y.: Nitric oxide mediates alginate oligosaccharides-induced root development in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 71, 2013: 49–56.
- /21/ Zhang, H., Yin, H., Jin, G.: Function of nitric oxide in chitosan oligosaccharide-induced resistance to tobacco mosaic virus. *International Journal of Agriculture and Biology*, 21, 2019: 85–92.
- /22/ Dunand, C., Crèvecoeur, M., Penel, C.: Distribution of superoxide and hydrogen peroxide in *Arabidopsis* root and their influence on root development: possible interaction with peroxidases. *New Phytologist*, 174, 2007 332–341.
- /23/ Van den Ende, W., Valluru R.: Sucrose, sucrosyl oligosaccharides, and oxidative stress: scavenging and salvaging? *Journal of Experimental Botany*, 60, 2009: 9–18.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was financially supported by the Scientific Grant Agency of the Ministry of Education of the Slovak Republic and the Academy of Sciences VEGA no. 2/0105/18.



VLIV SLOŽENÍ FERMENTÁTŮ NA KLÍČIVOST PŠENICE SETÉ

INFLUENCE OF COMPOSITION OF FERMENTATE TO GERMINATION OF WINTER WHEAT

JAROSLAV LANG¹, JAN NEDĚLNÍK¹, JIŘÍ RUSÍN²

¹ZEMĚDĚLSKÝ VÝZKUM, SPOL. S R.O., TROUBSKO, ZAHRADNÍ 1, 664 41 TROUBSKO, LANG@VUPT.CZ

²VYSOKÁ ŠKOLA BÁŇSKÁ – TECHNICKÁ UNIVERZITA OSTRAVA, 17. LISTOPADU 15, 708 00 OSTRAVA-PORUBA

SUMMARY

The effect of fermentates on germination of winter wheat was investigated in this experiment. Fermentates was formed by the dry fermentation pathway. Nine mixtures from agricultural and industrial material were fermented. The fermentate was leached and the seed germination test was performed. It was found that no leachate affected the germination, but affected the germination rate.

Key words: fermentate; winter wheat; germination

SOUHRN

V experimentu byl zjišťován vliv fermentátu, vzniklého suchou cestou fermentace, na klíčivost osiva pšenice seté. Pro fermentaci bylo použito devět směsí složených z různých vstupních materiálů zemědělské a průmyslové výroby. Po fermentaci byl udělán výluh a provedena zkouška klíčivosti. Bylo zjištěno, že žádný výluh neovlivnil klíčivost, ale ovlivnil rychlost klíčení.

Klíčová slova: fermentát; pšenice; klíčivost

ÚVOD

Množství organické hmoty klasifikované jako komunální odpad, nebo odpad ze zemědělské a průmyslové výroby stále narůstá a je potřeba ho zpracovat a ještě lépe - efektivně využít. Jednou z cest je tzv. suchá anaerobní fermentace, při které se získává bioplyn. Zbytek po fermentaci - fermentát, je možné dále využít například jako hnojivo v zemědělství. Suchá fermentace je řešena řadu let a vzniklé publikace řeší široké spektrum souvislostí od složení vsázky až po kvalitu bioplynu /2, 4/. V rámci výzkumného projektu, ze kterého vznikl tento článek, byl navržen, sestaven a je zkoušen speciální anaerobní mobilní kontejnerový rotační bioreaktor. Ten je možné využívat pro různé procesy, zejména pro suchou anaerobní fermentaci (výrobu bioplynu ze stohovatelné vsázky) a pro intenzivní aerobní fermentaci (reaktorové kompostování, biosušení). Reaktor je také možné využívat i pro mokrou či polosuchou anaerobní fermentaci (výrobu bioplynu z tekuté vsázky).

MATERIÁL A METODY

Bylo navrženo několik vsázek do reaktoru v podobě směsí ze širokého spektra biologického materiálu, ať už se jedná o komunální odpad, hobliny z dřevařské výroby anebo produkty zemědělské výroby. Přesné složení směsí včetně ostatních charakteristik je uvedeno v tab. 1. Ze vzniklého fermentátu byl připraven vodní výluh. Jako podklad pro přípravu výluhu sloužila norma ČSN EN 12457- 4 (83 8005) pro přípravu výluhu pevných částic, pozměněna zvýšeným množstvím přidané vody z důvodu vysoké nasáklivosti organického materiálu (poměr kapalné a pevné fáze byl 2 l/100 g sušiny při 105 °C). Po filtraci výluhu byly provedeny zkoušky klíčivosti a rychlosti klíčení u pšenice seté odrůdy Julie. Semena byla vložena na výluhem navlhčený filtrační papír v Petriho miskách. V jedné misce bylo 50 ks semen, každá varianta ve třech opakováních. Semena klíčila ve tmě při teplotě 18 °C. Jako kontrolní varianta byla založena zkouška s vodou. Za vyklíčené semeno bylo považováno takové semeno, které dosáhlo délky kořene 15 mm. Nultý den je dnem založení zkoušky, sledování klíčenců probíhalo vždy po uplynutí 24 hodin. Získané hodnoty byly statisticky hodnoceny pomocí programu Statistica 12, metodou analýzy variance (ANOVA $P > 0.05$) s následným hodnocením Tukeyovým testem.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Získané výsledky klíčivosti semen jsou uvedeny v tab. 2. Nejvyšší počet semen ze všech variant vyklíčil druhý den po založení a to 65,9 %. 27 % semen vyklíčilo třetí den, 4,1 % první den, 2,8 % čtvrtý den a 0,13 % semen

nevyklíčilo. Nevyklíčená semena jsou z varianty K9. Protože ostatní vyklíčená semena z této varianty nejevila známky poškození, domníváme se, že nešlo o ovlivnění výluhem, ale že semena nebyla klíčivá. K tomu nás dále vede i fakt, že fermentáty K8 a K10 mají podobné složení jako fermentát K9 a nebyla u nich pozorována snížená klíčivost.

Tab. 1: Složení směsí vsázky, doba setrvání v bioreaktoru a doba následného aerobního dozrávání

označení vzorku	složení vsázky	% hm.	zdržení ve fermentoru (dny)	aerobní dozrávání (dny)	pH výsledného fermentátu
fermentát K3	kompost 2 měsíce po založení, částice do 25 mm	25	4	109	6
	kukuřičná siláž, částice do 20 mm	45			
	travní senáž, částice do 30 mm	30			
fermentát K8	travní hmota ze sekačky, částice do 200 mm	91	7	57	8
	hoblíny hrubé sterilované (smrk + borovice), částice do 25 mm	9			
fermentát K9	travní hmota ze sekačky, částice do 100 mm	91	6	50	9
	hoblíny jemné sterilované (smrk + borovice), částice do 15 mm	9			
fermentát K10	travní hmota ze sekačky, částice do 50 mm	90	3	39	9
	hoblíny jemné sterilované (smrk + borovice), částice do 15 mm	10			
fermentát K11	travní hmota ze sekačky, jemná řezanka do 20 mm	93	2	33	9
	hoblíny jemné sterilované (smrk + borovice), částice do 15 mm	7			
fermentát K13	travní hmota ze sekačky, jemná řezanka do 20 mm	34	3	19	9
	siláž travní hmoty ze sekačky (7 dnů silážování), jemná řezanka do 20 mm	54			
	piliny jemné (smrk), částice do 20 mm	12			
fermentát K14	fermentát K13	6	4	4	9
	travní hmota ze sekačky, jemná řezanka do 20 mm	73			
	hoblíny jemné sterilované (smrk + borovice), částice do 15 mm	18			
	voda	3			
KOMPOZO	bioodpady z údržby městské zeleně a od občanů a firem	100	cca 180	119	8,2
DP	kukuřičná siláž	50	cca 36	211	8,6
	tritikále siláž	25			
	hovězí kejda	23			
	G-fáze z výroby MEŘO	1			
	vyslazené cukrovarnické řepné řízky	1			

Zaměřením se v klíčivosti na jednotlivé fermentáty v rámci jednotlivých dní bylo zjištěno, že první den po založení vyklíčila semena pouze z kontrolní varianty (41,33 %). Druhý den, podle statisticky propočtených výsledků, se klíčivost může rozdělit do dvou skupin. Do první skupiny patří varianty, které dosahují více než polovinu celkem vyklíčených semen (< 50 %). Navíc v tento den také dosáhly nejvyšší klíčivosti a jsou to varianty: K9 a kontrola, dále varianty K3, K10, DP a KOMPOZO, přičemž u těchto variant vyklíčilo více než 80 % semen. Do druhé skupiny jsou zařazeny varianty, u kterých vyklíčilo méně než 50 % semen a jsou to varianty K13, K11 a K8. U kontrolní varianty vyklíčilo během prvního a druhého dne celkem 97,33 % semen. U variant K8 a K11 je rychlost klíčení statisticky odlišná od variant u kterých vyklíčilo více než 50 % semen. Ve třetím dni byla zaznamenána nejvyšší klíčivost u variant K8 (73,33 %) a K11 (61,33 %). Do této statistické

skupiny spadají ještě varianty K9, K13, K3 a K10, které ale dosáhly maximálního počtu vyklíčených semen v předchozích dnech. Zvláštní postavení má varianta K13, která spojuje jinak statisticky odlišné skupiny. U této varianty byla zaznamenána dvě maxima klíčivosti. Ve druhém dni byla klíčivost 48 % semen, ve třetím dni 45,33 % semen. Ostatní varianty mají jednou zřetelné maximum klíčivosti. Varianty K14, DP, kontrola a KOMPOZO mají v tomto dni nejnižší počet vyklíčených semen. Ve čtvrtém dni klíčí varianty K10, K9, K3 v intervalu 0,67–4 %, více než 4 % semen potom varianty K11, K13 a K8. Varianty, které jsou do čtvrtého dne všechny vyklíčené, jsou: kontrola, KOMPOZO, K14 a DP.

Tab. 2: Procento vyklíčených semen ve dnech

vzorek	1. den		2. den		3. den		4. den	
KONTROLA	41,33	b	56,0	a-d	2,7	a	0,0	a
K3	0	a	80,7	b-e	15,3	a, c-d	4,0	a-b
K8	0	a	16,0	a	73,3	b	10,7	b
K9	0	a	51,3	a-c	46,0	b, d	1,3	a-b
K10	0	a	85,3	b-e	14,0	a, c	0,7	a
K11	0	a	34,0	a	61,3	b	4,7	a-b
K13	0	a	48,0	a-b	45,3	b-d	6,7	a-b
K14	0	a	92,0	c-e	8,0	a	0,0	a
KOMPOZO	0	a	99,3	e	0,7	a	0,0	a
DP	0	a	96,7	d-e	3,3	a	0,0	a

Písmena zařazují varianty v jednotlivých dnech do skupin podle výsledků ANOVY na hladině významnosti $P > 0.05$.

Na klíčení osiva má vliv mnoho faktorů, některé z nich mohou být vyloučeny (např. anoxie, vliv teploty) použitím standardizovaného postupu zkoušky klíčivosti. V práci Shoemakerl et al. /6/ prokázali vliv pH na klíčivost osiva okrasných druhů rostlin, zabývali se především nižším pH roztoku. Jiná práce /3/, zabývající se klíčením rosičky (*Digitaria* sp.) v závislosti na pH uvádí, že zvyšující se pH nemá vliv na klíčivost, pokud je pH zvyšováno pomocí CaCO_3 . Jestliže pH bylo zvyšováno pomocí MgCO_3 , potom docházelo se zvyšujícím se pH k inhibici klíčení. Také v jiné práci /5/ potvrzují inhibici klíčení pšenice vlivem zvyšující se koncentrace Na^+ iontů. V tomto experimentu nebyl vliv alkalického pH na klíčivost obilky pšenice prokázán, protože semena klíčila stejnou rychlostí jak při pH 6, tak při pH 9.

Některé směsi vsázky v tomto experimentu obsahují hobliny z jehličnatých stromů, resp. ze smrku (*Picea* sp.) a borovice (*Pinus* sp.) v různém podílu, nejvíce však 18 % (tab. 1). Ve dřevě těchto stromů je přítomná pryskyřice, která je tvořena těkavými látkami, převážně terpeny. Terpeny mohou ovlivňovat růst hub, bakterií i vyšších rostlin. Inhibiční vliv terpenů na klíčení na růst rostlin huseníčku (*Arabidopsis* sp.) jasně dokládá práce /1/. V našem experimentu nebyl zjištěn rozdíl v rychlosti klíčení u semen klíčících ve výluhu pocházejícího ze směsí, které obsahovaly hobliny z jehličnanů, od semen ve výluhu, které hobliny neobsahovaly. Buď byla koncentrace terpenů příliš nízká, nebo mohlo dojít k jejich přeměně nebo odpaření vlivem vyšších teplot při fermentaci. Obsah terpenů ale nebyl v této práci analyzován.

Souhrnně lze konstatovat, že výluh ze zkoušených fermentátů neovlivnil samotnou klíčivost, ale zpomalil rychlost klíčení. Nižší rychlost klíčení (zejména v prvních fázích) může být také způsobena osmotickým jevem - vyšší koncentrací látek ve výluhu oproti destilované vodě. První den sledování vyklíčila pouze semena v kontrolní variantě, druhý den bylo vyklíčeno více než 80 % jedinců u variant (řazeno sestupně): KOMPOZO, kontrola, DP, K14, K10 a K3. Ve čtvrtém dni sledování byla vyklíčena všechna semena. Deformace klíčků, ani nadzemních částí, nebyly pozorovány ani u jedné z variant.

ZÁVĚR

Odpad organického původu, pocházející ze zemědělské a průmyslové výroby, nebo komunálního odpadu, je možné a vhodné dále využít v procesu fermentace k produkci bioplynu. Zbytkovým produktem fermentace je digestát, který by se mohl využít v rostlinné výrobě jako hnojivo a zdroj organických látek do půdy. Experimentálním ověřením bylo zjištěno, že použité směsi deklarovaného složení po fermentaci neovlivňují

klíčivost a nepůsobují deformace klíčenců. V experimentu bylo také zjištěno, že došlo ke zpomalení rychlosti klíčení osiva. Je potřeba brát v úvahu, že semena byla vložena do roztoku, jehož podobně vysoké koncentrace v zemědělské půdě aplikací fermentátu můžeme dosáhnout jen těžko. Lze proto předpokládat, že při zapravení digestátu do půdy nedojde ke zpomalení klíčících jedinců pšenice seté. Vstupní komponenty do fermentačního zařízení je potřeba hlídat, aby neobsahovaly nadlimitní množství balastních látek a nedocházelo ke kontaminaci půdy a následně ke kontaminaci plodin, krmiv a potravin.

LITERATURA

/1/ Araniti, F., Sánchez-Moreiras, AM., Graña, E., Reigosa, MJ., Abenavoli, MR.: Terpenoid trans-caryophyllene inhibits weed germination and induces plant water status alteration and oxidative damage in adult *Arabidopsis*. Plant Biol. 19 (1), 2017: 79-89.

/2/ Pastorek, Z., Kára, J.: Suchá fermentace zemědělských a komunálních organických materiálů. Biom.cz [online]. 2003-09-29 [cit. 2019-07-09]. Dostupné z WWW: <<https://biom.cz/cz/odborne-clanky/sucha-fermentace-zemedelskych-a-komunalnich-organickych-materialu>>. ISSN: 1801-2655.

/3/ Pierce, L., Warren G. L., Mikkelsen S. R., Linker, M. H.: Effects of Soil Calcium and pH on Seed Germination and Subsequent Growth of Large Crabgrass (*Digitaria sanguinalis*). Weed Technology. 13, 1999: 421-424. ISSN: 0890-037X.

/4/ Pospíšil, L.: Výzkum „suché“ anaerobní fermentace různých druhů biomasy za účelem výroby bioplynu. Biom. cz [online]. 2011-10-24 [cit. 2019-07-09]. Dostupné z WWW: <<https://biom.cz/cz/odborne-clanky/vyzkum-suche-anaerobni-fermentace-ruznych-druhu-biomasy-za-ucelem-vyroby-bioplynu>>. ISSN: 1801-2655.

/5/ Shi G. R., Ding LX., Hu XM, Tian, Y., Yan SY, Shao, DF., Gao, S., Liu Y., Yang, R.: Effects of Saline and Alkaline Stress on Germination, Seedling Growth, and Ion Balance in Wheat. Agronomy Journal. 102, 2010. ISSN: 1435-0645

/6/ Shoemakerl, C. A., Carlson, W. H.: pH Affects Seed Germination of Eight Bedding Plant Species. HortScience, 25 (7), 1990: 762-764. ISSN: 0018-5345.

PODĚKOVÁNÍ

Uvedená práce vznikla za finanční podpory TA ČR č. TH03020064.



VETERINÁRNÍ ANTHELMINTIKA V ROSTLINÁCH

VETERINARY ANTHELMINTICS IN PLANTS

LENKA LANGHANSOVÁ, LUCIE STUHLÍKOVÁ RAISOVÁ, ALENA NOVÁKOVÁ,
KATEŘINA MOŤKOVÁ, RADKA PODLIPNÁ, LENKA SKÁLOVÁ

ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ BOTANIKY AV ČR, v.v.i., ROZVOJOVÁ 263, 165 02 PRAHA 6,
LANGHANSOVA@UEB.CAS.CZ

SUMMARY

The anthelmintic drugs are regularly administered to livestock to control nematodes caused infections. The anthelmintic drugs are metabolized in gastrointestinal tract and these metabolites as well as intact drugs are released into the environment (grazing lands and fodder plants) via excrements. Our research indicate that studied anthelmintic (albendazole, ivermectin and monepantel) cause only mild acute stress in plants. We found stress indications in few followed factors as a reaction to albendazole and ivermectin. Time dependent study revealed mild acute toxicity of monepantel. Therefore, *Medicago sativa* as well as *Trifolium pratense* can be effective in detoxification of grazing lands, however the risk of increased resistance of parasites in grazing livestock should be in concern.

Key words: phytotoxicity; anthelmintics; monepantel; ivermectin; albendazole; Medicago sativa; Trifolium pratense; Arabidopsis thaliana; prolin accumulation; biotransformation

SOUHRN

Veterinární anthelmintika jsou pravidelně podávána hospodářským zvířatům za účelem prevence parazitárních infekcí. Přes trávicí trakt se metabolity léčiv i léčiva v intaktní formě dostávají do exkrementů a dále na pastviny a do píce rostlin, které je dále metabolizují. Sledovaná anthelmintika (albendazole, ivermektin a monepantel) pro rostliny nepředstavují výrazný stres. V této studii bylo sledováno několik stresových faktorů v rostlinách a mírné odezvy byly sledovány pouze u albendazolu a ivermektinu. Časová závislost ukazuje na mírnou akutní toxicitu u monepantelu. Vojtěška i jetel mohou být efektivní při dekontaminaci pastvin, nicméně je třeba zvážit riziko zvýšené rezistence parazitů u hospodářských zvířat pasoucích se na těchto pastvinách.

Klíčová slova: fytotoxicita; anthelmintika; monepantel; ivermektin; albendazole; Medicago sativa; Trifolium pratense; Arabidopsis thaliana; akumulace prolinu; biotransformace

Úvod

Veterinární anthelmintika jsou často uvolňována do prostředí z exkrementů hospodářských zvířat, kterým jsou pravidelně podávána za účelem prevence parazitárních infekcí. Ke kontaminaci dochází na pastvinách a na polích hnojených chlévskou mrvou. Kontaminace anthelmintiky může způsobovat negativní dopad na necílové půdní bezobratlé živočichy /1/. S anthelmintiky takto přichází do kontaktu i rostliny, které jsou schopny léčiva akumulovat a ukládat ve vakuolách a buněčných stěnách /2/. Bylo také zjištěno, že metabolity benzimidazolových anthelmintik biotransformovaných rostlinami mohou být méně účinná, některá naopak aktivnější než původní látky /3, 4/. To napovídá, že pícní rostliny mohou být efektivním nástrojem při detoxifikaci pastvin. Nicméně, zatím není mnoho známo o možné toxicitě v rostlinách způsobené akumulací těchto farmaceutik.

Farmaceutika akumulovaná v rostlinách mohou působit toxicky a vyvolávat v rostlinách řadu stresových odpovědí, jako například změnu v obsahu fotosyntetických pigmentů, změnu v celkovém obsahu proteinů či změnu v akumulaci prolinu. Změna v kvalitě a obsahu fotosyntetických pigmentů je jedním z obecných indikátorů fyziologické kondice rostlin vystavených stresovým podmínkám /5/. Zvýšený obsah proteinu může indikovat zvýšenou expresi a zapojení antioxidačních enzymů udržujících v rostlinách hladinu volných radikálů /6/. Vyšší akumulace volného prolinu ve stresovaných buňkách zase vede k menšímu poškození buněčných membrán, proteinů nebo enzymů a dále pomáhá udržet osmotický tlak. To je zřejmě umožněno schopností prolinu vylučovat nebezpečné volné radikály a vytvářet s nimi stabilní komplexy. Udržuje tak redukční prostředí v buňce, které je důležité pro normální růst /7/.

Pro studium fytotoxicity anthelmintik v rostlinách jsme zvolili zástupce tři ze čtyř hlavních skupin běžně dostupných anthelmintik. Albendazole (ABZ) patří mezi benzimidazoly, ivermectin (IVM) mezi macrocyklické laktony a monepantel (MOP) mezi deriváty animo-acetonitrilu. Stresová odezva byla sledována u dvou běžných píceň, a to u vojtěšky (*Medicago sativa*) a u jetele (*Trifolium pratense*).

MATERIÁL A METODY

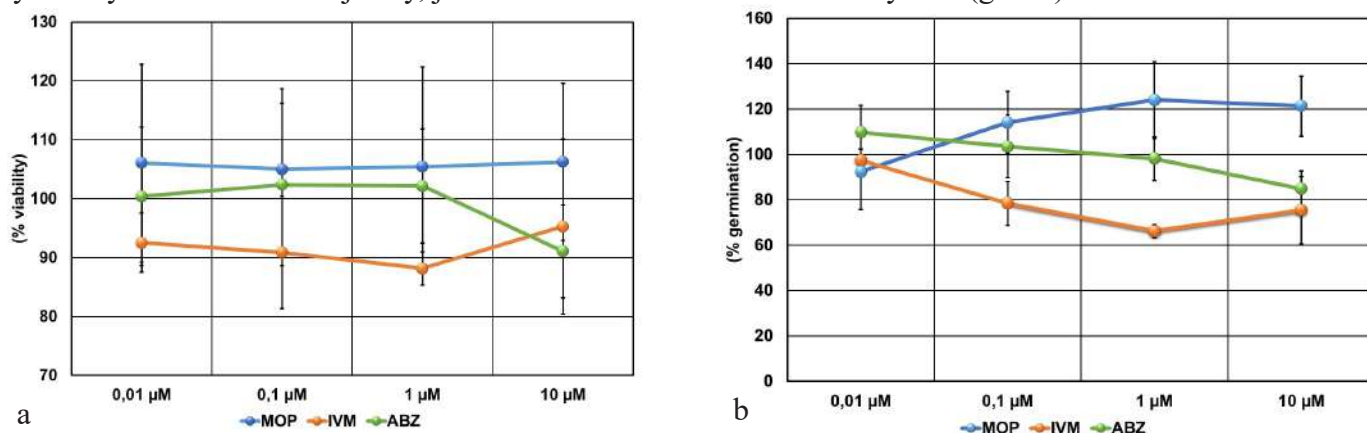
K orientačnímu a rychlému stanovení vlivu anthelmintik na viabilitu (životnost) buněk byla použita metoda redukce 2,3,5-trifenyltetrazolium chloridu (TTC test) na červený formazán podle Pollarda a Walkera /8/. Anthelmintika byla sterilně přidána do média v 0,01; 0,1; 1; a 10 μM koncentraci k suspenzním buňkám *Arabidopsis thaliana*. Viabilita byla stanovena po pěti dnech kultivace s anthelmintiky. Ekotoxicita byla dále sledována u naklíčených rostlinek vojtěšky podle metody Máchové a kol. /9/. Semínka byla naklíčená na médiu (dle norem ČSN EN ISO 6341, 2013 a ČSN EN ISO 7346-2, 1999) doplněném příslušnými anthelmintiky v 0,01; 0,1; 1; a 10 μM koncentraci. Inhibice růstu byla hodnocena po 4 dnech inkubace.

Vliv anthelmintik byl sledován u rostlin vojtěšky pěstovaných v in vitro podmínkách na MS médiu a u rostlin vojtěšky a jetele pěstovaných ve skleníku. V in-vitro podmínkách byly naklíčené rostliny po dvou týdnech subkultivovány na médium doplněné příslušnými anthelmintiky v různých koncentracích. Stresové faktory byly stanoveny v průběhu kultivace nebo po 6-ti týdnech kultivace. Rostliny ve skleníku byly pěstovány při závlivce obsahující anthelmintika v 10 μM koncentraci.

Obsah fotosynteticky aktivních pigmentů v rostlinách byl stanoven spektrofotometrickou metodou z metanolového extraktu homogenizovaného materiálu /10/. Obsah chlorofylu a, chlorofylu b a celkový obsah karotenů byl vypočítán z naměřených hodnot absorbance při vlnových délkách 470, 653 a 666 nm podle Lichtenthalera /11/. Celkový obsah proteinu byl stanoven z extraktů pomocí Bradforda a kol. /12/. Obsah prolinu byl stanoven pomocí spektrofotometrické metody /13/ založené na ninhydrinové reakční směsi (1% w/v ninhydrin; 60% v/v kys. octová; 20% v/v etanol). Prolin byl kvantifikován pomocí kalibrační křivky z L-Prolinu jako standardu, vynesené z naměřených hodnot absorbance při 520 nm.

VÝSLEDKY A DISKUSE

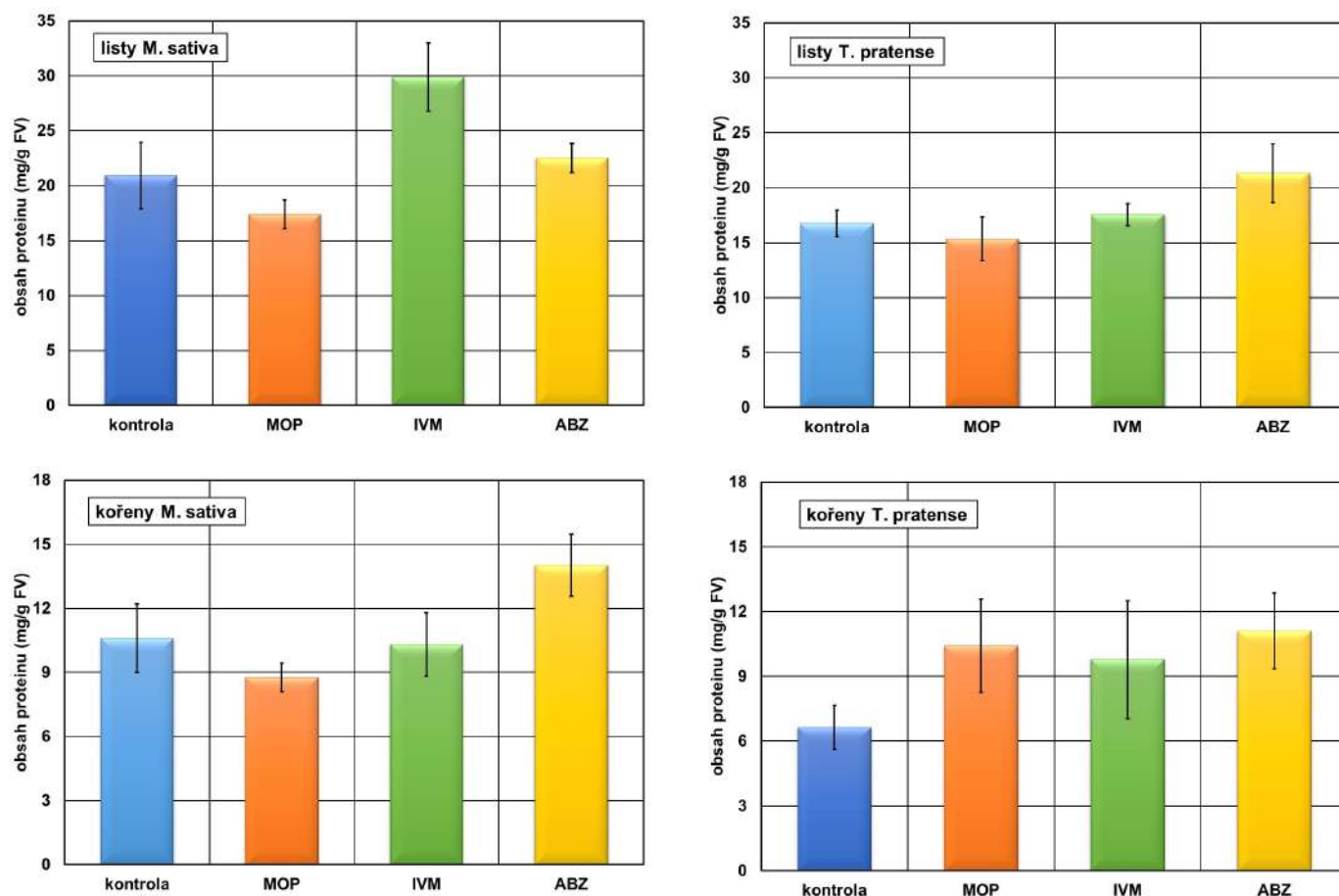
Sledované indikátory fytotoxicity anthelmintik (životnost buněk, růst rostlin po vyklíčení, obsah fotosyntetických pigmentů, celkový obsah proteinů a akumulace prolinu) naznačují, že anthelmintika (zejména MOP) pro rostliny nepředstavují významný stres. Test fytotoxicity v buňkách *Arabidopsis thaliana* naznačuje mírnou toxicitu po aplikaci IVM, a u ABZ jen mírnou reakci při aplikaci nejvyšší koncentrace. Po aplikaci MOP docházelo dokonce k mírné stimulaci buněk. Podobná reakce byla pozorována i při testu akutní toxicity na vyklíčených rostlinkách vojtěšky, jen MOP neměl na růst klíčků žádný vliv (graf 1).



Graf 1: Vliv monepantelu (MOP), ivermectinu (IVM) a albendazolu (ABZ) na životnost buněk *Arabidopsis thaliana* (a) a na růst vyklíčených rostlinek *Medicago sativa* (b).

Anthelmintika byla aplikována v koncentracích 0,01; 0,1; 1 a 10 μM . Fytotoxicita je stanovena v % jako poměr počtu živých buněk *A. thaliana* kultivovaných s anthelmintiky vůči životnosti buněk kultivovaných bez anthelmintik (100 %). Ekotoxicita je stanovena jako poměr délky naklíčených rostlinek v přítomnosti anthelmintik vůči délce rostlinek bez anthelmintik (100 %).

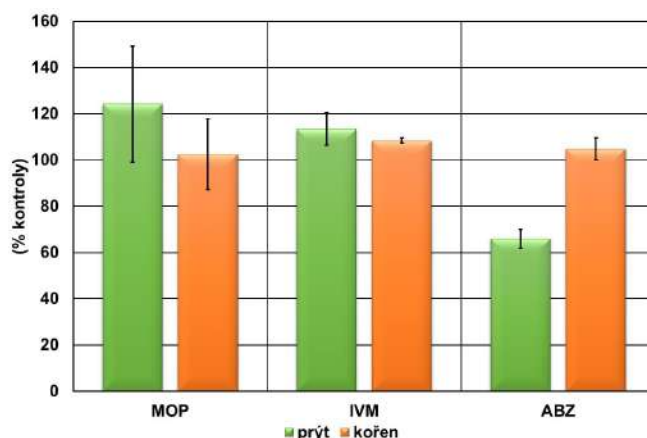
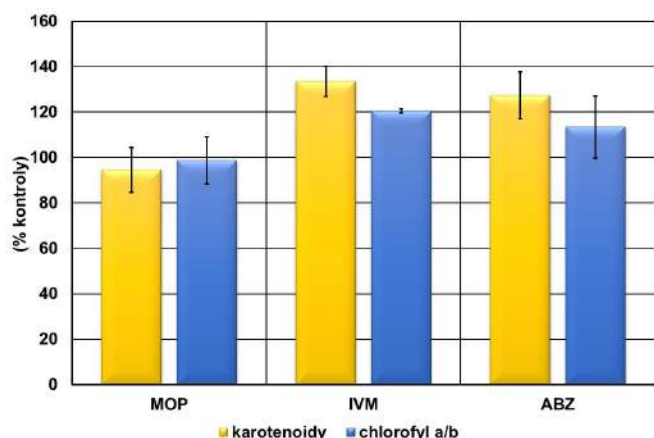
Při kultivaci rostlin ve skleníku jsme vycházeli z předpokladu, že rostliny na farmaceutika často reagují pouze v první fázi při kontaktu s těmito látkami. Při sledování dlouhodobějšího stresu jsme nepokládali skleníkové podmínky za vhodné (vliv mnoha dalších neregulovatelných faktorů), proto byla využita metoda kultivace *in-vitro*. U rostlin vojtěšky a jetele pěstovaných ve skleníku jsme tedy sledovali změnu obsahu celkového proteinu hned po prvním týdnu aplikace anthelmintik v zálivce. Vliv ABZ se projevil zvýšenou koncentrací proteinů v kořenech vojtěšky, naopak nadzemní část vojtěšky měla vyšší obsah proteinů oproti kontrole jen po aplikaci IVM. Rostliny jetele reagovaly mírně zvýšenou koncentrací proteinů v kořenech na všechna testovaná anthelmintika, ale nadzemní části rostlin zůstaly bez odezvy (graf 2).



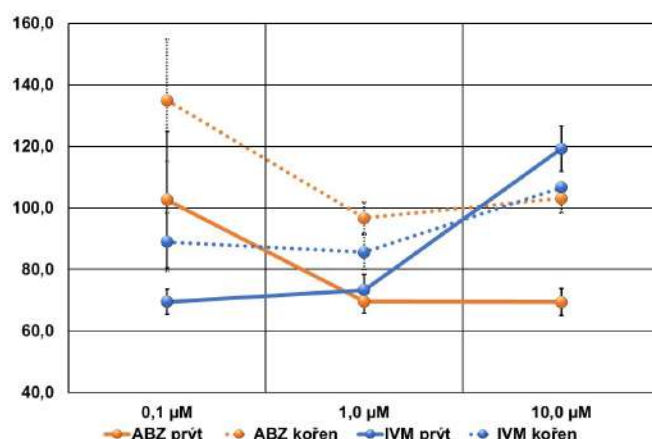
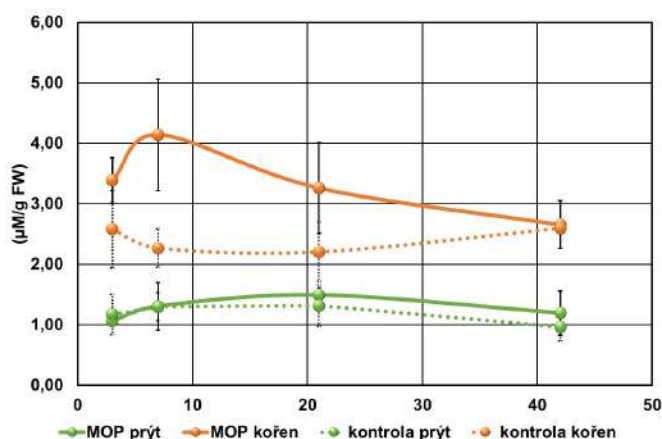
Graf 2: Obsah proteinu v rostlinách vojtěšky a jetele pěstovaných ve skleníku po prvním týdnu od aplikace anthelmintik v 10 μ M koncentraci. MOP - monepantel; IVM - ivermectin; ABZ - albendazole.

Karotenoidy jsou nejen fotoprotektivní pigmenty fotosyntézy, ale také účinné antioxidanty, chránící rostliny vystavené při stresu před zvýšenou akumulací volných radikálů /14/. I v tomto sledovaném faktoru se mírná odezva – zvýšený obsah karotenoidů a poměru chlorofylu *a* vůči chlorofylu *b* – objevila po aplikaci 10 μ M ABZ a IVM. Naopak aplikace MOP zůstala bez odezvy (graf 3).

Nadprodukce prolinu je častou reakcí na osmotický stres u rostlin /15/. Při sledování změn v akumulaci prolinu u *in-vitro* kultivovaných rostlin vojtěšky jsme pozorovali jedinou výraznější odezvu. Nebyla to ovšem nadprodukce, ale naopak snížená akumulace až na 66 % vůči nestresovaným rostlinám. Reálně se rostliny dostanou do kontaktu s nižšími koncentracemi anthelmintik, a proto jsme sledovali i koncentrační vliv, a to u IVM a ABZ. Po aplikaci ABZ v nižší koncentraci jsme pozorovali mírné zvýšení prolinu v kořenech (135 %) a po aplikaci vyšších koncentrací (1 a 10 μ M) naopak sníženou akumulaci prolinu v prýtu oproti nestresovaným rostlinám. Opačný trend jsme sledovali po aplikaci IVM, kde došlo ke snížení prolinu v přítomnosti nižší koncentrace (0,1 μ M) hlavně v prýtu (70 %) a v kořeni došlo k velmi mírnému zvýšení (107 %) akumulace prolinu po aplikaci 10 μ M koncentrace (graf 4).



Graf 3: Obsah fotosyntetických pigmentů (vlevo) a akumulace prolinu (vpravo) v in-vitro rostlinách vojtěšky po šesti týdnech kultivace s anthelmintiky. MOP - monepantel; IVM - ivermectin; ABZ - albendazole.



Graf 4: Vliv anthelmintik na akumulaci prolinu v in-vitro rostlinách vojtěšky. Časová závislost po ošetření 10 μM MOP a koncentrační závislost po ošetření ABZ a IVM po šesti týdnech kultivace.

ZÁVĚR

Obecně farmaceutika mnohdy nepředstavují pro rostliny velký stres výrazně inhibující růst nebo klíčení /16/. V naší studii byly prokázány mírnější reakce na aplikaci ABZ a IVM, po aplikaci MOP byly sledována pouze akutní toxicita v kořenech vojtěšky kultivované v in-vitro podmínkách, a to mírným zvýšením akumulace prolinu po 7 dnech od aplikace 10 μM koncentrace MOP v kultivačním médiu (graf 4). Podobně byla sledována akutní toxicita i u suspensí zvonku (*Campanula rotundifolia*) inkubovaných s ABZ /4/ a podobný trend se dá očekávat i u IVM. Z těchto výsledků vyplývá, že rostliny mohou být efektivní při detoxifikaci pastvin od anthelmintik. Nicméně je třeba dbát zvýšené pozornosti na riziko rezistence parazitů u hospodářských zvířat, spásající takto kontaminované pastviny /17/.

LITERATURA

- /1/ Fisher PMJ a kol.: Evaluation and controlling pharmaceutical emissions from dairy farms: a critical first step in developing a preventative management approach. *Journal of Cleaner Production* 16(14), 2008: 1437-1446.
- /2/ Bartikova H a kol.: Xenobiotic-metabolizing enzymes in plants and their role in uptake and biotransformation of veterinary drugs in the environmet. *Drug Metabolism Reviews* 47(3), 2015: 374-387.
- /3/ Podlipna R, Skálová L, Seidlová H, Szotáková B a kol.: Biotransformation of benzimidazole anthelmintics in reed (*Phragmites australis*) as a potential tool for their detoxification in environment. *Bioresource Technology.*, 144, 2013: 216-224
- /4/ Stuchlíková L, Jirásko R, Skálová L, Pavlík F a kol.: Metabolic pathways of benzimidazole anthelmintics in harebell (*Campanula rotundifolia*), *Chemosphere*, 157, 2016: 10-17
- /5/ Lichtenthaler HK: Fifty-five years of research on photosynthesis, chloroplasts and stress physiology of plants:

1958-2013. In: Lüttge U and Beyschlag W (eds) Progress in botany: genetics – physiology – systematics – ecology. Vol 76. Springer, Heidelberg, 2014, pp:3-42

/6/ El-Shabrawi H a kol: Redox homeostasis, antioxidant defense, and methylglyoxal detoxification as markers for salt tolerance in Pokkali rice. Protoplasma. 245, 2010: 85-96

/7/ Hare PD, Cress WA a Van Staden J: The effects of exogenous proline and proline analogues on in vitro shoot organogenesis in *Arabidopsis*. Plant Growth Regulation 34(2), 2001: 203–207

/8/ Pollard JW a Walker JM: Method in molecular biology: Plant cell and tissue culture. Clifton, New Jersey: Humana Press. Volume 6, 1991, ISBN 0-89603-161-1.

/9/ Máchová J, Svobodová Z a Vykusová B: Ekotoxikologické hodnocení výluhů tuhých průmyslových odpadů. 1994, Vodňany: Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický.

/10/ Rainha N a kol.: Antioxidant properties, total phenolic, total carotenoid and chlorophyll content of anatomical parts of *Hypericum foliosum*. Journal of Medicinal Plants Research. 5, 2011: 1930-1940.

/11/ Lichtenthaler H a Wellburn A: Determination of total carotenoids and chlorophylls A and B of leaf in different solvents. Biochemical Society Transactions. 11, 1985: 591- 592.

/12/ Bradford MM: Rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72, 1976: 248e254.

/13/ Sanchez-Martin J a kol.: A metabolomic study in oats (*Avena sativa*) highlights a drought tolerance mechanism based upon salicylate signalling pathways and the modulation of carbon, antioxidant and photo-oxidative metabolism. Plant Cell and Environment. 38(7), 2015: 1434-1452

/14/ Larson RA: The antioxidants of higher plants. Phytochemistry 27(4), 1988: 969-978

/15/ Kishor PBK a Sreenivasulu N: Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue? Plant, Cell and Environment 37, 2014: 300-311

/16/ Osma E, Cigir Y, Karnjanapiboonwong A, Anderson AT: Evaluation of selected pharmaceuticals on plant stress markers in wheat. International Journal of Environmental Research. 12, 2018: 179-188

/17/ Wolstenholme AJ a kol.: Drug resistance in veterinary helminths. Trends in Parasitology 20(10), 2004: 469-476.

PODĚKOVÁNÍ

Uvedená práce vznikla za finanční podpory poskytnuté Grantovou agenturou České republiky (GAČR) projektu 18-07724S a za podpory MŠMT, projektu ERDP „Centre for Experimental Plant Biology“ No. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000738.



**VLIV OBALOVÁNÍ SEMEN TECHNOLOGIÍ WASP NA POČÁTEČNÍ
VÝVOJ JÍLKU VYTRVALÉHO (*LOLIUM PERENNE* L.)
EFFECT OF SEED COATING WITH WASP TECHNOLOGY ON INITIAL
DEVELOPMENT OF PERENNIAL RYEGRASS (*LOLIUM PERENNE* L.)**

MARTIN LOŠÁK¹, SIMONA RAAB², TOMÁŠ VYMYSLICKÝ³, JAN FRYDRYCH¹,
MAGDALENA ŠEVČÍKOVÁ¹, EVA CHOVAŇČÍKOVÁ¹

¹OSEVA VÝVOJ A VÝZKUM S.R.O., HAMERSKÁ 698, 756 54 ZUBŘÍ, LOSAK@OSEVA.CZ

²OSEVA PRO S.R.O., VÝZKUMNÁ STANICE TRAVINÁŘSKÁ, HAMERSKÁ 698, 756 54 ZUBŘÍ

³ZEMĚDĚLSKÝ VÝZKUM S.R.O., ZAHRADNÍ 1, 664 41 TROUBSKO

SUMMARY

The effect of WASP (Water Absorbing Seed Process) coating method on the initial development of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) in laboratory and field conditions was evaluated. Field trials were established at three sites in different soil-climate conditions (Hodonín, Troubsko, Zubří) in autumn 2018. In laboratory conditions, the effect of seed coating on root length and the number of leaves produced was statistically significant ($p < 0.05$); the rate of emergence was statistically highly significant ($p < 0.001$). In field trials, the influence of locality was most evident.

Key words: seedling emergence; coated seed; WASP technology; root biomass; above-ground biomass; *Lolium perenne* L.

SOUHRN

Byl hodnocen vliv obalení semen technologií WASP (Water Absorbing Seed Process) na počáteční vývoj jílku vytrvalého (*Lolium perenne* L.) v laboratorních a polních podmínkách. Polní pokusy byly založeny na podzim 2018 na třech lokalitách v odlišných půdně klimatických podmínkách (Hodonín, Troubsko, Zubří). V laboratorních podmínkách byl vliv obalení osiva na délku kořenů a počet vytvořených listů statisticky průkazný ($p < 0,05$); rychlost vzejití byla statisticky vysoce průkazná ($p < 0,001$). V polních pokusech byl nejvýraznější vliv lokality.

Klíčová slova: vzcházivost; obalované osivo; technologie WASP; kořenová biomasa; nadzemní biomasa; *Lolium perenne* L.

Úvod

Pro zakládání travnatých ploch se již delší dobu mohou využívat technologicky různě upravená osiva, u nichž výrobci deklarují vylepšení podmínek při klíčení a vzcházení, což má v důsledku zlepšovat celkovou polní vzcházivost a přispívat k rychlejšímu zapojení travního porostu a rovnoměrnějšímu vývoji jednotlivých rostlin. K těmto metodám patří např. předklíčování semen, ošetřování osiva biologickými rostlinnými stimulanty nebo obalování semen rychle a pomalu působícími hnojivy případně dalšími látkami /4/. Další vývoj technologie úpravy travních osiv směřuje k zlepšování podmínek pro vzcházení nově zakládaných porostů v podmínkách nepravidelného zásobení vodou, takže osiva „nové generace“ obsahují ve svých obalových vrstvách mj. i hydroabsorbenty na bázi polymerů, které vážou vodu, postupně ji uvolňují a dlouhodobě jí zásobují semena. Dalšími výhodami obalování semen je snadnější manipulace s osivem a zejména jednodušší výsev. Nevýhodou obalených semen je, že mohou skrývat semena jiných druhů nebo nečistoty v osivu, ale hlavní nevýhodou je výrazné zvýšení velikosti a hmotnosti semen /7, 10/. Cílem práce bylo vyhodnotit vliv obalení semen technologií WASP (Water Absorbing Seed Process) na počáteční vývoj rostlin jílku vytrvalého v nádobových a polních experimentech. Obal semen je tvořen několika vrstvami, které obsahují živiny, huminové kyseliny, biostimulanty aj. a především hydroabsorbent, zajišťující semeni stálou vlhkost /3/.

MATERIÁL A METODY

Efekt úpravy osiva byl v rámci jednofaktorové analýzy rozptylu vyhodnocen jako statisticky vysoce významný ($p < 0,001$) ve vztahu k hodnocení rychlosti vzejití, délky nadzemní části rostlin, délky kořenů a počtu listů na rostlinách v nádobovém pokusu. Následným zkoumáním rozdílů středních hodnot mezi porovnávanými skupinami jsme zjistili, že rychlost vzejití se statisticky vysoce průkazně ($p < 0,001$) odlišovala mezi variantami neošetřeného a obaleného osiva a rychleji vzcházely rostliny z obaleného osiva (tab. 1).

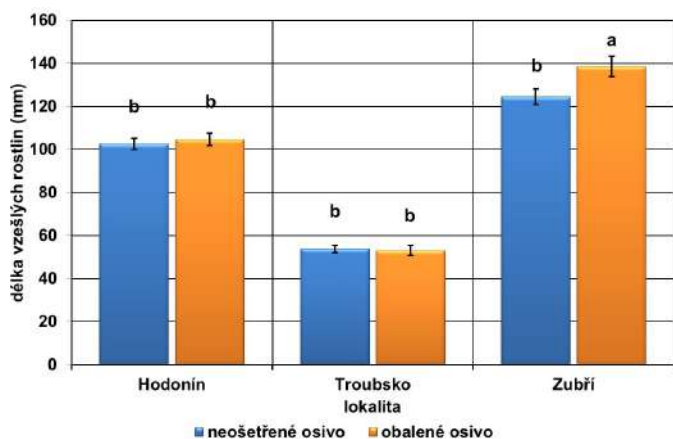
Tab. 1: Výsledky hodnocení rychlosti vzejití, délky kořenů, délky nadzemní části rostlin jílku vytrvalého a počtu vytvořených listů v nádobovém pokusu

Varianta	Rychlost vzejití (dny)	Délka kořenů (mm)	Délka nadzemní části (mm)	Počet listů
Neošetřené osivo	16,52 a	70,03 a	137,02 a	3,91 a
Obalené osivo	14,47 b	61,71 b	146,48 a	3,69 b
Průměr	15,5	65,9	141,72	3,8
Var. koef. (%)	40,88	42,24	32,98	21,9
SEM	0,38	1,68	2,82	0,05

a, b: statisticky průkazné rozdíly dle Tukey HSD testu ($p \leq 0,05$); SEM: střední chyba průměru

Délka kořenů se statisticky průkazně ($p < 0,05$) lišila mezi variantami neošetřeného a obaleného osiva, stejně jako počet vytvořených listů. Větší délkou kořenů a počtem vytvořených listů se vyznačovaly rostliny ve variantě neošetřeného osiva. Nadzemní část rostlin byla delší ve variantě obaleného osiva o 9,5 mm, avšak bez statistické signifikance. Průměrný počet listů u jílku vytrvalého odpovídá výsledkům jiných autorů, zatímco rychlost vzejití je uváděna zpravidla kratší 6–8 dnů v závislosti na odrůdě /9/. Námi zjištěná délka kořenů odpovídá tomu, že přibližně 83 % kořenové biomasy jílku vytrvalého se vyskytuje do hloubky půdy 8 cm /2/. Rychlost vzejití jílku vytrvalého v polních pokusech se lišila mezi jednotlivými lokalitami. Nejrychleji rostliny vzešly v Zubří (průměrně 5,5 dne od výsevu), na lokalitě v Hodoníně za 10 dnů a nejdéle vzcházení trvalo na lokalitě Troubsko (17 dnů), což přikládáme pozdnímu termínu výsevu, kdy již byly vzcházející porosty ovlivněny stresem z nižší teploty prostředí. Optimální teplota pro klíčení jílku vytrvalého je 15–25 °C /8/.

Zhodnocením délky vzešlých rostlin v polních pokusech na třech lokalitách jsme s využitím vícefaktorové analýzy rozptylu prokázali, že faktor úpravy osiva měl statisticky průkazný vliv na délku rostlin ($p = 0,0443$), faktor lokality byl vyhodnocen jako statisticky vysoce průkazný ($p < 0,0001$) a interakce faktorů ošetření osiva a lokality měla na délku rostlin statisticky průkazný vliv ($p = 0,0472$).



Graf 1: Porovnání délky vzešlých rostlin jílku vytrvalého na třech lokalitách ve variantách osiva neošetřeného a obaleného technologií WASP (chybové úsečky znázorňují $\pm$ SEM)

ř (49 dnů). Délka rostlin v polních podmínkách na lokalitě Zubří mezi variantami neošetřeného (124,5 mm) a obaleného osiva (138,6 mm) se statisticky průkazně odlišovala ($p < 0,05$) a rozdíl mezi oběma variantami představoval 14,1 mm. Přestože se zatím jedná o jednoletá polní data, je možné na základě získaných prvotních výsledků vyvodit závěr, že efekt obalení osiva se na vzešlých rostlinách projevil až s delším časovým odstupem od vzejití. Jak uvádějí /6/, obalování semen polymerními látkami má potenciál zlepšit zakládání travních porostů a může kompenzovat méně příznivé podmínky jako je nižší dostupnost vláhy, snížené dávky výsevu nebo kombinace obojího.

V grafu 1 jsou znázorněny detailní výsledky hodnocení. Na lokalitě Hodonín - Pánov byly rostliny odebírány a měřeny po 27 dnech od vzejití, přičemž ve variantě s obalovým osivem (104,7 mm) byly rostliny průměrně o 2,2 mm delší než ve variantě s neošetřeným osivem (102,5 mm), ale tento rozdíl nebyl signifikantní. Ani na lokalitě Troubsko nebyl v délce rostlin mezi variantami neošetřeného (53,8 mm) a obaleného osiva (53,1 mm) zjištěn signifikantní rozdíl. Na této lokalitě dosáhly rostliny nejmenší průměrnou délku (53,5 mm) a výrazně se tak odlišovaly od rostlin na lokalitách Hodonín (103,6 mm) a Zubří (131,5 mm). To bylo zapříčiněno zejména výrazně pozdějším výsevem pokusu na lokalitě Troubsko a následně kratší dobou mezi vzejitím rostlin a jejich měřením (15 dnů). Nejdéle doba mezi vzejitím rostlin a měřením délky nadzemní části byla na lokalitě Zub-

ZÁVĚR

Obalení osiva jílku vytrvalého technologií WASP se na základě dosažených výsledků ukázalo jako významné pro počáteční vývoj porostu, a to v laboratorních i polních podmínkách. V následujícím výzkumu bude hodnocení prováděno na dalších významných travních druzích ve srovnatelných i stresových podmínkách prostředí (simulace sucha).

LITERATURA

- /1/ Česká republika: Metodika zkoušení osiva a sadby. Příručka NRLOOS. Brno: ÚKZÚZ, 2014: 303 s.
- /2/ Deru, J., Van Eekeren, N., De Boer, H. Rooting density of three grass species and eight *Lolium perenne* cultivars. In: Grassland - a European Resource? 24th General Meeting of the European-Grassland-Federation, Lublin, Poland, 17, 2012: 604–606.
- /3/ Feldsaaten Freudenberger: Seed Coating Technology [online]. 2019 [cit. 2019-05-29]. URL: <http://www.mantel-saat.com/english/home.html>
- /4/ Hrabě, F.: Travníky pro zahradu, krajinu a sport. Olomouc: Vydavatelství Petr Baštan, 2009: 335 s.
- /5/ ISTA: Rules Proposals for the International Rules for Seed Testing 2011 Edition. Bassersdorf: International Seed Testing Association, 2010: 97 s.
- /6/ Leinauer, B., Serena, M., Singh, D.: Seed Coating and Seeding Rate Effects on Turfgrass Germination and Establishment. HortTechnology, 20 (1), 2010: 179–185.
- /7/ Lošák, M., Ševčíková, M.: Vliv obalování semen technologií WASP na kvalitativní ukazatele osiv a vzcházení trav. Úroda, vědecká příloha, 66 (12), 2018: 313–317.
- /8/ Míka, V.: Morfogeneze trav. Praha: VÚRV, 2002: 200 s.
- /9/ Smith, K. F., McFarlane, N. M., Croft, V. M., Trigg, P. J., Kearney, G. A.: The effects of ploidy and seed mass on the emergence and early vigour of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) cultivars. Australian Journal of Experimental Agriculture, 43 (5), 2003: 481–486.
- /10/ Stevens, J., Clarke, S., Ryan, M., Mitchell, M., Chivers, I., Loo, Ch., Nichols, P., Dixon, K.: Establishment of native perennial grasses. In: Nichols, P. (Ed.) Reliable Establishment of Non-Traditional Perennial Pasture Species. North Sydney: Meat & Livestock Australia Limited, 2011: 198–238.

PODĚKOVÁNÍ

Uvedená práce vznikla za podpory Technologické agentury ČR (projekt č. TH02030073) a za podpory Ministerstva zemědělství (Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agro-biodiversity č. 51834/2017-MZE-17253/6.2.6 a institucionální podpora na rozvoj výzkumné organizace MZE-RO1818).



EMISIE AMONIAKU NA KOŠAROVANÝCH TRÁVNÝCH PORASTOCH VO VZŤAHU K MINERÁLNYM FORMÁM N V PÔDE

EMISSIONS OF AMMONIA ON FOLGING GRASSLAND IN RELATION TO MINERAL N FORMS IN THE SOIL

JANKA MARTINCOVÁ, ĽUDOVÍT ONDRÁŠEK, JOZEF ČUNDERLÍK, ĽUBICA JANČOVÁ

NÁRODNÉ POĽNOHOSPODÁRSKE A POTRAVINÁRSKE CENTRUM - VÝSKUMNÝ ÚSTAV TRÁVNÝCH PORASTOV
A HORSKÉHO POĽNOHOSPODÁRSTVA, MLÁDEŽNÍCKA 36, 974 21 BANSKÁ BYSTRICA, SLOVENSKO,
MARTINCOVA@VUTPHP.SK

SUMMARY

Over 2006–2009 growing seasons, we monitored the effect of folding of sheep and cows on the current on the instantaneous content of $\text{NH}_4\text{-N}$ and $\text{NO}_3\text{-N}$ in grassland soil in relation to ammonia emissions in the Central Slovakia at the Šajbianska Bukovina (elevation 1162 m). The average values of $\text{NH}_4\text{-N}$ and $\text{NO}_3\text{-N}$ and the total amount indicate that the content of mineral nitrogen was the highest in the year of folding, which can be related to the increased mineralization of N on the folding area. In the following years there was a decrease in both forms of mineral N due to the gradual draining of nutrients by the vegetation involvement. Also, the results of NH_3 emissions confirm that the presence of fresh animal excrements on the folding areas and a significant increase in $\text{NH}_4\text{-N}$ content in the soil has an effect on increased airborne emissions, which is confirmation by positive correlation dependencies.

Key words: $\text{NH}_4\text{-N}$ and $\text{NO}_3\text{-N}$ content in soil; $\text{NH}_3\text{-N}$ emission; ammonia; folding

SÚHRN

V priebehu vegetácie rokov 2006–2009 sme v oblasti stredného Slovenska na stanovišti Šajbianska Bukovina (nadmorská výška 1162 m) sledovali vplyv košarovania ovcami a kravami na momentálny obsah $\text{NH}_4\text{-N}$ a $\text{NO}_3\text{-N}$ v pôde vo vzťahu k emisii amoniaku. Z priemerných hodnôt $\text{NH}_4\text{-N}$ a $\text{NO}_3\text{-N}$ a celkového množstva vyplýva, že obsah minerálneho dusíka bol najvyšší v roku košarovania, čo možno dať do súvisu s veľkým prísunom čerstvých zvieracích exkrementov a následnou zvýšenou mineralizáciou N na košarovných porastoch. V nasledovných rokoch došlo k poklesu oboch foriem minerálneho N z dôvodu postupného odčerpávania živín zapojenosťou porastu. Aj výsledky obsahu emisií $\text{NH}_3\text{-N}$ potvrdzujú, že prítomnosť čerstvého zvieracieho trusu na košarovných plochách a výrazný nárast obsahu $\text{NH}_4\text{-N}$ v pôde má vplyv na zvýšený obsah emisií v ovzduší, čo potvrdzujú aj kladné korelačné závislosti.

Kľúčové slová: košarovanie; obsah $\text{NH}_4\text{-N}$ a $\text{NO}_3\text{-N}$ v pôde; $\text{NH}_3\text{-N}$ emisie; amoniak

Úvod

V poslednom období, v súvislosti s opúšťaním a nevyužívaním TTP sa čoraz viac pozornosti venuje problematike ochrany pôdného fondu a biodiverzity. Jedna z príčin degradácie pôdy je aj nadmerná exploatácia trávnych porastov, hlavne z dôvodu intenzívneho košarovania a prehnajovania /3, 4/. Naše doterajšie výsledky z pôdno-biologického výskumu na košarovných TP ukázali, že v podmienkach nadmerne zaťaženého trávneho porastu zvieratami dochádza k jeho devastácii a k hromadeniu exkrementov. To vedie k vysokej akumulácii minerálnych foriem dusíka najmä vo forme amoniaku a nitrátov podporovanej súbežnou výraznou stimuláciou mineralizačných procesov v pôde. Tým vzniká vysoká pravdepodobnosť kontaminácie životného prostredia minerálnymi formami dusíka, ich strát vyplavovaním a eutrofizácii povrchových vôd. Zároveň dochádza k narušeniu niektorých ďalších dôležitých mimo produkčných funkcií trávneho porastu ako je jeho čistiaci, biofiltračný, retenčný a akumulačný schopnosť a v neposlednom rade jeho protierózna funkcia /4,5/. Významná pozornosť sa v podmienkach poľnohospodárskej výroby v súčasnosti venuje aj plyným emisiám do atmosféry a to najmä amoniaku. Amoniak totiž zohráva významnú úlohu v kolobehu N a môže spôsobovať environmentálne problémy ako zmeny v biodiverzite, pôdnej acidite a eutrofizácii. Vzhľadom na to, že emisie amoniaku je spojená s chovom hospodárskych zvierat a ich tuhými a tekutými exkrementami sleduje sa na trávnych porastoch najmä vplyv aplikácie organických hnojív a pasenia hospodárskymi zvieratami na potenciálny vzťah k intenzite jeho volatilizácie do atmosféry /2, 3, 6, 7, 9/.

V predkladanom príspevku chceme upriamiť pozornosť na zmeny celkovej mineralizácie dusíka a nitrifikácie a obsahu minerálnych foriem dusíka v pôde v podmienkach košarovania trávneho porastu ovcami a kravami vo vzťahu k emisii amoniaku.

MATERIÁL A METÓDY

Košarovanie ovcami a kravami prebiehalo v jarnom a jesennom termíne na stanovišti Šajbianska Bukovina v roku 2006 (48°41'25.67"N; 19°26'10.50"E; nadm. výška 1162 m; pôda kambizem - pH(nKCl) = 4.0, obsah Cox = 74.5 g.kg⁻¹ a Nt = 8.3 g. kg⁻¹). Na stanovišti sme vybrali nasledovné košarované plochy: Kontrola - nekošarovaný porast, plocha košarovaná v júli 2006 (ovce, kravy) a v októbri 2006 (ovce, kravy). Na ploche košarovanej ovcami sa košarovalo zvieratami v počte 200 ks, rozmer košiara bol 8x12 m a na ploche s kravami sa košarovalo zvieratami v počte 62 ks, rozmer košiara bol 12x12 m.

V priebehu trvania pokusu v rokoch 2006–2009 sme z vrstvy 0–100 mm odoberali pôdne vzorky v nasledovných termínoch:

- rok 2006 (odber I. 29. 5.; II. 14. 7.; III. 14. 8.),
- rok 2007 (odber I. 24. 4.; II. 11. 6.; III. 14. 8.),
- rok 2008 (odber I. 24. 4.; II. 18. 6.; III. 14. 8.),
- rok 2009 (odber I. 23. 4.; II. 18. 6.; III. 13. 8.).

V pôdnych vzorkách sa po preosiatí cez 2 mm sito pri zachovaní ich prirodzenej vlhkosti sledovali nasledovné ukazovatele: a/ momentálny obsah NH₄-N a NO₃-N kolorimetrickou metódou na prístroji SKALAR.

V ovzduší v blízkosti košarovaných plôch sa sledovala emisia amoniaku prostredníctvom dvoch vzorkovačov (Vz1 a Vz2) umiestnených vo výške 2 m. Princíp metódy podľa interného predpisu VÚTPHP v Banskej Bystrici spočíval absorpcii NH₃ z ovzdušia v pasívnom vzorkovači na povrchu sieťky z nehrdzavejúcej ocele, ktorý je nasýtený roztokom kyseliny vínnej. Po uplynutí doby expozície sa vzorkovač odoberie a vymení za nový. V laboratóriu sa stanoví množstvo NH₃ zachyteného vo vzorkovači na spektrofotometri UV/VIS kde sa odmeria jeho absorbancia pri 655 nm a vypočíta sa priemerná koncentrácia počas expozície. V priebehu vegetácie pokusných rokov sa vzorkovače vymenili 3krát, pričom jednotlivé intervaly expozície sú vyznačené v tab. 2.

Výsledky NH₄-N a NO₃-N, ich celkového množstva boli vyhodnotené metódou viacnásobnej analýzy rozptylu pomocou štatistického programu STATGRAPHICS. Preukaznosť hraničných diferencií medzi priemerami bola posúdená LSD testom pri hladine P = 95 %.

Vzťah medzi hodnotenými ukazovateľmi bol posúdený korelačnou analýzou prostredníctvom Pearsonovho korelačného koeficientu pomocou štatistického programu STATIT. Preukaznosť korelačných koeficientov bola posúdená t-testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri košarovaní ovcami i kravami v roku 2006 došlo v dôsledku udupania a veľkého prísunu tekutých a tuhých zvieracích exkrementov k významnému narušeniu pôvodného trávneho porastu. To malo za následok nárazový vysoký prísun živín vo forme organickej hmoty a minerálnych foriem dusíka do pôdy. Priemerné hodnoty obsahu NH₄-N a NO₃-N a ich celkového množstva (Σ) v mg. kg⁻¹ v pôde počas pokusných rokov 2006–2009 sú uvedené v tab. 1.

Zvýšená schopnosť pôdy mineralizovať a nitrifikovať dusík v roku košarovania (2006) sa prejavila zvýšeným obsahom minerálnych foriem N v pôde s prevahou amoniakálnej formy NH₄-N. Z tab. 1 vyplýva, že obsah minerálneho dusíka bol jednoznačne najvyšší v roku košarovania, zaznamenali sme takmer 6- násobne vyšší obsah NH₄-N (45,9 mg.kg⁻¹) na košarovaných plochách v porovnaní s plochou bez košarovania (7,3 mg.kg⁻¹). V ďalších rokoch efekt košarovania slabol a v rokoch 2008 a 2009 už bol celkový obsah minerálneho dusíka preukazne nižší. V priebehu vegetácie bol preukazne najvyšší obsah minerálnych foriem N v I. odbere (apríl–máj) a najnižší v III. odbere (august). Obsah oboch foriem minerálneho N v pôde v každom pokusnom roku klesal smerom od prvého odberu k poslednému čo naznačuje závislosť od ekologických faktorov a to najmä

vlhkosti a teploty pôdy v nadväznosti na priebeh mineralizačných procesov a intenzity odčerpávania živín z pôdy rýchlo sa regenerujúcim trávny porastom. Stimulačný vplyv košarovania na celkovú mineralizáciu N sme konštatovali v našej predošlej práci /5/ s tým, že priebeh nitrifikácie bol v dôsledku vysokej pôdnej acidity slabší čo aj vysvetľuje nízky podiel nitrátovej formy dusíka na jeho celkovom obsahu.

Obsah minerálnych foriem N v pôde bol ovplyvnený aj variantným riešením pokusu. Ak porovnáme kategórie zvierat vyšší stimulačný efekt sa prejavil u oviec než u kráv, čo naznačuje vyšší stimulačný účinok ovčieho trusu na mineralizáciu N. Z priemerných hodnôt za varianty v tab. 1 vyplýva, že košarovanie ovcami podmienilo preukazne vyšší nárast najmä $\text{NH}_4\text{-N}$ v pôde v porovnaní s plochou bez košarovania (kontrola), čo si vysvetľujeme vyšším obsahom N v ovčom truse /1/ a možno aj väčším a kvalitatívne iným zložením mikroflóry.

Tab. 1: Priemerné hodnoty obsahu $\text{NH}_4\text{-N}$ a $\text{NO}_3\text{-N}$ a ich celkového množstva (Σ) v mg. kg^{-1} vo vrstve 0-100 mm v pôde počas vegetácie pokusných rokov (K - kontrola)

Rok	Odber	$\text{NH}_4\text{-N}$				$\text{NO}_3\text{-N}$				Σ			
		K	ovce	kravy	$\bar{x}$	K	ovce	kravy	$\bar{x}$	K	ovce	kravy	$\bar{x}$
2006	I.	5,3	107,9	76,7	63,3	0,1	0,3	0,3	0,2	5,4	108,2	77	63,5
	II.	5,2	36,1	13,4	18,2	1,1	22,6	3,5	9,1	6,3	58,7	8,5	24,5
	III.	11,4	33,5	7,7	17,5	0,9	5,7	0,8	2,5	12,3	39,2	8,4	19,9
$\bar{x}_{\text{rok}}$	$\bar{x}$	7,3	59,2	32,6	33,0b	0,7	9,5	1,5	3,9a	8,0	68,7	31,3	36,0b
2007	I.	2,3	130,8	48,8	60,6	0,6	11,1	18,9	10,2	2,9	141,9	67,6	70,8
	II.	5,0	9,6	8,8	7,8	0,4	3,5	1,5	1,8	5,4	13,0	10,3	9,6
	III.	2,1	7,9	3,5	4,5	0,3	1,7	0,7	0,9	2,4	9,6	4,2	5,4
$\bar{x}_{\text{rok}}$	$\bar{x}$	3,1	49,4	20,3	24,3ab	0,4	5,4	7,0	4,3a	3,6	54,8	27,3	28,6ab
2008	I.	6,1	14,2	18,9	13,1	3,5	20,4	17,4	13,8	9,6	34,6	36,2	26,8
	II.	3,6	7,8	7,9	6,4	1,2	7,8	5,9	5,0	4,8	15,6	13,9	11,4
	III.	1,8	7,5	4,5	4,6	0,0	0,4	0,0	0,1	1,1	7,9	4,5	4,5
$\bar{x}_{\text{rok}}$	$\bar{x}$	3,8	9,8	10,4	8,0a	1,6	9,5	7,8	6,3a	5,2	19,3	18,2	14,2ab
2009	I.	4,3	11,4	8,1	7,9	0,4	3,1	0,8	1,4	4,7	14,5	8,9	9,3
	II.	9,9	8,2	5,7	6,9	1,1	5,6	0,9	2,5	10,9	13,7	6,6	10,4
	III.	2,9	3,3	2,8	3,0	0,4	0,1	0,0	0,2	3,3	3,3	2,8	3,1
$\bar{x}_{\text{rok}}$	$\bar{x}$	5,7	7,6	5,5	6,0a	0,6	2,9	1,5	1,3a	6,3	10,5	6,1	7,6a
$\bar{x}$ variant		5,0a	31,5b	17,2ab	SD35,6	0,9a	7,0b	4,5ab	SD6,8	5,8a	38,3b	20,7ab	38,0

Medzi priemernými hodnotami ukazovateľov v ktorých označení nie sú rovnaké symboly sú preukazné rozdiely.

V tab. 2 uvádzame výsledky emisie amoniaku v pasívnych vzorkovačoch Vz1 a Vz2 počas trvania pokusu. Z výsledkov jednoznačne vyplýva, že najvyšší obsah emisií NH_3 bol zaznamenaný v roku košarovania tj. 2006, čo je samozrejme v dôsledok prítomnosti veľkého množstva čerstvého zvieracieho trusu na košarovných plochách. Intenzita košarovania bola vysoká a pôvodný trávny porast bol v značnej miere zdevastovaný. V ďalších rokoch množstvo emitovaného amoniaku výrazne klesá. To v podstate naznačuje podobný priebeh ako u prítomnosti minerálnych foriem dusíka v pôde. Zároveň v každom roku môžeme pozorovať najväčšiu emisiu amoniaku v jarných a letných mesiacoch čo naznačuje vzťah k teplote a vlhkosti pôdy. Posúdením vzťahu obsahu minerálnych foriem N a ich celkového množstva v pôde pomocou Pearsonovho korelačného koeficientu k hodnotám emisie amoniaku do ovzdušia sme dospeli pomerne k tesným a preukazným vzťahom. Do hodnotenia boli zahrnuté výsledky amoniaku zachyteného v oboch vzorkovačoch vzhľadom na to, že tieto boli umiestnené blízko pri sebe asi 20–50 m od košarovných plôch. Zistili sme pozitívny vzťah $\text{NH}_4\text{-N}$ a celkového množstva minerálneho N (Σ) v pôde košarovanej ovcami k emisii NH_3 ($r = 0,57^{++}$; $r = 0,51^{+}$) a v pôde košarovanej kravami ($r = 0,79^{++}$; $r = 0,65^{++}$). Pri spoločnom zhodnotení výsledkov $\text{NH}_4\text{-N}$ a celkového množstva minerálneho N (Σ) k emisii amoniaku dosiahnutých na plochách košarovných ovcami i kravami dosiahli korelačné koeficienty nasledovné hodnoty: $r = 0,60^{++}$, $r = 0,52^{++}$. Vzťah pôdneho $\text{NH}_4\text{-N}$ k volatilizácii amoniaku na trávnych porastoch z rôznou intenzitou pasenia sledovali napríklad Zhang a kol. /8/ a zistili pozitívny a preukazný korelačný vzťah k vlhkosti a teplote pôdy.

ZÁVER

Výsledky svedčia o tom, že košarovanie významným spôsobom ovplyvňuje procesy mineralizácie dusíka, prítomnosť minerálnych foriem N v pôde a tiež prítomnosť emisií $\text{NH}_3\text{-N}$ v ovzduší. Dynamika obsahu minerálnych foriem potvrdila nami získané doterajšie poznatky z predošlého výskumu v praktických terénnych podmienkach /4,5/. Analýza výsledkov minerálnych foriem N u košarováných porastoch a amoniaku preukázala, že najvyšší obsah minerálnych foriem N a emisií bol zaznamenaný v roku košarovania, čo je dôsledok zvýšeného prísunu čerstvého zvieracieho trusu na košarováných plochách. Bol zistený pozitívny korelačný vzťah obsahu $\text{NH}_4\text{-N}$ a celkového minerálneho N v pôde k emisii plynného amoniaku ($r = 0,60^{++}$; $r = 0,52^{++}$).

Tab. 2: Emisia plynného amoniaku v pasívnych vzorkovačoch (Vz1, Vz2) na pokusnej ploche v priebehu vegetačných období počas trvania pokusu

Rok	Doba expozície	NH ₃ (μg.m ⁻³)		NH ₃ (μg.m ⁻³ .1d ⁻¹)	
		Vz1	Vz2	Vz1	Vz2
2006	14. 7. 06–11. 8. 06	20,69	34,37	0,74	0,78
	11. 8. 06–5. 10. 06	8,07	8,82	0,15	0,16
	5. 10. 06–9. 11. 06	8,72	8,39	0,25	0,24
2007	24. 4. 06–15. 6. 07	6,88	7,73	0,13	0,15
	15. 6. 07–14. 8. 07	8,74	17,76	0,15	0,3
	14. 8. 07–16. 10. 07	4,48	5,36	0,07	0,09
2008	24. 4. 08–18. 6. 08	3,06	-	0,06	-
	18. 6. 08–14. 8. 08	3,89	-	0,07	-
	14. 8. 08–10. 10. 08	1,4	-	0,02	-
2009	23. 4. 09–17. 6. 09	6,57	11,5	0,12	0,21
	17. 6. 08–14. 8. 09	5,04	11,56	0,09	0,2
	14. 8. 09–20. 11. 09	2,86	5,78	0,03	0,06
Std. deviation		5,02	9,06	0,19	0,21

LITERATÚRA

- /1/ Čunderlíková, Z., Polák, M., Ondrášek, E., Uhliarová, E.: Trvalo udržateľná produkcia lúk pomocou striedavého košarovania. Záverečná správa VÚTPHP, Banská Bystrica, 2002. : 45 pp.
- /2/ Bussink, D. W.: Ammonia volatilization from grassland receiving nitrogen fertilizer and rotationally grazed by dairy cattle. Fertilizer Research 33: 257-265, 1992.
- /3/ Hanzes, E., Krajčovič, V.: Environmental Risks of Grassland-Pasture Management. Život. Prostr Vol. 42, No. 3, p. 141 – 144, 2008.
- /4/ Ondrášek, E., Martincová, J., Čunderlík, J.: Produkcia CO₂ pôdy pod rôzne využívanými trávnymi porastmi. In Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2011, 2011, 9-10.3.2011, s. 221-225.
- /5/ Ondrášek, E., Martincová, J., Čunderlík, J.: Mineralizácia dusíka v pôde pod košaroványm trávnym porastom. pôdy. In Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2013, 2013, 13-14.2.2013, s. 288-292.
- /6/ Ryden, J. C., Whitehead, D.C., Lockyer, D.R., Thompon, R.B. Skinner, J.H., Garwood, F. A.: Ammonia emission from grassland and livestock production systems in the UK Environmental Pollution . Vol. 48, Issue3, 1987, p. 173-184
- /7/ Taghizadeh-Toosi,*, Gibbs, S. J., Sherlock, R.R., Kelliher, F.-M., and. Grover, S.P.P.: Biogeosciences Ammonia emissions from cattle urine and dung excreted on pasture J. Laubach1, A. Biogeosciences, 10, 327–338, 2013.
- /8/ Zhang, Y.a kol.: Ammonia emissions from soil under sheep grazing in Inner Mongolian grasslands of China Journal Arid Land (2013) 5(2): 155–165.
- /9/ Webb, J : Estimating potential for ammonia emissions from livestock excreta and manures. Environmental Pollution, 2001, 111, 395-406.



CHARAKTERISTIKA AGROCHEMICKÝCH VLASTNOSTÍ PŮDY HORSKÝCH LÚK STREDNÉHO SLOVENSKA

CHARACTERISTICS OF AGROCHEMICAL PROPERTIES OF LAND MOUNTAINS OF CENTRAL SLOVAKIA

JANKA MARTINCOVÁ, VLADIMÍRA VARGOVÁ, ZUZANA KOVÁČIKOVÁ, ĽUBICA JANČOVÁ,
JOZEF ČUNDERLÍK, ŠTEFAN POLLÁK

NÁRODNÉ POĽNOHOSPODÁRSKE A POTRAVINÁRSKE CENTRUM - VÝSKUMNÝ ÚSTAV TRÁVNÝCH PORASTOV
A HORSKÉHO POĽNOHOSPODÁRSTVA, MLÁDEŽNÍCKA 36, 974 21 BANSKÁ BYSTRICA, SLOVENSKO,
MARTINCOVA@VUTPHP.SK

SUMMARY

The paper presents partial results of evaluation of soil indicators of mountain meadows in the northern part of the Veľká Fatra in the Ľubochňianska dolina. Research is carried out as part of the project “Together for preserving and restoring the biodiversity of the Carpathian mountain ecosystems”, solved during 2019-2021. The project was launched in 2019 and is aimed at restoring mountain meadows through proposed management measures. One of the aims of the project is to conduct field pedological and phytosociological research with an assessment of the current state of grassland and a proposal for a suitable management method. In 2019, soil samples were taken at selected 12 sites in the cadastral territory of Ľubochňa. The results indicate lower phosphorus and potassium content, high magnesium content and good nitrogen content in mountain meadow communities.

Key words: grassland; nutrient content; pedological conditions; biodiversity; monitoring

SÚHRN

Príspevok prezentuje čiastkové výsledky hodnotenia pôdných ukazovateľov horských lúk v severnej časti územia Veľkej Fatry v časti Ľubochňianskej doliny. Výskum je realizovaný v rámci projektu „Spoločne za zachovanie a obnovu biodiverzity karpatských horských ekosystémov“ riešený počas rokov 2019-2021. Projekt sa začal riešiť v roku 2019 a je zameraný na obnovu horských lúk prostredníctvom navrhnutých manažmentových opatrení. Jedným z cieľov projektu je uskutočniť terénny pedologický a fytocenologický výskum s posúdením aktuálneho stavu trávnych porastov a návrhom vhodného spôsobu manažmentu. V roku 2019 sa uskutočnil odber pôdných vzoriek na vybraných 12 lokalitách v katastrálnom území obce Ľubochňa. Výsledky poukazujú na nižší obsah fosforu a draslíka, vysoký obsah horčíka a dobrý obsah dusíka v pôde horských lúčnych spoločenstiev.

Kľúčové slová: trávny porast; obsah živín; pedologické pomery; biodiverzita; monitoring

ÚVOD

V posledných rokoch sa venuje na Slovensku veľká pozornosť využívaniu travinných biotopov a ich ochrane. Súvisí to s medzinárodnými záväzkami Slovenska v ochrane prírody ako člena Európskej únie. Je to však aj dôsledok faktu, že aj na Slovensku sa výrazne prejavuje úbytok a degradácia druhovo bohatých trávnych porastov cenných z pohľadu ochrany biodiverzity. Väčšina travinných porastov sa udržiava vďaka dlhodobému extenzívnemu obhospodarovaniu. Nakoľko v poslednej dobe sme často svedkami toho, že mnohé cenné lúky sa prestávajú využívať a dochádza k strate biodiverzity a k zániku významných biotopov, aktivity vedúce k zachovaniu a nepoškodzovaniu biotopov sú veľmi opodstatnené. V dôsledku intenzifikácie či naopak úplnej absencie manažmentu výrazne ustupujú aj druhovo bohaté spoločenstvá podhorských a horských kosných lúk (Arhhenatherion, Polygono-Trisetion).

Cieľom schváleného projektu je obnova, zachovanie a ochrana biodiverzity v cezhraničnom území Karpát. Vedúcim partnerom projektu sú LESY SR, š.p. v spolupráci s partnermi projektu: Uniwersytet Rolniczy v Krakowe a Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum.

V tomto príspevku sa zameriavame na čiastkové hodnotenie pôdných vlastností horských lúk v Národnom parku Veľká Fatra a priľahlej Ľubochňianskej doliny.

MATERIÁL A METÓDY

Odber pôdnych vzoriek pre agrochemické analýzy sa realizoval začiatkom vegetačnej sezóny 2019. Odber sa uskutočnil v 12 lokalitách (Huty, škôlka 1a, b, škôlka 2a, b, Sihla, Chmelínek, Jubilejný háj 1, 2, Zlatá lúka, Rýglik, Vyšná Jarabínska) na území Veľkej Fatry, v katastrálnom území obce Ľubochňa a priľahlej 26 km dlhej Ľubochňanskej doliny. Záujmové územie patrí z hľadiska fyto geografického členenia do oblasti Západokarpatskej flóry, obvodu Vonkajších Západných Karpát a fyto geografického okresu Veľká Fatra podľa [1]. Klimaticky do chladnej oblasti. Priemerný úhrn zrážok činí 700 až 1600 mm. Lokality s odberom vzoriek sú charakteristické nadmorskou výškou od 507–834 m. Vzorky boli odobraté v jarnom termíne systémom priemernej vzorky z vrstvy 0–150 mm pôdneho profilu. V pôdnych vzorkách vysušených pri laboratórnej teplote sa po preosiati cez 2 mm sledovali nasledovné ukazovatele: obsah Cox (Tjuri), Nt (Kjeldahl), P, K, Mg (Melich III) a pH (nKCl). Zároveň sa zaznamenali GPS súradnice (WGS 84). V druhej etape riešenia projektu bude realizovaný terénny botanický monitoring za účelom zistenia súčasného východiskového stavu porastov. Následne budú vypracované návrhy vhodného spôsobu manažmentu na obnovu 130 ha horských lúk v strednej časti Slovenska. Po uskutočnení manažmentových opatrení bude realizovaný opätovný monitoring a porovnanie s východiskovým stavom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Veľká Fatra je rozsiahlym jadrovým pohorím Západných Karpát. Vyznačuje sa bohatým a pestrým vegetačným krytom, biocenózami rôzneho veku a vývoja s mnohými reliktnými a endemickými druhmi. Národný park Veľká Fatra sa rozprestiera v severozápadnej časti stredného Slovenska v nadmorskej výške od 422–1592 m. Na severe je ohraničený dolinou Váhu, na východe susedí s Nízkymi Tatrami, na juhu so Starohorskými a Kremnickými vrchmi a na západe s Turčianskou kotlinou. Veľké výškové rozpätie územia podmieňuje výskyt viacerých klimatických, vegetačných i pôdnych pásiem.

Tab. 1: Základné agrochemické vlastnosti pôd horských lúk v katastrálnom území Ľubochňa (0–150 mm)

k. ú.	lokalita	pH-KCl	Cox	Nt	C : N	P	K	Mg
		(pH)	(g.kg ⁻¹)			(mg.kg ⁻¹)		
Ľubochňa	Huty	5,0	32,6	4,0	8,2	2,1	94,9	624,5
	škôlka 1a	5,3	26,9	3,2	8,5	6,1	82,5	470,6
	škôlka 1b	6,1	44,3	5,3	8,3	1,6	98,9	839,5
	škôlka 2a	5,2	20,0	2,5	7,9	3,7	65,1	375,7
	škôlka 2b	5,7	43,1	4,7	9,1	1,5	114,4	687,2
	Sihla	4,2	29,0	3,0	9,7	1,6	86,7	166,1
	Chmelínek	3,7	36,2	4,9	7,4	1,1	106,7	223,6
	Jubilejný háj 1	4,7	30,5	2,7	11,2	1,4	106,7	242,7
	Jubilejný háj 2	4,3	13,4	1,7	7,8	4,9	90,8	238,2
	Zlatá lúka	6,5	60,2	4,7	12,9	37,4	187,9	452,2
	Rýglik	6,0	42,5	4,3	9,8	0,7	106,7	1147,1
	Vyšná Jarabínska	5,9	64,1	7,1	9,0	1,3	102,8	1215,5
	priemer	5,2	36,9	4,0	9,1	5,3	103,7	556,9

Veľká Fatra je zaradená do celoeurópskej sústavy chránených území NATURA 2000 ako územie európskeho významu (SKUEV 0238) a chránené vtáčie územie (SKCHVU033). Na území je zastúpená veľká skupina endemických druhov. Z významných druhov európskeho významu a karpatských endemitov sa tu vyskytujú: zvonovec ľaliolistý (*Adenophora liliifolia*), zvonček hrubokoreňový (*Campanula serrata*), cyklamén fatran-

ský (*Cyclamen fatrense*), črievičník papučkový (*Cypripedium calceolus*), klinček lesklý (*Dianthus nitidus*), poniklec slovenský (*Pulsatilla slavica*), poniklec prostredný (*Pulsatilla subslavica*), soldanelka karpatská (*Soldanella carpatica*). Podľa katalógu biotopov sú predmetom ochrany nasledovné druhy biotopov : Suchomilné travinnobylinné a krovinné porasty na vápnom podloží (6210), Kvetnaté vysokohorské a horské psicové porasty na silikátovom substráte (6230), Horské kosné lúky (6250), Nížinné a podhorské kosné lúky (6510). Prvý zoznam cievnatých rastlín územia Turca a priľahlej časti Veľkej Fatry zostavil začiatkom 90. rokov 19. stor. učiteľ a botanik J. Wagner. K doplneniu obidvoch prehľadov významne prispela prvá slovenská botanička Izabela Textorisová /2/.

Rozbory agrochemických vlastností pôdy sú uvedené v tab. 1. Pestrosť geologického substrátu, vplyv reliéfu a nadmorskej výšky sa odráža aj v pestrosti pôdneho krytu. Na území Veľkej Fatry, najväčšiu rozlohu zaberajú rendziny na karbonátových horninách (až 45 % plochy), na náplavách tokov aluviálne pôdy - fluvizeme (modálna, glejová), miestami aj slatinné organozeme. Na slienitých horninách sa vyskytujú aj pararendziny /5/. Podľa prieskumu pôd v lokalizovanej oblasti miestach odberu prevládajú fluvizeme modálne a kambizeme modálne. Z hľadiska zrnitostného zloženia ide o stredne ťažké pôdy (zdroj: nppc- vupop.sk).

Výskumom 12 lokalít bolo zistených, že sa jedná prevažne o pôdy s kyslou pôdnou reakciou ($\text{pH/KCl} < 5,5$), s veľmi nízkym obsahom fosforu a nižším obsahom draslíka a vysokým až veľmi obsahom horčíka. Pôdna reakcia bola extrémne kyslá (Chmelínek, Sihla, Jubilejný háj 2), silne kyslá (Huty, Jubilejný háj 1 a 2), kyslá (škôlka 1a, 2a), slabo kyslá (Zlatá lúka, Ríglík, Vyšná Jarabínska, škôlka 1b, 2b). Podľa /3/ väčšine trávnych porastov sa darí na pôdach mierne kyslých až neutrálnych v rozpätí pH od 5 do 7,5.

Obsah organického uhlíka bol pomerne vysoký ($\text{Cox} > 2 \%$). Priemerný obsah oxidovateľného organického uhlíka (Cox) predstavoval $36,9 \text{ g.kg}^{-1}$. Vysoké hodnoty boli zaznamenané aj pri celkovom dusíku (Nt). Obsah N sa pohyboval v rozmedzí $1,7\text{--}7,1 \text{ g.kg}^{-1}$ s najnižšou hodnotou na lokalite Jubilejný háj 2 a najvyššou na lokalite Vyšná Jarabínska. Priaznivý obsah dusíka v pôde naznačujú aj nízke hodnoty pomeru C:N, ktoré sa pohybujú v rozmedzí $7,4\text{--}12,9:1$. Užší pomer C:N indikuje lepšiu schopnosť pôdnej mikroflóry mineralizovať dusík a tým väčšie množstvo minerálneho dusíka sprístupneného pre rastliny. Pri pomere C:N nad 25:1 v organickej hmote dochádza k imobilizácii dusíka v pôde /4/. Obsah prístupného fosforu bol veľmi nízky od $0,7\text{--}6,1 \text{ mg.kg}^{-1}$, čo nezodpovedá hornej hranici pre nízky obsah (do 30 mg.kg^{-1}). Jedine na lokalite Zlatá lúka bol obsah P vyhovujúci ($37,4 \text{ mg.kg}^{-1}$). V priemere bol obsah P nižší až na jednu lokalitu Zlatá lúka, kde bol obsah P vyhovujúci ($37,4 \text{ mg.kg}^{-1}$). Aj v prípade K bol najvyšší obsah na lokalite Zlatá lúka ($187,9 \text{ mg.kg}^{-1}$), čo zodpovedá hodnotám pre dobrý obsah ($151\text{--}210 \text{ mg.kg}^{-1}$). Obsah horčíka bol vysoký až veľmi vysoký, v priemere $556,9 \text{ mg.kg}^{-1}$, čo je 2krát vyšší obsah než je hodnota pre veľmi vysoký obsah (nad 255 mg.kg^{-1}).

ZÁVER

Z dosiahnutých priemerných hodnôt agrochemických vlastností pôdy horských lúk vyplýva, že vo vybraných lokalitách prevažujú pôdy založené na kyslom substráte, s prijateľným obsahom dusíka, nižším obsahom fosforu a draslíka a veľmi vysokým obsahom horčíka. Výsledky budú podkladom pre monitoring rastlinných spoločenstiev.

LITERATÚRA

- 1/ Futák, J. (ed.): Flóra Slovenska I, Veda Bratislava, 604 pp.
- 2/ Kliment, J. (ed.) et al. : Príroda Veľkej Fatry. Lišajníky, machorasty, cievnaté rastliny. Vydavateľstvo Univerzity Komenského, Bratislava, 2008, Bratislava. ISBN 978-80-223-2410-6,
- 3/ Novák, J.: Pásienky, lúky a trávniky. Patria, 2008, ISBN 9788085674231.
- 4/ Ondrášek, L.: Vývoj ekosystémov poloprárodných, prisievavých a dočasných trávnych porastov so zreteľom na dekompozičné procesy v pôde. In.: Krajčovič (ed.). Ekológia trávneho porastu VI.-2. zväzok. VÚTPHP B. Bystrica. s. 193-203.
- 5/ Šály, R : Svahoviny a pôdy Západných Karpát. Morfogenetický klasifikačný systém pôd Slovenska (2000) VÚPaOP: Bratislava. 76s. ISBN 80-85361-70-1.

POĎAKOVANIE

Projekt je spolufinancovaný Európskou úniou z prostriedkov Európskeho fondu regionálneho rozvoja v rámci Programu cezhraničnej spolupráce Interreg V-A Poľsko-Slovensko 2014–2020. Príspevok vznikol v rámci projektu „Spoločne za zachovanie a obnovu biodiverzity karpatských horských ekosystémov“. Výhradnú zodpovednosť za obsah tejto publikácie nesú jej autori a nedá sa stotožniť s oficiálnym stanoviskom Európskej únie.



Interreg
Poľsko-Slovensko
Európsky fond regionálneho rozvoja





VPLYV KADMIA NA AKTIVITU β -1,3-GLUKANÁZ V KOREŇOCH SÓJE

EFFECT OF CADMIUM ON THE ACTIVITY OF β -1,3-GLUCANASES IN SOYBEAN ROOTS

PATRIK MÉSZÁROS, MARCEL ROSZIVAL, NIKOLA IMLINGOVÁ

UNIVERZITA KONŠTANTÍNA FILOZOFA V NITRE, FPV, KATEDRA BOTANIKY A GENETIKY, NÁBREŽIE MLÁDEŽE 91, 949 74 NITRA, PMESZAROS@UKF.SK

SUMMARY

PR proteins are an important component of plant defense against a wide range of stressors. In our experiments, we studied the activity of β -1,3-glucanases in various varieties of soybean (*Glycine max*) stressed by cadmium at concentrations of 0, 50 and 300 mg.l⁻¹ Cd²⁺. In the roots of selected soybean cultivars - Cardiff, Cordoba, Gallec, Kent, Mentor - we identified four total isoforms of these enzymes with molecular weights of ~100, 65, 16 and 12 kDa that were present under both stress and control conditions. The activity of these isoforms was dependent on variety and cadmium concentration, but we did not confirm any significant relationship between the rate of sensitivity of the varieties and the activity of individual isoforms. Based on our results, the expected potential of β -1,3-glucanases for the identification of plant variety sensitivity or toxicity testing of selected stressors has not yet been confirmed.

Key words: PR-proteins; *Glycine max* L.; plant stress; heavy metals

SÚHRN

PR-bielkoviny predstavujú dôležitú zložku obrany rastlín voči širokej škále stresorov. V našich experimentoch sme študovali aktivitu β -1,3-glukanáz v rôznych odrodách sóje fazuľovej (*Glycine max*) stresovaných kadmiov o koncentráciách 0, 50, a 300 mg.l⁻¹ Cd²⁺. V koreňoch vybraných odrôd sóje - Cardiff, Cordoba, Gallec, Kent, Mentor - sme identifikovali štyri celkové izoformy týchto enzýmov s molekulovými hmotnosťami ~100, 65, 16 a 12 kDa, ktoré boli prítomné tak v podmienkach stresu, ako aj v kontrolných vzorkách. Aktivita týchto izoformiem bola podmienená odrodou sóje a tiež koncentráciou kadmia, nepotvrdili sme však významnú súvislosť medzi mierou citlivosti daných odrôd a aktivitou jednotlivých izoformiem. Na základe našich výsledkov sa zatiaľ nepotvrdil predpokladaný potenciál β -1,3-glukanáz pre identifikáciu citlivosti rastlinných odrôd alebo testovanie miery toxicity vybraných stresorov.

Kľúčová slova: PR-bielkoviny; *Glycine max* L.; stres rastlín; ťažké kovy

ÚVOD

β -1,3-glukanázy sú hydrolytické enzýmy, ktoré patria do rodiny PR-2 proteínov a boli identifikované vo viacerých rastlinných druhoch /1, 2/. Podieľajú sa na obranných procesoch rastlín voči patogénom a rôznym abiotickým stresorom. Ich hlavnou funkciou je katalyzovať hydrolytické štiepenie väzieb β -1,3-glukánu, ktorý je významnou zložkou bunkovej steny rastlín, húb a baktérií. Sú zapojené aj do fyziologických a vývinových procesov neinfikovaných rastlín ako napr. mikrosporogenézy, embryogenézy, rozmnožovania, bunkového delenia, prestavby bunkovej steny, dormancie púčikov, klíčenie peľu, klíčenie semien, regulujú vylučovanie, priepustnosť plazmodezmy /1, 2, 3, 4/. Ich celková aktivita v rastlinách závisí od mnohých faktorov, vrátane genotypu, veku rastliny a vývojového štádia /5/. β -1,3-glukanázy môžu byť lokalizované vo vakuolách alebo môžu byť vylučované bunkami do extracelulárneho priestoru. V mnohých štúdiách už bola dokázaná úloha rastlinných endo- β -1,3-glukanáz v procesoch obrany voči ťažkým kovom, avšak stále nie je známa ich presná funkcia pri tomto type stresu.

MATERIÁL A METODY

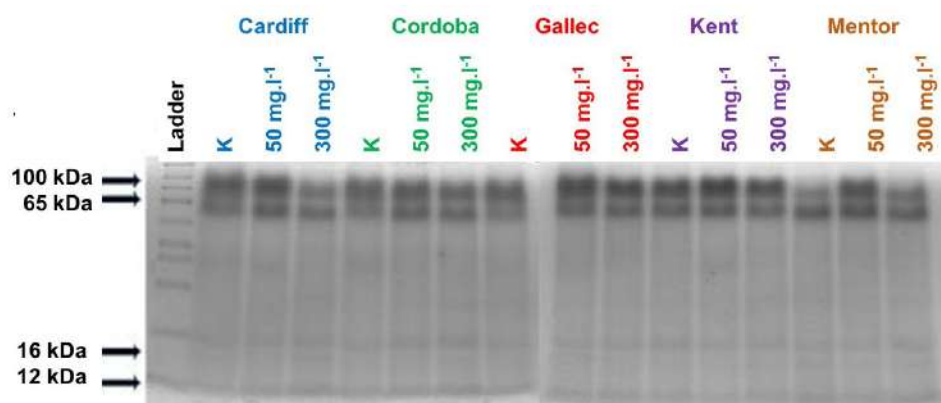
Korene testovaných odrôd sóje fazuľovej (*Glycine max* L. Cardiff, Cordoba, Gallec, Kent, Mentor) sme vystavili účinkom 0, 50, 300 mg.l⁻¹ Cd²⁺ aplikovaného vo forme roztokov CdCl₂.2H₂O po dobu 48 hodín. Aktivitu jednotlivých izoformiem celkových β -1,3-glukanáz sme stanovili po elektroforetickej separácii hrubého proteínového extraktu z koreňov na denaturovaných polyakrylamidových géloch podľa /6, 7/. Intenzitu

proteínových pásov (bandov) na polyakrylamidovom géle zodpovedajúcej miere akumulácie β -1,3-glukanáz sme vizualizovali vo fotodokumentačnom prístroji UVP Bio Doc-It System (Ultra-Violet Products Ltd, UK) a vyhodnotili softvérom Scion Image 4.0.2.

Získané údaje sme podrobili štatistickým analýzám využitím programu MS Excel. Štatistickú významnosť rozdielov pri porovnávaní súborov sme stanovili Studentovým t-testom.

MATERIÁL A METÓDY

Na koreňoch klíčkov 5 odrôd sóje sme testovali účinky dvoch koncentrácií kadmia, ktoré predstavovali rôznu mieru toxicity. Schopnosť sóje prijať, akumulovať a následne tolerovať kadmium sme skúmali /8/ na 22 odrôd pestovaných v Európe. Niektoré odrody výskumu sa zhodovali s odrodami sóje testovanými v tejto práci. Výsledky /8/ dokumentujú, že tolerančný index (%) odrody Cardiff voči Cd je 86,10 %, odrody Cordoba 98,97 % a odrody Kent 97,35 %, z čoho vyplýva, že Cordoba a Kent patria k tolerantnejším odrodám voči účinku kadmia a odroda Cardiff je menej tolerantná. V koreňoch vybraných odrôd sóje sme detekovali štyri frakcie so stabilnou glukonázovou aktivitou s molekulovými hmotnosťami ~100, 65, 16 a 12 kDa. Tieto izoformy celkových β -1,3-glukanáz boli prítomné vo všetkých vzorkách testovaných odrôd, vrátane kontrolných, zaznamenali sme však kvantitatívne zmeny v ich aktivite (obr. 1).



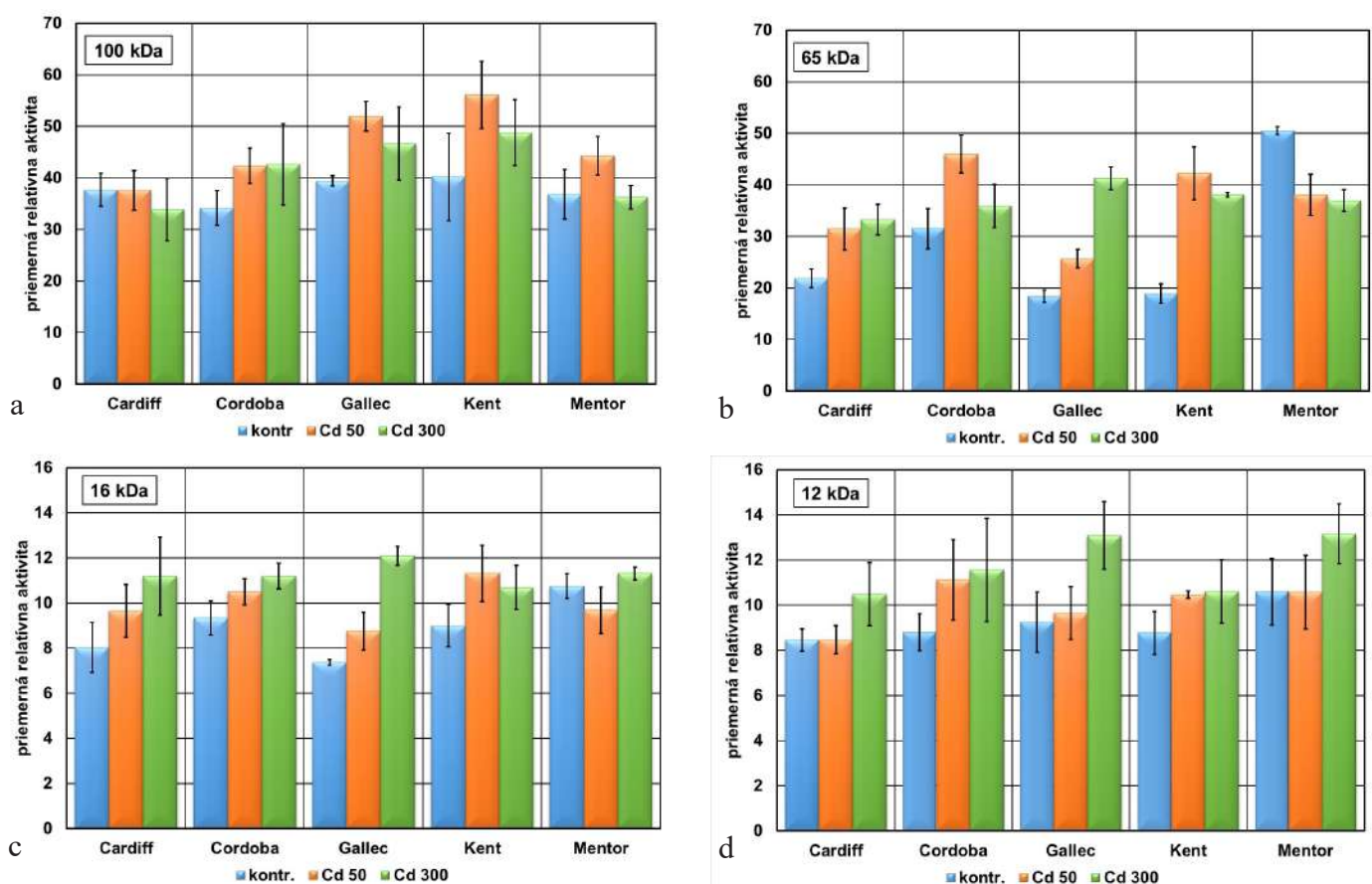
Obr. 1: Detekované izoformy celkových β -1,3-glukanáz v koreňoch klíčkov testovaných odrôd sóje po separácii na polyakrylamidových géloch

Aktivita izoformy glukonáz o veľkosti ~100 kDa pri koncentrácii Cd 50 sa všeobecne zvýšila vo všetkých testovaných odrodách. Pri vyššej koncentrácii Cd 300 sme zaznamenali miernejší nárast aktivity v porovnaní s Cd 50, pričom u odrôd Cardiff a Mentor sme zaznamenali mierny pokles aktivity. Štatisticky významnú ($P \leq 0,05$) zmenu sme však zaznamenali iba v odrode Gallec, keď sa aktivita glukonáz výrazne zvýšila o 32 % v prítomnosti Cd 50 oproti kontrole (graf 1a). Reakcia glukonázovej izoformy s molekulovou hmotnosťou ~65 kDa na aplikované koncentrácie kadmia bola pesterjšia. Zaznamenali sme predovšetkým jej zvýšenie aktivity pri oboch koncentráciách kadmia v štyroch odrodách. Jedine v odrode Mentor došlo k redukcii jej akumulácie v porovnaní s kontrolou až o 27 % (pri Cd 300, $P \leq 0,05$). Štatisticky významnú zvýšenú aktivitu ($P \leq 0,05$, resp. $P \leq 0,01$) sme zistili v nasledovných prípadoch: pri Cd 50 v odrodách Gallec (o 40 %) a Kent (o 124 %); a v reakcii na Cd 300 v odrodách Cardiff (o 52 %), Gallec (o 125 %) a Kent (o 102 %). Rozdiely medzi odrodami sa prejavili aj v kontrastných akumuláciách pri Cd 50 resp. Cd 300 (graf 1b). Izoforma s molekulovou hmotnosťou ~16 kDa sa všeobecne akumulovala vplyvom kadmia u všetkých odrôd. Jedinú štatisticky významnú aktivitu ($P \leq 0,001$) sme však zaznamenali iba u odrody Gallec pôsobením Cd 300, keď jej aktivita stúpila o 64 % (graf 1c). Aktivita najmenšej izoformy o veľkosti ~12 kDa nebola preukázane ovplyvnená ani jednou z testovaných koncentrácií kadmia. Zaznamenali sme však mierny nárast akumulácie tejto izoformy vo všetkých odrodách pri oboch koncentráciách kadmia (graf 1d).

V danom súbore výsledkov sme testovali súvislosti medzi parametrami ako: citlivosť jednotlivých odrôd sóje, aplikované koncentrácie kadmia, aktivita detekovaných izoformí β -1,3-glukanáz. Naše analýzy však neodhalili štatisticky významnú súvislosť medzi uvedenými parametrami, ktorá by bola všeobecne charakteristická. Akumulácia izoformí tak v nestresovaných vzorkách, ako aj vo vzorkách vystavených oboom testovaným koncentráciám kadmia poukazuje na ich nepostrádateľnú úlohu tak vo vývinových či fyziologických procesoch, ako aj v obranných reakciách koreňov sóje voči kadmium. Jednotlivé izoformy β -1,3-glukanáz prejavili

predovšetkým zvýšenú aktivitu v prítomnosti Cd 50 aj Cd 300 a iba v jednom jedinom prípade sme zaznamenali štatisticky preukazne potlačenú aktivitu pri strese kadmim.

Enzýmy β -1,3-glukanáz patria k obranným mechanizmom rastlín voči pôsobeniu rôznych stresorov. Ich aktivita v rastlinách závisí od mnohých faktorov vrátane veku, genotypu a vývojového štádia. /5/ zaznamenali v odrodách Cardiff, Gallec, Moravians a Kent významné zmeny v enzýmovej aktivite celkových glukanáz vplyvom $50 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$, pričom v odrodách Cardiff a Laurentiana bola enzýmová aktivita zvýšená, naopak v odrodách Moravians a Gallec znížená. /9/ opísali indukciu celkovej aktivity glukanáz v koreňoch sóje odrody Korada pôsobením $300 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$. Na druhej strane bola pozorovaná inhibícia aktivity pri $100 \text{ mg.l}^{-1} \text{ As}^{3+}$. Naproti tomu v koreňoch kukurice neboli pozorované žiadne významné zmeny. V iných štúdiách /10/ detekovali v sóji odrody Korada 5 izoforiem (65, 35, 32, 25 a 18 kDa) pri koncentrácii kadmia 300 mg.l^{-1} . Pri izoforme 65 kDa zaznamenali zvýšenie aktivity, čo je v súlade s našimi výsledkami. /5/ detekovali v sóji izoformy ~140, 100, 70, 50, 40 a 25 kDa no nezaznamenali žiadne kvalitatívne zmeny pri pôsobení 50 mg.l^{-1} kadmia.



Graf 1: Relatívne aktivity detekovaných frakcií celkových β -1,3-glukanáz v odrodách sóje vo vzorkách kontroly, resp. stresovaných 50 alebo $300 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$.

Údaje zodpovedajú aritmetickému priemeru z 3 biologických opakovaní, chybové úsečky znázorňujú strednú chybu priemeru. Štatistická významnosť rozdiel hodnôt stresovaných vzoriek vzhľadom na príslušnú kontrolu v rámci danej odrody je vyjadrená pri hladinách: *** $P \leq 0,001$, ** $P \leq 0,01$, * $P \leq 0,05$.

ZÁVER

V testovaných odrodách sóje stresovaných kadmim sme identifikovali štyri izoformy celkových glukanáz ~12, 16, 65 a 100 kDa, ktorých aktivita sa vo všeobecnosti indukovala vplyvom 50 a $300 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$. Miera indukcie však nebola všeobecne a pravidelne podmienená citlivosťou odrody ako ani koncentráciou kadmia. Z výsledkov práce vyplýva, že testované koncentrácie kadmia spôsobujú len kvantitatívne zmeny v aktivite β -1,3-glukanáz, a teda nevyvolávajú indukciu novej izoformy špecifickej pre slabší alebo silnejší stres, resp. pre citlivejšiu alebo tolerantnejšiu odrodu sóje. Aktivita jednotlivých izoforiem glukanáz je zrejme podmienená aj ich multifunkčným charakterom v rastlinných pletivách.

LITERATÚRA

- /1/ Balasubramanian, V. et al.: Plant β -1,3-glucanases: their biological functions and transgenic expression against phytopathogenic fungi. *Biotechnology Letters*, 34, 2012: 1983–1990.
- /2/ Dobnik, D. et al.: β -1,3-glucanase class III promotes spread of PVY NTN and improves in planta protein production. *Plant Biotechnology Reports*, 7, 2013: 574–585.
- /3/ Piršelová, B., Matušíková I.: Proteíny rastlinnej patogenézy v procese obrany rastlín voči kovom. Aktuální kapitoly z fyziologie rostlin a zemědělského výskumu 2011. Praha: VURV. 2011: 256 s.
- /4/ Cheong, Y.H. et al.: Molecular cloning of a soybean class III β -1,3-glucanase gene that is regulated both developmentally and in response to pathogen infection. *Plant Science*, 154, 2000: 71–81.
- /5/ Bardáčová, M. et al.: The activity of cell-wall modifying β -1,3-glucanase in soybean grown in presence of heavy metals. *Nova Biotechnologica Chimica*, 15, 2016: 114–121.
- /6/ Pan, S.Q. et al.: A technique for detection of chitinase, beta-1,3-glucanase, and protein-patterns after a single separation using polyacrylamide-gel electrophoresis or isoelectrofocusing. *Phytopathology*, 81, 1991:970–974.
- /7/ Laemmli, U. K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227, 1970: 680–685.
- /8/ Socha, P. et al.: Cd accumulation potencial as a marker for heavy metal tolerance in soybean. *Israel Journal of Plant Sciences*, 62, 2015: 160–166.
- /9/ Piršelová, B. et al.: Study on metal-triggered callose deposition in roots of maize and soybean. *Biologia*, 67, 2012: 698–705.
- /10/ Piršelová, B. et al.: Biochemical and physiological comparison of heavy metal-triggered defense responses in the monocot maize and dicot soybean roots. *Molecular Biology Reports*, 38, 2011: 3437–3446.

POĎAKOVANIE

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory projektov VEGA 1/0415/18 a ITMS 26220220180.



ŤAŽKÉ KOVY V BALOTE ČIERNEJ, MÚROVNÍKU LEKÁRSKOM A ČIERNOHLÁVKU OBYČAJNOM NA LOKALITÁCH BÝVALÝCH BANÍ V MALÝCH KARPATOCH

HEAVY METALS IN BLACK HOREHOUND, PELLITORY OF THE WALL D COMMON SELFHEAL ON THE LOCATIONS OF FORMERLY MINES IN MALÉ KARPATY MTS.

MARIANNA MOLNÁROVÁ¹, JANA RUŽIČKOVÁ¹, BLANKA LEHOTSKÁ², AGÁTA FARGAŠOVÁ¹

¹UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE, PRÍRODOVEDECKÁ FAKULTA, KATEDRA ENVIRONMENTÁLNEJ EKOLOGIE, MLYNSKÁ DOLINA, ILKOVIČOVA 6, 842 15 BRATISLAVA 4, SLOVENSKÁ REPUBLIKA, MARIANNA.MOLNAROVA@UNIBA.SK, JANA.RUZICKOVA@UNIBA.SK, AGATA.FARGASOVA@UNIBA.SK

²UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE, PRÍRODOVEDECKÁ FAKULTA, KATEDRA KRAJINNEJ EKOLOGIE, MLYNSKÁ DOLINA, ILKOVIČOVA 6, 842 15 BRATISLAVA 4, SR, BLANKA.LEHOTSKA@UNIBA.SK

SUMMARY

Intensive mining of antimony and lead was near the villages Pernek and Pezinok in the Malé Karpaty Mts. in the past. These elements together with arsenic are naturally increased in the geological base. We studied the presence of toxic (As, Cd, Pb and Sb) and essential (Cu and Zn) metals in the plants at these localities. We observed increased concentrations of Pb in both roots and above ground parts of plants in several localities, as well as accumulation of As and Pb in the leaves of *Ballota nigra* and *Parietaria officinalis*, which are used in traditional medicine. Based on our results, the collection of medicinal plants at these sites is not recommended due to the accumulation of toxic metals in their leaves.

Key words: *heavy metals; old mines near Pezinok; accumulation; plants; translocation index*

SÚHRN

V Malých Karpatoch v okolí Perneku a Pezinku prebiehala v minulosti intenzívna ťažba antimónu a olova, ktoré sa spolu s arzénom nachádzajú vo zvýšenej miere v geologickom podloží. V rámci nášho výskumu sme študovali prítomnosť toxických (As, Cd, Pb a Sb) aj esenciálnych (Cu a Zn) prvkov v rastlinách zbieraných na týchto lokalitách. V zbieraných druhoch rastlín sme na viacerých lokalitách zaznamenali hlavne zvýšené koncentrácie Pb v koreňoch aj nadzemných častiach, ako aj akumuláciu As a Pb v listoch *Ballota nigra* a *Parietaria officinalis* využívaných v tradičnej medicíne. Na základe našich výsledkov sa zber liečivých rastlín na týchto lokalitách v dôsledku akumulácie toxických kovov v ich listoch neodporúča.

Kľúčové slová: *ťažké kovy; staré bane pri Pezinku; akumulácia; rastliny; translokačný index*

ÚVOD

Výskum nadväzuje na naše predchádzajúce výsledky /1/. Lokality v okolí Pezinku a Perneku v Malých Karpatoch sú známe prirodzene zvýšenými koncentraciami As, Cd, Sb a Pb v geologickom podloží, pôde aj sedimentoch /2/. Nachádzajú sa tu viaceré už zatvorené banské diela ako napr. Kolársky Vrch so štôľňou Sirková, kde sa ešte do polovice 20. st. intenzívne ťažil antimón /3-5/.

Banské diela predstavujú pre biotu na týchto lokalitách značné environmentálne riziko. Významné znečistenie As a Sb sa potvrdilo napr. niekoľko kilometrov pozdĺž potoka Blatina, ktorý tečie v okolí Pezinka /6, 7/.



Obr. 1: Mapa odberových miest v Malých Karpatoch

TRNh - horný tok Trnianskeho potoka v Kučišdorfskej doline blízko Pezinka; STOh - horný tok Stoličného potoka pri Modre Harmónii; STOd - dolný tok Stoličného potoka pri Blatnom; GIDh - horný tok Gidry pri Pile; GIDd - dolný tok Gidry pri Cíferi; MALh - horný tok Maliny pri Kuchyni; ROHh - horný tok Rohožníckeho potoka pod kameňolomom Vajarská

V rámci nášho výskumu sme študovali 5 lokalít priamo v pohorí Malých Karpát na horných tokoch Trnianskeho, Stoličného, Rohožníckeho potoka, Maliny a Gidry; a 2 lokality na dolných tokoch Stoličného potoka a Gidry (obr. 1). Keďže v blízkosti prameňa Stoličného potoka je nepomenovaná štôlna č. 8 s bývalou ťažbou As a Sb, resp. nepomenovaná štôlna č. 3 pri Rohožníckom potoku s ťažbou Pb /7/, predpokladáme na týchto lokalitách v rastlinách vyššiu akumuláciu týchto prvkov. Navyše týždeň pred odbermi zasiahla oblasť toku Gidry povodeň (7. 6. 2011), a zvýšené vodné hladiny boli zaznamenané aj v Pezinku na Blatine /8/, čo mohlo zvýšiť transport prvkov z geologického podložia do nižších oblastí sledovaných miest.

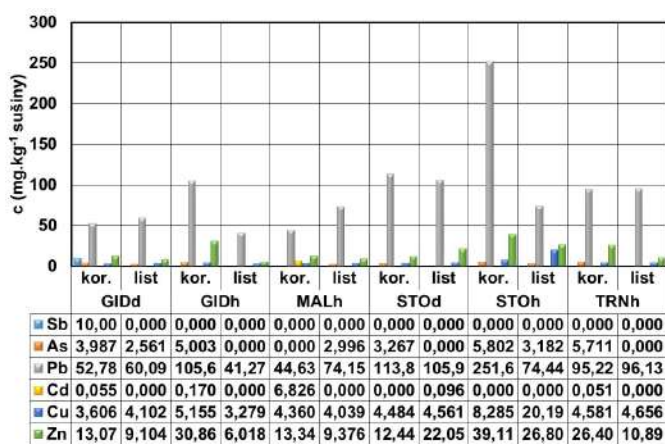
MATERIÁL A METÓDY

Sledované lokality sa nachádzajú ako na východnej tak aj na západnej strane Malých Karpát v blízkosti potokov Trniansky, Stoličný a Gidra, ako aj Rohožnícky a Malina (obr. 1).

Trniansky potok sa neskôr vlieva za obcou Vinosady do Stoličného potoka. V polovici júna 2011 sme študovali balotu čiernu (*Ballota nigra* L.), múrovníka lekárskeho (*Parietaria officinalis* L.) a čiernohlávku obyčajného (*Prunella vulgaris* L.). Po zbere boli rastliny prenesené v chlade do laboratória, umyté vo vodovodnej a destilovanej vode, a po oddelení koreňov a listov usušené pri 55 °C. Minimálne 11 mg sušiny sa nechalo mineralizovať cez noc v 5 ml koncentrovanej $\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{O}_2$ (4:1) pri laboratórnej teplote. Na ďalší deň sa vzorka mineralizovala pri 180 °C 1 hod v autoklávoch ZA-1 (ČR) /7/. Po ochladení sa zmes doplnila na 25 ml destilovanou vodou a obsah kovov sa elektrochemicky stanovil na prístroji EcaFlow 150 GLP (Istran, SR). Metóda je porovnateľná s metódou AAS /9/. Translokácia kovov z koreňov do výhonkov (translokačný index Ti) sa vypočítala ako /10/: $\text{Ti} = (\text{koncentrácia kovu v liste})/(\text{koncentrácia kovu v koreni})$.

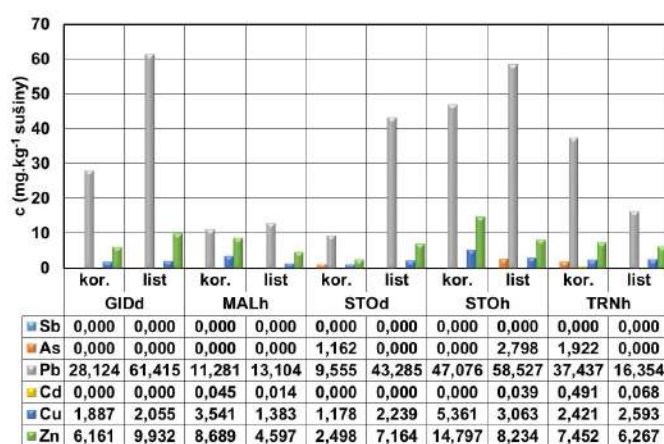
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Kým prítomnosť Sb sa nepotvrdila na žiadnej lokalite ani v jednej zo zbieraných rastlín (obr. 2 až 4), zvýšené koncentrácie As sa potvrdili v *B. nigra* a *P. officinalis* odoberaných na viacerých lokalitách. Na hornom toku Trnianskeho potoka sa potvrdila prítomnosť Cd ako v koreni tak aj v listoch *P. vulgaris* (obr. 4). Keďže tento prvok sa v *B. nigra* akumuloval na viacerých lokalitách len v koreni, jeho translokačný index sa nedal vypočítať (tab. 1).



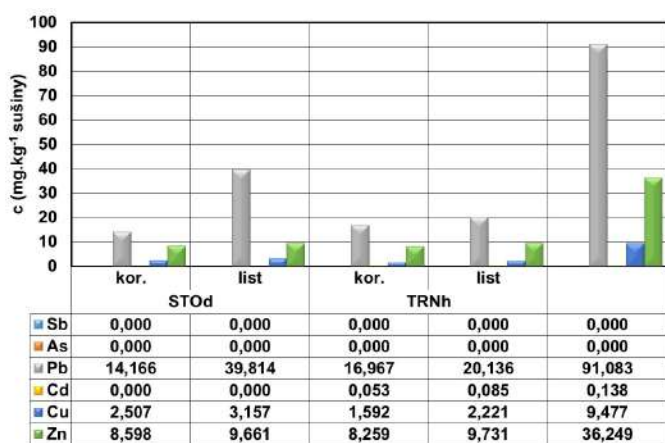
Obr. 2: Koncentrácia sledovaných kovov v koreňoch (kor.) a listoch (list) *Ballota nigra* na sledovaných lokalitách (n = 3)

TRNh - horný tok Trnianskeho potoka; STOh - horný tok Stoličného potoka; STOd - dolný tok Stoličného potoka; GIDh - horný tok Gidry; GIDd - dolný tok Gidry; MALh - horný tok Maliny; ROHh - horný tok Rohožníckeho potoka



Obr. 3: Koncentrácia sledovaných kovov v koreňoch (kor.) a listoch (list) *Parietaria officinalis* na sledovaných lokalitách (n = 3)

V tab. 1 sú tučným písmom zvýraznené hodnoty vyššie ako 1, ktoré indikujú zvýšenú translokáciu prvku z koreňa do výhonku. Výrazne vyššia akumulácia Pb sa potvrdila v *P. officinalis* zbieranej pri Rohožníckom potoku, čo sa dalo predpokladať v dôsledku jeho bývalej ťažby v tejto oblasti /7/. Keďže sa vňat' *B. nigra* a



P. vulgaris používa v tradičnom liečiteľstve [11, 12], na základe uvádzaných výsledkov neodporúčame v dôsledku zvýšeného obsahu Pb v ich nadzemných častiach ich zber v oblasti horného toku potoka Malina, ako aj dolného toku Stoličného potoka.

Obr. 4: Koncentrácia sledovaných kovov v koreňoch (kor.) a listoch (list) *Prunella vulgaris* na sledovaných lokalitách ($n = 3$)

Tab. 1: Translokačné indexy (T_i) pre sledované kovy v rastlinách na zvolených lokalitách

Druh	<i>Ballota nigra</i>						<i>Parietaria officinalis</i>					<i>Prunella vulgaris</i>	
lokalita	MALh	GIDh	GIDd	TRNh	STOh	STOd	MALh	ROHh	GIDd	STOh	STOd	TRNh	STOd
Ti (As)	-	-	0,64	-	0,55	-	-	-	-	-	-	-	-
Ti (Pb)	1,66	0,39	1,14	1,01	0,30	0,93	1,16	4,53	2,18	0,44	1,24	1,19	2,81
Ti (Cd)	-	-	-	-	-	-	0,30	-	-	0,14	-	1,60	-
Ti (Cu)	0,93	0,64	1,14	1,02	2,44	1,02	0,39	1,90	1,09	1,07	0,57	1,40	1,26
Ti (Zn)	0,70	0,19	0,70	0,41	0,69	1,77	0,53	2,87	1,61	0,84	0,56	1,18	1,12

ZÁVER

Keďže *B. nigra* a *P. vulgaris* sa využívajú ako liečivé byliny v tradičnej medicíne v Európe aj Ázii, je potrebné pri výbere lokalít ich zberu venovať značnú pozornosť z pohľadu úrovne kontaminácie odberových lokalít toxickými kovmi. Na základe našich výsledkov zber týchto liečivých rastlín v dôsledku zvýšenej akumulácie As a Pb v ich listoch aj koreňoch z nami hodnotených lokalít neodporúčame.

LITERATÚRA

/1/ Molnárová, M., Ružičková, J., Lehotská, B., Filová, A., Fargašová, A.: Ťažké kovy v prhl'ave dvojdomkej (*Urtica dioica*) a netýkavke malokvetej (*Impatiens parviflora*) z lokalít v Malých Karpatoch zaťažených starou banskou činnosťou. Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2018: Sborník recenzovaných vědeckých prací. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2018, s. 31 – 35. Dostupné na: <http://ife.sk/wp-content/uploads/2016/10/Zborn%C3%ADk-2018-.pdf>.

/2/ Veselský, J., Forgáč, J., Mejeed, S.Y.: Kontaminácia pôdy a aktívnych riečnych sedimentov Malých Karpát (oblast Pezinok – Pernek). Mineralia Slovaca, 28, 1996: 209 – 218.

/3/ Cambel, B.: Hydrotermálne ložiská v Malých Karpatoch, mineralógia a geochemia rúd. Acta Geologica et Geographica Universitatis Comenianae: Geologica, 3, 1959: 1 – 348.

/4/ Fláková, R., Ženišová, Z., Sracek, O., Krčmár, O., Ondřejková, I., Chovan, M., Lalinská-Voleková, B., Fendeková, M.: The behavior of arsenic and antimony at Pezinok mining site, southwestern part of the Slovak Republic. Environmental Earth Sciences, 66, 2012: 1043 – 1057.

/5/ Majzlan, J., Lalinská, B., Chovan, M., Jurkovič, E., Milovská, S., Göttlicher, J.: The formation, structure, and ageing of As-rich hydrous ferric oxide at the abandoned Sb deposit Pezinok (Slovakia). Geochimica et Cosmochimica Acta, 71, 2007: 4206 – 4220.

/6/ Bowen, H.J.M.: Environmental Chemistry of the Elements. Academic Press: London, UK, 1979, 348 s.

/7/ Molnárová, M., Ružičková, J., Lehotská, B., Takáčová, A., Fargašová, A.: Determining As, Cd, Cu, Pb, Sb, and Zn in leaves of trees collected near mining locations of Malé Karpaty Mts. in the Slovak Republic. Polish Journal of Environmental Studies, 27(5), 2018: 2179 – 2191.

- /8/ Anonymus: Povodeň na toku Gidra. Stavebná fakulta STU v Bratislave, Katedra vodného hospodárstva krajiny. Dostupné na: <http://www.kvhk.sk/sk/fotogaleria/povoden-na-toku-gidra>, cit. 23.5.2019.
- /9/ Beinrohr, E.: Prietokové elektroanalytické metódy v praxi. 2 THETA: Český Těšín, ČR, 2013, 112 s.
- /10/ Chandra, R., Azeez, P.A.: Bioaccumulation of metals in different parts of weed species at proposed bauxite mines. *Advanced Materials Research*, 71-73, 2009: 609 – 612.
- /11/ Esmail Al-Snafi, A.: The pharmacological importance of *Ballota nigra* – A review. *Indian Journal of Pharmaceutical Science & Research*, 5 (4), 2015: 249 – 256.
- /12/ Collins, N.H., Lessey, E.C., DuSell, C.D., McDonnell, D.P., Fowler, L., Palomino, W.A., Illera, M.J., Yu, X., Mo, B., Houwing, A.M., Lessey, B.A.: Characterization of antiestrogenic activity of the Chinese Herb, *Prunella vulgaris*, using in vitro and in vivo (mouse xenograft) models. *Biology of Reproduction*, 80, 2009: 375 – 383.

POĎAKOVANIE

Výskum bol podporený grantom MŠVVaŠ SR VEGA 1/0332/18.



CHARAKTERISTIKY PRIEDUCHOV LISTOV RÔZNYCH ODRÔD VITIS VINIFERA PESTOVANÝCH NA JUHOZÁPADNOM SLOVENSKU

CHARACTERISTICS OF STOMATA IN THE LEAVES OF DIFFERENT VITIS VINIFERA VARIETIES GROWING ON SOUTH-WESTERN SLOVAKIA

ŽANETA PAUKOVÁ

SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA V NITRE, FAKULTA EURÓPSKÝCH ŠTÚDIÍ A REGIONÁLNEHO ROZVOJA, KATEDRA EKOLÓGIE, MARIÁNSKA 10, 949 01 NITRA, +421 37 641 5620, ZANETA.PAUKOVA@UNIAG.SK

SUMMARY

In this study, the selected characteristic of stomata was determined on *Vitis vinifera* L. (Vitaceae) on arable land in the south-western Slovakia. Stomatal density of leaves per 1 mm² was determined by microrelief method in randomly selected leaves of each nine varieties in vegetation season 2018. Leaves were hypostomatic. The number of stomata (density) per 1 mm² of area varied from 131 ± 12.39 to 221 ± 24.22 , stomatal length ranged from 29.6 ± 1.58 μ m to 35.6 ± 2.50 μ m, and stomatal width ranged from 21.1 ± 3.38 μ m to 25.7 ± 2.50 μ m in the nine varieties (Dunaj, Nitria, Rizling rýnsky, Rulandské biele, Rulandské modré, Rulandské šedé, Sauvignon, Tramín červený and Veltínske zelené), with a negative relationship between stomatal density and stomatal size ($r = 0.26$, $p < 0.05$). Between the length and width of the stomata ($r = 0.63$, $p < 0.05$) were observed significant correlations. Stomatal index was 8.5 %.

Key words: *eco-physiological characteristic; morphometric characteristics; stomata; Vitis vinifera*

SÚHRN

V práci sme sledovali vybrané charakteristiky prieduchov *Vitis vinifera* L. (vinič hroznorodý) (Vitaceae) pestovanej v poľných podmienkach juhozápadného Slovenska. Počet prieduchov listov na 1 mm² sme determinovali mikroreliefovou metódou na náhodne vybraných listoch deviatich odrôd vo vegetačnom období v roku 2018. Listy sú hypostomatické. Počet prieduchov (hustota) na 1 mm² varíroval od $131 \pm 12,39$ do $221 \pm 24,22$, dĺžka od $29,6 \pm 1,58$ μ m do $35,6 \pm 2,50$ μ m a šírka od $21,1 \pm 3,38$ μ m do $25,7 \pm 2,50$ μ m vo všetkých deviatich odrodách (Dunaj, Nitria, Rizling rýnsky, Rulandské biele, Rulandské modré, Rulandské šedé, Sauvignon, Tramín červený a Veltínske zelené), s negatívnym vzťahom medzi hustotou a veľkosťou prieduchov ($r = 0,26$; $p < 0,05$). Výrazné korelačné závislosti sme zistili medzi dĺžkou prieduchov a ich šírkou ($r = 0,63$; $p < 0,05$). Stomatálny index nadobudol hodnotu 8,5 %.

Kľúčové slová: *ekofyziologické charakteristiky; morfometrické charakteristiky; prieduchy; Vitis vinifera*

ÚVOD

Pestovaním viniča hroznorodého (*Vitis vinifera* L.) a výrobou vína sa na našom území zaoberá už viac generácií. Na zvyšovanie úrovne vinohradníctva sú potrebné okrem praktických skúsenosti aj hlbšie teoretické znalosti z biológie, ekológie a ekofyziológie viniča, aby bolo jeho pestovanie úspešne aj v zmenených klimatických podmienkach 21. storočia. Za jednu z významných špecifických vlastností považujeme stomatárny aparát, jeho stavbu, hustotu a funkciu. Tieto vlastnosti korešpondujú s environmentálnymi faktormi pôsobiacimi počas rastu listov, najvýznamnejšie sú dostupnosť vody, hustota ožiarenia, teplota, koncentrácia CO₂ /7, 8, 13/.

Mnoho publikácií poukázalo na rozdiely medzi druhmi rodu *Vitis*, avšak málo informácií je medzi jednotlivými odrodami. Cieľom tejto štúdie bolo rozšíriť informácie o vzťahu medzi hustotou a veľkosťou prieduchov pokožky listov rôznych odrôd druhu *Vitis vinifera* pestovaného na poľnohospodárskej pôde juhozápadného Slovenska.

MATERIÁL A METÓDY

Výskum sme uskutočnili vo vinohrade v obci Radošina v juhozápadnej časti okresu Topoľčany v Nitrianskom samosprávnom kraji. Podľa zrnitosti patrí pôda k stredne ťažkým až ťažkým pôdam. Expozícia lokality je južná, východná a západná, mierny svah (3° až 7°). Pôdy sú hlboké (60 cm a viac) slabo skeletovité, v pod-

povrchovom horizonte 10–25 %. Zaujmová oblasť patrí do teplého, veľmi suchého, nížinného klimatického regiónu. Najstarší porast vinohradu bol založený v roku 2001 a najmladší v roku 2016 /3/.

Vitis vinifera L. (Vitaceae) patrí z morfológického hľadiska medzi dreviny, liany prichytávajúce sa s úponkami. Hlavná stonka končí ako úponka a ďalší rast preberá bočná stonka, vyrastajúca v pazuche listu (sympódium). Striedavé listy sú dlaňovito delené alebo dlaňovito zložené; 4–5 početné kvety sú pravidelné, obojpohlavné alebo jednopohlavné, zoskupené do metlín. Plodom je bobuľa, so 4 semenami. Sú to entomofilné rastliny /2/.

Hustotu prieduchov na listoch *V. vinifera* sme stanovovali nedeštruktúrnou metódou v troch náhodne vybraných rastlinách z každej z deviatich odrôd: Dunaj, Nitria, Rizling rýnsky, Rulandské biele, Rulandské modré, Rulandské šedé, Sauvignon, Tramín červený a Veltínske zelené. Analýzu sme urobili vždy na dospelom liste orientovanom na západ vo výške 1,3 m od povrchu pôdy pomocou mikoreliéfovej metódy /1, 9, 10, 12/.

Odtlačky povrchu listov sme preniesli na podložné sklíčko a preparáty sme pripravili na ďalšie pozorovanie. Mikoreliéfy sme odobrali v strednej časti listu (mimo hlavného nervu) orientovaného na západ z abaxiálnej (spodnej) strany vo vegetačnom období v roku 2018. Preparáty sme hodnotili pomocou optického mikroskopu Axiostar plus, Carl Zeiss, objektívom CP-Achromat 40×/0,65, okulár PI 10×/18, softvérom Canon Utilities Zoom Browser Ex 4.6 a hardware Acer Travel Mate 4600, Canon Power Shot A 95. Spracovali sme 72 vzoriek. Sledovanie preparátov sme realizovali v laboratóriu Aplikovanej ekológie výskumného centra Agrobiotech Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre v mesiacoch január a február 2019.

Hustotu prieduchov sme vyhodnotili na ploche 1 mm² Stomatálny index (*SI*) sme vypočítali nasledovne: zo vzťahu:

$$F = z / a^2 \text{ štruktúr, kde}$$

F - hustota prieduchov,

z - počet štruktúr,

*a*² - plocha štvorca (1 mm²).

$$SI = (S/S+E) \cdot 100 \%, \text{ kde}$$

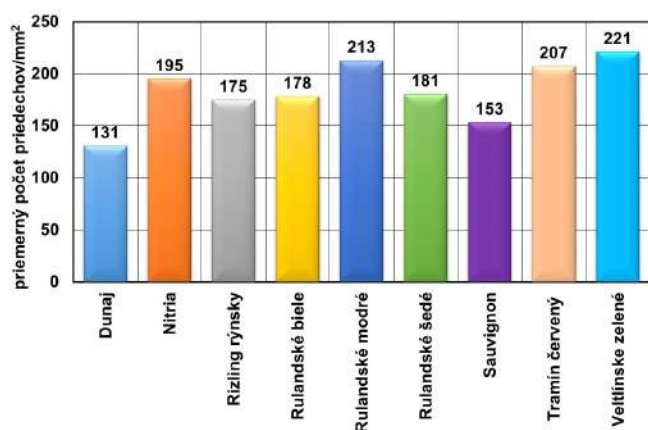
S - počet prieduchov,

E - počet buniek epidermis /6, 11/.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Hustota prieduchov dospelých hypostomatických listov všetkých hodnotených odrôd viniča hroznorodého odobraných z poľných podmienok varíovala od 131 ± 12,39 do 221 ± 4,22, pričom u väčšiny odrôd sa pohybovali v rozmedzí od 175–207 na 1 mm² (graf 1). Stomatálny index bol 8,5 %. Kolektív autorov /5/ podobne uvádza počet prieduchov *V. vinifera* od 152–229 na 1 mm² so stomatálnym indexom pohybujúcim sa v rozmedzí od 6–9 %.

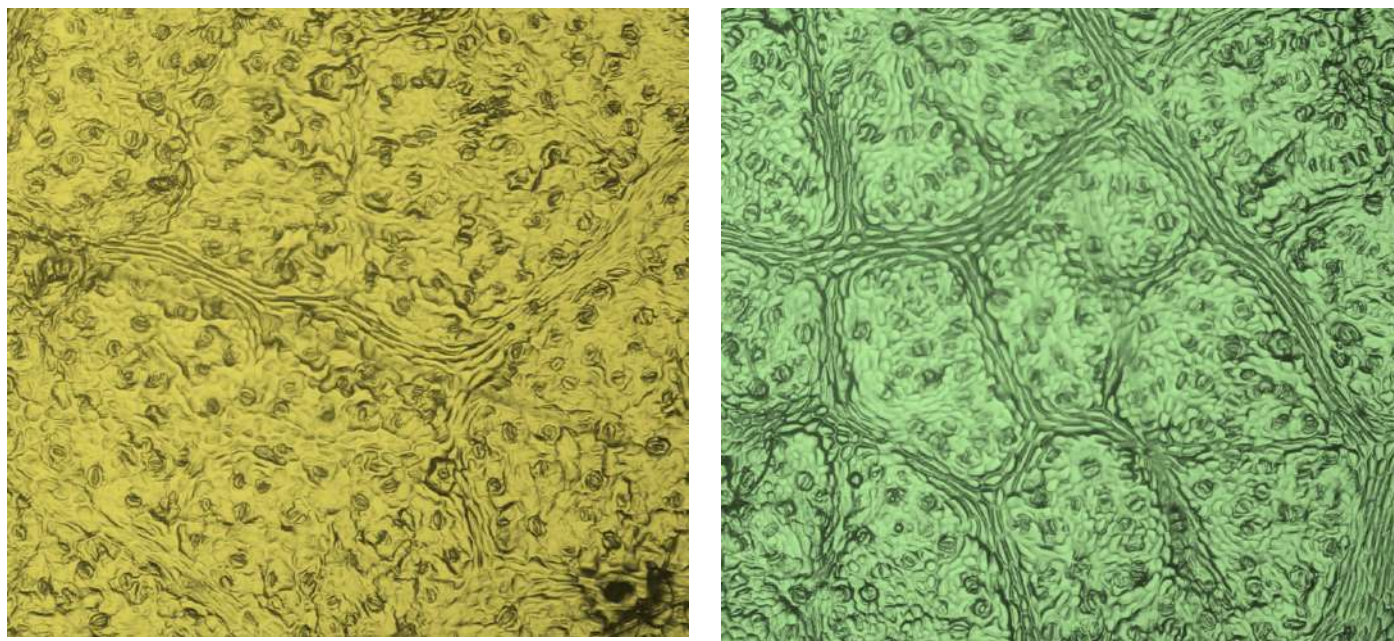
Z hodnotenia počtu prieduchov a ich morfometrických znakov vyplynulo, že najväčšiu priemernú dĺžku a šírku prieduchov *V. vinifera* mali listy odrody Veltínske zelené a naopak najnižšiu odroda Rulandské biele (tab. 1, obr. 1). Pri skúmaní 12. odrôd *V. vinifera* /4/ zistili v rokoch 2008 a 2009 väčšiu priemernú dĺžku (41,74 μm) a šírku (26,48 μm) prieduchov, pričom autori konštatujú, že nezaznamenali štatisticky preukázane rozdiely medzi hustotou a veľkosťou prieduchov.



Graf 1: Priemerná hustota prieduchov listov odrôd *Vitis vinifera*

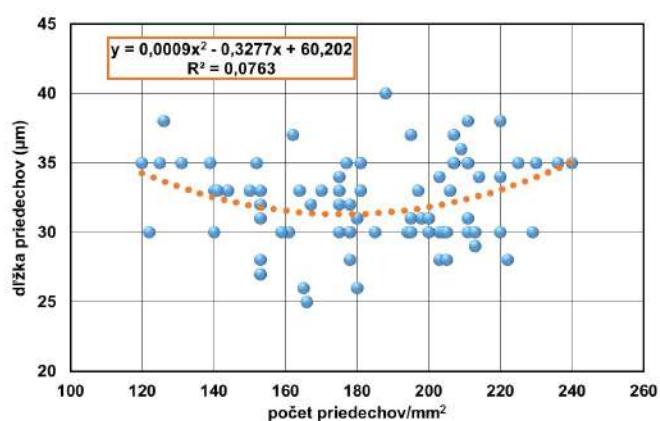
Tab. 1: Morfometrické charakteristiky odrôd *Vitis vinifera*

Odrôda	prieduchy	
	dĺžka (μm)	šírka p (μm)
Dunaj	34,5 ± 2,12	24,6 ± 2,91
Nitria	32,5 ± 2,55	20,6 ± 1,87
Rizling rýnsky	31,4 ± 2,84	21,4 ± 2,80
Rulandské biele	29,6 ± 1,58	21,1 ± 3,38
Rulandské modré	30,7 ± 1,89	21,6 ± 2,37
Rulandské šedé	32,7 ± 2,75	22,6 ± 2,59
Sauvignon	30,8 ± 2,78	22,5 ± 1,27
Tramín červený	32,0 ± 3,74	22,8 ± 2,10
Veltínske zelené	35,6 ± 2,50	25,7 ± 2,50

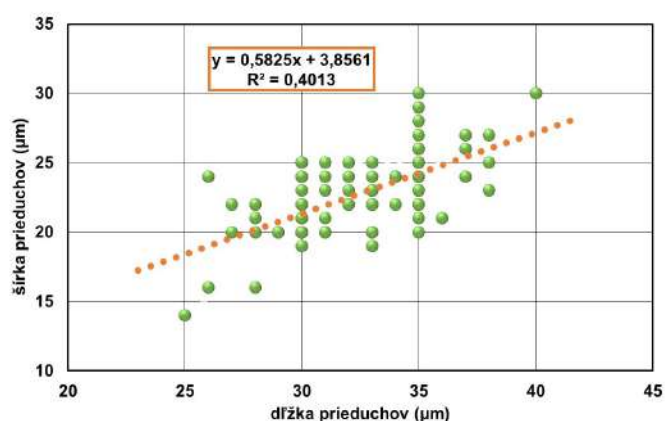


Obr 1: Prieduchy listov *Vitis vinifera* odrôdy Vetlinské zelené (vpravo) a Rulandské biele (vľavo) na 1 mm²

Tieto údaje korešpondujú s našimi výsledkami, pretože sme nezistili štatisticky preukázaný rozdiel pri počte prieduchov listov *V. vinifera* a ich veľkosťou ($r = 0,26$, $p < 0,05$) (graf 2). Medzi dĺžkou a šírkou prieduchov *V. vinifera* sme však zistili výraznú korelačnú závislosť ($r = 0,63$, $p < 0,05$) (graf 3).



Graf 2: Biometrické hodnotenie vzťahov medzi hustotou (na 1 mm²) a veľkosťou prieduchov (μm) odrôd *Vitis vinifera*



Graf 3: Biometrické hodnotenie vzťahov medzi dĺžkou a šírkou prieduchov (μm) odrôd *Vitis vinifera*

LITERATÚRA

- 1/ Habrová, V.: Mikroskopická technika. Praha, Státní pedagogické nakladatelství, 1990: 76-78.
- 2/ Baranec, T., Poláčíková, M., Košťál, L.: Systematická botanika. 3. vyd., Nitra, SPU, 2009: 111.
- 3/ Bírová, S.: Informácie o založení porastu a pôdnej charakteristike. Elektronická správa. 2019.
- 4/ Boso, S., Gago, P., Alonso-Villaverde, V., Santiago, J.L., Martinez, M.C.: Density and size of stomata in the leaves of different hybrids (*Vitis* sp.) and *Vitis vinifera* varieties. *Vitis*, 55, 2016: 17-22.
- 5/ González, C. V., Jofré, M. F., Vila, H. F., Stoffel, M., Bottini, R., Giordano, C. V.: Morphology and Hydraulic Architecture of *Vitis vinifera* L. cv. Syrah and Torronte's Riojano Plants Are Unaffected by Variations in Red to Far-Red Ratio. *Plos one*, 11, 2016.
- 6/ Mallick, M., Awasthi, O. P., Paul, V., Verma, M. K., Jha, G.: Effect of physical and chemical mutagens on leaf sclerophyly and stomatal characteristics of Kinnow mandarin mutants. *Indian Journal of Horticulture*, 73, 2016: 291-293.

- /7/ Manuel, J., Reigosa, R.: Handbook of Plant Ecophysiology Techniques, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London, 2001.
- /8/ Martin, E. S., Donkin, M. E, Stevens, R. A.: Stomata. London, UK, Edward Arnold Publishers Limited, 1983.
- /9/ Pauková, Ž., Jureková, Z.: Charakteristiky prieduchov v pokožke listov *Miscanthus sinensis* pestovaného v environmentálnych podmienkach juhozápadného Slovenska. Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2014, Praha, ČZU, 2014: 186-189.
- /10/ Pauková, Ž., Jureková, Z.: Diverzita prieduchov dvoch taxónov trvácich bioenergetických tráv. Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2018, Praha, ČZU, 2018: 173-177.
- /11/ Paul, V., Sharma, L., Pandey, R., Meena, R. C.: Measurement of stomatal density and stomatal index on leaf/plant surfaces. Manual of ICAR, 2017.
- /12/ Pazourek, J.: Studium listové epidermis mikroreliefovou metódou. Preslia, 35, 1963: 210-216.
- /13/ Woodward, F. I., Kelly, C. K.: The influence of CO₂ concentration on stomatal density. New Phytol. 1995: 311-327.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporovaná Agentúrou VEGA MŠSR pod registračným číslom projektu 1/0767/17 a projektom AgroBioTech ITMS 26220220180.



HODNOTENIE HORMETICKÉHO ÚČINKU ARZÉNU NA RAST A OBSAH FOTOSYNTETICKÝCH PIGMENTOV KUKURICE SIATEJ (*ZEa MAYS* cv. Mv NK 333)

ASSESSMENT OF HORMETIC EFFECT OF ARSENIC ON GROWTH OF MAIZE (*ZEa MAYS* cv. Mv NK 333)

BEÁTA PIRŠELOVÁ, LIBUŠA LENGYELOVÁ, ĽUDMILA GALUŠČÁKOVÁ

UNIVERZITA KONŠTANTÍNA FILOZOFA V NITRE, FPV, KATEDRA BOTANIKY A GENETIKY, NÁBREŽIE MLÁDEŽE 91, 949 01 NITRA, BPIRSELOVA@UKF.SK

SUMMARY

In our experiments we evaluated the effect of low doses of arsenic As(III) (1, 2, 3 and 5 mg/kg soil) on the growth and photosynthetic efficiency of maize leaves (*Zea mays* cv. Mv NK 333). After 10 days of growth in contaminated soil, we observed an increase in shoot length of 12%, 23%, 28 and 30%, at 3 and 5 mg/kg of soil, fresh shoot weight increased (by 10–26 %), as well as dry matter content of shoots (by 11–24%). The content of photosynthetic pigments in the leaves increased due to the increasing concentration of arsenic, the changes were not statistically significant. We also did not notice changes in the chlorophyll *a*/chlorophyll *b* ratio. To clarify the mechanisms of hormesis requires additional experimental approaches.

Key words: maize; arsenic; stimulation, growth

SOUHRN

V rámci našich experimentov sme hodnotili vplyv nízkych dávok arzénu As(III) (1, 2, 3 a 5 mg/kg pôdy) na rast a fotosyntetickú účinnosť listov kukurice (*Zea mays* cv. Mv NK 333). Po 10 dňoch rastu v kontaminovanej pôde sme zaznamenali nárast dĺžky výhonkov o 12 %, 23 %, 28 a 30 %, pri dávkach 3 a 5 mg/kg pôdy sa zvýšila čerstvá hmotnosť výhonkov (o 10–26 %) aj obsah sušiny (o 11–24 %). Obsah fotosyntetických pigmentov v listoch sa vplyvom narastajúcej koncentrácie arzénu zvýšil, dané zmeny neboli štatisticky významné. Taktiež sme nezaznamenali zmeny v pomere chlorofyl *a*/chlorofyl *b*. Objasnenie mechanizmov fenoménu hormézy si vyžaduje ďalšie experimentálne prístupy.

Klíčovú slova: kukurica; arzén; stimulácia, rast

Úvod

Arzén (As) je toxický prvok, ktorý sa vyskytuje prirodzene, no môže sa aj akumulovať v životnom prostredí v dôsledku ľudského pôsobenia /1/. Ide o hrozbu pre milióny obyvateľov z hľadiska zdravia a potravinovej bezpečnosti /2/.

Bežné koncentrácie arzénu v pôde sa pohybujú medzi 1–50 mg.kg⁻¹ /3/, s priemernou hodnotou pre svetové pôdy 4,4 mg.kg⁻¹ u podzolov a 9,3 mg.kg⁻¹ pre organozeme a strednou hodnotou 7,2 mg.kg⁻¹ pre pôdy Slovenskej republiky. Pri vyšších koncentráciách je arzén pre väčšinu rastlín toxický. Prvé symptómy toxicity arzénu na rastliny sa prejavujú už pri klíčení, pri mladých rastlinách vädnutím, chlorózami, nekrózami, odumieraním listov, obmedzením rastu a znížením výnosov plodín, pričom narušenie mechanizmu príjmu a translokácie živín sa považuje za hlavný dôvod zníženia vitality rastlín /4/.

Jedným z mnohých zaujímavých paradoxov súvisiacich s toxicitou As je, že rast rastlín je stimulovaný pri nízkych koncentráciách As /5–8/. Mechanizmus hormetického účinku arzénu na rastliny však doteraz nie je celkom objasnený.

Cieľom našich experimentov bolo overiť hormetický účinok arzénu na rast a obsah fotosyntetických pigmentov kukurice siatej (*Zea mays* cv. Mv NK 333).

MATERIÁL A METÓDY

Experiment bol koncipovaný ako nádobový. Plastové nádoby boli naplnené záhradníckym substrátom (pH 4,5–6,5, max. vlhkosť 70 %), do ktorého bolo zasiatych 20 semien kukurice siatej (*Zea mays* cv. Mv NK 333). Následne boli do pôdneho substrátu aplikované dávky arzénu As(III): 1, 2, 3 a 5 mg/kg pôdy. Roztok arzénu sme pripravili z certifikovaného referenčného materiálu pre arzén. Rastliny sme následne zalievali množ-

stvom vody zodpovedajúcej maximálnej sorpčnej kapacite pôdy. Kontrolné varianty sme zalievali destilovanou vodou. Experiment bol založený v rastovej komore s konštantnými podmienkami (teplota 20 °C, vlhkosť vzduchu 60–70 %, svetelný režim 12 h svetlo/12 h tma, intenzita ožiarenia 400 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$). Po 10 dňoch rastu v kontaminovanej pôde boli stanovené rastové parametre a obsah fotosyntetických pigmentov. Pokus bol založený v troch opakovaniach.

Stanovenie rastových parametrov

Dĺžka výhonkov bola meraná pravítkom. Po stanovení čerstvej hmotnosti koreňov pomocou analytických váh boli výhonky vysušené v inkubátore 48 hodín pri 60 °C do konštantnej hmotnosti a následne odvážené na analytických váhach.

Stanovenie obsahu fotosyntetických pigmentov

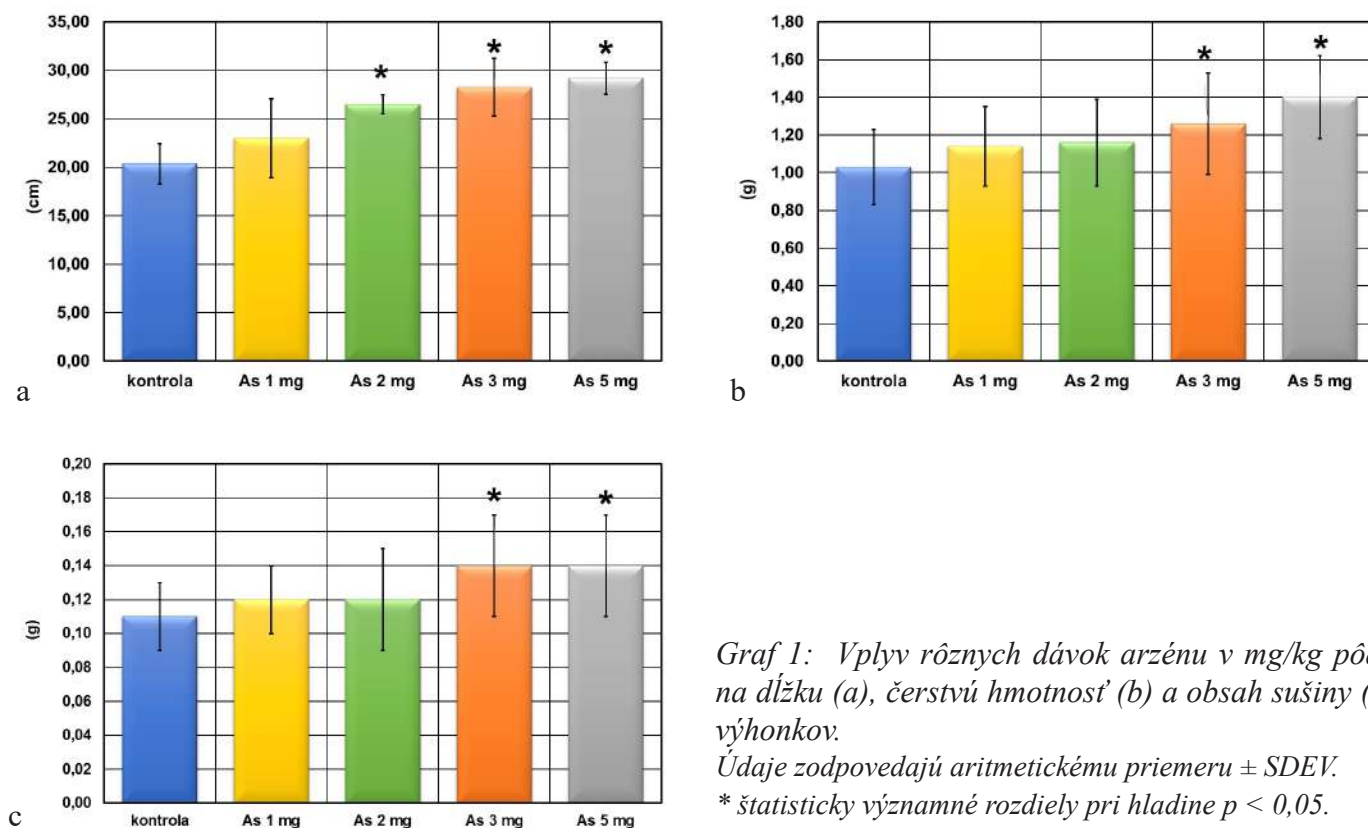
Obsah fotosyntetických pigmentov (chlorofyl a - Chla, chlorofyl b – Chlb a karotenoidy) bol stanovený spektrofotometricky v plne vyvinutom asimilačnom liste kukurice /9/. Následne bol určený pomer Chla/Chlb. Pigmenty boli stanovené v 5 opakovaniach v každom variante experimentu.

Štatistické spracovanie údajov

Údaje pre sledované parametre boli štatisticky spracované pomocou programu Microsoft Excel 2010. Rozdiely medzi súbormi dát sme stanovili Studentovým t-testom pri hladine $p < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Po 10 dňoch rastu sme zaznamenali stimulačný účinok arzénu, s narastajúcou koncentráciou As sa zväčšila dĺžka výhonku o 12 %, 23 %, 28 a 30 % (obr. 1), zvýšila sa čerstvá hmotnosť (o 10–26 %) aj obsah sušiny (o 11–24 %) výhonkov (graf 1). Stimuláciu rastu sme pri sledovaných dávkach arzénu zaznamenali aj u odrody Chapalu /10/.



Graf 1: Vplyv rôznych dávok arzénu v mg/kg pôdy na dĺžku (a), čerstvú hmotnosť (b) a obsah sušiny (c) výhonkov.

Údaje zodpovedajú aritmetickému priemeru $\pm$ SDEV.

* štatisticky významné rozdiely pri hladine $p < 0,05$.

Obsah fotosyntetických pigmentov v listoch sa vplyvom narastajúcej koncentrácie arzénu zvýšil, dané zmeny neboli štatisticky významné (tab. 1). Nezaznamenali sme ani zmeny v pomere Chla/Chlb (tab. 1).

Stimulačný účinok arzénu (12,5 a 25 mg/kg^{-1} pôdy) na rast kukurice a nutričnú kvalitu zrna zaznamenali aj iní autori /11/. Nízke dávky arzénu (0,2–0,8 mg/l) pôsobili stimulačne aj na rast cibule /2/. Dávky arzénu do

10 mg/kg pôdy naopak pôsobili inhibične na rast *Brassica juncea* /12/, *Lycopersicum esculentum* /5/, *Medicago sativa* a *Hordeum vulgare* /13/.

Existuje viacero vysvetlení mechanizmu hormézy v závislosti od testovanej chemikálie alebo rastlinného druhu. Niektoré mechanizmy by mohli predstavovať fyziologické pokusy o „útek“, alebo kompenzáciu chemického stresu. To by mohlo vysvetliť hormetickú odozvu v raste koreňov /14/.

Stimulačný účinok arzénu je vysvetľovaný tiež náhradou fosforu P(V) za As(V) v pôdach, čím sa zvyšuje dostupnosť fosforu pre rastliny /15/.

Tab. 1: Vplyv rôznych dávok arzénu (1, 2, 3 a 5 mg/kg pôdy) na obsah chlorofylu a (Chla), chlorofylu b (Chlb), karotenoidov a na pomer Chla/Chlb.

Dávka arzénu	Chla (mg/g)	Chlb (mg/g)	Chla/Chlb	Karotenoidy (mg/g)
K	1.64 ± 0.32	0.62 ± 0.07	2.63 ± 0.22	0.28 ± 0.06
As1	1.38 ± 0.26	0.61 ± 0.02	2.26 ± 0.48	0.27 ± 0.01
As2	1.79 ± 0.15	0.61 ± 0.09	2.96 ± 0.58	0.34 ± 0.06
As3	1.72 ± 0.27	0.65 ± 0.08	2.61 ± 0.10	0.31 ± 0.05
As5	1.96 ± 0.48	0.71 ± 0.04	2.76 ± 0.10	0.36 ± 0.04

Údaje zodpovedajú aritmetickému priemeru ± SDEV, * štatisticky významné rozdiely pri hladine $p < 0,05$.

ZÁVER

Naše experimenty poukázali na stimulačný účinok arzénu na rast testovanej odrody kukurice. Nezaznamenali sme významné zmeny v obsahu fotosyntetických pigmentov ani v pomere Chla/Chlb oproti kontrole.

Je táto stimulácia rastu udržateľná počas celého života rastliny?

Môže to viesť k vyššej produkcii osiva, ako aj rastlinnej biomase?

Prevyšuje pozitívny vplyv negatívne účinky arzénu z hľadiska potravinovej bezpečnosti?

Odpovede na tieto otázky nepochybne ležia na rozhraní medzi As a metabolizmom rastlín. Hlbšie biochemické a molekulárno-biologické štúdie sú potrebné pre objasnenie hormetického účinku arzénu na rast kukurice satej.

LITERATÚRA

- 1/ Farnese, F. S., Oliveira, J. A., Farnese, M. S., Gusman, G. S., Silveira, N. M., Siman, L. I.: Uptake arsenic by plants: Effects on mineral nutrition, growth and antioxidant capacity. IDESIA (Chile) Enero-Febrero. 1, 2014: 99-106
- 2/ Sushant, K. S., Ghosh, A. K.: Effect of arsenic on photosynthesis, growth and its accumulation in the tissues of *Allium cepa* (Onion). International Journal of Environmental Engineering and Management, 1, 2010: 39-50
- 3/ Dragun, A. K.: The agricultural production of environment. Some Nordic issues, Swedish Journal of Agricultural Research, 28, 1998, 49-55.
- 4/ Päivöke, A., Simola, L. K.: Arsenate toxicity to *Pisum sativum* mineral nutrients, chlorophyll content, and phytase activity. Ecotoxicology and Environmental Safety, 49, 2001, 111-121.
- 5/ Carbonell-Barrachina, A. A., Burló F., Burgos-Hernández A., López E., Mataix J.: The influence of arsenite concentration on arsenic accumulation in tomato and bean plants. Scientia Horticulturae, 71, 1997: 167-176
- 6/ Miteva, E.: Accumulation and effect of arsenic on tomatoes. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 33, 2002: 1917-1926
- 7/ Garg, N., Singla, P. Arsenic toxicity in crop plants: physiological effects and tolerance mechanisms. Environmental Chemistry Letters, 9, 2011: 303-321
- 8/ Finnegan, P. M., Chen, W.: Arsenic toxicity: The effects on plant metabolism. Frontiers in Physiology, 3, 2012: 182.

- /9/ Lichtenthaler, H. K., Wellburn, A. R.: Determinations of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions, 11, 1985: 591-592, ISSN 0300-5127
- /10/ Piršelová, B., Galuščáková, L., Lengyelová, L., Kuna, R.: Hodnotenie hormetického účinku arzénu na rast kukurice siatej (*Zea mays* cv. Chapalu). In: MMK 2017 : sborník z 8. mezinárodní Masarykovy konference pro doktordandy a mladé vědecké pracovníky, Hradec Králové, 18. - 20.12.2017. Magnanimitas, 2017. - ISBN 978-80-87952-22-1, CD-ROM, s. 1220-1223.
- /11/ Ci, X. K., Liu, H. L., Hao, Y. B., Zhang, J. W., Liu, P., Dong, S. T.: Arsenic distribution, species, and its effect on maize growth treated with arsenate. Journal of Integrative Agriculture, 11, 2012: 416-423
- /12/ Chaturvedi, I.: Effects of arsenic concentrations and forms on growth and arsenic uptake and accumulation by Indian mustard (*Brassica juncea* L.) genotypes. Journal of Central European Agriculture, 7, 2006, 31-40.
- /13/ Eisler, R.: Eisler's Encyclopedia of environmentally hazardous priority chemicals, Elsevier Science, 2007, 986 pp.
- /14/ Wiedman, S. J. Appleby, A. P.: Plant growth stimulation by sublethal concentrations of herbicides. Weed Research, 12, 1972, 65-74.
- /15/ Jacobs, L. W., Keeney, D. R.: Arsenic -phosphorus interaction in corn. Soil Science and Plant Analysis, 1(2), 1970, 85-93.

POĎAKOVANIE

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory výskumného zámeru VEGA 1/0415/18.



PŘÍJEM A METABOLISMUS METAZACHLORU IN VITRO REGENERANTY TOPOLU ČERNÉHO

UPTAKE AND METABOLISM OF METAZACHLOR BY IN VITRO REGENERANTS OF *POPULUS NIGRA*

RADKA PODLIPNÁ, PETR MARŠÍK

LABORATOŘ ROSTLINNÝCH BIOTECHNOLOGIÍ, ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ BOTANIKY AV ČR, v.v.i., ROZVOJOVÁ 263, 165 02 PRAHA 6, PODLIPNA@UEB.CAS.CZ

SUMMARY

Metazachlor as an herbicide is widely used especially for growing oilseed rape. Although it is relatively well metabolized in the soil, it remains in it for tens of days, and in the case of rain or watering it is flushed from the fields to the watercourses. The contamination of watercourses can be prevented by a suitably formed buffer zone consisting of grassland, bush species and trees. For this purpose, we tested the ability of the black poplar to uptake metazachlor and metabolize it. In vitro regenerants metabolized metazachlor to dechlorinated metazachlor in a cysteine-, glucose- or glutathione conjugates. Increased stress markers have not been observed in plants, making poplars suitable for the creation of watercourse protection zones.

Key words: pesticides; metazachlor; *Populus nigra*; in vitro regenerants

SOUHRN

Metazachlor jako herbicid je velmi hojně používán zejména při pěstování řepky olejky. Přestože je v půdě poměrně dobře metabolizován, zůstává v ní několik desítek dní, a v případě dešťů nebo zálivky je splachován z polí do vodních toků. Kontaminaci vodních toků může zabránit vhodně vytvořené ochranné pásmo tvořené travním porostem, křovištními druhy a stromy. K tomuto účelu jsme testovali schopnosti topolu černého metazachlor přijímat a metabolizovat. Regeneranty pěstované in vitro metazachlor metabolizovaly na dechlorovaný metazachlor v konjugaci s cysteinem, glukózou nebo glutationem. U rostlin nebyly zaznamenány zvýšené stresové markery, což činí topoly jako vhodné kandidáty k tvorbě ochranných pásem vodních toků.

Klíčová slova: pesticidy; metazachlor; *Populus nigra*; in vitro regeneranty

Úvod

Pobřežní pásma (lesa) jsou ochranné zóny, které se nacházejí mezi zemědělskými oblastmi, kde se hojně používají pesticidy, a vodními ekosystémy, které je třeba před znečištěním chránit. Mohou je tvořit různé typy porostů. Výběr vhodných rostlinných druhů při tvorbě těchto pásem je velmi důležitý, protože účinnost ochranných pásem úzce souvisí s jejich schopností nejen kontaminanty zachytit, ale i podpořit jejich biotransformaci jak rostlinami, tak mikroorganismy /4/.

Metazachlor (2-chlor-N- (pyrazol-1-ylmethyl) acet-2 „6‘xylidid) je herbicid určený k hubení jednoděložných i dvouděložných plevelů v porostech řepky olejky ozimé. Účinná látka metazachlor je přijímána především kořenovým systémem při vzcházení a po vzejití plevelů je částečně přijímána i listy. Po aplikaci na půdu před vzejitím plevelů je herbicid přijímán klíčovými plevely a způsobuje jejich odumření před nebo krátce po vyklíčení. Hubí i plevele do fáze děložních listů, které jsou v době ošetření již vzešlé. Patří do skupiny chloracetanilidů se střední rozpustností ve vodě (450 mg L⁻¹ při 20 °C) a nízkým Kow (logKow = 2,49) /2/.

MATERIÁL A METODY

Pěstování rostlinného materiálu a rozvržení pokusů.

Regeneranty topolu černého (*Populus nigra*, TPE18) byly pěstovány in vitro na agarovém médiu MS bez hormonů, a udržovány pravidelným přesazováním. Týden před pokusem byly rostliny přesazeny do tekutého média a dále inkubovány s metazachlorem v koncentracích 0,01; 0,1 a 1 mg/L (rozpuštěno v DMSO). Ke kontrolám bylo přidáno DMSO ve stejné koncentraci. Rostliny byly sklizeny po 10 dnech od aplikace a rozděleny na kořeny a nadzemní část.

Analýza obsahu sledovaných látek v rostlině

Vzorky byly zlyophilizovány a zhomogenizovány rozetřením v tekutém dusíku. Metazachlor byl z rostlinného materiálu extrahován metodou QuEChERS a SPE extrakcí (kolony OASIS HLB). Kvantitativní stanovení v takto pročištěných extraktech bylo prováděno pomocí kapalinové chromatografie spojené s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS, Q-Trap 4000, AB Sciex) a jejich identifikace byla provedena porovnáním s dostupnými standardy a následnou analýzou přesné molekulové hmotnosti pomocí systému kapalinové chromatografie s hmotnostním spektrometrem s velmi vysokým rozlišením a vysokou přesností určení hmotnosti (LC-MS/MS-HRAM, Orbitrap Exactive, Thermo).

Měření obsahu fotosynteticky aktivních pigmentů

Obsah fotosynteticky aktivních pigmentů v rostlinách bude stanoven spektrofotometricky (v metanolovém extraktu z listů) a vypočítán dle /3/.

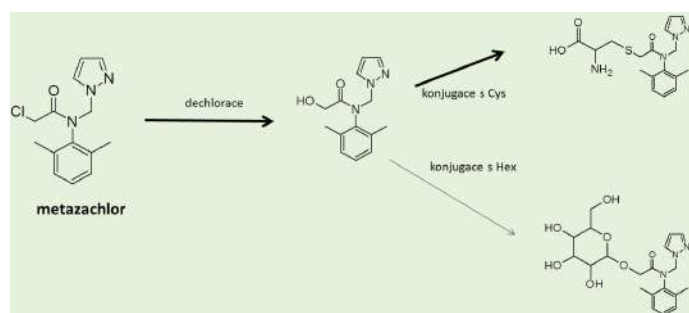
Celkový obsah fenolů

Celkový obsah fenolů byl stanoven spektrofotometricky za použití Folin- Ciocalteova činidla a vyjádřen jako ekvivalent kyseliny galové /5/.

VÝSLEDKY A DISKUSE

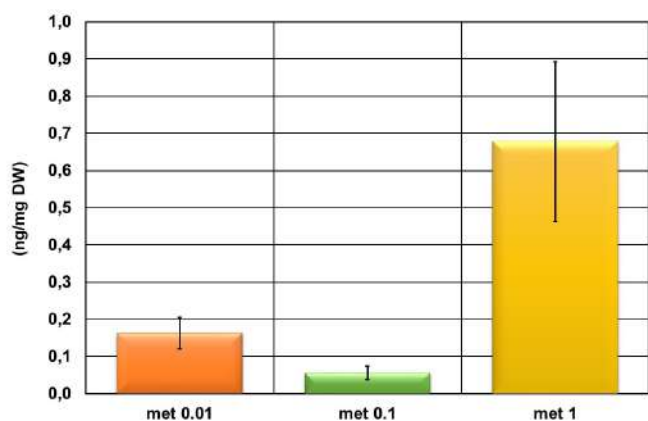
Z předchozích pokusů s buněčnými suspenzemi topolu je zřejmé, že metazachlor je rostlinami velmi rychle metabolizován, v médiu nebyl detekován už po 24 hodinách a v buňkách pouze v malém množství při počáteční koncentraci 1 mg/l. Prvním krokem biotransformace byla dechlorace, následně tento produkt podléhal ve velké míře konjugaci s cysteinem, v menší míře s hexózou (obr. 1). Regeneranty topolu metabolizovaly metazachlor již v kořenech, v nadzemní části nebyla parentní látka detekována, ale byly zde detekovány metabolity vzniklé dechlorací a dále konjugací s cysteinem (deCl-MZCl-Cys), glukózou (deCl-MZCl-Glu) a v menší míře s glutationem (deCl-MZCl-GSH; graf 1).

V testu fytotoxicity na hořčicích jsme zaznamenali metazachlorem inhibovaný růst klíčícího kořene a to již

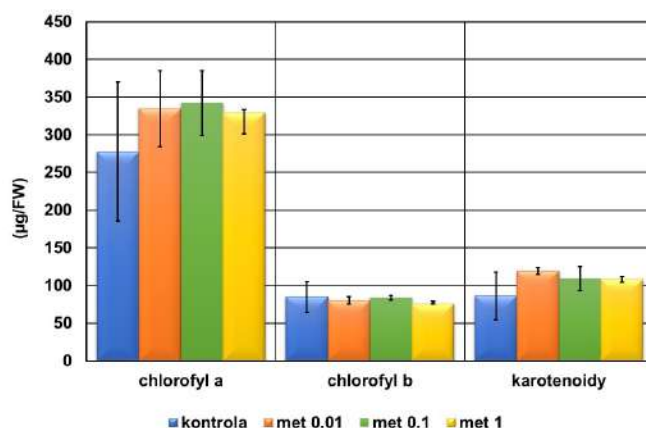


Obr. 1: Nejvíce zastoupené metabolity biotransformace metazachloru

v nejmenší měřené koncentraci (0,3 mg/ml). Také v suspenzních kulturách byla detekována zvýšená aktivita katalázy, což značí stresové působení metazachloru na suspenzní kulturu. U rostlin topolu jsme proto také očekávali projevy stresového působení metazachloru např. snížení množství chlorofylu, jak bylo např. zjištěno u okřehku již při aplikaci metazachloru v koncentraci 5 µg/l /1/. Naopak jsme zaznamenali mírné zvýšení podílu chlorofylu a a karotenoidů, což ovšem také může ukazovat na vzájemnou přeměnu ve stresových podmínkách (graf 2).



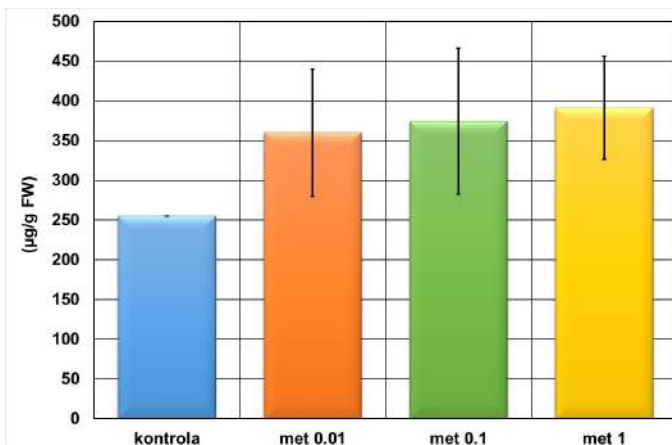
Graf 1: Obsah metazachloru v kořenech po 10 dnech od aplikace



Graf 2: Obsah fotosynteticky aktivních pigmentů v listech 10 dní po aplikaci metazachloru

Dále jsme sledovali změny v celkovém obsahu poly-fenolů, kde bylo prokázáno jejich zvýšení při všech koncentracích (graf 3). Z našich předběžných výsledků vyplývá, že topoly jsou vůči metazachloru poměrně odolné a proto vhodné k výsadbě do pobřežních ochranných pásem.

Graf 3: Celkový obsah fenolů v listech 10 dní po aplikaci metazachloru



LITERATURA

/1/ Fekete-Kertesz I, Kunglne-Nagy Z, Gruiz K, Magyar A, Farkas E, Molnar M (2015) Assessing Toxicity of Organic Aquatic Micropollutants Based on the Total Chlorophyll Content of *Lemna minor* as a Sensitive Endpoint. *Periodica Polytechnica-Chemical Engineering* 59(4): 262-271.

/2/ Hunt L, Bonetto C, Resh VH, Buss DF, Fanelli S, Marrochi N, Lydy MJ (2016) Insecticide concentrations in stream sediments of soy production regions of South America. *Science of the Total Environment* 547: 114-124.

/3/ Lichtenthaler HK (1987) CHLOROPHYLLS AND CAROTENOIDS - PIGMENTS OF PHOTOSYNTHETIC BIOMEMBRANES. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.

/4/ Passeport E, Richard B, Chaumont C, Margoum C, Liger L, Gril JJ, Tournebize J (2014) Dynamics and mitigation of six pesticides in a „Wet“ forest buffer zone. *Environmental Science and Pollution Research* 21(7): 4883-4894.

/5/ Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Oxidants and Antioxidants, Pt A* 299: 152-178.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce vznikla za podpory grantu MŠMT č.LTC 17033 v rámci projektu COST Action 15206.



CHARAKTERISTIKA FYZIKÁLNYCH VLASTNOSTÍ PŮD POD VYBRANÝMI CUDZOKRAJNÝMI DREVINAMI V ARBORÉTE MLYŇANY

CHARACTERIZATION OF PHYSICAL PROPERTIES IN SOIL UNDER SELECTED EXOTIC TREES IN THE ARBORETUM MLYŇANY

NORA POLLÁKOVÁ, VLADIMÍR ŠIMANSKÝ, JURAJ CHLPÍK, MAREK KOLENČÍK

SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA V NITRE, FAKULTA AGROBIOLOGIE A POTRAVINOVÝCH ZDROJOV, KATEDRA PEDOLÓGIE A GEOLÓGIE, TR. A HLINKU 2, 949 76 NITRA, SLOVENSKO,
NORA.POLLAKOVA@UNIAG.SK, VLADIMIR.SIMANSKY@UNIAG.SK, JURAJ.CHLPIK@UNIAG.SK,
MAREK.KOLENCEK@UNIAG.SK

SUMMARY

Soil properties are one of the most important factors influencing good acclimatization of exotic trees in non-native environment. Hence, in Arboretum Mlyňany we have investigated whether the physical and hydro-physical soil properties are suitable for selected exotic trees. We explored soil properties at seven sites where on each of them grew one monoculture of examined trees. Results revealed that on the majority of Arboretum area were developed Luvisols, which were texturally medium-grained in A horizons, while B horizons contained increased amount of clay and were compacted. B horizons were characterized by increased bulk density and decreased non-capillary porosity therefore also reduced aeration. During long-term dryness in summer, among examined trees, merely the Japanese cedars suffered due to unsuitable soil-climatic conditions, what resulted to their poor growth. Even western red cedars which prefer high soil moisture grew well despite its site was characterized by high non-capillary porosity therefore rapid drainage of rainwater.

Key words: bulk density; exotic trees; macro-porosity; soil moisture, soil texture

SÚHRN

Vlastnosti pôdy sú jedným z najdôležitejších faktorov ovplyvňujúcich dobrú aklimatizáciu exotických stromov v cudzom prostredí. Preto sme v Arborete Mlyňany zisťovali, ktoré dôležité fyzikálne a hydrofyzikálne charakteristiky pôdy vhodne ovplyvňujú úspešné pestovanie vybraných cudzokrajných drevín. Vlastnosti pôdy sme skúmali na siedmich stanovištiach pod monokultúrami cudzokrajných drevín. Zistili sme, že na väčšine plochy Arboréta bol vytvorený pôdny typ hnedozem so svojimi subtypmi, ktoré sa vyznačovali zrnitostne strednými humusovými A horizontmi, kým luvické B horizonty mali zvýšený obsah ílu a boli zhutnené. Luvické horizonty mali zvýšenú objemovú hmotnosť, zníženú nekapilárnu pórovitosť a prevzdušnenie. Spomedzi skúmaných drevín, jedine kryptomérie japonské trpeli v dôsledku nevhodných pôdno-klimatických podmienok. Najmä dlhodobé suchá v lete viedli k slabému rastu kryptomérií. Dokonca aj tuje riasnaté, ktoré uprednostňujú vysokú pôdnu vlhkosť, v Arborete rástli dobre aj napriek tomu, že ich stanovište sa vyznačovalo vysokou nekapilárnou pórovitosťou, a teda rýchlym vsakovaním zrážkovej vody do pôdy.

Kľúčové slová: objemová hmotnosť; cudzokrajné dreviny; makro-pórovitosť; vlhkosť pôdy; zrnitostné zloženie

ÚVOD

Stromy sú značne adaptabilné, rastú na rôznych, aj na extrémnych stanovištiach. Keďže v literatúre sú často popisované najmä chemické a biologické vlastnosti lesných pôd, zdá sa, že fyzikálne vlastnosti pôdy minimálne rozhodujú o živote a zdravotnom stave drevín na určitom stanovišti, preto sú často podceňované. Avšak, fyzikálne vlastnosti významnou mierou ovplyvňujú priebeh a rýchlosť rôznych chemických, fyzikálno-chemických a biologických procesov v pôde /1/. Dôležitý vplyv majú na stavbu pôdnych horizontov, hĺbku pôdy do ktorej môžu prerastať korene, na pomerné zastúpenie medzi pevnou, kvapalnou a plynnou fázou pôdy, podľa ktorej možno určiť zabezpečenie rastlín dostupnými živinami, vodou a vzduchom /2/.

Z hydrologického hľadiska sa ako jedna z hlavných príčin zhoršovania pôdneho prostredia a z toho vyplývajúceho fyziologického oslabenia, prípadne aj odumierania lesných drevín uvádzajú nepriaznivé vlhkostné

pomery pôdy. Dlhodobé vysoké nasýtenie pôdy vodou spojené s nedostatkom vzduchu, najmä kyslíka potrebného pre dýchanie koreňov, ale aj dlhodobý nedostatok vody v pôde spôsobujú odumieranie stromov /3/. V práci boli skúmané fyzikálne vlastnosti pôdy pod cudzokrajnými drevinami, ktoré sa prispôbili životu v pôdno-klimatických podmienkach Arboréta Mlyňany. Cieľom práce bolo zistiť, aké fyzikálne vlastnosti pôdy vyhovujú, respektíve neobmedzujú život skúmaných drevín v arborete a prispieť tým k rozšíreniu poznatkov o možnostiach ich pestovania aj v iných parkoch, záhradách a okrasných plochách.

MATERIÁL A METÓDY

Lokalita Arboréta Mlyňany (48°19' s.š.; 18°21' v.d.) sa nachádza na južnom Slovensku, v údolí rieky Žitava, 165–217 m. n. m., v teplej, suchej klimatickej oblasti s priemernou ročnou teplotou 10,6 °C a úhrnom zrážok 541 mm /4/. Po stránke floristickej patrí areál Arboréta do panónskej oblasti, po stránke geobotanickej do oblasti *Querceto-Carpintum*. Zvlnený terén je južným výbežkom Hronského Inovca a Tríbeča. Objekt leží na mladotretihornom geologickom útvare so zastúpenými ílmi, pieskami a štrkopieskami /5/. Na tomto podloží je takmer na celej ploche naviaty sprašový materiál, ktorý sa vplyvom degradačných pôdotvorných procesov väčšinou odvápnil /6/. Z pôdných typov je najviac zastúpená hnedozem so svojimi subtypmi /7/.

Fyzikálne vlastnosti pôdy sme skúmali v pôdoznaleckých sondách na ôsmich stanovištiach, pod monokultúrnymi porastmi cudzokrajných drevín.

V Ambrózyho parku založenom v r. 1892 v dubovo-hrabovom lese boli sondy situované:

- pod 60 ročným porastom vavrínovcov lekárskeho (*Prunus laurocerasus*, L.),
- pod 70 ročným porastom tují západných mlynianskeho (*Thuja occidentalis* Malin., L.),
- pod 100 ročným porastom tují riasnatých (*Thuja plicata*, D. Don ex Lamb.).

Na východoázijskej ploche založenej v roku 1964 na pôde, ktorá bola do roku 1960 využívaná ako orná, boli sondy umiestnené:

- pod 40 ročným porastom borovíc himalájskeho (*Pinus wallichiana*, Jacks.),
- pod 40 ročným porastom kryptomérií japonského (*Cryptomeria japonica*, D. Don),
- pod 40 ročným porastom borievok čínskych (*Juniperus chinensis*, L.).

Na severoamerickej ploche, do r. 1975 využívanéj ako vinice a sady, boli sondy situované:

- pod 30 ročným porastom javorov cukrových (*Acer saccharinum*, L.),
- pod 30 ročným porastom jedlí srienistých (*Abies concolor*, Lindl. et Gord.).

Ihneď po vykopaní sond a opise morfológických vlastností pôdných profilov sme na stanovenie fyzikálnych vlastností odobrali neporušené pôdne vzorky do Kopeckého valčekov v troch opakovaniach a analyzovali nasledovné vlastnosti: objemová hmotnosť, pórovitosť, hydrofyzikálne vlastnosti /8/ po 0,1 m vrstvách až do hĺbky 0,8 m, zrnitosťné zloženie pôdy v jednotlivých horizontoch pipetovacou metódou /8/.

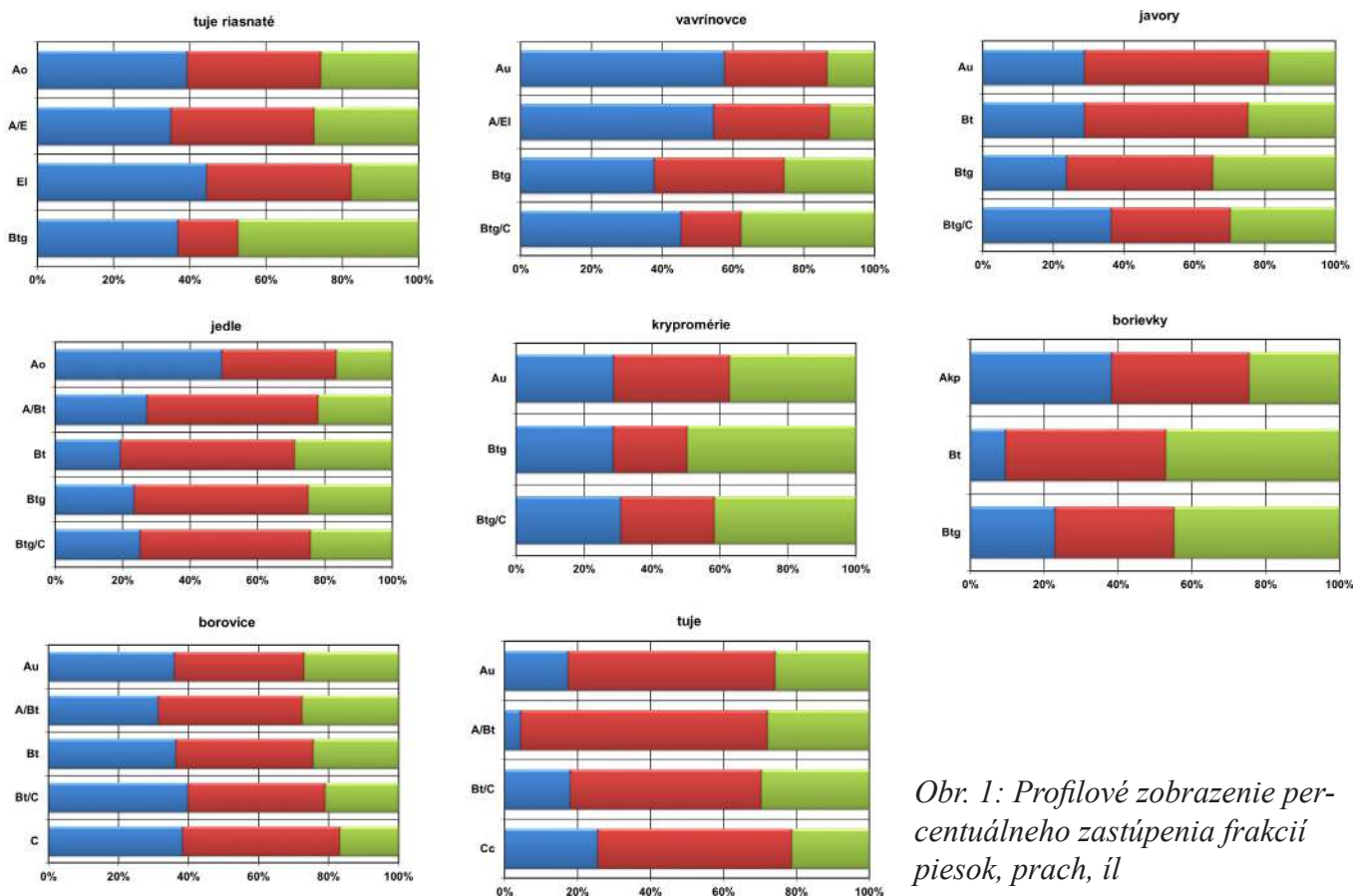
VÝSLEDKY A DISKUSIA

V skúmaných pôdných profiloch prevládal pôdny druh prachovito-hlinitý, hlinitý a ílovito-hlinitý, teda zrnitosťne stredná pôda, čo vyhovuje všetkým skúmaným drevinám. Zastúpenie jednotlivých frakcií sa v pôdných profiloch výrazne menilo s hĺbkou (obr. 1). Bol zrejmý veľký nárast frakcie ílu v Bt-luvickom a najmä v Btg-luvickom horizonte so znakmi pseudoglejovatenia, čo svedčí o značnom posune ílu z vrchných do podpo- vrchových horizontov v procese illimerizácie. Najvýraznejšia illimerizácia bola zaznamenaná v profile pod tujami riasnatými, kde koeficient textúrnej diferenciácie medzi Au a A/AE horizontmi dosiahol 1,7 a medzi El a Btg horizontmi až 2,7; taktiež pod porastom vavrínovcov, kde medzi Bt a Btg horizontmi dosiahol hodnotu 2,0 a medzi Btg a Btg/C horizontmi 1,5. Takáto výrazná illimerizácia bola zapríčinená aj vysokým zastúpením piesku (35–60 %), ale aj obsahom skeletu (5–20 %) v oboch profiloch.

Najvyššie zastúpenie frakcie íl v celom profile pôdy (37–50 %) bolo pod porastom kryptomérií a v Bt a Btg horizontoch pod borievkami čínskymi (45–47 %) (obr. 1). Do roku 1960 bola pôda pod východoázijskou dendroflórou využívaná ako orná a v časoch privalových dažďov dochádzalo práve v lokalite, kde sú v súčas-

nosti vysadené borievky a kryptomérie, k viditeľnému prísunu pôdneho materiálu oderodovaného z okolitej poľnohospodárskej pôdy. Obohatenie pôdy ílom bolo umocnené aj bočným vymývaním ílu vnútro pôdnymi roztokmi z vyššie položeného územia, tiež ako dôsledok procesov illimerizácia a pseudoglejovatenie.

Vo všetkých skúmaných profiloch ílom obohatené luviské horizonty (Bt) a luviské horizonty so znakmi pseudoglejovatenia (Btg) mali podstatne zvýšené hodnoty redukovanej objemovej hmotnosti pôdy (ρ_d) a zníženú pórovitosť (P), mali prekročené ich kritické hodnoty, a teda boli zhutnené. Hodnoty objemovej hmotnosti pôdy nad 1,40 t.m-3 a pórovitosti pod 47 % v ílovito-hlinitej (zrinitosť určená podľa Novákovej stupnice); $\rho_d > 1,45$ t.m-3 a $P < 45$ % v hlinitej a $\rho_d > 1,55$ t.m-3 a $P < 42$ % v piesočnato-hlinitej pôde sú kritické, pretože korene rastlín už len veľmi ťažko prerastajú pôdou /2/. Uvedené kritické hodnoty boli prekročené v celom profile pod kryptomériami, v A/Bt, Bt a Btg horizontmi pod ostatnými drevinami.



Obr. 1: Profilové zobrazenie percentuálneho zastúpenia frakcií piesok, prach, íl

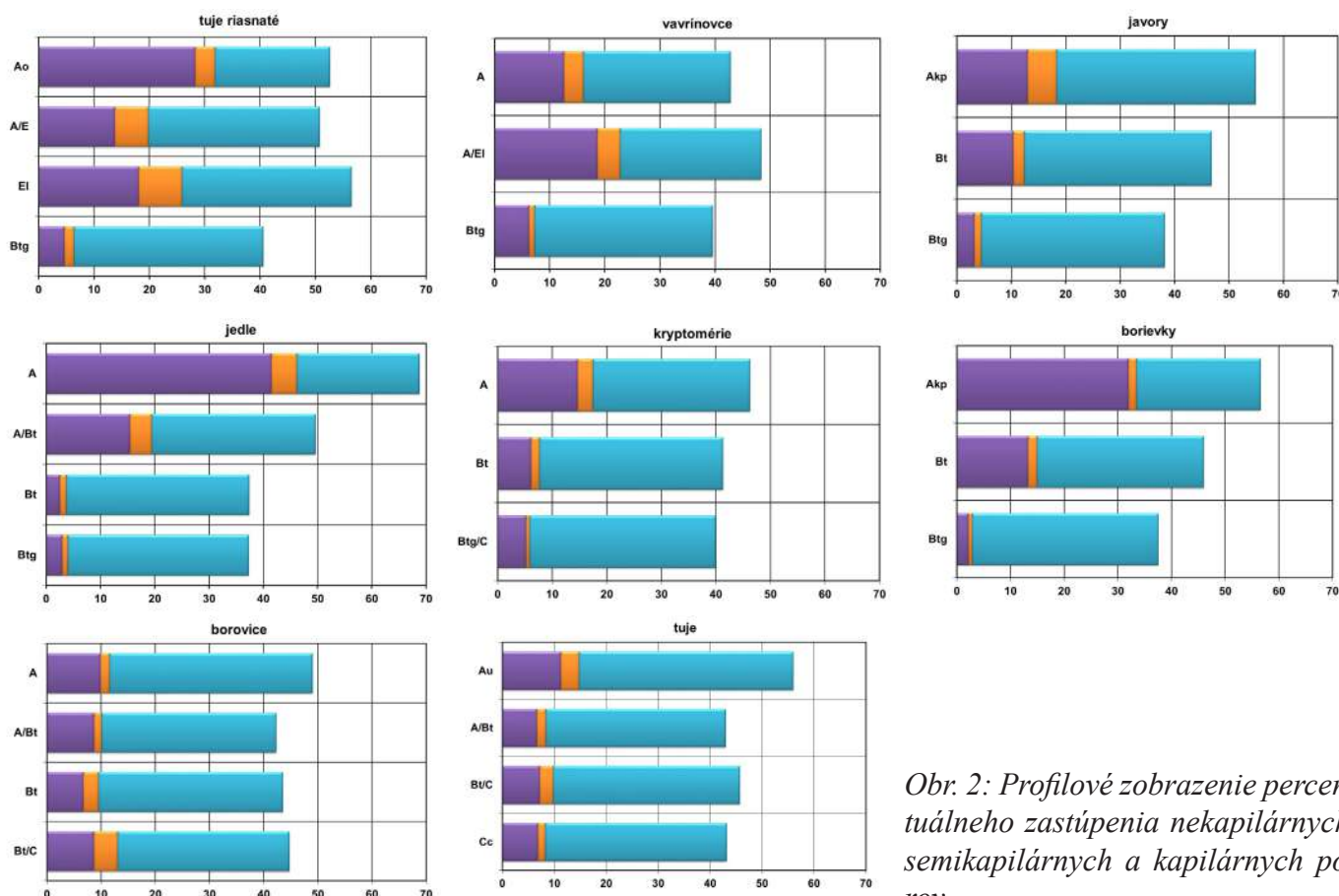
Hydrofyzikálne vlastnosti pôd

Zvýšený obsah ílu v Bt a Btg horizontoch bol sprevádzaný najmä menším objemom hrubých nekapilárnych makropórov (PN) (obr. 2). Je známe, že ak je objem makropórov < 10 % z celkového objemu pôdy, mikrobiálna aktivita a rast rastlín môžu byť významne potlačené, lebo dochádza k zníženiu difúzie O_2 a prevzdušnenia pôdy, čím sa zhoršujú podmienky pre rast koreňov. Na základe získaných výsledkov konštatujeme, že v hĺbke pod 0,2 m (pod tujami západnými, borovicami himalájskymi, kryptomériami japonskými), resp. pod 0,3 m (pod borievkami čínskymi), pod 0,4 m (pod javormi cukrovými a jedľami srienistými), pod 0,5 m (pod tujami riasnatými) bol extrémny nedostatok makropórov, teda korene rastlín siahajúce hlbšie mohli trpieť nedostatkom kyslíka. Taktiež hodnoty minimálnej vzdušnej kapacity (VA) potvrdili, že v uvedených hĺbkach bol nedostatok vzduchu (obr. 3). Podľa Šályho /3/ je však hlavný objem koreňov stromov sústredený v hĺbke do 0,4–0,5 m.

Na druhej strane, na základe pozorovaní abiotického poškodenia drevín, ktoré sa v arboréte každoročne vykonáva možno konštatovať, že na drevinách dosiaľ neboli zistené výrazné prejavy nedostatočného prevzdušnenia pôdy. Naopak, najmä v lete, ktoré je v tejto teplej a suchej klimatickej oblasti chudobné na zrážky, bolo poškodenie drevín spôsobené práve nedostatkom pôdnej vlhkosti, ktoré spôsobuje fyziologické prejavy na drevinách, hlavne predčasné žltnutie, vädnutie až usychanie listov a ihličia. Zo skúmaných drevín boli takto poškodené kryptomérie japonské, ktoré sú náročné na vlahu. Hoci má bohatý rozvetvený koreň, vyžaduje viac

pôdnej vlhkosti ako väčšina ihličnanov. Ostatné dreviny, skúmané v tejto práci, neboli poškodené suchom.

Taktiež tuje riasnaté vyžadujú vysokú pôdnu vlhkosť, dobre rastú na zamokrených pôdach. V Arboréte Mlyňany sa pôda pod tujami riasnatými vyznačuje 5% obsahom skeletu, 35–45 % obsahom piesku a následne až 14–28 % objemom PN až do hĺbky 0,5m, čo je predpokladom rýchlej drenáže dažďovej vody. Naopak, zhutnený, ílom obohatený Btg horizont sa vyznačuje extrémne nízkou PN (5 %) a tým aj zníženou drenážou vody do pôdy. V Btg horizonte bola hodnota objemu využiteľnej vodnej kapacity nízka (9 %), lebo vysoký obsah ílu (50 %) výrazne zvýšil hodnoty bodu vädnutia (25 %), teda v Btg horizonte bolo značné množstvo vody fyziologicky mŕtve, nedostupné pre tuje riasnaté, ktoré vyžadujú vysokú pôdnu vlhkosť. Avšak, pôdno-klimatické podmienky definované v tejto práci tujam riasnatým veľmi vyhovujú, pretože sa na danom stanovišti dokonca spontánne rozšírili.



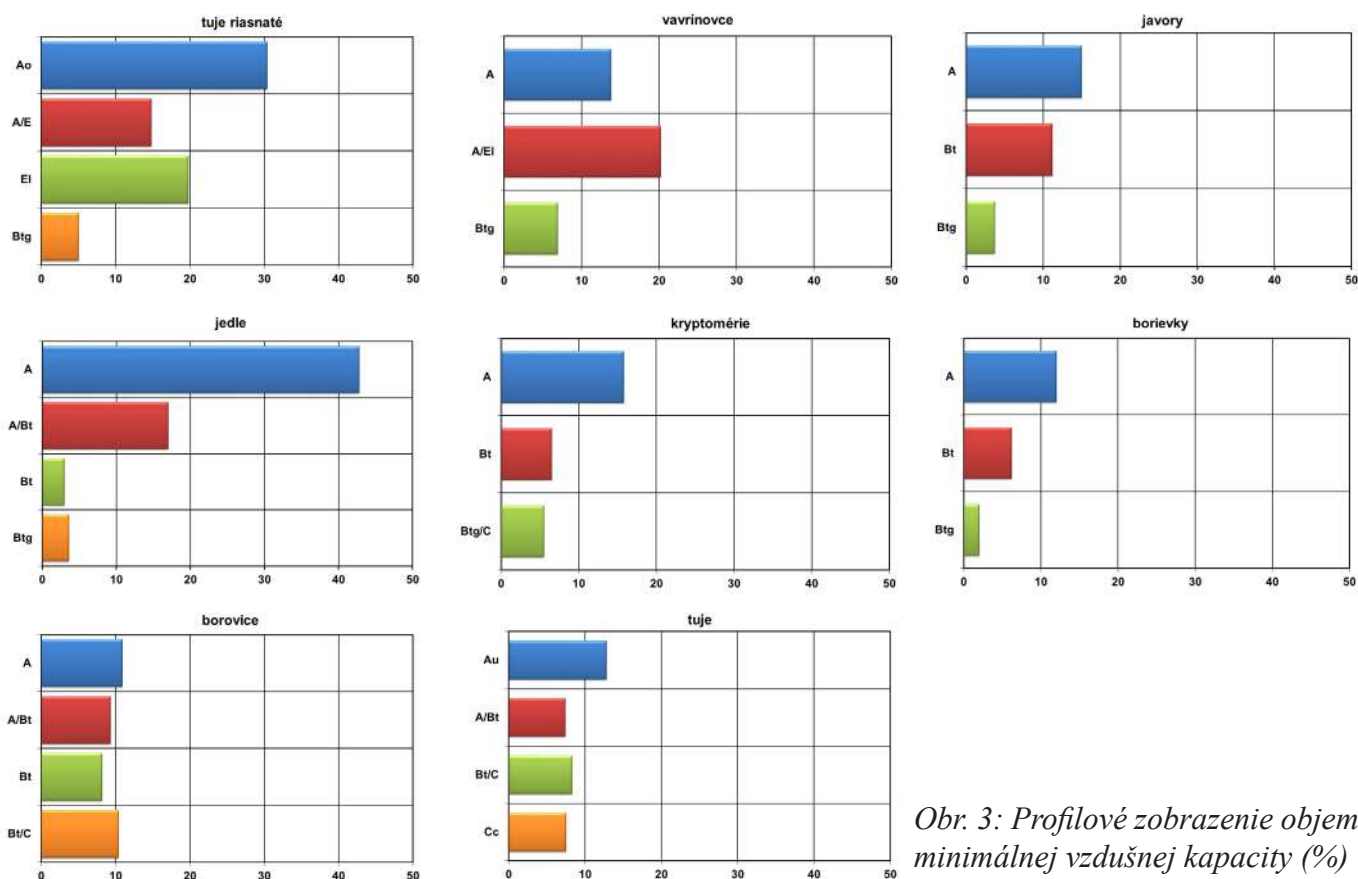
Obr. 2: Profilové zobrazenie percentuálneho zastúpenia nekapilárnych, semikapilárnych a kapilárnych pórov

Druh tuja západná mlynianska tvorí v dolinách (najmä na mokradiach) kratší, hustý, rozvetvený koreň /9/. V Arboréte Mlyňany sa porastu tují západných mimoriadne darí, a to i napriek tomu, že nejde o mokradový ekosystém. Na druhej strane, textúrne zloženie pôdy (prach 50–70 %) a vysoká zásoba organickej hmoty v pôde zabezpečili pomerne vysokú využiteľnosť pôdnej vody.

Borovice himalájske tvoria dobre vyvinutý kolový koreň a postranné korene. Je to dominantný druh suchších oblastí, no uprednostňuje tam vlhké, dobre priepustné pôdy, kým slabo priepustné, zamokrené vyslovene neznáša /10/. Konštatujeme, že boroviciam himalájskym pôdne vlastnosti stanovišťa, na ktorej bola v AM vysadená, plne vyhovujú. Svedčí o tom aj jej mohutný vzrast a dobrý zdravotný stav.

ZÁVER

Na základe porovnania výsledkov uvedených v tejto práci a nárokov drevín na pôdu možno konštatovať, že aj keď nie všetky v Arboréte Mlyňany skúmané introdukované dreviny mali zabezpečené ideálne podmienky pre rast, dokázali sa aj v tejto teplej a suchej klimatickej oblasti Slovenska prispôbiť uvedeným fyzikálnym vlastnostiam pôdy.



Obr. 3: Profilové zobrazenie objemu minimálnej vzdušnej kapacity (%)

LITERATÚRA

- /1/ Dexter, A.R.: Soil physical quality Part I. Theory, effects of soil texture, density, and organic mater, and effects on root growth. In: Geoderma, 120, 2004: 201 – 214.
- /2/ Fulajtár, E.: Fyzikálne vlastnosti pôdy. Bratislava: Výskumný ústav pôdoznectva a ochrany pôdy, 2006, 142 s.
- /3/ Šály, R. Pôda základ lesnej produkcie. Bratislava, Príroda: 1978, 235 s.
- /4/ Hrubík, P., Hořka, P., Fogadová, K., Kuba, J.: Klimatické podmienky Arboréta Mlyňany SAV vo Vieske nad Žitavou za obdobie 1971-2011. In: Zborník referátov z vedeckej konferencie: Dendrologické dni v Arboréte Mlyňany, SAV . 22. 11. 2011. Vieska nad Žitavou: Arborétum Mlyňany SAV. 2011. s. 66 – 73.
- /5/ Steinhübel, G.: Arborétum Mlyňany v minulosti a dnes. Bratislava: SAV, 1957, 145 s.
- /6/ Cifra, J.: Stručná charakteristika pôdných pomerov Arboréta Mlyňany. In Prírodné podmienky Arboréta Mlyňany I : zborník prác. Bratislava: SAV. 1958, s. 79 – 96.
- /7/ Polláková, N.: Subtypy pôd zistené v lokalite Arboréta Mlyňany. In Zborník referátov z vedeckej konferencie: „Dendrologické dni v Arboréte Mlyňany SAV 2018“, 11.10.2018. Vieska nad Žitavou: Arborétum Mlyňany ÚEL SAV, 2018, s. 132 – 141.
- /8/ Fiala, K., Kobza, J., Matúšková, L., Brečková, V., Makovníková, J., Búrik, V., Litavec, T., Houšková, B., Chromaničová, A., Váradiová, D., Pechová, B.: Závazné metódy rozborov pôd. Čiastkový monitorovací systém – Pôda. Bratislava: VÚPOP, 1999, 142 s.
- /9/ Huxley, A.J., Griffiths, M., Levy, M. The new Royal Horticultural Society dictionary of gardening. London: Macmillan, 1992, 815 s.
- /10/ Hieke, K. Encyklopedie jehličnatých stromů a keřů. Brno: Computer press, 2008, 246 s.

POĎAKOVANIE

Práca vznikla s podporou projektu KEGA č. 013SPU-4/2019.



APLIKÁCIA STRES-SENZITÍVNYCH MARKÉROV MIKRORNA PRE SELEKCIU PŠENICE LETNEJ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) NA SUCHOVZDORNOSŤ

APPLICATION OF MICRORNA STRESS-SENSITIVE MARKERS IN SELECTING OF SUMMER WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.) FOR DRY RESISTANCE

KATARÍNA RAŽNÁ, ANGELA VARGAOVÁ, MATÚŠ KYSEL', JANA ŽIAROVSKÁ,
VERONIKA ŠTEFÚNOVÁ

SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA V NITRE, FAPZ, KATEDRA GENETIKY A ŠLACHTENIA RASTLÍN,
TR. A. HLINKU 2, 949 76 NITRA, KATARINA.RAZNA@UNIAG.SK

SUMMARY

Drought resistant (Aladin, Dagmar) and drought susceptible (Seladon, Venturero) genotypes of wheat were examined in experiment. Genotypes were tested under in vitro conditions on Murashige-Skoog culture medium with different concentrations (0, 5, 10, 15 and 20 %) of polyethylene glycol to induce dehydration stress conditions. Genomic response of seedlings was tested by stress-sensitive miRNA markers, tae-miR156, tae-miR408 and tae-miR827. In general, the activity of tae-miR156 and tae-miR408 markers was higher in resistant genotypes in comparison to susceptible ones. The genome response to induced dehydration stress was genotype-specific, what has been statistically proven. The phosphate-induced tae-miR827 marker activity was balanced, since the optimal nutritional composition of the medium, create appropriate conditions to cope with the stress factor.

Key words: *Triticum aestivum* L.; miRNA marker; drought resistance; climate change

SÚHRN

V experimente sa skúmali genotypy pšenice odolné (Aladin, Dagmar) a citlivé (Seladon, Venturero) na sucho. Genotypy boli testované v podmienkach in vitro na kultivačnom médiu Murashige-Skoog s rôznymi koncentraciami (0, 5, 10, 15 a 20 %) polyetylénoglykolu na navodenie podmienok dehydratačného stresu. Genomická odpoveď semenáčikov sa testovala pomocou miRNA markerov citlivých na stres, tae-miR156, tae-miR408 a tae-miR827. Vo všeobecnosti bola aktivita tae-miR156 a tae-miR408 markérov vyššia v rezistentných genotypoch v porovnaní s citlivými genotypmi. Odozva genómu na indukovaný dehydratačný stres bola genotypovo špecifická, čo bolo štatisticky potvrdené. Fosfátom indukovaná aktivita markera tae-miR827 bola vyvážená, vzhľadom k tomu, že optimálne nutričné zloženie média vytvára vhodné podmienky na zvládnutie stresového faktora.

Kľúčové slová: *Triticum aestivum* L.; miRNA markér; suchovzdornosť; klimatická zmena

Úvod

Pšenica je tradične pestovaným druhom a tvorí dôležitú každodennú súčasť našej životosprávy. Vzhľadom na výrazne sa meniace klimatické podmienky je potrebné aplikovať prístupy umožňujúce identifikovať genomický potenciál genetických zdrojov pšenice pre adaptáciu na abiotický stres a poskytnúť tak platformu pre úspešnú selekciu genotypov.

Molekulárne markéry založené na báze sekvencií miRNA molekúl predstavujú funkčných typ markérov, ktorý je vysoko efektívny, stabilný, reprodukovateľný a protokolovo prenosný. Nakoľko sú tieto markéry odvodené od konzervovaných sekvencií miRNA, poskytujú univerzálny systém mapovania reakcie genómu rastlín na rôzne environmentálne podnety. Polymorfizmus amplifikovaný prostredníctvom miRNA markérov poukazuje na zmeny sekvencií miRNA lokusov, čo môže mať za následok zmeny regulácie cieľových génov [1,2]. Cieľom práce bolo mapovať genomickú odpoveď in vitro klíčencov testovaných genotypov pšenice letnej formy ozimnej na indukovaný stres, prostredníctvom aktivity vybraných biomarkérov dehydratácie a nutričného stresu.

MATERIÁL A METÓDY

Pre analýzy pšenice letnej formy ozimnej poskytlo biologický materiál spoluriešiteľské pracovisko VÚRV, Piešťany. Podľa výsledkov testovania indexu náchylnosti, boli vybrané odrody Seladon a Venturero, náchylné

na sucho a odrody Aladin a Dagmar, odolné voči suchu. Podmienky navodenia stresu boli indukované v podmienkach in vitro /3/. Na izoláciu genomickej DNA podľa autorov /4/ sa použili listy 6 týždňových rastlín. Metodický postup aplikácie miRNA markérov bol realizovaný podľa metodiky /5/.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

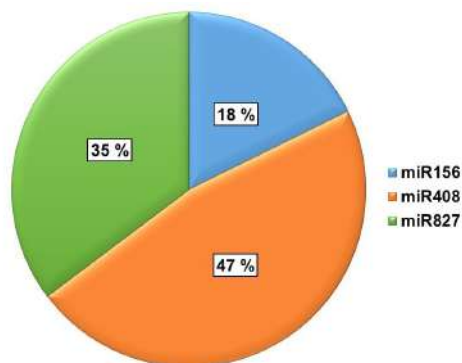
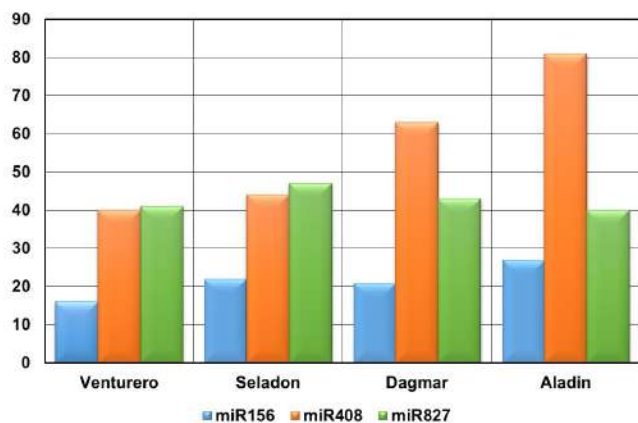
Hvu-miR156 a hvu-miR408 sú identifikované ako stres-responzívne miRNA sprostredkujúce reakciu genómu rastliny na stres dehydratácie (dehydration stress-responsive miRNAs) /6/. V dôsledku dehydratačného stresu dochádza k aktivácii týchto molekúl. Konzervovaná trieda molekúl miR-156 sa podieľa na regulácii procesov rastu a vývinu rastlín /7/. MiR156 je vysoko aktívna v embryu a semenáčikoch, a so zvyšujúcim sa vekom rastliny sa jej expresia znižuje /8/. Markér tae-miR827 má dôležitú úlohu v regulačných mechanizmoch súvisiacich s homeostázou živín. Vyznačuje sa zvýšenou aktivitou v podmienkach nedostatku fosforu /9,10/. Reakcia genómu na dehydratačný stres bola genotypovo špecifická, pričom uvedený vzťah bol potvrdený ako štatisticky vysoko preukazný ($P \leq 0,01$) (tab. 1).

Tab. 1: Viacfaktorová analýza rozptylu pre počet amplifikovaných miRNA lokusov genómu pšenice letnej vzhľadom k jednotlivým zdrojom variability (metóda Tukey, 99 %)

Zdroj variability		Suma štvorcov	f	Priemerný štvorec	F-hodnota	Hladina preukaznosti	
Hlavné efekty	Variant	6,17	4	1,54	0,21	0,93	---
	Genotyp	93,65	3	31,22	4,22	0,01	***
	Markér	510,63	2	255,32	34,49	0,00	***
	Chyba	370,58	50	7,40			
Celkom		980,58	59				

--- nepreukazný rozdiel; *** štatisticky vysoko preukazný rozdiel; f – stupne voľnosti

Štatistická analýza zároveň potvrdila funkčnosť jednotlivých typov aplikovaných markérov, nakoľko každý z nich štatisticky vysoko preukázateľnou mierou zaznamenal reakciu genómu pšenice na dehydratačný stres, vzhľadom ku špecifickej regulačnej funkcii, aplikovaných markérov v rôznych biologických procesoch. Aktivita miRNA, v dôsledku reakcie genómu rastliny na sucho je odrodovo závislá /11/. V prípade odolných genotypov, bola aktivita markéra tae-miR156 vyššia, ako v prípade citlivých genotypov. Najvýraznejší rozdiel bol pozorovaný medzi náchylnou odrodou Venturero a odolnou Aladin. Zvýšením aktivity transkripčných faktorov, ktoré sú jednými z cieľových sekvencií molekúl mikroRNA, môže dochádzať k lepšej adaptácii pšenice na suchovzdornosť. Poznatky o zvýšenej syntéze primárnych transkriptov vo viacerých prípadoch miRNA (vrátane miR156) uvádzajú viaceré štúdie /9,10/. Aktivita markéra tae-miR408 bola, v prípade odolných genotypov viac ako o 58 % vyššia, ako pri náchylných genotypoch, čo poukazuje na dôležitú úlohu miR408 v tolerancii rastlín na sucho (obr. 1).



Obr. 1: Zastúpenie miRNA lokusov amplifikovaných stress-senzitívnymi markérmami v genóme pšenice letnej formy ozimnej vystavenej stresu dehydratácie (vľavo). Aktivita jednotlivých markérov v podmienkach stresu (vpravo)

MiR408 patří medzi najviac konzervované triedy miRNA a doteraz bola zaznamenaná pri viac ako 30 druhoch rastlín, čo naznačuje, že jej úloha je základom pre vývoj a existenciu rastlín /12/. V štúdiách sa ukázalo, že miR408 sa podieľa na vývoji, signálnej dráhe svetla a biotických stresových reakciách, ako aj v tvorbe biomasy v semenáčikoch *Arabidopsis*. Je uvádzané /13/, že konštitutívna expresia miR408 ovplyvňuje rôzne vývinové štádiá a podporuje intenzívny rast rastlín a úrodu semien zvýšením účinnosti fotosyntézy.

Aktivita markéra tae-miR827 v genóme odolných a náchylných genotypov pšenice bola takmer vyrovnaná. MiR827 je súčasťou regulačných procesov podieľajúcich sa na homeostáze živín, najmä fosforu /14/. Nízky obsah dusíka ovplyvňuje expresiu transkripčných faktorov alebo kofaktorov, ktoré riadia transkripciu génov miR827, čím sa znižuje expresia zreých miRNA. Pri nedostatku vody dochádza k zníženému prísunu živín, a na tieto zmeny rastliny reagujú aktivovaním obranných mechanizmov a zvýšenou expresiou stres-citlivých génov /15/. Podmienky abiotického stresu indukovali výraznú aktiváciu biomarkéra tae-miR408, regulujúceho adaptačné mechanizmy genómu rastlín na dehydratáciu. Pri odolných genotypoch bola jeho aktivita o 42 % vyššia v porovnaní s aktivitou markéra tae-miR156. V prípade náchylných genotypov, bol tento rozdiel pri uvedených markéroch 45 %. Predpokladáme, že ako odolné, tak aj náchylné genotypy pšenice sa snažia vysporiadať sa s daným faktorom stresu výraznou aktiváciou molekúl mikroRNA, ktoré sa podieľajú na potrebných regulačných a adaptačných mechanizmoch, avšak na úkor redukcie rastových procesov. Výsledky poukazujú na to, že odolný genotyp Aladin disponuje vyššou adaptačnou schopnosťou tolerancii voči suchu než tolerantná odroda Dagmar. V prípade náchylnej odrody Venturero bude nedostatok vlhky podstatne limitujúcim faktorom, s ktorým sa genóm môže vysporiadať, v rámci obranných mechanizmov, na úkor limitácie vývinových a rastových ukazovateľov.

ZÁVER

Zamerali sme sa na aplikáciu stres-senzitívnych markérov mikroRNA z hľadiska mapovania reakcie genómu pšenice letnej (*Triticum aestivum* L.) pre účely selekcie na suchovzdornosť. Genóm odolných genotypov pšenice letnej (Aladin a Dagmar), reagoval v porovnaní náchylnými genotypmi (Seladon a Venturero) výraznou aktiváciou biomarkéra tae-miR408 v dôsledku dehydratačného stresu. Viacfaktorová analýza rozptylu potvrdila štatisticky vysoko preukaznú závislosť medzi typom aplikovaného biomarkéra a jeho potenciálom mapovať reakciu genómu na indukovaný stres.

LITERATÚRA

- /1/ Fu D, Ma B, Mason A S, Xiao M, Wei L, An Z. MicroRNA-based molecular markers: a novel PCR-based genotyping technique in Brassica species. *Plant Breeding*. 2013; 132:375–381. DOI:org/10.1111/pbr.12069.
- /2/ Xie, Z., Khanna, K., Ruan, S.: Expression of microRNAs and its regulation in plants. *Seminars in Cell and Developmental Biology*. 2010; 21:790-797. DOI: 10. 1016/j.semedb.2010.03.012.
- /3/ Nawaz, S., Ahmed, N., Iqbal, A., Khaliq, I.: Optimization of regeneration protocols for wheat under drought and salt stress. In *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*. vol. 50, 2013, no. 4, pp. 663-70.
- /4/ Rogers, S. O., Bendich, A. J.: Extraction of total cellular DNA from plants, algae and fungi. In *Plant molecular biology manual*, 1994. pp. 183–190.
- /5/ Ražná, K., Nôžková, J., Hlavačková, L., Brutch N., Porokhovinova, E., Shelenga, T., Pavlov, A.: Genotyping of flax genetic resources by miRNA-based molecular markers and morphology. In *Agriculture*, vol. 61, 2015, no. 4, pp. 129–138.
- /6/ Akdogan, G., Tufekci, E.D., Uranbey, S., Unver, T.: miRNA-based drought regulation in wheat. In *Funct Integr Genomics*. 2016, vol. 16, pp. 221–233.
- /7/ Barvkar, V. T., Pardeshi, V. C., Kale, S. M., Qiu, S., Rollins, M., Datla, R., Kadoo, N. Y.: Genome-wide identification and characterization of microRNA genes and their targets in flax (*Linum usitatissimum*): Characterization of flax miRNA genes. In *Planta*, vol. 237, 2013, pp. 1149–11.
- /8/ Spanudakis, E., Jackson, S.: The role of microRNAs in the control of flowering time. In *Journal of Experimental Botany*, vol. 65, 2014, no. 2, pp. 365–380.
- /9/ Bej, S., Basak, J.: MicroRNAs: The Potential Biomarkers in Plant Stress Response. *American Journal of Plant Sciences*. 2014; 5:748–759. DOI: 10.4236/ajps.2014.55089.

/10/ Pacak-Barciszewska M, Milanowska K, Knop K, Bielewicz D, Nuc P, Plewka P, Pacak A M, Vazquez F, Karłowski W, Jarmolowski A, Kulinska-Szweykowska Z. *Arabidopsis* microRNA expression regulation in a wide range of abiotic stress responses. *Front Plant Sci.* 2015;6:410. DOI: 10.3389/fpls.2015.00410.

/11/ Barrera-Figueroa, B. E. et al.: High throughput sequencing reveals novel and abiotic stress-regulated microRNAs in the inflorescences of rice. In *BMC Plant Biology.* vol. 12, pp. 132. [cit. 2019-03-10]. Dostupné na: DOI: 10.1186/1471-2229-12-132.

/12/ Kozomara, A., Griffiths-Jones, S.: miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. In *Nucleic Acid Research*, vol. 42, 2014, no. 1, pp. 68-73. ISSN 1362-4962.

/14/ Liang, G., Ai, Q., Yu, D.: Uncovering miRNAs involved in crosstalk between nutrient deficiencies in *Arabidopsis*. In *Scientific Reports*, vol. 5, 2015, pp. 1-13. doi: 10.1038/srep11813.

/13/ Zhao, C. et al.: Temperature increase reduces global yields of major crops in four independent estimates. In *PNAS*. vol. 114, pp. 9326-9331. [cit. 2019-03-10]. Dostupné na: DOI: 10.1073/pnas.1701762114.

/15/ Chiou, T. J.: The role of microRNAs in sensing nutrient stress. *Plant, Cell & Environment.* 2007; 30:323-332. doi: 10.1111/j.1365-3040.2007.01643.x.

POĎAKOVANIE

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory výskumného projektu APVV-15-0156 Genomická selekcia obilnín na suchovzdornosť.



PREDBEŽNÉ VÝSLEDKY KRYOPREZERVÁCIE EMBRYOGENNYCH KULTÚR *ABIES ALBA* MILL.

PRELIMINARY RESULTS ON CRYOPRESERVATION OF *ABIES ALBA* MILL. EMBRYOGENIC TISSUE

TERÉZIA SALAJ¹, BART PANIS², RONY SWENNEN², VERONIKA IHRADSKÁ¹,
KATARÍNA KLUBICOVÁ¹, JÁN SALAJ¹

¹PLANT SCIENCE AND BIODIVERSITY CENTER, INSTITUTE OF PLANT GENETICS AND BIOTECHNOLOGY, AKADEMICKÁ 2, 950 07 NITRA, SLOVAK REPUBLIC;

²LABORATORY OF TROPICAL CROP IMPROVEMENT, KU LEUVEN, BIOVERSITY INTERNATIONAL, WILLEM DE CROYLAAN 42, LEUVEN, BELGIUM

SUMMARY

Four cell lines of embryogenic tissue of *Abies alba* Mill. were cryopreserved using the slow-freezing technique. The tissue was pretreated with 0.5 M sorbitol for 24 hours, following with 5% DMSO and stored in liquid nitrogen for 4–5 days. Thawing occurred in water bath at 40 °C. The tissue showed high cryotolerance, reaching recovery (regrowth) frequency 100% for all the four cell lines. At present the regrown tissue is under further investigation, focused on growth characteristics and maturation capacity.

Key words: cryotolerance; slow-freezing technique; tissue regeneration/regrowth

SOUHRN

Štyri bunkové línie embryogénnych pletív jedle bielej boli kryokonzervované metódou pomalého zmrazovania. Pletivá sa predošetrili 0.5 M sorbitolom, následne 5 % DMSO a udržiavali sa 4–5 dní v tekutom dusíku. Zamrznuté pletivá sa rozmrazili pri 40 °C vo vodnom kúpeli. Regenerácia kryokonzervovaných pletív bola vysoká, pri všetkých bunkových líniiach dosiahla frekvenciu 100 %. V súčasnosti sa pletivá udržiavajú na proliferačnom médiu a zameriavame sa na charakterizáciu ich rastu a maturácie somatických embryí.

Kľúčové slová: kryotolerancia; metóda pomalého zmrazovania; regenerácia pletív

INTRODUCTION

Somatic embryogenesis is in vitro developmental process leading to formation of embryos from somatic cells of a plant body without gamete fusion. Somatic embryogenesis represents an excellent in vitro plant regeneration system available for fundamental study of early plant development, moreover it is considered as a biotechnological tool for their vegetative mass propagation. In conifer trees somatic embryogenesis was first described for Norway spruce /1, 2/. Immature as well as mature zygotic embryos, or exceptionally explants collected from adult trees are sources for initiation of somatic embryogenesis in conifer species. The culture of explants resulted in formation of embryogenic tissues that are being maintained under in vitro conditions by regular transfers in two-three weeks intervals. The in vitro maintenance is time consuming and laborious, moreover the microbial contamination cannot be excluded. Cryopreservation is perspective technique for safe and relatively cheap long term maintenance of plant cells, tissues and organs. In recent years several reliable cryopreservation protocols have been developed. The most often used are air drying, classical slow-freezing, encapsulation/dehydration, vitrification and droplet freezing /3/. The classical slow-freezing protocol is especially convenient for rapidly growing embryogenic tissue with high regeneration ability. This protocol was used for storage of several *Abies species* and hybrids. Embryogenic tissue of *Abies alba* /4/, *A. cephalonica* /5/, *A. fraseri* /6/ and hybrids *A. alba* x *A. numidica*, *A. alba* x *A. cephalonica* /7/ was successfully stored in liquid nitrogen.

In our laboratory, embryogenic tissue has been initiated from immature zygotic embryos of *Abies alba*. Four cell lines that were characterised by high maturation capacity have also been cryopreserved. This study is aimed to give the preliminary results obtained in experiments focused on cryopreservation.

MATERIAL AND METHODS

Initiation and proliferation of embryogenic tissue

the embryogenic tissue of *Abies alba* Mill. was initiated from immature zygotic embryos enclosed in megagametophyte (Fig. 1) The nutrient medium DCR (Gupta and Durzan 1985) contained 6-benzyladenin (1 mg.l^{-1}) as sole plant growth regulator as well as was supplemented with enzymatic caseinhydrolysate (1000 mg.l^{-1}), glutamine (500 mg.l^{-1}), glycine (20 mg.l^{-1}) and vitamins. Sucrose (2%) was used as a carbon source. The medium was solidified with gelrite (0.3%). Medium of the same composition was also used for tissue proliferation. The cultures were regularly transferred to fresh medium in 3 weeks intervals and kept in dark at 23°C in culture room. Four cell lines A01, A30, A31, A32 were included in the experiments.



Fig. 1. Extrusion of embryogenic tissue from megagametophyte explant.

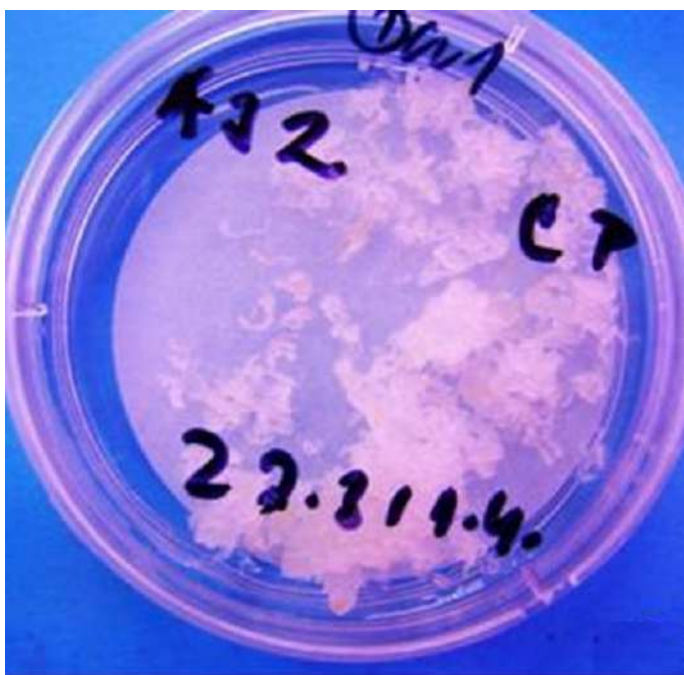


Fig. 2. Tissue regeneration after cryopreservation.

Cryopreservation procedure

for cryopreservation the slow-freezing technique was used. 1.5 g of well growing tissue was transferred to solid proliferation medium containing sorbitol (0.5 M) and cultured for 24 hours (pretreatment). After pretreatment the tissue was collected from two Petri plates and re-suspended in 9 ml of liquid pretreatment medium. Gradually, during 1 hour 10% DMSO was pipetted to reach the final concentration 5% (the samples were kept on ice). Following, the suspension was pipetted into cryovials (1.8 ml) and the cryovials were placed to Mr. Frosty container filled with isopropanol. Finally the container was transferred to deep freezer (-80°C). As the temperature in cryovials, controlled by thermometer in one cryovial, reached -40°C , the samples were plunged into liquid nitrogen and stored there for 4–5 days. Thawing of samples occurred in water bath at 40°C . The control 1 (C1) tissue was pretreated but not frozen, immediately after pretreatment was transferred to proliferation medium. After thawing the tissue was maintained on proliferation medium and visual observations were done regularly in 4–5 days intervals under stereomicroscope.

Microscopic observations

the structure of somatic embryos was followed using squash preparations. Small pieces of tissue was stained with 2% acetocarmine and examined under Zeiss Axioplan 2 bright field microscope.

RESULTS AND DISCUSSION

The tissue after thawing started to regenerate around the 7–9 days and massive growth occurred following the second week of culture (Fig. 2).

All the four cell lines survived cryopreservation with individual regeneration (regrowth) frequency 100%. The regeneration capacity of C1 tissues was also in 100%, suggesting no harmful influence of pretreatment solution on tissue. Similarly, in *Pinus radiata* no toxic effect was exerted on tissue after pretreatment /9/. The embryogenic tissue of conifer species

was characterised by high regeneration ability after cryopreservation. In *Araucaria angustifolia* the regrowth of tissue 60 days after cryostorage was 100% /10/. Similarly, in *Pinus pinaster* 100% recovery was achieved in cryopreserved embryogenic tissue /11/.

Embryogenic tissue of *Abies alba* is of white color and mucilaginous consistence /12/. Microscopic investigation showed presence of numerous bipolar structures - somatic embryos with distinguishable meristematic embryonal parts („head“) connected with long suspensor. The suspensor cells are highly vacuolated and arranged into a bundle. The embryos are present as individual structures or, several „heads“ are joined together forming huge structural complex. This structural organization is also maintained after cryopreservation (Figs. 3, 4).

Structural investigations revealed, during cryopreservation the bipolar organisation of somatic embryos was disintegrated and in the subsequent post thaw period the original structure of somatic embryos was restored /13/.

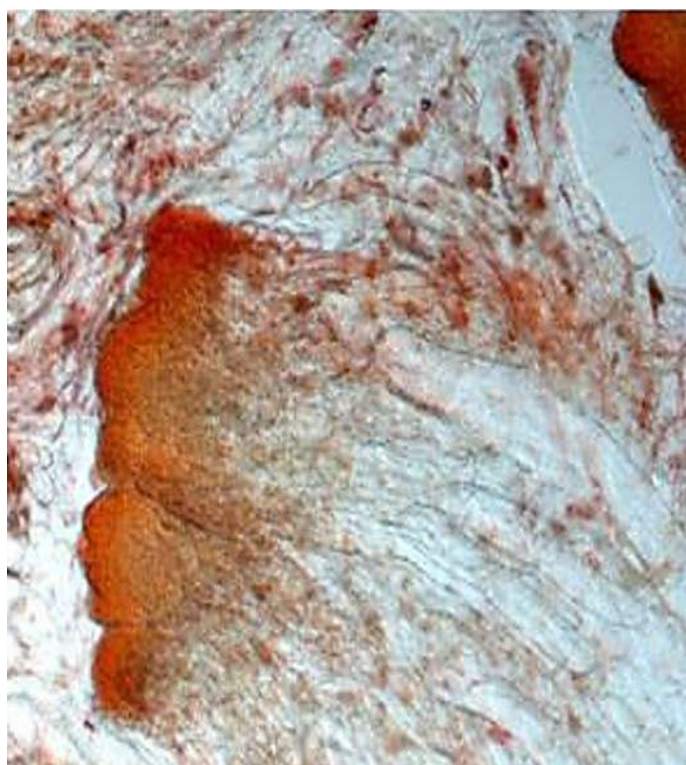


Fig. 4. Somatic embryos with connected meristematic „heads“ and suspensors in cryopreserved and regenerated embryogenic tissue.



Fig. 3. Bipolar somatic embryo in cryopreserved and regenerated embryogenic tissue.

LITERATURE

- /1/ Hakman I., Fowke L.C., von Arnold S., Eriksson T.: The development of somatic embryos in tissue cultures initiated from immature embryos of *Picea abies* (Norway spruce). *Plant Sci.* 38, 1985: 53-59./14/ Alvarez J.M., Cortizo M., Ordás, R.J.: Cryopreservation of somatic embryogenic cultures of *Pinus pinaster*. *CryoLetters* 33, 2012: 476-484.
- /2/ Chalupa V.: Somatic embryogenesis and plant regeneration from cultured immature and mature embryos of *Picea abies* (L.) Karst. *Comm. Inst. For. Czechosloveniae* 14, 1985: 57-63.
- /3/ Panis B., Lambardi M.: Status of cryopreservation technologies in plants (Crops and forest trees). In: *The Role of Biotechnology*, Villa Guiliano, Turin, Italy, 5-7 March, 2005, pp. 43-54.
- /4/ Krajňáková J., Bertolini A., Gömöry D., Vianello A., Häggman H.: Initiation, long-term cryopreservation, and recovery of *Abies alba* Mill. embryogenic cell line. *In Vitro Cell. Dev. Biol. - Plant* 49, 2013: 560-571.
- /5/ Krajňáková J., Sutela S., Aronen T., Gömöry D., Vianello A., Häggman, H.: Long-term cryopreservation of Greek fir embryogenic cell lines: Recovery, maturation and genetic fidelity. *Cryobiology* 63, 2011: 17-25.
- /6/ Pullmann G.S., Olson K., Fischer T., Egertsdotter U., Frampton J., Bucalo K.: Fraser fir somatic embryogenesis: high frequency initiation, maintenance, embryo development, germination and cryopreservation. *New Forest* 47, 2016: 453-480.

- /7/ Salaj T., Matusikova I., Panis B., Swennen R., Salaj J.: Recovery and characterisation of hybrid firs (*Abies alba* x *A. cephalonica*, *Abies alba* x *A. numidica*) embryogenic tissues after cryopreservation. *CryoLetters* 31, 2010: 206-217.
- /8/ Gupta P.K., Durzan D.J.: Shoot multiplication from mature trees of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugar pine (*Pinus lambertiana*). *Plant Cell Rep.* 4, 1985: 177-179.
- /9/ Lineros Y., Balocchi C., Muñoz X., Sanchez M., Rios D.: Cryopreservation of *Pinus radiata* embryogenic tissue: effects of cryoprotective pretreatments on maturation ability. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 135, 2018: 357-366.
- /10/ Fraga H.P.F., Vieira L.N., Putkammer K., da Silva J.M., dos Anjos K.G., Oliveira E.M., Guerra M.P.: High-efficiency cryopreservation of *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze embryogenic cultures: ultrastructural characterisation and morpho-physiological features. *Plant Cell Tissue and Organ Cultures* 124, 2016: 307-318.
- /11/ Alvarez J.M., Cortizo M., Ordás R.J.: Cryopreservation of somatic embryogenic cultures of *Pinus pinaster*. *CryoLetters* 33, 2012: 476-484.
- /12/ Gajdošová A., Vooková B., Kormuťák A., Libiaková G., Doležel J.: Induction, protein composition and DNA ploidy level of embryogenic calli of silver fir and its hybrids. *Biologia Plantarum* 37, 1995: 169-176.
- /13/ Salaj T., Matusova R., Panis B., Swennen R., Salaj J.: Tissue regeneration of *Abies* embryogenic cell lines after 1 year storage in liquid nitrogen. *Biologia* 71, 2016: 93-99.

ACKNOWLEDGEMENT

The research was supported by Slovak Grant Agency VEGA, project No. 2/0056/18.



RŮST KOŘENŮ OZIMÉ PŠENICE V ODLIŠNÝCH DLOUHODOBÝCH REŽIMECH HNOJENÍ

ROOT GROWTH OF WINTER WHEAT UNDER LONG-TERM DIFFERENT FERTILIZATION SYSTEMS

PAVEL SVOBODA, JAN HABERLE

VÝZKUMNÝ ÚSTAV ROSTLINNÉ VÝROBY, V.V.I, TÝM PRODUKČNÍ FYZIOLOGIE A VÝŽIVY ROSTLIN, DRNOVSKÁ 507/73, 161 06, PRAHA 6, SVOBODA@VURV.CZ

SUMMARY

The growth of roots of winter wheat in long-term experiments was observed at two sites with different soil and climate conditions. The treatment with mineral fertilizers showed the highest root density and the greatest root depth in both experimental sites. Organic fertilization increased root growth only on lighter, sandy-loam soil at Lukavec. On more fertile, loamy soil at Ruzyně, the differences in root growth among the treatments were not significant.

Key words: organic and mineral fertilization; root density; effective root depth

SOUHRN

Růst kořenů ozimé pšenice v dlouhodobých pokusech byl sledován na 2 stanovištích s odlišnými půdně klimatickými podmínkami. Varianta dlouhodobě hnojená minerálními hnojivy vykazovala největší hustotu a hloubku kořenů na obou stanovištích. Organické hnojení zvyšovalo růst kořenů jen na písčitéjší půdě v Lukavci. Na úrodnější půdě v Ruzyni nebyly rozdíly v růstu kořenů mezi variantami pokusu významné.

Klíčová slova: organické a minerální hnojení; hustota kořenů; efektivní hloubka kořenů

ÚVOD

Růst kořenového systému plodin určuje zásobu vody a živin dostupnou plodinám v půdě. Základním ukazatelem je hloubka a distribuce kořenů v půdním profilu. Údaje o hloubce kořenů jsou důležité nejen pro hodnocení efektivního využití vody a živin z půdního profilu, ale i z hlediska redukce rizika vyplavení nitrátů z kořenové zóny /3/. Změna hloubky a hustoty kořenů hnojením a místními podmínkami může mít významné důsledky pro čerpání vody a živin z podloží /1/.

Cílem tohoto příspěvku bylo porovnat růst kořenů ozimé pšenice v dlouhodobých režimech organického a minerálního hnojení na 2 rozdílných půdně klimatických stanovištích.

MATERIÁL A METODY

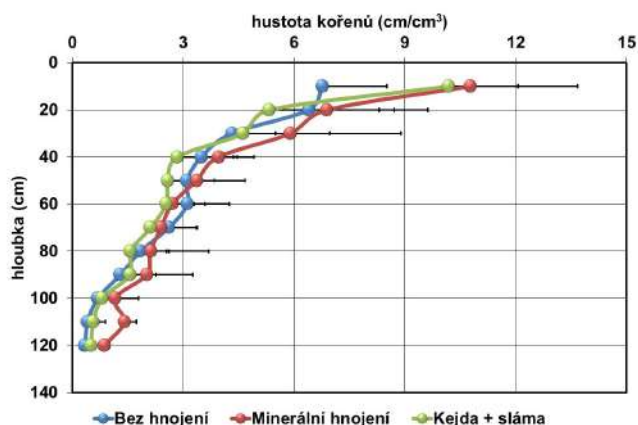
V dlouhodobých polních pokusech VÚRV, v.v.i. v Praze Ruzyni (hlinitá, v podorníci jílovito-hlinitá půda, Cambisol, prům. roční teplota 7,9 °C, roční úhrn srážek 472 mm) a v Lukavci (písčito-hlinitá, v podorníci hlinito-písčité půda, Luvisol, průměrná roční teplota 7,5 °C, roční úhrn srážek 666 mm) byl sledován ve 3 ročnících (2014 až 2016) růst kořenů ozimé pšenice (Mulan, Julie). Kořeny byly sledovány na 3 variantách úrovně hnojení:

- bez hnojení – kontrola,
- s organickým hnojením: hnojem (Lukavec, 40 t/ha), kejdou prasat se slámou (Ruzyně, 20 t/ha, 3 t slámy/ha),
- s minerálním hnojením (50–100 kg N/ha, 60 kg P₂O₅/ha, 60–120 kg K₂O/ha).

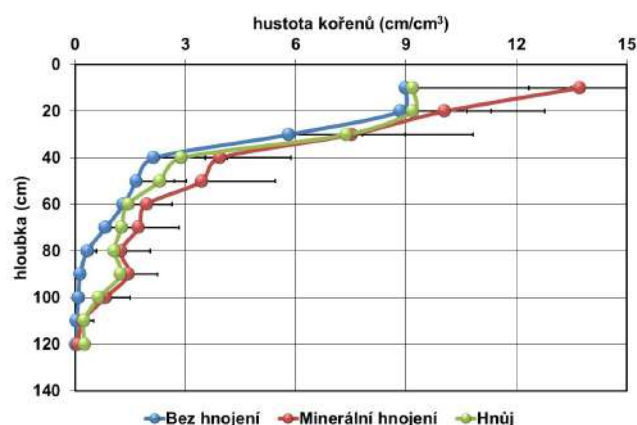
Kořeny byly sledovány po kvetení, v období zrání plodiny, kdy dosahují největší hloubky. Vzorky půdy byly odebírány kovovou sondou o průměru 5 cm v nejméně 3 opakováních po vrstvách 10 cm až do hloubky bez výskytu kořenů. Kořeny byly vyplaveny vodou, byla určena jejich celková délka ve vzorku podle Tennanta /5/ a vypočtena délka kořenů v cm/cm³ půdy, což představuje hustotu kořenů. Výsledky byly statisticky zpracovány (ANOVA, Tukey test).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Na obou stanovištích byly patrné rozdíly v růstu kořenů pšenice u jednotlivých variant (graf 1 a 2). Největší délka (hustota) kořenů byla pozorována na variantě s minerálním hnojením, zvýšení oproti kontrole bylo zaznamenáno takřka v celém půdním profilu. V Ruzyni to představovalo zvýšení celkové délky kořenů o 25 %, v Lukavci o 52 %. Neprokovála se zde tedy současná redukce růstu kořenů do hloubky, která se podle některých autorů může projevit při velkých dávkách minerálního dusíku /4/. U organického hnojení došlo také k určitému zvýšení růstu kořenů oproti nehnojené kontrole, avšak zvýšený růst kořenů byl zaznamenán jen na stanovišti v Lukavci (o 24 % oproti kontrole). Nejmenší růst kořenů byl zaznamenán na kontrole bez hnojení, na stanovišti v Lukavci. Rozdíly mezi variantami byly tedy více patrné na chudší hnědé půdě s písčitým podorníkem v Lukavci než na úrodnější půdě v Ruzyni.



Graf 1: Délka (hustota) kořenů ozimé pšenice v jednotlivých vrstvách půdního profilu na stanovišti v Ruzyni (průměr 3 let)



Graf 2: Délka (hustota) kořenů ozimé pšenice v jednotlivých vrstvách půdního profilu na stanovišti v Lukavci (průměr 3 let)

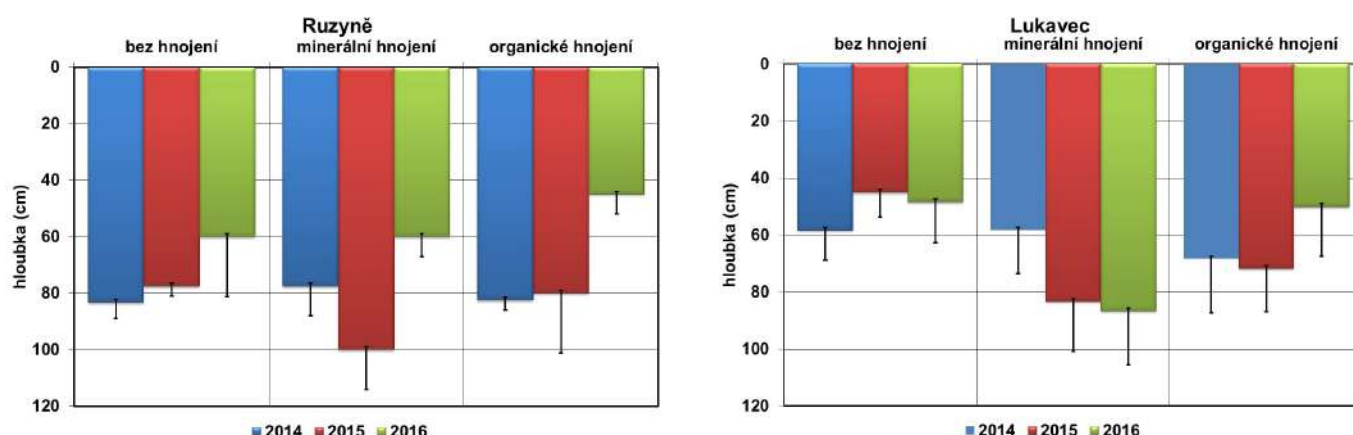
Na všech sledovaných variantách v Lukavci byla zjištěna oproti Ruzyni větší délka (hustota) kořenů v horní orniční vrstvě, do 30 cm. Tato vrstva představovala přes 70 % z celkové délky kořenů, v Ruzyni to bylo jen 55 % (tab. 1). I když celková délka kořenů v půdním profilu 0 až 120 cm byla na obou stanovištích téměř stejná ($P = 0,7192$), rozložení kořenů v profilu se výrazně lišilo. Průkazně se lišila délka kořenů v horní 30cm vrstvě půdy, kdy v Lukavci byla větší o 32 % než v Ruzyni ($P = 0,00017$). V podorníčních vrstvách již tomu bylo naopak, délka kořenů v Ruzyni statisticky průkazně převyšovala nízkou délku kořenů v Lukavci. Z toho lze usuzovat, že růst kořenů značně ovlivňuje vedle klimatických podmínek také složení a mocnost jednotlivých půdních horizontů na stanovišti. To vše se promítlo i do diferenciací maximální dosahované hloubky kořenů, kdy kořeny pšenice dosahovaly v Lukavci 105 cm hloubky na hnojených variantách, na nehnojené kontrole v průměru jen do 85 cm. V Ruzyni dosahovaly kořeny pšenice ojediněle i pod hloubku 120 cm a nebyly zjištěny výrazné rozdíly mezi variantami.

Tab. 1: Délka kořenů ozimé pšenice v jednotlivých 30cm vrstvách půdního profilu (v procentech z celkové délky kořenů, průměr variant)

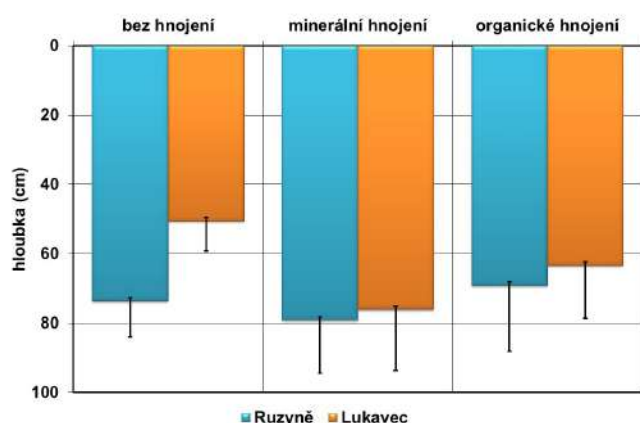
(cm)	0–30	30–60	60–90	90–120
Ruzyně	55	25	16	4
Lukavec	71	19	9	1

předplodin, činností edafonu apod. Někdy je pronikání kořenů do hloubky ztíženo utužením půdy nebo výrazným podílem skeletu. Hustota kořenů plodin ve větších hloubkách bývá menší, u většiny plodin včetně obilnin se s hloubkou exponenciálně snižuje. Pro příjem vody a živin je důležitá tzv. efektivní hloubka prokořenění. Je to hloubka, kde kořeny jsou ještě schopné efektivně využít vodu a živiny z těchto vrstev /4/. Obecně bývá zhruba o 10–25 cm menší, než je maximální hloubka kořenů. Udává se, že hustota kořenů 1 až 2 cm na 1 cm³ půdy je ještě dostačující z hlediska uspokojivého čerpání vody a živin kořeny plodiny z hlubších vrstev půdy.

Efektivní hloubka kořenů pšenice v průběhu sledovaných let kolísala (graf 3 a 4), což mohlo být způsobeno také množstvím a rozložením srážek v jednotlivých letech.



Graf 3: Efektivní hloubka kořenů pšenice (hustota kořenů více než $2\text{cm}/\text{cm}^3$) v jednotlivých letech



Graf 4: Efektivní hloubka kořenů pšenice (hustota kořenů více než $2\text{cm}/\text{cm}^3$, průměr 3 let)

Obecně lze říci, že průkazně nejmenší efektivní hloubka kořenů pšenice byla dosahována na dlouhodobě nehnojené variantě v Lukavci, minerální hnojení vykazovalo na obou stanovištích největší efektivní hloubku kořenů. V ročníku 2016 jsme zaznamenali nejmenší růst kořenů pšenice do hloubky, hlavně na stanovišti v Ruzyni.

Poměrně velké množství skeletu v půdním profilu v Lukavci do určité míry znesnadňovalo sledování růstu kořenů, ale např. nedestruktivní metody sledování kořenů nám neumožňují dostat informace o hustotě kořenů v jednotlivých vrstvách půdy nebo o dosahované hloubce kořenů /2/.

LITERATURA

- /1/ Kautz T. et al. 2013. Nutrient acquisition from arable subsoils in temperate climates: A review. *Soil Biology and Biochemistry* 57: 1003–1022. DOI: 10.1016/j.soilbio.2012.09.014.
- /2/ Středa T., Haberle J., Klimešová J., Svoboda P., Středová H., Khel T. 2017. Metodika odběru a hodnocení koř. systému polních plodin. Cert. metodika. Mendelova Univerzita v Brně, VÚRV, v.v.i. Praha.
- /3/ Svoboda P., Kurešová G., Neumannová A., Haberle J. 2017. Riziko vyplavení nitrátů u zelenin a plodin s různou hloubkou kořenů. *Úroda* 65 (12), 493-496.
- /4/ Svoboda P., Haberle J. 2006. The effect of nitrogen fertilization on root distribution of winter wheat. *Plant Soil and Environment*, 52: 308-313.
- /5/ Tennant, D. 1975. A test of a modified line intersect meth. of estimating root length. *J. of Ecology*, 63, 995-1001.

PODĚKOVÁNÍ

Příspěvek byl podpořen projekty MZe ČR QK1720285 a RO0418.



PARAMETRY KLÍČENÍ SEMEN A POČÁTEČNÍHO RŮSTU SEMENÁČKŮ

PARAMETERS OF SEED GERMINATION AND EARLY GROWTH OF SEEDLING

BOŽENA ŠERÁ

PRÍRODOVEDECKÁ FAKULTA, UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVĚ, ILKOVIČOVA 6, BRATISLAVA, SLOVENSKO, BOZENA.SERA@UNIBA.SK

SUMMARY

Seed germination is a test commonly used in plant biology, ecology, agricultural and forestry experiments. In this text, the basic terminology is explained and a simple design of the experiment on seed germination and early growth is described including the specification of measurable seed and seedling characteristics. Various pitfalls, that may arise during the creation of the experiment or in the collection of data, are mentioned. The text is intended for educated public and students from various schools.

Key words: germination energy; germination index; germination rate; seed germination; seedling vigor index

SOUHRN

Klíčivost je běžně používaný test nejen v oceňování osiva, ale také v biologii rostlin, ekologii, zemědělském a lesnickém pokusnictví. V tomto textu jsou vysvětleny základní terminologické nástroje a principy problematiky klíčivosti semen a jejich počátečního růstu. Je zde popsán jednoduchý design pokusu včetně specifikace měřitelných charakteristik, který lze aplikovat v běžné praxi. Zmíněna jsou různá úskalí, která mohou vzniknout během zakládání pokusu nebo při získávání bazálních dat. Text je určen poučené veřejnosti a studentům nejen biologického směru studia.

Klíčová slova: energie klíčení; index klíčivosti; index vitality semenáčků; klíčivost semen; rychlost klíčení

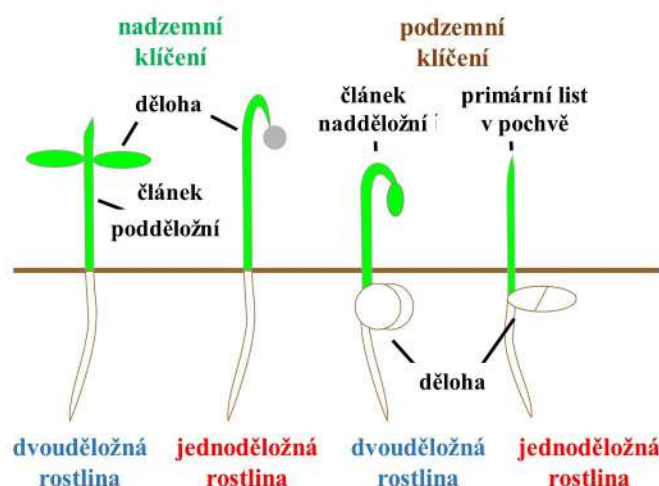
ÚVOD

Semeno je rozmnožovací orgán semenných rostlin, díky kterému rodičovské rostliny předávají svůj genetický materiál další generaci. Rostliny vzniklé ze semen nesou vlastnosti obou rodičů, proto má pohlavní rozmnožování velký význam pro variabilitu nových jedinců a pro vývoj druhu /4/. Vlastnosti semen jsou dány geneticky, jsou to podmíněné znaky, které jsou jen z části závislé na prostředí jejich dozrávání a následného růstu. Prostřednictvím semen budoucí rostlina přežívá nepříznivé podmínky pro růst (banka semen - seed bank), může se šířit krajinou (šíření semen – seed dispersal). Morfologická stavba a biochemické složení semene je dáno genetickým základem a do určité míry je také ovlivněno sezónními podmínkami. Pletiva semen mají významně snížený obsah vody (dehydratace pletiv) a metabolickou aktivitu. Obecně lze dělit semena různých druhů rostlin na dvě skupiny, podle toho, kolik jejich pletiva obsahují vody. Ortodoxní semena mají pletiva s nízkým obsahem vody a semena rekalcitrantní obsahují podstatně více vody. Pokud u rekalcitrantních semen dojde ke zvýšení dehydratace pletiv, semeno ztrácí klíčivost a umírá. Ortodoxní semena mohou přežívat různé nepříznivé životní podmínky podstatně lépe /6/.

Uvnitř semene je uloženo embryo (zárodek) a zásobní látky, především škroby, glycidy a lipidy, které slouží v počátku růstu jako výživa zárodku /5/. Klíčení semene je obnovení jeho metabolické aktivity, dochází k prodlužování buněk radikuly (kořínku) a hypokotylu (článek podděložní) u embrya. V laboratorních podmínkách se za vyklíčené semeno považuje takové, které má viditelný kořínek. Kořínek prorazil povrchovou vrstvu semene, osemení (testa), a je dlouhý cca 1–3 mm. Klíčovou úlohu při klíčení a počátečním růstu hraje kořínek (posléze kořen), tedy jeho přítomnost, délka, hmotnost, způsob větvení, počet špiček apod. Kořínek je prvním rostlinným orgánem, který umožňuje embryu první kontakt s vnějším prostředím. Jak se postupně vyvíjí, začíná zajišťovat příjem vody s rozpuštěnými živinami a umožňuje zakotvení v půdě. V následujícím textu jsou uvedeny nejčastější sledované charakteristiky, které lze získat z klíčících semen a semenáčků rostlin při jejich počátečním vývoji. Klíčení semen, jak jednoděložných, tak dvouděložných rostlin, je buď nadzemní (děloha je vynesena nad povrch půdy) nebo podzemní (děloha zůstává pod povrchem půdy obr. 1).

Nadzemní (epigeické) klíčení je dobře popsáno u fazolu setého (*Phaseolus vulgaris*, dvouděložné) a u cibule seté (*Allium cepa*, jednoděložné). Podzemní (hypogeické) klíčení je charakteristické například pro hrách setý (*Pisum sativum*, dvouděložné) a rostliny lipnicovité (*Poaceae*, jednoděložné).

Klíčivost semen a počáteční růst semenáčků patří mezi oblíbené charakteristiky ukazující na kvalitu testovaných semen /8/ a je hlavním parametrem profesionální semenářské kontroly /2/. Testy klíčivosti se mohou používat také při studiu zlomení dormance, alelopatie nebo studiu toxicity kontaminované půdy a vody.



Obr. 1: Rozdíly mezi nadzemní a podzemní klíčivostí semen s ohledem na jedno nebo dvouděložnost rostlin

MATERIÁL A METODY

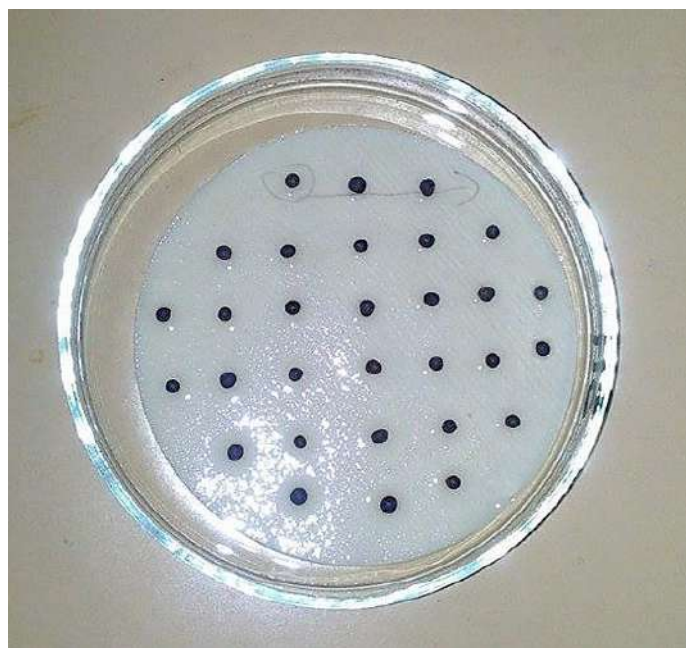
Založení pokusu

Testy klíčivosti jsou často používány i jako doplňující informace k různým biologickým a ekologickým výzkumům. Jejich obliba spočívá i ve faktu, že se dají celkem jednoduše provést a jsou nenáročné na materiální vybavení. U cílených zemědělských rostlin je dobré postupovat podle pravidel ISTA (Mezinárodní asociace pro zkoušení osiv), která se vztahují na celkové testy kvality osiva. Použití standardizované metodiky zajistí jednak reprodukovatelnost a jednak možnost porovnání získaných údajů s jinými laboratořemi. Jistou nevýhodou je jejich špatná dostupnost a průběžné změny (zpřesňování) v těchto metodikách.

Klíčivostí semen se zabývám již poměrně dlouhou dobu a za ten čas jsem si vypracovala určitý design laboratorních testů. V testech lze použít plastové nebo skleněné Petriho misky, kdy pro běžnou velikost semen (mák, pšenice, řepka) stačí průměr cca 9 cm. Plastové misky jsou lepší pro manipulaci, protože nekloužou a jsou lehčí. Skleněné misky naopak lze velmi dobře vydezinfikovat (možnost recyklace) a mít tak biologicky čistý prostor. U specifických pokusů zaměřených na vliv inhibičních nebo stimulačních látek je nutné používat chemicky čisté misky, což lze docílit u skleněných Petriho misek, nebo u jednorázového použití plastových.

Na dno misek se naklade několik vrstev sterilních filtračních papírů (cca 3 kusy), které se zvlhčí a pak teprve umísťujeme jednotlivá semena (dezinfikovaná, nebo bez ošetření). Pracuje se pomocí pinzety, aby nedošlo k nežádoucím kontaminacím semen. Semena by měla být viditelně zdravá a rozprostřena tak, aby se vzájemně nedotýkala. Na obr. 2 je znázorněno rozmístění 30 semen, které lze takto použít. Design pokusu je pak zpravidla 30 semen na jednu misku a 5 misek na jedno ošetření. Při konkrétním rozložení semen na misce (je známa pozice jednotlivých semen), je poté znám také vývoj jednotlivých semen v čase. Při statistickém zpracování takových dat, lze pak použít párové testy.

V experimentální praxi bývá ke klíčivosti a počátečnímu růstu také používán složený filtrační papír, kde se dá poskládat větší počet semen. Zpravidla bývá použito 4x50 semen nebo 4x100 semen. Určitou nevýhodou tohoto způsobu založení pokusu je horší kontrolovatelnost a zajištění stejných růstových podmínek pro všechna semena.



Obr. 2: Optimální rozložení 30 semen na ploše Petriho misky (6 řad po 3, 5, 7, 7, 5 a 3 semenech). Opačovaně lze určit pořadí semen (kolečko označuje první semeno a šipka směr dalších pozic).

V pokusech, kde je zajišťována klíčivost semen, se používají semena, která byla ze vzorku náhodně vybraná (velmi důležitý krok) a pro nabobtnání semen se používá deionizovaná voda nebo převařená voda z vodovodu. Pokud ovšem počáteční růst semenáčků má odpovědět na otázku vlivu použité zálivky, pak by semena měla být přibližně stejně velká (cílený výběr) a napřed nabobtnatá v deionizované vodě. Pak by měla být použita příslušná testovací látka v určité koncentraci. Množství tekutiny je nutno přizpůsobit danému druhu rostliny (velikost semen), která nebývá větší než 6 ml na jednu misku, přičemž je nutné optimální vlhkost průběžně kontrolovat.

Běžně používaná semena v laboratorních podmínkách ($t_{\max}$ cca 20 °C) začínají klíčit 3.–5. den po založení pokusu. Platí, že některá semena vyžadují pro klíčení tmu a jiná střídání tmy a světla. Při sledování počátečního růstu semenáčků je nutné pokus provádět při režimu den/tma a nastavení osvětlení by mělo odpovídat fyziologickým potřebám daného druhu rostliny. Intenzita ozáření určuje rychlost fotosyntézy. Pro druhy rostlin se středními nároky na světlo stačí fotonová ozáření cca 40–50 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Den, kdy se objeví první klíčící semeno je pak 1. dnem klíčení. Je rozumné pokus skončit, když se začínají zvětšovat děložní lístky. Pokusy na Petriho miskách by neměly být cíleně vedeny na popis růstu semenáčků, protože mechanismy neodpovídají fyziologickým podmínkám při normálním růstu v přirozených podmínkách.

Charakteristiky klíčení semen

Následně jsou představeny nejčastější charakteristiky popisující proces klíčení semen: klíčivost semen, rychlost a energie klíčení a index klíčivosti. Všechny uvedené vzorce jsou přizpůsobeny pro následující design pokusu: 5 Petriho misek na jedno ošetření a 30 semen na jednu misku.

Klíčivost semen vyjadřuje procentuální množství vyklíčených semen daného vzorku za optimálních podmínek v čase vymezeném pro klíčení (tedy v období, kdy je klíčení ukončeno).

Klíčivost semen (seed germination) - SG:

$$SG = \frac{\sum_{i=1}^5 \frac{N_{Pi}(j)}{30}}{5} \times 100 [\%]$$

Rychlost klíčení je poměr počtu vyklíčených semen na začátku (j_{begin}) a na konci (j_{end}) stanovené doby, který se vyjadřuje v procentech.

Rychlost klíčení (germination rate) - GR:

$$GR = \frac{\sum_{i=1}^5 \frac{N_{Pi}(j_{\text{begin}})}{N_{Pi}(j_{\text{end}})}}{5} \times 100 [\%]$$

Energie klíčení je často uváděnou charakteristikou, která není zcela jednoznačně stanovena [3, 9]. Proto je nutné vždy uvádět, jak byla stanovena. Energie klíčení buďto vyjadřuje procentuální množství vyklíčených semen vzorku v daném čase (v období před ukončením procesu klíčení) nebo jako (viz vzorec) procentuální množství vyklíčených semen daného vzorku, který klíčí až do doby nejvyššího počtu vyklíčených semen za 24 hodin. Energie klíčení vypovídá o intenzitě a vyrovnanosti klíčení [1]. Pokud odečítáme každý den nově vyklíčená semena na jednotlivých Petriho miskách, získáme posloupnost hodnot $n_{Pi}(j)$.

Průměrná energie klíčení (mean germination energy) – MGE:

$$MGE = \frac{\sum_{i=1}^5 \frac{\max_j n_{Pi}(j)}{30}}{5} \times 100 [\%]$$

Klíčivost, energie klíčení a rychlost klíčení jsou často používané parametry kvality zemědělského osiva, květinářských, zelinářských a lesnických komodit [8]. Z dalších používaných a užitečných parametrů lze prezentovat index klíčivosti, který je součtem poměrů počtu vyklíčených semen a příslušného (n_1 ; n_2 ; ... n_x) měřeného dne.

Index klíčivosti (germination index) - GI:

$$GI = \frac{\sum_{i=1}^5 \sum_{j=n_1, n_2, \dots, n_x} \frac{N_{Pi}(j)}{j}}{5}$$

, kde

i - index Petriho misky,

j - index dne kultivace,

k - index semene,

$N_{Pi}(j)$ - počet klíčících semen na i - Petriho misce, j - den pokusu.

Charakteristiky počátečního růstu semenáčků

V počátečním růstu rostlin jsou nejběžnějšími uváděnými charakteristikami jejich průměrná délka a hmotnost, které mohou být stanoveny různým způsobem. Následující vzorce popisují postup získání průměrné

délky semenáčku, která vychází z údajů od jednotlivých semenáčků, a hmotnosti sušiny semenáčku, který vychází z hmotnosti sušiny všech semenáčků z jednotlivých Petriho misek. Na tomto příkladu je ukázáno, že je nutné vždy popsat, jak bylo postupováno při získávání bazálních dat (Jak byly počítány průměry? Šlo o živou hmotu nebo o sušinu?).

Průměrná délka semenáčku (mean length of seedling)

$$l = \frac{\sum_{i=1}^5 \frac{\sum_{k=1}^{30} l_{kPi}(j)}{30}}{5} \quad [\text{mm}]$$

Hmotnost sušiny semenáčku (dry seedling weight) -

$$w = \frac{\sum_{i=1}^5 \sum_{k=1}^{30} w_{kPi}}{5} \quad [\text{mg}]$$

Vzhledem k tomu, že mnoho druhů rostlin má podzemní klíčení, lze u jejich semenáčků rozlišit nadzemní (S, shoot) a podzemní (R, root) část. Toho lze využít a uvádět také délky nadzemní a podzemní části, nebo jejich hmotnosti. U semen, která klíčí nadzemně, bývá problém s přesným rozlišením hranice mezi kořínkem a hypokotylem, proto se tyto charakteristiky stanovují u starších rostlin a jen u pokusů, které neprobíhaly na Petriho miskách, ale v agarových nádobách, v květináčích nebo na záhonech. Rozlišení nadzemní a podzemní části lze využít pro stanovení poměru R/S, kdy lze kalkulovat nejen s délkami a hmotnostmi, ale i s množstvím spalného tepla, obsahu uhlíku apod. /7/.

Zde jsou představeny také dvě poměrně komplexnější charakteristiky, které odrážejí jak klíčivost, tak růsto-

vé vlastnosti semenáčků. První charakteristika (Index vitality semenáčku I.) je odvozena z délek a druhá (Index vitality semenáčku II.) z hmotností semenáčků. Platí zde totéž co výše, tedy, že je potřeba precizního metodického vyjádření, aby bylo vždy jasné, jak byla popisovaná charakteristika získána. Důležité je zmínit, že ačkoliv je zažitý název u těchto charakteristik „index“, jsou obě charakteristiky s příslušným rozměrem.

Index vitality semenáčku I. (seedling vigor index I.) – SVI I.:

$$SVI I. = \frac{\sum_{i=1}^5 \left(\frac{N_{Pi}(j)}{30} \times \frac{\sum_{k=1}^{30} l_{kPi}(j)}{30} \right)}{5} \quad [\text{mm}]$$

Index vitality semenáčku II. (seedling vigor index II.) – SVI II.:

$$SVI II. = \frac{\sum_{i=1}^5 \left(\frac{N_{Pi}(j_{end})}{30} \times \sum_{k=1}^{30} w_{kPi} \right)}{5} \quad [\text{mg}]$$

, kde

i - index Petriho misky,

j - index dne kultivace,

k - index semene,

$N_{Pi}(j)$ - počet klíčících semen na i - Petriho misce, j - den pokusu,

$lk(j)$ - délka semenáčku vyrostlého z k - semene, j - den pokusu,

$lk_{Pi}(j)$ - délka semenáčku vyrostlého z k -semene na i - Petriho misce, j - den pokusu,

w_k - celková hmotnost k - semenáčků na i - Petriho misce, j -den pokusu.

ZÁVĚR

Článek obsahuje čtyři podkapitoly, které na sebe logicky navazují. Nejdříve jsou vysvětleny potřebné termíny, především klíčivost semen, nadzemní a podzemní klíčivost. Následuje popis designu testu klíčivosti, který lze použít u semen s běžnou velikostí a s rychlým nástupem klíčení. Dále následuje výčet nejběžnějších charakteristik, které lze získat z počtu vyklíčených semen. Poslední podkapitola obsahuje charakteristiky, které jsou svázány s počátečním růstem semenáčků. Vypovídací síla uvedených charakteristik a statistické vyhodnocení dat vzhledem ke klíčivosti a počátečnímu růstu budou obsahem některého z dalších příspěvků.

LITERATURA

/1/ Bam, R.K., Kumaga, F.K., Ori, K., Asiedu, E.A.: Germination, vigour and dehydrogenase activity of naturally aged rice (*Oryza sativa* L.) seeds soaked in potassium and phosphorus. Asian Journal of Plant Sciences, 5, 2006: 948-955.

/2/ Elias, S.: Seed quality testing. 561-601, In: Bastra A.S. (ed.), Handbook of seed science and technology, Food Products Press, New York, 2006.

- /3/ Ford-Robertson, F.C. (ed.): Terminology of Forest Science, Technology Practice and Products. Society of American Foresters, Washington, D.C., 1971.
- /4/ Lhotská, M., Kropáč, Z.: Kapesní atlas semen/plodů a klíčnic rostlin. SPN, Praha, 1985.
- /5/ Raven, P.H., Evert, R.F., Eichhorn S.E.: Biology of plants. (5th ed), Worth Publishers, New York, 1992.
- /6/ Song, S.Q., Patricia, B., Pammenter, N., Ntuli, T.M., Fu, J.R.: Seed recalcitrance: a current assessment. *Acta Botanica Sinica*, 45, 2003: 638-643.
- /7/ Šerá, B.: Jak funguje poměr root/shoot. 66-74 p. In: Bláha L., Šerá B. (eds), Význam celistvosti rostliny ve výzkumu, šlechtění a produkci. Powerprint, Praha, 2013.
- /8/ Šerá, B.: Klíčivost jako běžný test v botanickém pozorování, šlechtění a experimentech. 9-17, In: Bláha L., Šerá B. (eds), Příspěvky k problematice zemědělského pokusnictví. Powerprint, Praha, 2014.
- /9/ Willan, R.L. (ed): A Guide to Forest Seed Handling: With Special Reference to the Tropics. FAO forestry paper no 20/2, FAO of USA, Rome, 1985 (<http://www.fao.org/3/AD232E/AD232E00.htm> dostupné dne 25. 5. 2019).



VLIV STÍNU NA DENNÍ PRŮBĚH TEPLOTY LISTŮ

IMPACT OF SHADE ON THE DAILY COURSE OF THE LEAF TEMPERATURE

EDUARD ŠIMAN

AGRONOM V DŮCHODU, VODNÍ 80/29, 370 06 ČESKÉ BUDĚJOVICE 5, E.SIMAN@SEZNAM.CZ

SUMMARY

The course of vine leaves temperatures in the sun and in the shade was measured with an infrared thermometer during a sunny clear summer day without wind, together with the temperatures of air and stone and wooden pole surfaces. The temperatures of the leaves are significantly lower than those of the stone and the wooden pole due to transpiration. But, surprisingly, the leaf temperatures in the shade are only little lower than those in the sun. The difference is discussed. Further the long – wave radiation balance of the roofed spaces is discussed.

Key words: leaf temperature; transpiration; radiation balance

SOUHRN

Infračerveným teploměrem byl měřen průběh teplot osluněného a zastíněného listu vinné révy v průběhu jasného, letního, bezvětrného dne. Současně byly měřeny teploty vzduchu a teploty povrchu kamene a dřevěného sloupku. Teploty listů jsou podstatně nižší než teploty kamene a dřevěného sloupku kvůli transpiraci. Teploty listu ve stínu jsou však překvapivě jen o málo nižší než teploty osluněného listu. Rozdíly jsou diskutovány. Dále je diskutována bilance dlouhovlnného záření krytých prostor.

Klíčová slova: teplota listů; transpirace; radiační bilance

Úvod

Podnětem k mému zájmu o vliv stínu na rostliny bylo pozorování, že pod výše umístěnými stojany s fotovoltaickými panely je bujný bylinný porost. Jednou z hlavních překážek výroby elektřiny ze slunečního záření je zábor zemědělské půdy. Pokud by se podařilo ekonomicky využít jejich stínu a nosné konstrukce v zahradnické výrobě, otevřela by se nová etapa jejich rozvoje.

Reaguji také na článek /1/, ve kterém se na základě souvislosti mezi poměrem izotopů kyslíku 16 a 18 v produktech fotosyntézy a teplotou, při níž fotosyntéza probíhá, usuzuje, že rostliny účinně regulují svoji teplotu. Podle těchto autorů probíhala asimilace uhlíku v teplotách blízkých 21 °C jak ve stromech severských lesů, tak ve stromech rostoucích v subtropích. Mechanismus této regulace zde však popsán není.

Na rostliny pod panely dopadá prakticky pouze difúzní záření. Těsné upevnění panelů k nosníkům zhoršuje také zásobování vodou. Abych lépe porozuměl, proč se v těchto nepříznivých podmínkách rostlinám daří sledoval jsem za jasného letního bezvětrného dne průběh teplot plně vyvinutých listů vinné révy, jednoho osluněného a jednoho zastíněného. Jejich teploty jsem porovnal s teplotami vzduchu, přibližně vodorovného kamene a dřevěného svislého trámku. Dále jsem posoudil vliv stínu fotovoltaických panelů porovnáním jejich dlouhovlnného záření se zářením jasné a zatažené oblohy.

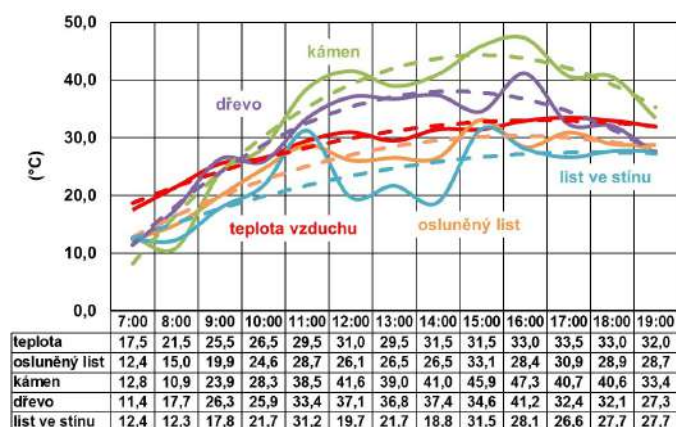
MATERIÁL A METODY

Teplota vzduchu byla měřena lihovým teploměrem umístěným ve výši 2 metry ve stínu. Ostatní teploty byly odečítány infračerveným teploměrem POWERFIX PROFI+ PTSI 9 A1, vybaveným laserovým ukazatelem místa měření. Teplota byla odečítána po přibližně pěti vteřinovém ustálení, u listů ze vzdálenosti přibližně 5 cm. Rozsah měření přístroje je -40 až +220 °C s přesností $\pm 2\%$ $\pm 2\text{ °C}$ pro kladné hodnoty, provozní teplota je 0 až 40 °C při vlhkosti do 75 %. Dlouhovlnné záření (zdánlivá teplota) oblohy se měřila namířením teploměru na zenit oblohy. Vinná réva byla přivázána k pergole a netrpěla suchem. Vzhledem k nízké přesnosti přístroje se dále uvažují jen zásadní rozdíly nebo trendy.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Průběh teplot plně vyvinutých listů vinné révy

Naměřené hodnoty teplot povrchů (graf 1) silně kolísají, patrně vlivem volné konvekce vzduchu. Teprve proložením polynomických trendů vystoupí některé souvislosti. Oba listy mají nižší teplotu než okolní prostředí – vzduch, oba tedy transpirují. Osluněný list má mírně vyšší teplotu než zastíněný, ale podstatně nižší než osluněné netranspirující povrchy Průměrný teplotní rozdíl mezi osluněným a zastíněným listem je 1,9 °C. Zřejmě tedy transpiruje podstatně více. Trendy teploty obou listů jsou pod teplotní hranicí 30 °C a jen do doby dosažení teploty 25 °C pod hranicí 25 °C. To podporuje názor, že transpirace je regulována nejen s ohledem na potřebu zásobovat pletiva kyslíkem uhličitým a maximálně šetřit vodou, ale také s ohledem na optimalizaci teplotního režimu. Zatím je tato vlastnost popisována spíše jako výjimečná např. u datlové palmy /2/.



Graf 1: Denní průběh teploty vzduchu a povrchových teplot osluněného kamene, osluněného dřevěného trámku, osluněného a zastíněného listu vinné révy za bezmračného, bezvětrného letního dne

Spojnice polynomického trendu mají hodnoty R^2 : kámen 0,9174, dřevo 0,8913, teplota vzduchu 0,9617, osluněný list 0,8323 a stinný list 0,624.

odražena, nebo zpětně vyzářena atmosférou, jak uvádí literatura /6/, mají teoreticky rostliny u nás na vodorovné ploše k dispozici 206 W.m⁻² v poledne za zimního slunovratu, 448 W.m⁻² za rovnodennosti a 616 W.m⁻² za letního slunovratu. Tyto teoretické hodnoty dobře odpovídají skutečně naměřeným hodnotám Českého hydrometeorologického ústavu /7/ (tab. 1). V průměru 6–12 % z dopadajícího záření se od porostu odrazí/

Tab. 1: Meteorologickými stanicemi ČHMÚ naměřené sumy globálního záření (průměr let 2001–2013) a jejich přepočítání na intenzitu záření

Období	Suma glob. záření (MJ.m ⁻²)	Dělitel	Prům. intenzita glob. zář. (W.m ⁻²)
XII.–II.	303	60*60*8*91,5	115
III.–V.	1329	60*60*12*91,5	336
VI.–VIII.	1679	60*60*16*91,5	319
IX.–XI.	643	60*60*12*91,5	163
Rok	3954	60*60*12*366	250

Pro zjednodušení je trvání dne v zimě 8 h, v létě 16 h, na jaře a na podzim 12 h a měsíc 30,5 dne. Jde o orientační hodnoty, během dne má globální záření sinusový průběh.

Podle/3/ „C3 rostliny vykazují saturaci při intenzitách odpovídajících asi třetině maximální sluneční ozáření u nás v letním období. Jejich teplotní optimum pro fotosyntézu je nevýrazné v rozsahu 15 až 25 °C, maximum leží kolem 30 °C.“ Pro C3 plodiny s nižší optimální teplotou by tedy zastínění představovalo možnost jak za horka snížit spotřebu vody.

Vliv stínu fotovoltaických panelů

Nadzemní části rostlin jsou ohřívány vzduchem ale především zářením. Suchozemské rostliny využívají pro fotosyntézu nejvýše 4 % přijatého slunečního záření /4/. Ostatní přijaté záření rostliny ohřívá.

Literatura /5/ uvádí hodnotu solární konstanty (slunečního záření dopadajícího kolmo na hranici atmosféry) 1367 ± 7 W.m⁻². Při naší zeměpisné šířce 49° sluneční záření dopadá pod určitým úhlem, který se pohybuje od 0° při východu slunce po 17,5° v poledne za zimního slunovratu, nebo 64,5° v poledne za letního slunovratu. Jestliže je necelá polovina záření

vidíme, jak významné je dlouhodobné záření panelů (i přes nestoprocentní koeficient emisivity záření) pro tepelnou bilanci rostlin pod nimi. Rostliny dlouhodobné záření plně pohlcují /9/. Například teplota fotovoltaických panelů ve 14 hod letního času v květnu (při obloze, zakryté oblaky jen asi z jedné čtvrtiny), dosahovala na osluněné straně v průměru 33,5 a na stinné straně 34,8 °C.

Na druhé straně mohou panely bránit rychlému radičnímu vychladnutí, aktuálnímu při jasných nocích. Infračervený teploměr naměřený na oblohu ukázal např. v ranních hodinách (kvůli vyloučení rozptýleného záření slunce) při zatažené obloze plus 13 °C,

při jasné obloze ale minus 30 °C. Odpovídající rozdíl ve vyzařování oblohy (asi 180 W.m⁻²) se výrazně projeví v radiační bilanci rostlin.

Proč se tedy některým rostlinám pod fotovoltaickými panely daří? Možným vysvětlením je, že panely zajistí pod nimi rostoucím rostlinám příznivou tepelnou bilanci tím, že nahradí tepelné účinky krátkovlnného přímého slunečního záření tepelnými účinky svého dlouhovlnného záření s vhodnějším denním průběhem snižujícím extrémy a šetřícím vodu, přičemž množství difúzního záření oblohy ještě umožňuje fotosyntézu. I pro rajčata náročná na světlo se v literatuře /10/ uvádí dostatečné ozáření při 16 hodinách osvitu 90–100 W.m⁻². Pěstování vhodných plodin pod fotovoltaickými panely by tedy mohlo být smysluplné, zejména v teplých a suchých oblastech.

Protože dořešení této problematiky překračuje moje teoretické znalosti i finanční možnosti, postupuji tyto výsledky odborné diskusi.

Tab. 2: Záření černého tělesa vypočtené pro některé běžné teploty a jejich rozdíly

Teplota (°C)	Termodyn. teplota (K)	Intenzita vyzařování (W.m ⁻²)	Rozdíl proti 20 °C
-30	243,15	198	-221
-20	253,15	233	-186
-10	263,15	272	-147
0	273,15	316	-103
10	283,15	364	-55
20	293,15	419	0
30	303,15	479	60
40	313,15	545	126
50	323,15	618	199



Obr. 1: Příklady zastínění - vlevo Měvsko, vpravo Ševětín

LITERATURA

- /1/ Helliker, B. R., Richter, S. L.: Subtropical to boreal convergence of tree-leaf temperatures. *Nature*, 454, 2008: 511-514.
- /2/ Larcher, W.: Fyziologická ekologie rostlin, Academia Praha, 1988: 129.
- /3/ Procházka, S., Macháčková, I., Krekule, J., Šebánek, J. a kolektiv: Fyziologie rostlin, Akademie Praha, 2003: 155 – 156.
- /4/ Larcher, W.: Fyziologická ekologie rostlin, Academia Praha, 1988: 28.
- /5/ Klabzuba, J.: Aplikovaná meteorologie a klimatologie IV. díl, ČZU Praha, 2002: 15.
- /6/ Larcher, W.: Fyziologická ekologie rostlin, Academia Praha, 1988: 32.
- /7/ Vaníček, K., Dubrovská, I., Metelka, L., Pokorný, J.: Měření složek radiační bilance a dlouhodobé změny globálního záření v ČR. Sborník prací Českého hydrometeorologického ústavu, 61, Praha 2015: 53 – 55.
- /8/ Larcher, W.: Fyziologická ekologie rostlin, Academia Praha, 1988: 34.
- /9/ Larcher, W.: Fyziologická ekologie rostlin, Academia Praha, 1988: 39.
- /10/ Kobza, F., Pokluda, R.: Využití doplňkového přisvětlování rostlin ve sklenících. *Zahradnictví*, 12, 2017: 36 – 38.



VPLYV ABIOTICKÝCH, BIOTICKÝCH A ANTROPOGÉNNÝCH FAKTOROV NA LESNÉ PORASTY A ICH HODNOTOVÚ PRODUKCIU

IMPACT OF ABIOTIC, BIOTIC AND ANTROPOGENIC FACTORS ON FOREST STANDS AND ITS VALUE PRODUCTION

IGOR ŠTEFANČÍK

NÁRODNÉ LESNÍCKE CENTRUM VO ZVOLENE, ODBOR PESTOVANIA A PRODUKCIE LESA, T.G. MASARYKA 22,
960 01 ZVOLEN, IGOR.STEFANCIK@NLCSK.ORG

SUMMARY

The paper deal with comparison of the beech value production in selected pure and mixed stands affected by a certain abiotic, biotic or anthropogenic factors in the past. The results suggested to different value production of beech in comparison to coniferous tree species (spruce and fir). As for beech, the lowest values in € per cubic meter were found in the mixed spruce-fir-beech stand affected by snow breakage in the past. Additionally, the highest value production was in pure beech stand under mild impact due to air pollution. Moreover, the managed pure beech stands showed favourable results in comparison to control without any interventions.

Key words: beech; injurious factors; value production

SÚHRN

Príspevok sa zaoberá porovnaním hodnotovej produkcie buka vo vybraných rovnorodých a zmiešanom poraste, ktoré boli v minulosti postihnuté niektorým abiotickým, biotickým alebo antropogénnym činiteľom. Výsledky poukázali na rozdielnu hodnotovú produkciu buka v porovnaní s ihličnatými drevinami (smrekom a jedľou). Najnižšie hodnoty pre buk vyjadrené v € na 1 m³ sa zistili na ploche so zmesou smrek-jedľa-buk, ktorá bola v minulosti postihnutá snehovým polomom. Najvyššia hodnotová produkcia bola v rovnorodom poraste buka, ktorý bol v minulosti pod miernym imisným vplyvom. V obhospodarovanom bukovom poraste sa dosiahli priaznivejšie výsledky oproti kontrole bez akýchkoľvek zásahov.

Kľúčové slová: buk; škodlivé činitele; hodnotová produkcia

Úvod

Z komplexu škodlivých činiteľov, ktoré nepriaznivo ovplyvňujú lesné porasty patria k najdôležitejším abiotické (vietor, sneh, námraza), biotické (zver, hmyz, huby) a antropogénne (imisie) škodlivé činitele. Dokazujú to údaje o výške náhodných ťažieb, ktoré majú na Slovensku v ostatných desaťročiach stúpajúci trend /5/. Na tomto nepriaznivom stave sa výraznou mierou podieľa niekoľko kalamít, ktoré sa vyskytli v minulosti.

Prvou, i keď rozsahom poškodenia lesných porastov menšou, bola snehová kalamita, ktorá na prelome rokov 1993 a 1994 postihla najmä oblasť stredného Slovenska a lesné porasty v oblasti Záhorskej a Podunajskej nížiny. Príčinou kalamity bol priebeh počasia v decembri 1993, najmä výdatné snehové zrážky počas posledných desiatich dní uvedeného roka. Nepriaznivý vplyv snehu sa prejavil vývratmi, zlomami korún a kmeňov, čo malo za následok znehodnotenie drevnej suroviny, resp. zníženie hodnotovej produkcie takto postihnutých porastov. Celkový rozsah kalamity sa odhadol na 300 až 350 tisíc m³ dreva /15/. Významnejšou bola vetrová kalamita „Ivan“ z 8. júla 1996, keď v dôsledku extrémne silného vetra spojeného s dažďom a krupobitím celkove vietor vyvrátil alebo polámal súvislú plochu lesa na výmere okolo 2000 ha, čo predstavovalo takmer 1,5 milióna m³ kalamitného dreva /2/. Treťou bola vetrová kalamita „Paulína“ v bukových porastoch z 22. júna 1999, ktorá postihla región hornej Nitry, keď po dlhotrvajúcom daždi prišiel silný a nárazový vietor. Následkom bolo poškodenie lesných (hlavne bukových) porastov v objeme zhruba 1 mil. m³ drevnej hmoty /3/. Námrazová kalamita „Tamara“ v dňoch 24.–26. januára 2001 dovtedy nemala v novodobej histórii slovenského lesníctva obdobu. Príčinou bolo, že pri prúdení vlhkého vzduchu od juhu až juhovýchodu v južnej časti Banskobystrického kraja sa vyskytli výdatné zrážky najmä vo forme dažďa so snehom, mrznúceho dažďa a mrznúceho mrholenia. Takto sa na drevinách vytvorila mimoriadne hrubá vrstva ľadu, ktorá poškodzovala prevažne listnaté porasty všetkých vekových tried. Celkovo ľadovica (zládovatelá forma námrazy) poškodila 487 tis. m³ dreva /3/.

Najväčšou udalosťou, ktorá neskôr veľmi významne ovplyvnila zdravotný stav smrekových porastov bola vetrová kalamita „Alžbeta“. Mimoriadna poveternostná situácia, ktorá sa vytvorila 19. novembra 2004, umožnila v súčinnosti s terénom vznik viacerých silných vetrov, ktoré spôsobili rozsiahle poškodenie lesov vo viacerých regiónoch Slovenska. Najviac postihnuté boli Vysoké Tatry, kde bolo vyvrátených 12 600 ha lesa (cca 2 mil. m³ dreva), z čoho väčšina pripadla na sústredenú kalamitu. Postihnuté bolo územie národného parku, kde sa normálny postup spracovania kalamity dostal do určitého rozporu s poslaním chránených území. Okrem toho kalamita zasiahla aj oblasť Nízkych Tatier, Oravy a Slovenského rudohoria. K 31. decembru 2005 bolo zaevidovaných 5 300 tis. m³ kalamitnej hmoty. Z poškodeného objemu dreva bolo 90 % smreka /3/. Ďalšou vetrovou kalamitou bol „Kyrill“, ktorá značne poškodila najmä lesy v západnej Európe (Nemecku, Česku a Rakúsku) s celkovým objemom poškodenej drevnej hmoty 55 mil. m³. Na Slovensku boli škody relatívne nízke, do 400 tis. m³, pričom prevažne bol poškodený smrek (90 %) v oblasti Nízkych Tatier /3/.

Druhou najrozsiahlejšou vetrovou kalamitou za ostatných 20 rokov bola „Žofia“ zo 14. a 15. mája 2015, ktorá spôsobila poškodenie drevnej hmoty v objeme vyše 4 mil. m³ drevnej hmoty. Pritom na rozdiel od tých predchádzajúcich kalamít, kde poškodenou drevinou bol takmer výlučne iba smrek alebo buk, táto poškodila 56 % ihličnatých a 44 % listnatých drevín /4/. Okrem vetrových kalamít boli lesy Slovenska poškodzované tiež kalamitami spôsobenými hmyzmi a hubovými škodcami. Ide o kalamity podkôrneho hmyzu v smrečinách a podpnovky smrekovej v rokoch 1993–2012, resp. kalamitné premnoženie mníšky veľkohlavej v období 1972 až 2012 /3/. Významným antropogénnym faktorom, ktorý sa v 70. rokoch minulého storočia stal celoeurópskym fenoménom bolo znečistenie ovzdušia a jeho vplyv na rozsiahle odumieranie lesných porastov nielen na Slovensku, ale prakticky v celej Európe. Dôsledkom bolo zhoršovanie zdravotného stavu lesov, ktoré prudko vzrástlo aj na území Slovenska najmä v oblasti Kysúc, Oravy a regiónu Spiša.

V dôsledku uvedených kalamít dochádza k poškodeniu zostávajúcich stromov, ktoré trpia zlomami kmeňa, korún a poškodením koreňových nábehov. Drevná surovina stráca na kvalite a v dôsledku toho nedosahuje požadované kvalitatívne parametre pre zaradenie do kategórií najcennejších sortimentov. Nakoľko kvalita, poškodenie a hrúbka kmeňa sú rozhodujúcimi z hľadiska kvalitatívnej sortimentácie /9/ podľa príslušnej STN, je zrejmé, že v kalamitne poškodených porastoch sa výraznejšie znižuje aj ich hodnotová produkcia.

V nadväznosti na uvedené bolo cieľom príspevku zistiť hodnotovú produkciu buka vo vybraných rovnorodých a zmiešaných porastoch, ktoré boli v minulosti postihnuté niektorým abiotickým, biotickým alebo antropogénnym činiteľom.

MATERIÁL A METÓDY

Objektom výskumu boli 3 série trvalých výskumných plôch (TVP) na Slovensku (tab. 1), kde sa v minulosti prejavila snehová kalamita (TVP Stará Píla), biotický škodlivý činiteľ - nekroza kôry buka (TVP Štagiar) alebo antropogénny činiteľ - imisie (TVP Jalná).

Tab. 1: Základné charakteristiky trvalých výskumných plôch (TVP)

Charakteristika	TVP Jalná	TVP Štagiar	TVP Stará Píla
Založenie TVP	1958	1984	1972
Vek porastu (roky)	36	38	17
Absolútna výšková bonita	26	26	26
Geomorfologický celok	Štiavnické vrchy	Kremnické vrchy	Nízke Tatry
Expozícia	Z	Z	Z
Nadmorská výška (m)	610	620	690-720
Sklon (°)	15	15-20	30
Geologický podklad	andezit	andezit	svorová svahovina
Pôdny typ	kambizem modálna	kambizem	kambizem
Lesný vegetačný stupeň	3. dubovo-bukový	3. dubovo-bukový	5. jedľovo-bukový
Priemerná ročná teplota (°C)	6,2	6,6	6,8
Priemerný ročný úhrn zrážok (mm)	800	900-950	1100

Série TVP sa skladajú z 3, resp. 4 čiastkových plôch (ČP), ktoré sú usporiadané vedľa seba (po vrstevnici) a oddeľuje ich od seba 15 m široký izolačný pás stromov. Výmera každej ČP je od 0,12 ((30×40 m) do 0,25 ha (50×50 m). Na sériách TVP sa dlhodobo sledujú rôzne varianty výchovy, pričom jedna ČP je kontrolná (ponechaná na autoreguláciu). Podrobný opis metód a variant výskumu je uvedený v publikácii /13/.

Pre zistenie kvalitatívnej štruktúry každého porastu sa hodnotili znaky kvality spodnej tretiny každého kmeňa podľa nasledovnej klasifikácie:

A - rovný kmeň, netočivý, centrický, bez tvarových deformácií a hrč, je určený pre výrobu dýh;

B - kmeň s menšími technickými chybami, so zdravými a nezdravými hrčami do 4 cm (1–2 kusy na bežný meter);

C - kmeň s veľkými technickými chybami, väčšia krivosť, točivosť do 4 %, zdravé hrče bez obmedzenia, je určený najmä pre menej kvalitné piliarske výrezy alebo celulózu;

D - kmeň horšej kvality ako v triede C, má rozsiahlu hnilobu a je určený väčšinou na palivo.

Spracovanie údajov

Do spracovania sa zahrnuli iba posledné hodnotenia na každej ploche, aby sa zistil vplyv dlhodobého rozdielného obhospodarovania. Pre každú ČP, ktorá reprezentuje rôzny režim výchovy (na každej sérii TVP) sa vypočítal podiel kvalitatívnych tried kmeňov A - D. Štruktúra sortimentov sa vypočítala pre každý strom podľa modelu stromových sortimentačných tabuliek /7, 8/. Sortimenty predstavujú akostné a hrúbkové triedy výrezov, pričom sa zohľadnilo ich prípadné mechanické poškodenie. Akostné triedy výrezov sú charakterizované hlavne účelom ich použitia:

I: krájané dyhy, špeciálne športové a technické potreby,

II: lúpané dyhy, športové potreby,

III (A, B): piliarske výrezy (lepšia akosť IIIA, horšia akosť IIIB),

V: vlákna, chemické a mechanické spracovanie na výrobu buničiny a aglomerovaných dosák,

VI: palivo.

Triedy I–IIIB sa v modely sortimentačných tabuliek členia aj do hrúbkových tried 1–6+ (trieda 1:10 až 19 cm, trieda 2:20 až 29 cm, trieda 3:30 až 39 cm, trieda 4:40 až 49 cm, trieda 5:50 až 59 cm, trieda 6+: nad 60 cm).

Hodnota sortimentov sa vypočítala pre každý strom ako súčin objemu sortimentov a cien dreva podľa akostných a hrúbkových tried výrezov. Ceny dreva sa použili z ponukového cenníka sortimentov štátnych lesov na Slovensku v roku 2013 (tab. 2).

Tab. 2: Ceny sortimentov (€/m³) podľa akostných a hrúbkových tried výrezov

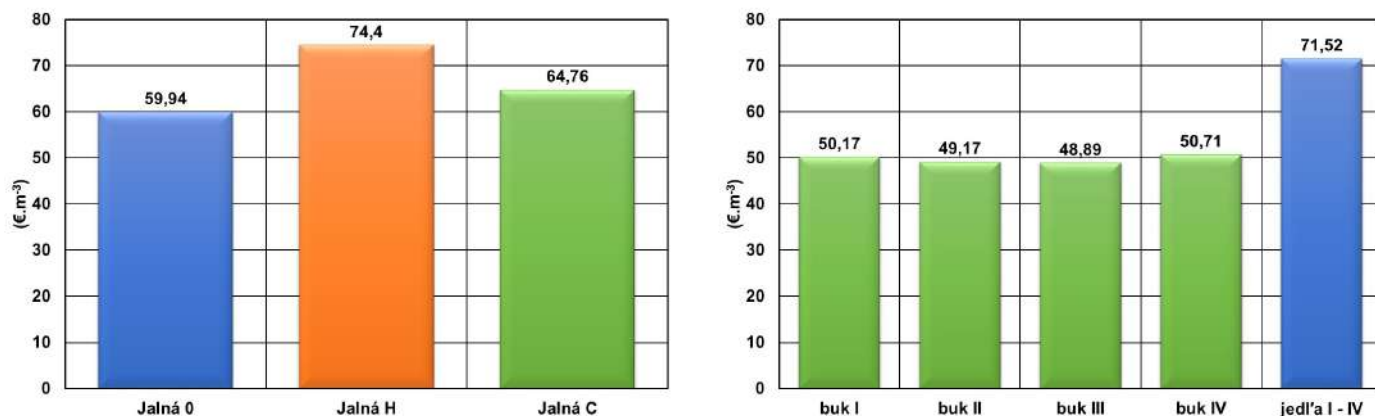
Hrúbková trieda	Akostná trieda					
	I	II	IIIA	IIIB	V	VI
1			51,5	50,5	43,0	44,0
2		54,0	52,5	51,5		
3		103,0	69,5	57,5		
4	201,0	108,0	71,5	59,5		
5	231,0	113,0				
6+	271,0	113,0				

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na TVP Jalná, ktorú tvorí rovnorodý bukový porast sme zistili najvyššiu hodnotovú produkciu pri prepočte v € na 1 m³ na ČP s úrovňovou prebierkou (74,4 €/m³) a najnižšiu na kontrolnej ploche (59,9 €/m³). Na TVP Štagiar (rovnorodý bukový porast s prímiesou jedle), kde sa aplikuje iba úrovňová prebierka bola hodnotová produkcia v priemere 50 €/m³ pre buk, resp. 71,5 €/m³ pre jedľu (obr. 1). V zmiešanom smrekovo-jedľovo-bukovom poraste na TVP Stará Píla (obr. 2) prakticky neboli rozdiely v hodnotovej produkcii buka medzi kontrolnými plochami a plochami s výchovou (v priemere 46,5 €/m³).

Keď porovnáme jednotlivé TVP z pohľadu dreviny buk vidno, že najvyššie hodnoty sme zistili na TVP Jalná,

ktorá bola v minulosti pod miernym imisným vplyvom (C - pásmo ohrozenia) z neďalekej hlinikárne v Žiari nad Hronom /14/. Naopak, najnižšie hodnoty pre buk boli na ploche so zmiešaným drevinovým zložením (TVP Stará Píla), ktorá bola v minulosti postihnutá snehovým polomom, hoci táto drevina bola uvedenou kalamitou na konci roku 1993 najmenej postihnutá /11, 12/. Rovnaký poznatok, že podiel kvalitnejších sortimentov kmeňov, resp. hodnotová produkcia buka je v zmiešaných porastoch nižšia ako v rovnorodých potvrdili aj výsledky iných autorov /9, 10/. Na nižšej hodnotovej produkcii na TVP Štagiar sa výrazne podieľa aj skutočnosť, že značná časť jedincov bola najmä v minulosti postihnutá nektrózou kôry buka /1, 6/, čo znížilo podiel kmeňov v najvyšších kategóriách kvality.

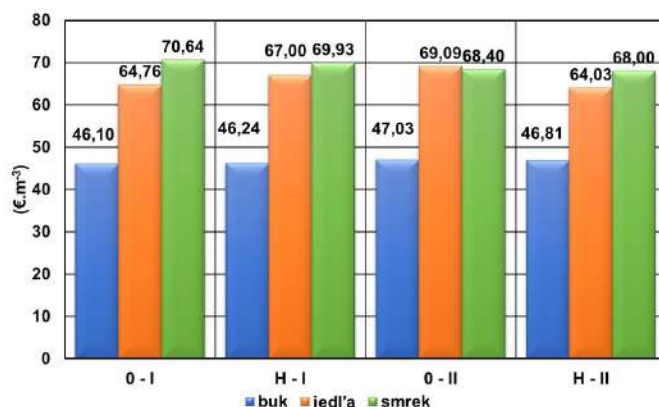


Obr. 1: Hodnotová produkcia (€/m³) na plochách s rozdielnym manažmentom na TVP Jalná (vľavo) a TVP Štagiar (vpravo)

0 - kontrolná plocha bez zásahov, H - plocha s úrovňovou prebierkou, plocha s podúrovňovou prebierkou, I, II, III, IV - plocha s úrovňovou prebierkou

Pri porovnaní hodnotovej produkcie buka s ihličnatými drevinami (smrek, jedľa) sú zrejme vyššie hodnoty v prospech smreka (67 až 71 €/m³) a jedle (65 až 69 €/m³) (obr. 2). Túto skutočnosť potvrdili aj výsledky výskumu v zmiešaných smrekovo-jedľovo-bukových porastoch /10/

Hodnotová produkcia závisí od hrúbky kmeňa, jeho kvality a poškodenia. V tejto súvislosti podľa regresných rovníc /10/ pre rovnorodý porast buka vychádza pre strednú hrúbku 30 cm hodnotová produkcia 58,1 €/m³, čo je hodnota minimálne odlišná od nami zistenú hodnotu (59,9 €/m³) pre kontrolnú plochu na TVP Jalná s rovnakou strednou hrúbkou.



Obr. 2: Hodnotová produkcia (€/m³) na plochách s rozdielnym manažmentom na TVP Stará Píla

0-I a 0-II kontrolné plochy, H-I a H-II plochy s úrovňovou prebierkou

ZÁVER

Porovnanie troch sérií trvalých výskumných plôch, ktoré boli v minulosti postihnuté rozdielnymi škodlivými činiteľmi (snehovým polomom, nektrózou kôry buka a imisiami) poukázalo na rozdiely v ich hodnotovej produkcii. Čo sa týka dreviny buk, najvyššie hodnoty boli v rovnorodom bukovom poraste na ploche s miernym imisným vplyvom v minulosti, pričom tam, kde sa dlhodobo a systematicky vykonávala výchova sa to priaznivo prejavilo vyššou hodnotovou produkciou oproti ploche bez akýchkoľvek výchovných zásahov. Najnižšie hodnoty pre buk sa zaznamenali v zmiešanej smrekovo-jedľovo-bukovej ploche, ktorá bola v minulosti postihnutá snehovou kalamitou. Pri porovnaní drevín sa potvrdilo, že ihličnaté dreviny (smrek a jedľa) mali oveľa vyššiu hodnotovú produkciu vyjadrenú v € na 1 m³ v porovnaní s bukom.

LITERATÚRA

- /1/ Cicák, A., Mihál, I., Štefančík, I.: Health condition, bark necrosis and mycoflora in a pure beech pole-stage stand. *Lesnictví - Forestry*, 44, 1998: 49-57.
- /2/ Konôpka, B.: Vetrová smršť z 8. júla 1996 – analýza príčin vetrových kalamít a možných pestovno-ochranných opatrení. In: *Aktuálne problémy v ochrane lesa '97* (zborník referátov zo seminára). Zvolen, LVÚ, 1997: 27-35.
- /3/ Kunca, A., Galko, J., Zúbrik, M.: Aké významné kalamity v posledných rokoch postihli lesy Slovenska? *Les & Letokruhy*, 70 (13), 2014: 10-11.
- /4/ Kunca, A., Vakula, J., Gubka, A., Galko, J., Zúbrik, M., Leontovyč, R., Nikolov, Ch., Rell, S., Konôpka, B., Longauerová, V., Maľová, M., Kaštier, P., Findo, S.: Ako postupovať pri spracovaní vetrovej kalamity Žofia? *Les & Letokruhy*, 70 (13), 2014: 6-9.
- /5/ Kunca, A., Zúbrik, M., Galko, J., Vakula, J., Leontovyč, R., Konôpka, B., Nikolov, Ch., Gubka, A., Longauerová, V., Maľová, M., Rell, S., Lalík, M.: Salvage felling in the Slovak Republic's forests during the last twenty years (1998–2017). *Central European Forestry Journal*, 65, 2019: 3–11.
- /6/ Mihál, I., Cicák, A., Štefančík, I.: Health condition and bark necrotic disease of trees of selective quality in a systematically tended beech pole-stage stand. *Lesnictví -Forestry*, 44, 1998: 97-102.
- /7/ Petráš, R.: Mathematisches Modell der Sortimentstafeln für Hauptbaumarten. *Lesnícky časopis*, 38, 1992: 323-332.
- /8/ Petráš, R., Nociar, V.: Sortimentáčne tabuľky hlavných drevín. Bratislava, Veda, 1991: 308.
- /9/ Petráš R., Mecko J., Bošľa M.: Kvalita dreva a jeho hodnota v zmiešaných verzus rovnorodých porastoch smrek-ka, jedle a buka. In: Houšková, K., Černý, J. (eds.): *Proceedings of Central European Silviculture*. Brno, Mendelova univerzita, 2015: 119-130.
- /10/ Petráš R., Mecko J., Bošľa M., Šebeň, V.: Wood quality and value production in mixed fir-spruce-beech stands: long-term research in the Western Carpathians. *Lesnícky Časopis – Forestry Journal*, 62, 2016: 98-104.
- /11/ Štefančík, I.: Vplyv snehovej kalamity na vývoj zmiešanej smrekovo-jedľovo-bukovej žrdoviny na výskumnej ploche Stará Píla. *Lesnícky časopis - Forestry Journal*, 45, 1999: 181-204.
- /12/ Štefančík, I.: Vplyv výchovy a poškodenia snehom na zmeny drevinového zloženia, porastovej výstavby, kvalitatívnej a kvantitatívnej produkcie zmiešanej smrekovo-jedľovo-bukovej žrdoviny na výskumnej ploche Stará Píla. *Lesnícky Časopis – Forestry Journal*, 56, 2010: 129-154.
- /13/ Štefančík, I.: Rast, štruktúra a produkcia bukových porastov s rozdielnym režimom výchovy. Zvolen, NLC-L-VÚ, 2015: 148.
- /14/ Štefančík, I., Cicák, A., Mihál, I.: Výskum zdravotného stavu a mykoflóry nezmiešanej bučiny v oblasti s mier- nym imis-ným vplyvom. *Lesnictví - Forestry*, 42, 1996: 77-91.
- /15/ Turčáni, M.: Zvládneme snehovú kalamitu? *Les*, 50, 1994: 1-2.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja Slovenskej republiky na základe zmluvy č. APVV-15-0032 a projektu „Výskum a vývoj na podporu konkurencieschopnosti slovenského les- níctva – SLOV-LES“, financovaný z rozpočtovej kapitoly MPRV SR.



PISTIA STRATIOTES AKO DÔKAZ ZNEČISTENIA VODNÝCH PLÔCH

PISTIA STRATIOTES AS EVIDENCE OF WATER SURFACE CONTAMINATION

ALŽBETA TAKÁČOVÁ^{1,3}, JANA RUŽIČKOVÁ¹, BLANKA LEHOTSKÁ², MILAN SEMERÁD¹,
LADISLAV DANČ³

¹KATEDRA ENVIRONMENTÁLNEJ EKOLÓGIE,

²KATEDRA KRAJINNEJ EKOLÓGIE, UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE, PRÍRODOVEDECKÁ FAKULTA, MLYNSKÁ DOLINA B2, ILKOVIČOVA 6, 842 15 BRATISLAVA, SR,

³VÚRUP, A. S., VLČIE HRDLO, P. O. BOX 50, SK-820 03 BRATISLAVA 23, SR; JANA.RUZICKOVA@UNIBA.SK

SUMMARY

The paper presents the results of the environmental study, which was focused on sites with the occurrence of the non-native species *Pistia stratiotes* on the river Čierna voda in the cadastral area Kráľová pri Senci. Contamination of water, sediments and plants was detected in the monitored localities. The surface water quality for the COD_{Cr} and TC parameters was across the limit at both sites. The PC content was higher in Kráľová pri Senci. Sediments did not show great differences in parameters from site to site. However, the values of metal parameters measured in individual parts of the monitored plants (*Pistia stratiotes*) differed significantly. The highest concentrations were obtained from plants from the locality Včelárska paseka. The toxic arsenic values ranged from 57.49 mg/ kg dry matter (leaves) to 169.36 mg/ kg dry matter (roots). Interesting values were measured for Al metals = 5 693 mg/ kg, dry matter (roots) and Fe = 6 639 mg/ kg dry matter (roots).

Key words: *Pistia stratiotes*; nutrients; metals; accumulation

SÚHRN

V príspevku sú prezentované výsledky environmentálnej štúdie, ktorá bola zameraná na lokality s výskytom nepôvodného druhu *Pistia stratiotes* na rieke Čierna voda v k. ú. Kráľová pri Senci. Na sledovaných lokalitách bola zisťovaná kontaminácia vody, sedimentov a rastlín. Kvalita povrchovej vody pre parametre COD_{Cr} a TC bola na oboch lokalitách nad limitom. Obsah PC bol vyšší v Kráľovej pri Senci. Sedimenty nevykazovali veľké rozdiely v parametroch od miesta k miestu. Hodnoty parametrov kovov merané v jednotlivých častiach sledovaných rastlín (*Pistia stratiotes*) sa však výrazne líšili. Najvyššie koncentrácie boli získané z rastlín z lokality Včelárska paseka. Hodnoty toxického arzenu sa pohybovali od 57,49 mg/ kg sušiny (listy) do 169,36 mg/ kg sušiny (korene). Zaujímavé hodnoty boli merané pre Al kovy = 5 693 mg/ kg sušiny (korene) a Fe = 6 639 mg/ kg sušiny (korene).

Kľúčové slová: *Pistia stratiotes*; nutrienty; kovy; akumulácia

ÚVOD

Znečisťujúce látky vstupujú do vodných systémov prostredníctvom vypúšťania odpadových vôd z priemyselného, mestského a z poľnohospodárskeho odtoku. Tieto látky vo výpusťných objektoch môžu zvýšiť eutrofizáciu, ktorá vo vode môže postupne viesť k nedostatku kyslíka, rozmnoženiu rias a k narušeniu biotopu. Na zníženie znečistenia vôd sa používa niekoľko technologických postupov, ale vo všeobecnosti sú ekonomicky nákladné a mnohokrát environmentálne obmedzujúce. Zaujímavým alternatívnym prístupom je fyto Remediacia, kedy sa rastliny využívajú na stabilizáciu alebo dokonca na odstránenie organických a anorganických kontaminantov z vody prostredníctvom fytoakumulácie, fytodegradácie a fytostabilizačných mechanizmov.

V biotechnológiách sa využíva kapacita vodných makrofyto, ako je *Eichhornia crassipes* (eichhornia nafúknutá, vodný hyacint) a *Pistia stratiotes* (pistia rezavková, vodný šalát). Z publikovaných zdrojov má hlavný vplyv na rast *P. stratiotes* dostupnosť živín /1/, salinita /2/, hustota porastov /3/, klíma /4/, hodnota pH /5/ a prítomnosť hmyzu /6/. *P. stratiotes*, druh z čeľade árónovité (*Araceae*), tvorí ružice plstnatých, modrozelených listov s dĺžkou 1,5–23 cm, ktoré plávajú na vodnej hladine. Korene, plávajúce pod vodou, dosahujú dĺžku do 55 cm. Druh pôvodom z Južnej Ameriky je rozšírený hlavne v tropických a subtropických oblastiach a čoraz častejšie sa objavuje a pretrvávajú aj v Európe /7/. Väčšinou sa pistia rezavkovitá vyskytuje v pomaly tečúcich vodných

tokoch a jazerách. Rastlina sa vegetatívne rozmnožuje poplazi, pričom vznikajú dcérske rastliny. Zároveň je známe aj generatívne rozmnožovanie semenami. Druh patrí medzi závažné invázne druhy, na druhej strane je významný z hľadiska využívania pri čistení odpadových vôd. Na Slovensku sa p. rezavkovitá pravidelne vyskytuje od r. 2007 na tokoch Čierna voda a Malý Dunaj /8/.

MATERIÁL A METÓDY

Odber vzoriek sa uskutočnil v zmysle legislatívnych pokynov pre odber vzoriek /9/ s cieľom zaručiť nadobudnutie reprezentatívnej vzorky. Konkrétne miesta odberu vzoriek boli vybrané na základe senzorického pozorovania znečistenia povrchovej vody. Miestami hodnotenia boli dve lokality na vodnom toku Čierna voda: lokalita v obci Kráľová pri Senci pri ľavom brehu rieky Čierna voda (s. z. š. 48°11'46,52", v. z. d. 17°26'26,18") a lokalita Včelárska paseka pri pravom brehu rieky (s. z. š. 48°11'57,30", v. z. d. 17°30'48,23"). Samotný odber vzoriek bol uskutočnený ako bodový odber. Vzorky z každého odberového miesta boli odoberaté trikrát a výsledná vzorka bola vytvorená ako zmiešaná. V prípade povrchových vôd sa vzorky odoberali priamo ponorením 11 vzorkovníč pod hladinu vody, cca do 0,5 m hĺbky. Vzorky sedimentov sa odoberali v sedimentárnej časti jednotlivých lokalít. Odoberali sa minimálne 3 bodové vzorky z jedného odberového miesta. Z odoberatých vzoriek sa urobili zmiešané vzorky pri použití celého odoberateľného jadra. Odber vzoriek rastlín bol zameraný na zber materských rastlín, spojených poplazi s dcérskymi rastlinami a na reprezentatívny odber voľných jedincov.

V prípade vzoriek povrchových vôd nebola riešená predúprava, vzorky sedimentov po homogenizácii boli vysušené pri teplote 105 °C. Rastlinné časti boli voľne vysušené po odseparovaní listov a koreňov.

Kovy (Fe, As, Pb, Al, Mg, Al) vo vzorkách vôd, kalov a rastlinných materiálov boli kvantifikované pomocou prístroja Thermo Scientific 7600 ICP. Obsah ortuti sa stanovil pomocou analyzátora (AMA 254 ALTEC).

Výpočet biokoncentračného faktora (BCF) pre sledované kovy v asimilačných orgánoch rastliny *P. stratiotes* bol stanovený vo vzorkách podľa vzorca /10/.

$$BCF = \frac{\text{obsah kovu v časti rastliny (koreň alebo list)}}{\text{obsah kovu ve vode}}$$

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V hodnotenom území dosahuje rastlina *P. stratiotes* maximum biomasy v mesiacoch september-október. Okrem teploty vody je zrejme príčina aj v konkurenčnom boji o svetlo a živiny s ostatnými prítomnými vodnými druhmi rastlín. *P. stratiotes* je cudzí druh s odlišným rytmom vývoja. Rozdiely medzi rastlinami toho istého druhu v pomernej blízkosti sledovaných lokalít (obr. 1 a 2) sú v dôsledku lokálnych environmentálnych faktorov ako sú nutričné podmienky, prietok vody, vplyv poľnohospodárskej činnosti a možnosť vplyvu povrchových vôd s obsahom kontaminantov.



Obr. 1: Lokalita Kráľová pri Senci



Obr. 2: Lokalita Včelárska paseka

Hodnoty z analýz získaných vzoriek sú uvedené v tab. 1 a 2. Najvyššie koncentrácie kovov sme získali z rastlín, odobratých na lokalite Včelárska paseka. Hodnoty toxického arzenu sa pohybovali od 57,49 mg/kg sušiny (listy) až po 169,36 mg/kg sušiny (korene). Zaujímavé hodnoty boli namerané v prípade kovov Al = 5 693 mg/kg sušiny (korene) a Si = 4 825 mg/kg sušiny (korene).

Tab. 1: Monitoring kovov vo vode a v kale počas nárastov *P. stratiotes*

Parametr	Voda		Kal	
	Kráľová pri Senci	Včelárska paseka	Kráľová pri Senci	Včelárska paseka
Obsah Fe (mg.l ⁻¹)	0,020	0,026	-	0,36
Obsah Pb (mg.l ⁻¹)	< 0,030	< 0,030	< 0,030	< 0,030
Obsah Al (mg.l ⁻¹)	< 0,050	< 0,050	0,14	0,18
Obsah As ((mg.l ⁻¹)	< 0,050	< 0,050	< 0,050	< 0,050
Obsah Hg (mg.l ⁻¹)	< 0,0010	< 0,0010	0,0067	< 0,0010

Tab. 2: Rozdielnosť absorpcie v rastlinných častiach *P. stratiotes*

Materiál	Fe (mg.kg ⁻¹)	Pb (mg.kg ⁻¹)	Al (mg.kg ⁻¹)	As (mg.kg ⁻¹)	Hg (mg.kg ⁻¹)
Listy M/VP	518,6	12,25	520,8	13,74	0,038
Listy D1/VP	424,0	12,40	345,1	22,98	< 0,0010
Listy D2/VP	4214	42,60	3732	57,49	< 0,0010
Listy VP	1086	10,75	1330	25,20	0,020
Listy KPS	427,6	3,586	448,3	10,60	< 0,0010
Korene M/VP	5258	112,78	5228	86,42	< 0,0010
Korene 1/VP	2123	87,82	1712	101,8	< 0,0010
Korene 2/VP	6639	158,96	5693	169,36	0,027
Korene VP	2248	27,30	1755	33,40	< 0,0010
Korene KPS	3726	35,64	3840	53,99	0,034

M - materská rastlina, D1 a D2 - dcérske rastliny z materskej rastliny, VP - lokalita Včelárska paseka, KPS - lokalita Kráľová pri Senci).

Tab. 3: Biokoncentračný faktor (BCF) v rastlinách *Pistia stratiotes* zo Včelárskej paseky a Kráľovej pri Senci

Vzorka	Fe	Al	As	Pb	Hg
Lokalita Včelárska paseka					
Listy M/VP	19 946	10 416	275	408	38
Listy D1/VP	16 308	6 902	460	413	nd
Listy D2/VP	162 077	74 640	1 150	1 420	nd
Listy VP	41 769	26 600	504	358	20
Korene /VP	202 231	104 560	1 728	3 759	nd
Korene D1/VP	81 654	34 240	2 036	2 927	nd
Korene D2/VP	255 346	113 860	3 387	5 299	nd
Korene VP	86 462	35 100	668	910	27
Lokalita obec Kráľová pri Senci					
Listy KPS	16 446	8 966	212	120	nd
Korene KPS	143 308	76 800	1 080	1 188	27

M - materská rastlina, D1 a D2 - dcérske rastliny z materskej rastliny, VP - lokalita Včelárska paseka, KPS - lokalita Kráľová pri Senci, nd - analyticky nedetegované

Biokoncentračný faktor (tab. 3) všeobecne dosahoval hodnoty vysoko nad 1 pre sledované kovy (Fe, Pb, Si, Al, As, Hg) v rastlinných pletivách *P. stratiotes*. Vodná rastlina v prípade tejto štúdie podľa hodnôt BCF patrí do skupiny akumulátorov a v prípade kovov Fe, Si, Al hovoríme až o hyperakumulácií /11/.

ZÁVĚR

Environmentálne záťaže povrchových vôd toxickými prvkami predstavujú v súčasnosti jeden z hlavných problémov. Vplyv týchto prvkov na kvalitu vody, organizmy a celé vodné ekosystémy môže mať problematické následky s pomerne dlhou dobou pretrvávania. Z výsledkov BCF v prezentovanej štúdií vyplýva, že vodná rastlina *P. stratiotes*, aj napriek tomu, že ide o nepôvodný druh, má vysokú akumuláciu schopnosť pre $\text{Fe} > \text{As} > \text{Al} > \text{Pb} > \text{Hg}$. Túto schopnosť vieme následne využiť procese dekontaminácie vodných plôch.

LITERATÚRA

- /1/ Hall, J. B, Okali D.U.U.: Phenology and productivity of *Pistia stratiotes* L. on the Volta Lake, Ghana. J Appl Ecol 11, 1974:709-725.
- /2/ Haller, W. T, Sutton, D.L, Barlow, W.C.: Effects of salinity on growth of several aquatic macrophytes. Ecology 55, 1974:891-894.
- /3/ Tucker, C.S.: Culture density and productivity of *Pistia stratiotes*. J Aquat Plant Manag, 21 (1983):40-41.
- /4/ Chadwick, M. J, Obeid, M. A.: Comparative study of the growth of *Eichhornia crassipes* Solms. and *Pistia stratiotes* L. in waterculture. J Ecol 54, 1966:563-575.
- /5/ Odum, H.T.: Trophic structure and productivity of Silver Springs, Florida. Ecol Monogr 27, 1957: 55-112.
- /6/ Pettet, A., Pettet, J.: Biological control of *Pistia stratiotes* L. in Western State, Nigeria. Nature, 1970: 226-282.
- /7/ EPPO – European and Mediterranean Plant Protection Organization: *Pistia stratiotes* L. EPPO Bulletin 47(3), 2017:537–543.
- /8/ Tóthová L, Ružičková J, Baláži P.: Nový rastlinný druh na Slovensku – má potenciál byť invázny? Vodohospodársky spravodajca 54 (11–12), 2011:33
- /9/ STN EN ISO 5667-1. Kvalita vody. Odber vzoriek. Časť 1: Pokyny na návrhy programov odberu vzoriek a techniky odberu vzoriek (ISO 5667-1: 2006).
- /10/ Gobas, F.A.P.C., Morrison, H.A.: Bioconcentration and biomagnification in the aquatic environment. In Boethling RS; Mackay D (eds.). Handbook of Property Estimation Methods for Chemicals: Environmental and Health Sciences. Boca Raton, FL, USA: Lewis, 2000:189-231.
- /11/ Sarma, H.: Metal Hyperaccumulation in Plants: A Review Focusing on Phytoremediation Technology. Journal of Environmental Science and Technology, 4, 2011: 118-138.

POĎAKOVANIE

Výskum bol podporený grantom MŠVVaŠ SR VEGA 1/0332/18.



KONCENTRÁCIA POTENCIÁLNE TOXICKÝCH PRVKOV V TRÁVNÝCH EKOSYSTÉMOCH STREDNÉHO SLOVENSKA

THE CONCENTRATION OF POTENTIALLY TOXIC ELEMENTS IN GRASSLAND ECOSYSTEMS OF CENTRAL SLOVAKIA

JÁN TOMAŠKIN, JUDITA TOMAŠKINOVÁ

UNIVERZITA MATEJA BELA, FPV, KATEDRA ŽIVOTNÉHO PROSTREDIA, TAJOVSKÉHO 40,
974 01 BANSKÁ BYSTRICA, SLOVENSKÁ REPUBLIKA, JAN.TOMASKIN@UMB.SK

SUMMARY

We assessed the concentration of potentially toxic elements on permanent grasslands of central Slovakia in the years 2009–2011. We determined the specified following elements of heavy metals in soil and plant samples: Cd, Co, Cr, Pb, Zn, Mn, Cu, Fe and Ni. We recorded the highest concentrations of Fe ($1351.45\text{--}3569.37\text{ mg.kg}^{-1}$) and Mn ($330.28\text{--}589.27\text{ mg.kg}^{-1}$) and the lowest concentrations of Cr ($3.93\text{--}7.62\text{ mg.kg}^{-1}$) and Cd ($1.61\text{--}2.35\text{ mg.kg}^{-1}$) in all three evaluated environments (soil, roots, aboveground sward). We can conclude that heavy metals are most concentrated in plant roots and soil. Significantly lower content was determined in biomass of above-ground parts of vegetation. The grasslands are as excluder of a large group of heavy metals - Cd, Co, Cr, Pb, Mn, Fe a Ni in view of the heavy metals transport in soil - root - aboveground biomass, (bioconcentration factor < 1). This grassland strategy is very suitable for bulk feed production, heavy metals concentration is relatively low in aboveground parts of sward, and there is no contamination of the food chain.

Key words: bioconcentration factor; roots; above-ground biomass; potentially toxic elements; soil; permanent grassland; heavy metals

SÚHRN

Hodnotenie koncentrácie potenciálne toxických prvkov sme uskutočnili v rokoch 2009–2011 na trvalých trávnych porastoch stredného Slovenska. V pôdnych a rastlinných vzorkách sme stanovili prvky ťažkých kovov: Cd, Co, Cr, Pb, Zn, Mn, Cu, Fe a Ni. Vo všetkých troch hodnotených prostrediach (pôda, korene, porast) sme zaznamenali najvyššie koncentrácie Fe ($1351,45\text{--}3569,37\text{ mg.kg}^{-1}$) a Mn ($330,28\text{--}589,27\text{ mg.kg}^{-1}$) a najnižšie koncentrácie Cr ($3,93\text{--}7,62\text{ mg.kg}^{-1}$) a Cd ($1,61\text{--}2,35\text{ mg.kg}^{-1}$). Môžeme konštatovať, že ťažké kovy sa najviac koncentrujú v koreňoch rastlín a pôde. Signifikantne nižší obsah bol stanovený v pletivách nadzemných častí porastov. Z hľadiska transportu ťažkých kovov v systéme pôda - koreň - nadzemná fytomasa sa trávne porasty prejavili ako exklúder skupiny ťažkých kovov: Cd, Co, Cr, Pb, Mn, Fe a Ni (biokoncentračný faktor < 1). Táto stratégia trávnych porastov je pre výrobu objemového krmiva veľmi vhodná, koncentrácia ťažkých kovov je v nadzemných častiach porastu relatívne nízka, nedochádza ku kontaminácii potravinového reťazca.

Kľúčové slová: biokoncentračný faktor; korene; nadzemná fytomasa; potencionálne toxické prvky; pôda; trvalý trávny porast; ťažké kovy

ÚVOD

Trvalé trávne porasty zaberajú na Slovensku 853 757 ha, čo predstavuje 36 % podiel z poľnohospodárskeho pôdneho fondu a 17,5 % z celkovej výmery krajiny /1/. Ekosystém trávnych porastov má v agrárnej krajine produkčné, ekologické, ale aj viaceré významné environmentálne funkcie /2/. Uvedené funkcie dokumentujeme na príklade stanovenia obsahu potencionálne toxických prvkov (ťažkých kovov) v trávnych ekosystémoch a posúdení rizika kontaminácie potravinového reťazca. V tejto súvislosti sme zadefinovali nasledovné ciele: stanoviť koncentráciu (obsah) ťažkých kovov v pôde a v rastlinnej biomase (v koreňovej biomase a v nadzemnej fytomase), stanoviť biokoncentračný faktor (BCF) a translokačný faktor (TF) obsahu ťažkých kovov v trávnom ekosystéme a posúdiť riziko kontaminácie potravinového reťazca.

MATERIÁL A METÓDY

Koncentráciu ťažkých kovov v pôde a trávnej biomase sme sledovali v rokoch 2009 – 2011 na troch stanovištiach trvalých trávnych porastov stredného Slovenska:

- stanovište Radvaň ($\varphi = 48^{\circ}43'$, $\lambda = 19^{\circ}06'$, 480 m n. m.) v regióne Starohorských vrchov malo severnú expozíciu so sklonom 12–15°, pôdnym typom je rendzina na vápenci, pH (KCl) = 7,02. Trvalý trávny porast: zväz *Arrhenatherion*, as. *Poo-Trisetetum*,
- stanovište Panský diel ($\varphi = 48^{\circ}47'$, $\lambda = 19^{\circ}08'$, 1000 m n. m.) v Národnom parku Nízke Tatry malo juhozápadnú expozíciu, so sklonom viac ako 20°, pôdnym typom je kambizem, zo zvetralín kryštálických kyslých hornín, pH (KCl) = 4,24. Trvalý trávny porast: zväz *Bromion erecti*, as. *Onobrychido viciifoliae-Brometum erecti*.
- stanovište Kráľova studňa ($\varphi = 48^{\circ}52'$, $\lambda = 19^{\circ}02'$, 1300 m n. m.) v Národnom parku Veľká Fatra malo juhovýchodnú expozíciu so sklonom 20–25°, pôdnym typom je rendzina plytká na vápenci, pH (KCl) = 6,99. Floristické zloženie: trávy (64 %), šachorovité (12 %), d'atelinoviny (2 %), byliny (19 %), dominujú trávy: *Deschampsia caespitosa*, *Poa chaixii*, *Nardus stricta*, *Poa pratensis*.

Vzorky pôdy a rastlinnej biomasy boli v priebehu vegetačného obdobia pravidelne odobierané v mesačných intervaloch (máj–september). V práci uvádzame priemerné výsledky z piatich odberov, za tri hodnotené roky a tri stanovištia. Vzorky pôdy a rastlinnej biomasy sme odobrali z identických odberných miest (plocha 0,2x0,2 m, hĺbka odberu 20–150 mm) rýľom. Pôdne vzorky sme vysušili pri laboratórnej teplote a preosiali cez sito s priemerom otvorov 0,125 mm a spracovali podľa záväzných metodík /3/. Pôdne a rastlinné vzorky (rozdelené na koreňovú a nadzemnú časť) boli po úpravách analyzované metódou atómovej absorpčnej spektrometrie (spektrofotometer GBC 908). V každej vzorke boli stanovené koncentrácie: Cd, Co, Cr, Pb, Zn, Mn, Cu, Fe a Ni. Na hodnotenie príjmu a akumulácie ťažkých kovov trávny porastom sme použili biokoncentračný faktor (BCF) a translokačný faktor (TF):

- $BCF = \text{obsah ťažkého kovu v nadzemnej fytohmote} / \text{obsah ťažkého kovu v pôde (mg.kg}^{-1})$,
- $TF = \text{obsah ťažkého kovu v nadzemnej fytohmote} / \text{obsah ťažkého kovu v koreni (mg.kg}^{-1})$.

Viacerí autori /4, 5/ uvádzajú nasledovné skupiny stratégie, tolerance a adaptácie rastlinného porastu na obsah ťažkých kovov: ak je hodnota $BCF < 1$, ide o exklúdu, ak je hodnota $BCF = 1$, ide o indikátory, ak je hodnota $BCF > 1$, ide o akumulátory až hyperakumulátory. Výsledky koncentrácie ťažkých kovov boli spracované matematicko-štatistickými metódami (software Statgraphics ver. 5.0, metódy multif. analýzy variancie – ANOVA, test LSD 0,05).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Koncentráciu ťažkých kovov, BCF a TF (priemer za tri hodnotené roky a tri stanovištia) uvádzame v tab. 1. Výsledky sme porovnávali s limitnými hodnotami ťažkých kovov /6, 7/.

Najvyššiu koncentráciu ťažkých kovov sme zaznamenali v pôde (Cd - 2,35; Co - 13,17; Pb - 151,09; Mn - 589,27 mg.kg⁻¹) a koreňovej biomasy (Cr - 7,62; Zn - 208,21; Cu - 39,25; Fe - 3569,37; Ni - 12,52 mg.kg⁻¹), podstatne nižší obsah ťažkých kovov bol stanovený v pletivách nadzemnej fytohmoty. Autori /8/ hodnotili obsah viacerých ťažkých kovov v rastlinnej biomase trávnych porastoch. Vyššiu koncentráciu ťažkých kovov zaznamenali v koreňovej biomase, oveľa nižšiu v nadzemnej fytohmote. Konštatujú, že koreňovú hmotu s výrazne vyššou koncentráciou ťažkých kovov možno označiť za určitú bariéru v ich translokácii do nadzemných častí rastlín. Predpokladajú, že mechanizmus tejto translokácie ovplyvňuje zásoba ťažkých kovov v pôde a selektívna schopnosť rastlín. Z hľadiska transportu ťažkých kovov v systéme pôda-koreň-nadzemná fytohmota sa trávne porasty prejavili ako exklúder početnej skupiny ťažkých kovov: Cd, Co, Cr, Pb, Mn, Fe a Ni, ($BCF < 1$). Z pohľadu environmentálnych a produkčných funkcií je táto stratégia porastov pre výrobu objemového krmiva veľmi vhodná, koncentrácia ťažkých kovov je v nadzemných častiach porastu relatívne nízka. Celkový obsah Cd, Cr a Ni v nadzemnej fytohmote (služi ako objemové krmivo) len mierne prevyšoval najvyššie prípustné množstvá ťažkých kovov v krmivách /7/. Koncentrácia Pb neprekračovala najvyššie prípustné množstvá ťažkých kovov v krmivách. TF porastov je pre všetky hodnotené ťažké kovy menší ako 1, čo dokumentuje ich výraznú akumuláciu v koreňovom systéme trávnych porastov. Naše výsledky a závery korešponujú s výsledkami, ktoré sú uvedené v prácach, napr. /9, 10, 11/. Na koncentráciu ťažkých kovov v trávnych ekosystémoch mala vplyv aj nadmorská výška hodnotených stanovišť (tab. 2).

Najnižšiu koncentráciu všetkých hodnotených ťažkých kovov sme zaznamenali na stanovišti Radvaň s naj-

nižšou nadmorskou výškou, preukazuje vyššie koncentrácie sme zaznamenali na stanovištiach s vyššou nadmorskou výškou (Panský diel, Kráľova studňa). Hronec /12/ konštatuje, že uvedená tendencia môže súvisieť s kumuláciou plyných imisií, ktoré obsahujú väčšie množstvá ťažkých kovov. Vplyv nadmorskej výšky na koncentráciu ťažkých kovov v trávnych ekosystémoch hodnotil aj Klobušický, Balcar /8/. Konštatujú, že pri pôdnych vzorkách nedochádza k výraznému zvýšeniu prvkov ťažkých kovov so stúpajúcou nadmorskou výškou. Rastlinná biomasa reagovala rôzne, v koreňovej biomase stúpala obsah Cd, Pb a Zn. V nadzemnej fytomase sa zvyšovala koncentrácia Cd, Pb, Zn, Mn a Fe.

Tab. 1: Koncentrácia ťažkých kovov (mg.kg⁻¹), BCF a TF trávnych ekosystémov

Prostredie	Koncentrácia ťažkých kovov (mg.kg ⁻¹)								
	Cd	Co	Cr	Pb	Zn	Mn	Cu	Fe	Ni
Pôda	2,35 b	13,17 b	5,99 b	151,09 b	48,71 a	589,27 b	11,42 a	2192,90 b	11,24 b
	Limitná hodnota ťažkých kovov (mg.kg ⁻¹) /6/								
	0,7	15	70	70	150	–	60	–	50
	Prekročenie limitnej hodnoty (násobok)								
Korene	3,36	< limit	< limit	2,16	< limit	–	< limit	–	< limit
Fytomasa	2,27 b	6,92 a	7,62 c	24,45 a	208,21 c	353,83 a	39,25 b	3569,37 c	12,52 b
	1,61 a	5,93 a	3,93 a	12,38 a	103,93 b	330,28 a	11,50 a	1351,45 a	8,18 a
	Najvyššie prípustné množstvá ťažkých kovov v krmivách (mg.kg ⁻¹) /7/								
	1	–	3	40	–	–	–	–	5
	Prekročenie najvyššie prípustných množstiev ťažkých kovov v krmivách (násobok)								
	1,61	–	1,31	< limit	–	–	–	–	1,64
Hd α 0,05	0,413	2,423	1,088	24,740	18,899	61,180	14,513	813,807	1,900
BCF	0,68	0,45	0,66	0,08	2,13	0,56	1,01	0,62	0,73
TF	0,71	0,86	0,52	0,51	0,50	0,93	0,29	0,38	0,65

Štatistická metóda: ANOVA – LSD test ($\alpha = 0,05$) a, b, c – signifikantné rozdiely

Tab. 2: Koncentrácia ťažkých kovov na výskumných plochách (mg.kg⁻¹)

Stanovište	Koncentrácia ťažkých kovov (mg.kg ⁻¹)								
	Cd	Co	Cr	Pb	Zn	Mn	Cu	Fe	Ni
Radvaň	1,79 a	7,40 a	4,85 a	45,03 a	102,56 a	304,24 a	17,41 a	1315,90 a	7,23 a
Pánsky diel	1,58 a	10,91 b	7,22 b	52,41 a	115,61 a	565,69 c	21,15 a	3728,39 b	17,20 b
Kráľova studňa	2,87 b	7,70 a	5,47 a	90,48 b	142,68 b	403,45 b	23,61 a	2069,43 a	7,52 a
Hd α 0,05	0,413	2,423	1,088	24,740	18,899	61,180	14,513	813,807	1,900

Štatistická metóda: ANOVA – LSD test ($\alpha = 0,05$) a, b, c – signifikantné rozdiely

ZÁVER

Možno zhrnúť, že ťažké kovy sa najviac koncentrujú v koreňoch rastlín a v pôde. Koreňová biomasa a vrchná časť pôdy ako súčasť mačiny trávnych porastov má nezanedbateľný význam v ochrane životného prostredia. Trávna mačina plní významnú environmentálnu funkciu trávnych porastov, zabezpečuje ochranu nadzemnej časti produkcie pred zvýšenou koncentráciou ťažkých kovov, ktoré by sa ináč dostali do potravinového reťazca.

LITERATÚRA

- /1/ Úrad geodézie, kartografie a katastra Slovenskej republiky: Štatistická ročenka o pôdnom fonde v SR podľa údajov katastra nehnuteľností k 1. januáru 2018. Bratislava : Úrad geodézie, kartografie a katastra Slovenskej republiky, 2018. 130 s. ISBN 978-80-89831-06-7.
- /2/ Tomaškinová, J., Šťastná, M., Tomaškin, J.: Produkčné, ekologické a environmentálne funkcie trávnych porastov v agrárnej krajine. Banská Bystrica : Belianum. Vydavateľstvo Univerzity Mateja Bela v Banskej Bystrici, 2018. 135 s. ISBN 978-80-557-1466-0.
- /3/ Linkeš, V. et al.: Monitoring pôd SR. Bratislava : VÚPÚ, 1997. 128 s. ISBN 80-85361-35-3.
- /4/ Baker, A. J. M.: Accumulators and excluders – strategies in the response of plant to heavy metals. *Journal of Plant Nutrition*, 1-4, 1981: 643-654.
- /5/ Staňová, A., Banášová, V., Čiamporová, M.: Stratégie troch druhov rodu *Arabidopsis* pri nadbytku ťažkých kovov v pôde. Strategies of three *Arabidopsis* species under heavy metal excess in the soil. *Bulletin Slovenskej Botanickej Spoločnosti*, Supl. 2, 2010: 237-245.
- /6/ Zákon č. 220/2004 o ochrane a využívaní poľnohospodárskej pôdy.
- /7/ Výnos MPSR č. 2080/2005 o kŕmnych surovinách na výrobu kŕmnych zmesí a o hospodárskych krmivách.
- /8/ Klobušický, K., Balcar, J.: Ťažké kovy a plynné imisie v trávnych ekosystémoch. *Poľnohospodárstvo*, 4, 1997: 264-273.
- /9/ Klobušický, K., Kopec, M.: Ocena zawartości, kadmu, niklu i innych metali ciężkich na użytkach zielonych położnych na różnej wysokości nad poziomem morza. Kadmi nikel oraz lit w środowisku przyrodniczym, 1997: 125-129.
- /10/ Petříková, V.: Rostlinná výroba a životní prostředí. *Úroda*, 2, 1990: 91-94.
- /11/ Hecl, J., Hronec, O., Andrejovský, P.: Vplyv ovzdušia na kontamináciu rastlín v imisne zaťaženom regióne stredný Zemplín. *Acta regionalia et environmentalica*, 2, 2005: 39-44.
- /12/ Hronec, O.: Ťažké kovy a ich pohyb v pôdach a rastlinách. Zborník zo seminára: Ťažké kovy v ekosystéme, E'96, BIJO Slovensko, s r. o., 1996: 41-49.

POĎAKOVANIE

Uvedená práca vznikla s využitím prístrojového vybavenia získaného v rámci projektu OP Výskum a vývoj – ITMS 26210120024 „Obnova a budovanie infraštruktúry pre ekologický a environmentálny výskum na UMB“.



DLHODOBÉ HODNOTENIE VPLYVU ABIOTICKÝCH FAKTOROV NA LESNÉ EKOSYSTÉMY SLOVENSKA

LONG-TERM ASSESSMENT OF THE IMPACT OF ABIOTIC FACTORS ON SLOVAK FOREST ECOSYSTEMS

SLÁVKA TÓTHOVÁ, PAVEL PAVLENDÁ, ZUZANA SITKOVÁ, DANICA KRUPOVÁ

NÁRODNÉ LESNÍCKE CENTRUM – LESNÍCKY VÝSKUMNÝ ÚSTAV ZVOLEN, T. G. MASARYKA 22, 960 01 ZVOLEN,
TOTHOVA@NLCSK.ORG, PAVLENDÁ@NLCSK.ORG, SITKOVA@NLCSK.ORG, KRUPOVA@NLCSK.ORG

SUMMARY

Long-term assessment of the impact of abiotic factors on Slovak forest is possible thanks to the participation of Slovakia in the International Co-operative Programme on Assessment and Monitoring of Air Pollution Effects on Forests (ICP Forests). The programme was established in 1985 with the aim to collect, compile, and evaluate data of forest ecosystems and monitor their condition and performance over time. This programme includes two intensity levels in 42 countries. The Level I monitoring is based on around 4 900 observation plots throughout Europe. The Slovak data have been collected from 112 PMP Level I in grid 16x16 km from the environment components (soil, air, plants). The meteorological monitoring data have been taken from 30 forestry locations since 2007.

Key words: forest ecosystem; monitoring; soil; deposition; meteorological monitoring

SÚHRN

Dlhodobé hodnotenie vplyvu abiotických faktorov na lesy je možné vďaka zapojeniu Slovenska do Medzinárodného kooperatívneho programu monitorovania a hodnotenia vplyvu znečisteného ovzdušia na lesy (ICP Forests). Program vznikol v roku 1985 s cieľom zbierať a vyhodnocovať údaje o lesných ekosystémoch a monitorovať ich stav a podmienky v čase. V projekte dlhodobo spolupracuje 42 krajín, na 4 900 trvalých monitorovacích plochách (TMP), ktoré sú rozmiestnené po celej Európe. Každoročný zber údajov o vlastnostiach lesov na Slovensku prebieha v sieti 16x16 km a zachytáva 112 plôch. Výskum je zameraný na jednotlivé zložky prostredia (pôda, ovzdušie, dreviny). Systematické nadobúdanie exaktných dát a poznatkov je od roku 2007 doplnené o automatizovaný lesnícky meteorologický monitoring, ktorý prebieha na 30 lokalitách.

Kľúčové slová: lesný ekosystém; monitoring; pôda; depozície; meteorologický monitoring

ÚVOD

Poznatky o lesoch a ich vývoji majú zásadný význam pre trvalo udržateľné obhospodarovanie a zachovanie lesov. V súčasnosti existuje niekoľko systémov pre zisťovanie údajov o lesoch a ich hodnotenie. Zdravotný stav lesov v polovici 80-tych rokov 20. storočia si vyžiadala vytvorenie nového systému pre zber a hodnotenie údajov o lesoch. V súvislosti s prijatím Konvencie UN/ECE o diaľkovom cezhraničnom prenose znečisteného ovzdušia vznikol program ICP Forests (International Co-operative Programme on the Assessment and Monitoring of Air Pollution Effects on Forests - Medzinárodný kooperatívny program hodnotenia a monitorovania vplyvu znečistenia ovzdušia na lesy). Popri údajoch získavaných najmä pre potreby hodnotenia vývoja lesného fondu a plánovania lesnej prevádzky, ktoré sa vo vyspelých krajinách získavajú v národných inventarizáciách lesov, je v celej Európe významnou zložkou zisťovania údajov o lesoch monitoring lesných ekosystémov. Významnou odlišnosťou od iných zisťovaní je najmä detailné hodnotenie všetkých hlavných zložiek lesného ekosystémov a vývoja abiotických faktorov pôsobiacich na lesy. Do programu bolo v roku 2017 zapojených 42 štátov, ktoré zisťovali údaje na 4 900 plochách v Európe.

MATERIÁL A METÓDY

Výstupom intenzívnej medzinárodnej spolupráce bol rozsiahly manuál pre jednotlivé prieskumy. Na národnej úrovni sa zakladali plochy základného monitoringu v sieti 16x16 km po celom území Slovenska od roku 1987.

Neskôr pribudli plochy tzv. intenzívneho monitoringu, postupne od roku 1995 (len plocha Poľana - Hukavský grúň existovala už od roku 1991 a až následne sa zahrnula do programu). Tieto plochy boli vybraté tak, aby zahrnuli typické lesné ekosystémy Slovenska z hľadiska stanovišťa a drevinového zloženia. Plochy sú lokalizované v nadmorských výškach od 225 m do 1250 m, z hľadiska drevinového zloženia sú zastúpené porasty s dubom cerovým, dubom zimným, bukom lesným, smrekom obyčajným a jedna plocha so zmiešaným bukovo-smrekovo-jedľovým porastom s prímiesou cenných listnáčov (javor, jaseň). Vybavené sú zberačmi atmosférickej depozície, opadu, prírastkomermi a lyzimetrami. Ku každej TMP v lesnom poraste je založená aj tzv. voľná plocha, vybavená meteostanicou, zberačmi atmosférickej depozície a zariadeniami na meranie ozónu. TMP Poľana - Hukavský grúň je ako jediná oploštená a vybavená oceľovou vežou, ktorá má na hornej plošine vo výške 36 m depozičné zberače a ďalšie zariadenia vrátane kamery na záznam fenologických fáz.

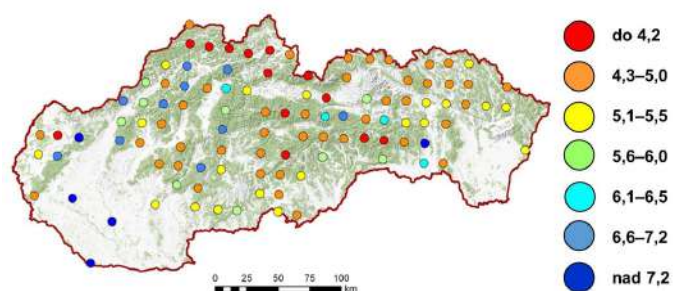
Významným prvkom pre porovnateľnosť, a tým aj využiteľnosť výsledkov, sú konkrétne kroky pre harmonizáciu metód formou manuálu, ale aj kalibračné kurzy. Jednotlivé kapitoly Manuálu ICP Forest, zamerané na jednotlivé prieskumy, sa priebežne spresňujú a dopĺňujú, pričom tento manuál (UN/ECE 2016) je voľne prístupný na webovom sídle programu ICP Forests: <http://icp-forests.net/page/icp-forests-manual>. Metodológia programu ICP Forest bola aj podstatnou zložkou monografie zameranej na terestrické hodnotenie /1/. Automatizovaný lesnícky meteorologický monitoring sa začal postupne rozvíjať v období rokov 2007 až 2010, a v súčasnosti prebieha na 15 výskumných lokalitách Národného lesníckeho centra vo Zvolene (NLC) a 15 staniciach Technickej univerzity vo Zvolene (TUZVO). Sieť regionálnych mezoklimatických staníc bola zakladaná v rôznych orografických celkoch Slovenska s ohľadom na potreby dlhodobého monitoringu zmien ekologických podmienok a produkčných ukazovateľov v súlade s metodikou medzinárodného monitoringu lesov ICP Forests (II. úrovne). Digitálne meteorologické stanice sa nachádzajú na lokalitách v rozpätí nadmorských výšok od 225 do 1 560 m n. m., čím reprezentujú prakticky všetky lesné vegetačné stupne. Operatívne meteorologické údaje sú každú hodinu automaticky vysielané a online graficky vizualizované na spoločnej internetovej stránke NLC a TUZVO (www.forestweather.sk) alebo na webe prevádzkovateľa centrálného dátového archívu (www.emsbrno.cz). Viac metodických informácií je dostupných v prácach /6/ a /7/.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vzhľadom na rozsah príspevku uvádzame vybrané výsledky o abiotických faktoroch, ktoré zohrávajú kľúčovú úlohu pre existenciu lesných drevín. Základom je pôda, v nedávnej minulosti bolo limitujúcim faktorom v mnohých územiach znečistené ovzdušie s následnou depozíciou kyslých zložiek zachytených hlavne v smrekových lesoch a uvádzame čím ďalej dôležitejšie nové informácie o priebehu teploty a zrážok získané automatizovaným monitoringom tiež priamo v lese.

Prieskum pôd je zameraný na všetky podstatné chemické a fyzikálne vlastnosti, hodnotenie je zamerané najmä na tri hlavné témy: stav kyslosti a nasýtenia bázami (acidifikácia), úroveň koncentrácií rizikových prvkov (kontaminácia) a zásoby pôdneho uhlíka (sekvestrácia, prípadne straty uhlíka v pôde). Ako príklad výstupu uvádzame informáciu o pôdnej reakcii. Približne na tretine TMP boli zistené veľmi kyslé pôdy. Podiel neutrálnych až mierne alkalických pôd zodpovedá podielu karbonátových pôdotvorných substrátov. Počas

rokov 1993–2006 bolo zastúpenie pôd s reakciou v rámci daných intervalov bez výraznejších rozdielov, v pokrývkovom humuse a v hĺbke 0–10 cm je istý náznak zníženia podielu veľmi silne kyslých pôd, čo by do istej miery mohlo súvisieť so znížením vstupu SO_4^{2-} , teda v minulosti výrazne dominujúcej zložky zakysľujúcich látok, do lesných pôd. Celkove možno podľa týchto výsledkov konštatovať stabilizáciu stavu lesných pôd z hľadiska pôdnej reakcie v hodnotenom období. Stav pH na TMP v hĺbke 0–10 cm je znázornený na obr. 1.

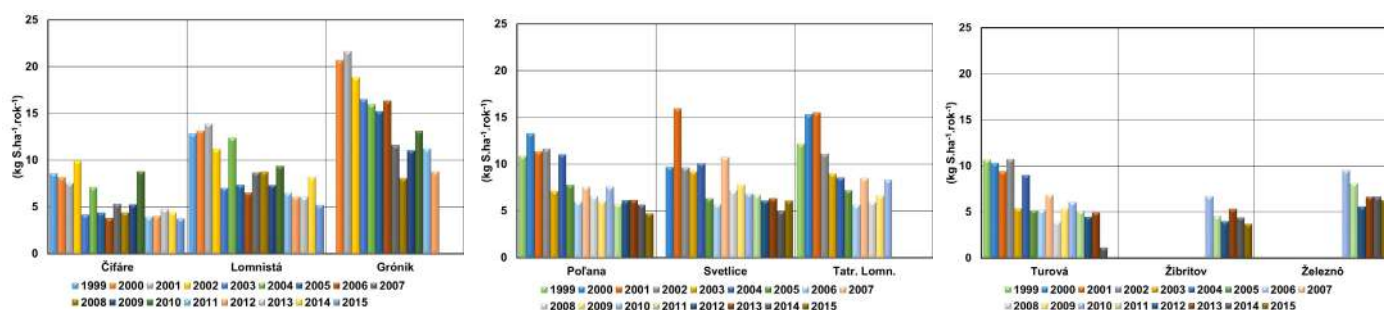


Obr. 1: Aktívna pôdna reakcia (pH-H₂O) v pôde v hĺbke 0–10 cm

Dlhodobé poznatky o vstupe síry a dusíka do lesných ekosystémov získavame pravidelnými odbermi zráž-

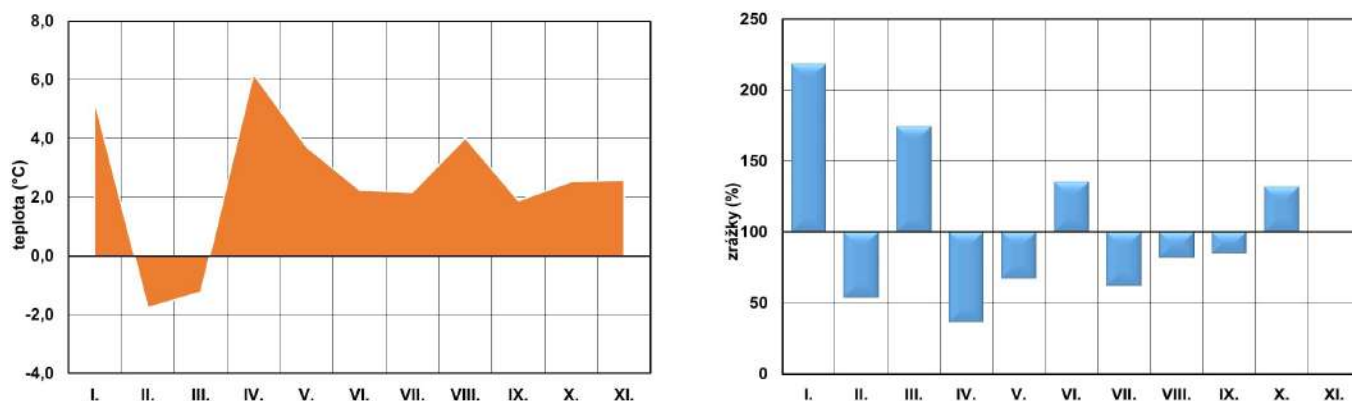
kových vôd v 15 dňových intervaloch na 7 až 9 TMP. Vzorkovače sú umiestnené v lesných porastoch a na blízkych otvorených plochách bez zápoja lesných drevín, kde sa meria tzv. zmiešaná depozícia. Depozície celkového dusíka a síry sú v lesných porastoch zvyčajne vyššie ako zmiešané depozície na priľahlých voľných plochách. Najvyššiu depozíciu síry sme dlhodobo zaznamenávali vo vyšších nadmorských výškach, v smrekových lesoch v oblasti Kysúc, vo Vysokých Tatrách a Nízkych Tatrách. Pokles depozície síry v lesoch SR je v dobrej zhode s výsledkami z ďalších štátov EÚ. Už v správe UN ECE z roku 2005 „Stav lesov v Európe“ sa uvádza, že priemerná ročná depozícia síry v lesných porastoch poklesla v období rokov 1996–2001 o 40 %. Hodnotených bolo 169 plôch od severu Talianska až po juh Škandinávie. Ojedinelé plochy s vysokou depozíciou síry sa však naďalej vyskytujú takmer v každej sledovanej krajine. Významná zmena v SR nastala už v roku 2003, keď depozícia síry na všetkých sledovaných plochách bola prvýkrát nižšia ako celková depozícia dusíka, a to v porastoch aj na voľných plochách.

V nasledujúcich rokoch sme zaznamenali pokračovanie tohto trendu a potvrdenie trvalosti týchto zmien, ktoré odrážajú zmeny v emisnej situácii v strednej Európe. Najväčší producenti SO₂ boli nútení pristúpiť či už zmenou technológií, alebo inštalovaním účinnejších filtračných zariadení k ich výraznej redukcii, čo sa následne odrazilo v celoeurópskych trendoch poklesu depozície síry. Prehľad dlhodobej depozície síry v lesných porastoch je uvedený na grafe 1.



Graf 1: Depozícia síry v lesných porastoch v rokoch 1999 až 2015 ($\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$)

Ďalej uvádzame príklad spracovania meteorologických dát z vybranej lesnícky významnej oblasti Kysuce. Z pohľadu klimatologickej rajonizácie bol región Kysúc na severozápadnom Slovensku vždy charakterizovaný ako oblasť s dostatočným zrážkovým zabezpečením. V zmysle klimatickej klasifikácie podľa Končeka v období 1961–2010 patrí územie do mierne teplého až chladného, vlhkého až veľmi vlhkého okrsku /2/. Rozsiahle zmeny v lesnom vegetačnom kryte v ostatných rokoch na Kysuciach a postupná defragmentácia lesov (najmä nepôvodných smrečín) z dôvodu vetrových kalamít a vplyvom gradácií podkôrneho hmyzu upriamila pozornosť lesníckeho výskumu na systematické sledovanie vývoja klímy v zmenených environmentálnych podmienkach, so zameraním na úlohu sucha a horúčav v rozpade lesných komplexov. Merania lesníckeho meteo-monitoringu potvrdzujú, že už aj v tomto regióne narastá počet rokov (príp. vegetačných sezón) s nedostatočnými, podpriemernými úhrnmi zrážok a zároveň teploty vzduchu stále častejšie prekračujú dlhodobé priemery.



Graf 2: Odchýlky priemerných mesačných teplôt vzduchu ($^{\circ}\text{C}$) a úhrnov zrážok ($\text{RR}\%$) nameraných v roku 2018 od dlhodobého normálu 1961–1990 na lokalite Husárik (530 m n.m), odvodeného podľa blízkej klimatologickej stanice Čadca /8/

Rok 2018 možno v oblasti Kysúc zhodnotiť ako teplotne výrazne nadpriemerný a naopak zrážkovo mierne podnormálový (graf 2). Vegetačná sezóna roku 2018 bola podľa našich meraní na Kysuciach (konkrétne na stanici Husárik 530 m n. m.) najteplejšia minimálne od roku 2010 a spolu s rokmi 2015 a 2012 sa zaradila aj medzi najsuchšie z pozorovaných období. Výrazne teplotne nadpriemerný bol najmä mesiac apríl (12,6 °C) a to až o 6,2 °C čo spolu s podpriemerným úhrnom zrážok (len 36 % z normálu) bol pre vývoj vegetácie začiatkom vegetačnej sezóny značne nepriaznivý stav. Rovnako viacročné merania pôdnej vlhkosti na Husáriku ukázali deficit vlhky v pôde v hĺbkach 10 až 30 cm, pričom najmarkantnejšie sucho bolo v lete rokov 2012, 2015, 2017 a podľa podnormálových zrážok aj rok 2018 /8/.

ZÁVER

Program monitoringu lesov ICP Forest, ktorý pôvodne vznikol z dôvodu silne znečisteného ovzdušia v Európe, prešiel zmenami a postupne sa vyvinul do rozsiahleho unikátneho systému komplexného monitoringu, ktorý poskytuje informácie o lesoch, aj o pôsobiacich abiotických faktoroch. Informácie o vlastnostiach pôd, zmenách depozícií látok, sú v posledných rokoch dopĺňané automatizovaným lesníckym meteorologickým monitoringom. Dlhodobé informácie o vonkajších abiotických faktoroch získavané v rámci monitoringu majú význam z hľadiska systematického nadobúdania exaktných dát a poznatkov. Využitie vidíme najmä v ekologickom, ekofyziologickom a produkčnom lesníckom výskume, ako aj v aplikovanej ochrane a pestovaní lesa.

LITERATÚRA

- /1/ Ferretti, M., Fischer, R (eds.), 2013: Methods for terrestrial investigations in Europe with an overview of North America and Asia. Development in Environmental Science, Volume 12, Forest Monitoring, Elsevier, 536 pp.
- /2/ Klimatický atlas Slovenska. Climate Atlas of Slovakia. Bratislava: Slovenský hydrometeorologický ústav, 2015, 142 s.
- /3/ Pavlenda, P., Pajčík, J., Priwitzer, T., Bošľa, M., Capuliak, J., Ďurkovičová, J., Ištoňa, J., Kajba, M., Konôpka, M., Krupová, D., Leontovych, R., Máliš, F., Pavlendová, H., Pôbiš, I., Sitková, Z., Stančíková, A., Tóthová, S., Vida, T., Vodálová, A., 2011: Monitoring lesov Slovenska. Správa za projekt FutMon a ČMS Lesy za rok 2010. Zvolen, NLC-LVÚ Zvolen, 206 s.
- /4/ Pavlenda, P., Pajčík, P., Priwitzer, T. et al. 2014: Monitoring lesov Slovenska. Správa za ČMS Lesy za rok 2013. NLC – LVÚ Zvolen, 150 s.
- /5/ SHMÚ, Bratislava. Počasie na Slovensku v roku 2018. Cyril Siman, Analýza publikovaná 1.1.2019. Dostupné na: <http://www.shmu.sk/sk/?page=2049&id=970>
- /6/ Sitková, Z., Leštianska, A., Štrelcová, K., Fleischer, P. st., Fleischer, P. ml., Galko, J., 2019: Lesnícky meteorologický monitoring: možnosti využitia operatívnych dát v ochrane lesa. In: Kunca, A. (Ed.), Aktuálne problémy v ochrane lesa 2019. Zborník referátov z medzinárodnej konferencie konanej 31.-1.2.2019 v Kongresovom centre Kúpeľov Nový Smokovec, a.s., Národné lesnícke centrum, Zvolen, s. 82–88.
- /7/ Štrelcová, K., Leštianska, A., Sitková, Z., Vido, J., Nalevanková, P., Škvarenina, J., 2017: Monitoring bioklimatických podmienok lesných vegetačných stupňov Slovenska. In Sitková, Z., Pavlenda, P. (Eds.): Dlhodobý ekologický výskum a monitoring lesov: súčasné poznatky a výzvy do budúcnosti. Zborník recenzovaných príspevkov z konferencie EkoMon 2017, 7.–8.11.2017 vo Zvolene, Národné lesnícke centrum – Lesnícky výskumný ústav Zvolen, s. 121–125.
- /8/ Túčeková, A., Sitková, Z., Takáčová, E., Strmeň, S., Kulla, L., a kol., 2018: Kontinuálne získavanie a transport poznatkov poloprevádzkových experimentov umelej, kombinovanej a prirodzenej obnovy kalamitných holín v rámci DO Husárik. Čiastková správa a odpočet prác pre Lesy SR š.p. za rok 2018. 43 s. Elektronická verzia správy dostupná na http://www.nlcsk.org/reconstruction/images/pdf/Odpocet_2018_Zmluva_LesySR.pdf

POĎAKOVANIE

Výskum je podporovaný v rámci riešenia projektu SLOV-LES „Výskum a vývoj na podporu konkurencieschopnosti slovenského lesníctva“, ktorý je financovaný z rozpočtovej kapitoly MPRV SR(08V0301), Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-16-0325 „Extrémne prejavy zmeny klímy a ich dopady na rast a produkciu lesných porastov“ a v rámci úlohy Monitoring lesov Slovenska (ČMS Lesy).



REAKCIA KOREŇOVÉHO SYSTÉMU *BROMUS MARGINATUS* NEES EX STEUD. A *PHLEUM PRATENSE* L. NA VODNÝ STRES

ROOT SYSTEM OF *BROMUS MARGINATUS* NEES EX STEUD. AND *PHLEUM PRATENSE* L. RESPONSE ON THE WATER STRESS

ĽUBOŠ VOZÁR, PETER KOVÁR, PETER HRIC

SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA V NITRE, FAPZ, KATEDRA TRÁVNÝCH EKOSYSTÉMOV A KŔM-
NYCH PLODÍN, TR. A. HLINKU 2, 949 76 NITRA, SLOVENSKÁ REPUBLIKA
LUBOS.VOZAR@UNIAG.SK

SUMMARY

The aim of the work was to verify the influence of different water regimes on the production of forage grasses root. *Bromus marginatus* Nees ex Steud. a variety „Tacit“ and the Timothy (*Phleum pratense* L.) variety „Levočská“ were observed. The experiment was conducted under controlled irrigation conditions. The same dose, 200 ml, of water per container was applied. Three variants of watering were observed for each species: I. once weekly on Monday; II. 2 times per week, Monday and Thursday and III. 3 times per week, Monday, Tuesday and Thursday. A total of two collections were carried out and at the end of the season the containers were disassembled and subsequently the root weight was measured. In the results we observed a significant increase in the weight of roots with an increasing dose of water in both studied species..

Key words: root system; grasses; water regime

SOUHRN

Cieľom práce bolo overiť vplyv rôznych vlhových režimov na produkciu koreňov kŕmnych tráv. Sledovali sa stoklas horský (*Bromus marginatus* Nees ex Steud.) odroda „Tacit“ a timotejka lúčna (*Phleum pratense* L.) odroda „Levočská“. Experiment sa realizoval v kontrolovaných podmienkach s riadenou závlahou. Aplikovala sa rovnaká dávka, 200 ml, vody na každú nádobu. Pri každom druhu sa sledovali 3 varianty zalievania: I. 1x týždenne v pondelok; II. 2x do týždňa, v pondelok a vo štvrtok a III. 3x do týždňa, v pondelok, utorok a vo štvrtok. Celkovo sa realizovali dva zbery, a na konci sezóny sa nádoby rozobrali a následne sa zisťovala hmotnosť koreňov. Vo výsledkoch sme zaznamenali u oboch sledovaných druhov preukazný nárast hmotnosti koreňov s narastajúcou dávkou vody.

Kľúčové slová: koreňový systém; trávy; vlhový režim

Úvod

Trávy potrebujú určité podmienky pre optimálny rast. Majú konkrétne požiadavky na ekologické podmienky stanovišťa. Významné sú obzvlášť atmosférické zrážky, vzdušná vlhkosť, teplotné pomery, svetlo a vietor, ktoré determinujú hydrologické procesy, a tým aj poľnohospodársku činnosť /4/.

Voda je prijímaná a vedená rastlinou vplyvom gradientu vodného potenciálu z miesta s vyššou voľnou energiou do miesta s nižšou energiou. U vyšších rastlín prebieha príjem vody prostredníctvom špecifického orgánu – koreňa. Okrem pôdnej vlhkosti môžu prijímať vodu vo forme rosy, dažďa a vzdušnej vlhkosti aj nadzemnými orgánmi - listami. Tento mimokoreňový príjem je obzvlášť dôležitý pri nedostatku vody v pôde /3/.

Deficit vody alebo vodný stres, je najviac limitujúcim stresorom pre rastliny. Jednou z príčin nedostatku vody dostupnej pre rastliny je najčastejšie priebeh počasia. Ďalšie taktiež možné príčiny sú obsah živín a solí v pôde, ale aj pôdna reakcia /1/.

V rastlinách pod vplyvom sucha prebieha široká škála biochemických a fyziologických reakcií na všetkých úrovniach rastliny. Prebieha uzavretie prieduchov, potlačenie bunkového rastu a fotosyntézy, nadprodukcia fytohormónov a akumulácia metabolitov a urýchľuje sa starnutie rastlín /8/.

Vonkajším prejavom vodného deficitu je vädnutie rastlín. Dochádza k postupnému znižovaniu obsahu vody nielen v listoch, ale aj v ostatných orgánoch vrátane koreňa. Následkom toho koreňové vlásky odumierajú a dochádza k prerušeniu kontaktu medzi pôdou a koreňom. Rastlina tak stráca schopnosť prijímať vodu aj po prípadnom dodaní vody /6/.

Niektorí autori /2/ píše, že deficit vody podporuje u rastlín rast koreňov, avšak silný vodný stres rast koreňov

znižuje, pretože rastlina nemá dostatok asimilátov. Hlbší a hustejší koreňový systém zlepšuje prístup k zásobe vody v podorníči a zlepšuje príjem živín z vysychajúcej pôdy. Rastliny sú dokonca schopné koreňmi vylučovať vodu prijatú z hlbokých vrstiev do vyschnutých povrchových vrstiev a tak zlepšovať v malej miere podmienky pre príjem živín. Po následnom príchode zrážok môže mohutnejší koreňový systém predstavovať dokonca výhodu v porovnaní s rastlinami, ktoré neprešli obdobím mierneho nedostatku vody.

Cieľom práce bolo overiť vplyv rôznych vlhkových režimov na produkciu koreňov kŕmnych tráv.

MATERIÁL A METÓDY

Experiment bol realizovaný na Katedre trávnych ekosystémov a kŕmnych plodín Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre. Priemerné ročné teploty v katastri mesta sa pohybujú v rozpätí 7,5–10,0 °C. Priemerné hodnoty teplôt v období trvania pokusu sú uvedené v tab. 1.

Tab. 1: Teplotné podmienky v období trvania pokusu

Faktor	Deň	Mesiac							
		III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.
Teplota (°C)	1.–10.	4,0	6,1	15,8	21,7	24,1	25,3	17,8	13,3
	11.–20.	5,9	10,6	14,4	17,9	22,2	21,4	18,6	8,5
	21.–31.	8,3	13,9	11,8	16,2	22,6	21,3	13,1	8,9
	1.–31.	6,3	10,4	15,1	19,9	23,6	23,5	17,5	10,5

Experiment bol založený v marci. Vysiali sa 2 druhy tráv - timotejka lúčna (*Phleum pratense* L.) a stoklas horský (*Bromus marginatus* Nees ex Steud.). Trávy sa predpestovali v zakoreňovačoch. Na začiatku mája boli pretrhané na 2 ks v každom zakoreňovači. A po týždni sa rastliny vysádzali do kvetínáčov s objemom 2 l (24 ks). Na presádzanie bol použitý trávnikový substrát, ktorého zloženie je uvedené v tab. 2.

Tab. 2: Zloženie trávnikového substrátu

Substrát	N	P	K	Ca	Na	Mg	Cox	pH
	mg.kg ⁻¹						%	
Trávnikový substrát	4067,07	71,53	538,78	6720,00	556,52	716,29	4,41	6,70

Následne boli nádoby vynesené na krytý balkón a začal sa realizovať rôzny závlahový režim. Rastliny boli zalievané v pravidelných intervaloch, pričom sa aplikovala rovnaká dávka, 200 ml, vody na každú nádobu. Pri každom druhu sa sledovali 3 varianty zalievania v 3 opakovaniach:

- 1x týždenne v pondelok;
- 2x do týždňa, v pondelok a vo štvrtok;
- 3x do týždňa, v pondelok, utorok a vo štvrtok.

Výživa rastlín bola realizovaná aplikáciou hnojiva Duslofert 14–10–20 (7S) v dvoch dávkach (2x0,72 g na kvetínáč). Prvá dávka hnojiva sa použila dva týždne po vysadení, druhé hnojenie sa uskutočnilo týždeň po 1. kosbe. Prvá kosba bola vykonaná 7. júla, druhá 21. septembra. Kosby sa realizovali vo fenofáze metania tráv. Po druhej kosbe a ukončení sledovaní sa kvetínáče vložili do sušičky pre umrtnenie rastlín. Z takto pripravených vzoriek sa vyseparovali a následne odvážili korene.

Výsledky boli spracované v MS Excel a štatisticky vyhodnotené v programe StatSoft, Inc. (2011). STATISTICA (data analysis software system), version 10 /9/. Použili sme ANOVU hlavných efektov. Úroveň faktora sa posudzovala Fisherovým LSD testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pre účinnú absorpciu vody z pôdy musí byť povrch koreňa v blízkom kontakte s pôdou. Absorpčná plocha koreňa, dôležitá pre príjem vody, je ovplyvňovaná veľkosťou a zložením koreňového systému a zväčšuje rast

koreňa a koreňových vláskov. Voda je prevažne prijímaná v nových častiach koreňového systému tam, kde obvykle dochádza k najväčšej tvorbe koreňových vláskov /6/.

V experimente so stoklasom horským množstvo koreňov v jednotlivých variantoch narastalo (tab. 3). Zistili sme štatisticky preukazné zmeny hmotnosti koreňov stoklasu horského. Rozdiel medzi najviac zavlažovaným (III.) a najmenej zavlažovaným (I.) variantom bol 3,767 g na nádobu. Pri timotejke lúčnej rovnako s intenzitou závlahy narastala hmotnosť sušiny koreňov. Hmotnosť koreňov sa vo variante III. zvýšila 5,46krát v porovnaní s variantom I. Na rozdiel od stoklasu horského sú však rozdiely medzi prvým a druhým variantom nepreukazné.

Pri porovnaní výsledkov hmotností koreňov timotejky lúčnej a stoklasu horského, môžeme povedať že u oboch druhov so zvyšujúcim sa množstvom aplikovanej závlahy narastala aj ich hmotnosť. Pri stoklase horskom bola zaznamenaná podstatne väčšia hmotnosť koreňovej hmoty ako pri timotejke lúčnej. To sa potom odrazilo aj v produkcii jednotlivých druhov. Iné výsledky z podobného pokusu /5/ tiež poukazujú na stúpajúcu tendenciu produkcie hmoty koreňov mätonohu mnohokvetého a ovsíka obyčajného.

Tab. 3: Produkcia koreňov v závislosti od intenzity závlahy (g/nádobu)

Variant	Stoklas horský	Timotejka lúčna
I.	0,648a	0,357a
II.	2,335b	0,695a
III.	4,415c	1,950b

Rozdielne indexy v rámci stĺpcov indikujú signifikantné rozdiely (Fisherov LSD test, $\alpha = 0.05$)

ZÁVER

Vo výsledkoch sme zaznamenali pri oboch sledovaných druhoch preukazný nárast hmotnosti koreňov s rastúcou dávkou vody.

LITERATÚRA

- /1/ Bláha, L. et al.: Biologické metody boje se suchem. In Sborník příspěvků ze semináře ke světovému dni výživy. Praha: Výzkumný ústav potravinářský. s. 3-6. ISBN 978-80-86909-03-5
- /2/ Haberer J., Svoboda, P., Káš, M.: The effect of meteorological conditions on the efficiency of stubble catch crops. In Italian Journal of Agronomy, vol. 3 (3), pp. 333-334. ISSN 2039-6805.
- /3/ Hejnák, V.: Fyziologie rostlin. Praha: Česká zemědělská univerzita (Praha). 159 s. ISBN 978-80-213-1667-6.
- /4/ Jančovič, J.: Ekológia trávnych porastov. 2. nezmenené vyd. Nitra: SPU. 80 s. ISBN 80-8069-650-0.
- /5/ Magdová, I.: Vplyv rôznych vlhových režimov na produkciu suchovzdorných tráv: diplomová práca. Nitra: SPU. 65s
- /6/ Massacci, A., Nabiev, S. M., Pietrosanti, L., Nematov, S. K., Chernikova, T. N., Thor, K., Leipner, J.: Response of the photosynthetic apparatus of cotton (*Gossypium hirsutum*) to the onset of drought stress under field conditions studied by gas-exchange analysis and chlorophyll fluorescence imaging. In Plant Physiology and Biochemistry, vol. 46, no. 2, pp. 95- 62189. ISSN 0981-9428.
- /6/ Robinson, D., Hodge, A., Fitter, A.: Constraints on the Form and Function of Root Systems. In Root ecology, pp 1-31. ISBN: 978-3-642-05520-1.
- /8/ Seki, M., Umezawa, T., Urano, K., Shinozaki, K.: Regulatory metabolic networks in drought stress responses. In Current Opinion in Plant Biology, vol. 10, no.3, pp. 296-302, ISSN 1369-5266.
- /9/ StatSoft, Inc. (2011). STATISTICA (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com.

POĎAKOVANIE

Touto cestou by sme chceli poďakovať Mariánovi Farkašovi za pomoc pri zbere a vyhodnocovaní údajov.



SLOŽENÍ AMINOKYSELIN V KOŘENECH *PTERIS CRETICA* PŘI STRESU ARSENEM

COMPOSITION OF AMINO ACIDS IN ROOTS OF *PTERIS CRETICA* UNDER ARSENIC STRESS

VERONIKA ZEMANOVÁ^{1,2}, DANIELA PAVLÍKOVÁ¹, MILAN PAVLÍK², JANA ČESKÁ³,
HANA ZÁMEČNÍKOVÁ¹

¹ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE, FAPPZ, KATEDRA AGROENVIRONMENTÁLNÍ CHEMIE A VÝŽIVY ROSTLIN, KAMÝČKÁ 129, 165 00 PRAHA 6 – SUCHDOL, ZEMANOVAV@AF.CZU.CZ

²ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ BOTANIKY AV ČR, V. V. I., IZOTOPOVÁ LABORATOŘ, VÍDEŇSKÁ 1083, 142 20 PRAHA 4 – KRČ

³ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE, FAPPZ, KATEDRA BOTANIKY A FYZIOLOGIE ROSTLIN, KAMÝČKÁ 129, 165 00 PRAHA 6 – SUCHDOL

SUMMARY

A pot experiment with fern *Pteris cretica* (L.) var. *Albo-lineata* and var. *Parkerii* was focused on free amino acids metabolism in the roots affected by As long-term stress. Soil used in experiment was spiked by 20, 100 and 250 mg As/kg of soil. The plants were harvested after 185 days (*P. cretica* var. *Albo-lineata*) and 158 days (*P. cretica* var. *Parkerii*) of cultivation. Long-term stress showed decrease of roots biomass of As variants and increase of As content in roots. *P. cretica* var. *Albo-lineata* accumulated more As than *P. cretica* var. *Parkerii*. The total content of free amino acids was higher in *P. cretica* var. *Parkerii* than *P. cretica* var. *Albo-lineata*. The main free amino acids in roots of both ferns was glutamine - 30% on average from all amino acids. Free amino acid with lowest content in roots of both ferns was asparagin - 2.6% on average from all amino acids.

Key words: hyperaccumulator; stress metabolism; transport amino acids; Pteridaceae

SOUHRN

V nádobovém pokusu byl studován metabolismus volných aminokyselin v reakci na dlouhodobý stres vlivem As u kapradin *Pteris cretica* (L.) var. *Albo-lineata* a var. *Parkerii*. Arsen byl aplikován v dávkách 20, 100 a 250 mg As/kg půdy a kořeny byly odebrány po 185 a 158 dnech vegetace. Se zvyšující se dávkou As byl snížen výnos biomasy a zvýšen obsah As v kořenech, který byl více akumulován v *P. cretica* var. *Albo-lineata*. Rozdíly mezi rostlinami byly pozorovány v metabolismu volných aminokyselin, jejichž celkový obsah byl vyšší v *P. cretica* var. *Parkerii*. V kořenech obou kapradin byl hlavní aminokyselinou glutamin, jehož průměrný obsah dosahoval 30 % z celkového obsahu volných aminokyselin. Aminokyselinou s nejnižším obsahem - v průměru 2,6 %, byl v kořenech obou rostlin asparagin.

Klíčová slova: hyperakumulátor; stresový metabolismus; transportní aminokyseliny; Pteridaceae

ÚVOD

Arsen (As) je metaloid, jehož vliv na růst rostlin a jejich produktivitu je obvykle spojován s oxidačním stresem, který ovlivňuje v různém rozsahu metabolické dráhy rostlin /1/. Významnou roli v antioxidační obraně, tvorbě komplexů a signalizaci při stresu rizikovými prvky hrají aminokyseliny (AA) /2/. Aminokyseliny mají stěžejní roli v interakci mezi C a N metabolismem rostlin, kdy N metabolity umožňují využití C pro růst /3/.

MATERIÁL A METODY

Rostliny *Pteris cretica* L. var. *Albo-lineata* (Pc-Al) a var. *Parkerii* (Pc-Pa) byly pěstovány 185 a 158 dní v nádobovém pokusu s černozemí modální (5 kg; $\text{pH}_{\text{KCl}} = 7,2$; KVK = 258 mmol+/kg; $\text{C}_{\text{org.}} = 1,83 \%$; $\text{As}_{\text{celkový}} = 16 \pm 1,7 \text{ mg/kg}$) a dávkou živin 0,5 g N, 0,16 g P a 0,4 g K na 1 kg půdy (jako NH_4NO_3 a K_2HPO_4). Arsen byl aplikován v dávce 20 (As1), 100 (As2) a 250 (As3) mg/kg půdy (roztok $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). Kontrolou byla půda bez aplikace As (As0). Arsen byl stanoven metodou ICP-OES po nízkotlakém mikrovlnném rozkladu (10 mL $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$, 4:1 v/v; Ethos 1).

Po derivatizaci extraktu (1 g FW; 15 mL MeOH + H_2O , 7:3 v/v; 24 h) sadou EZ:faast (Phenomenex) byl změ-

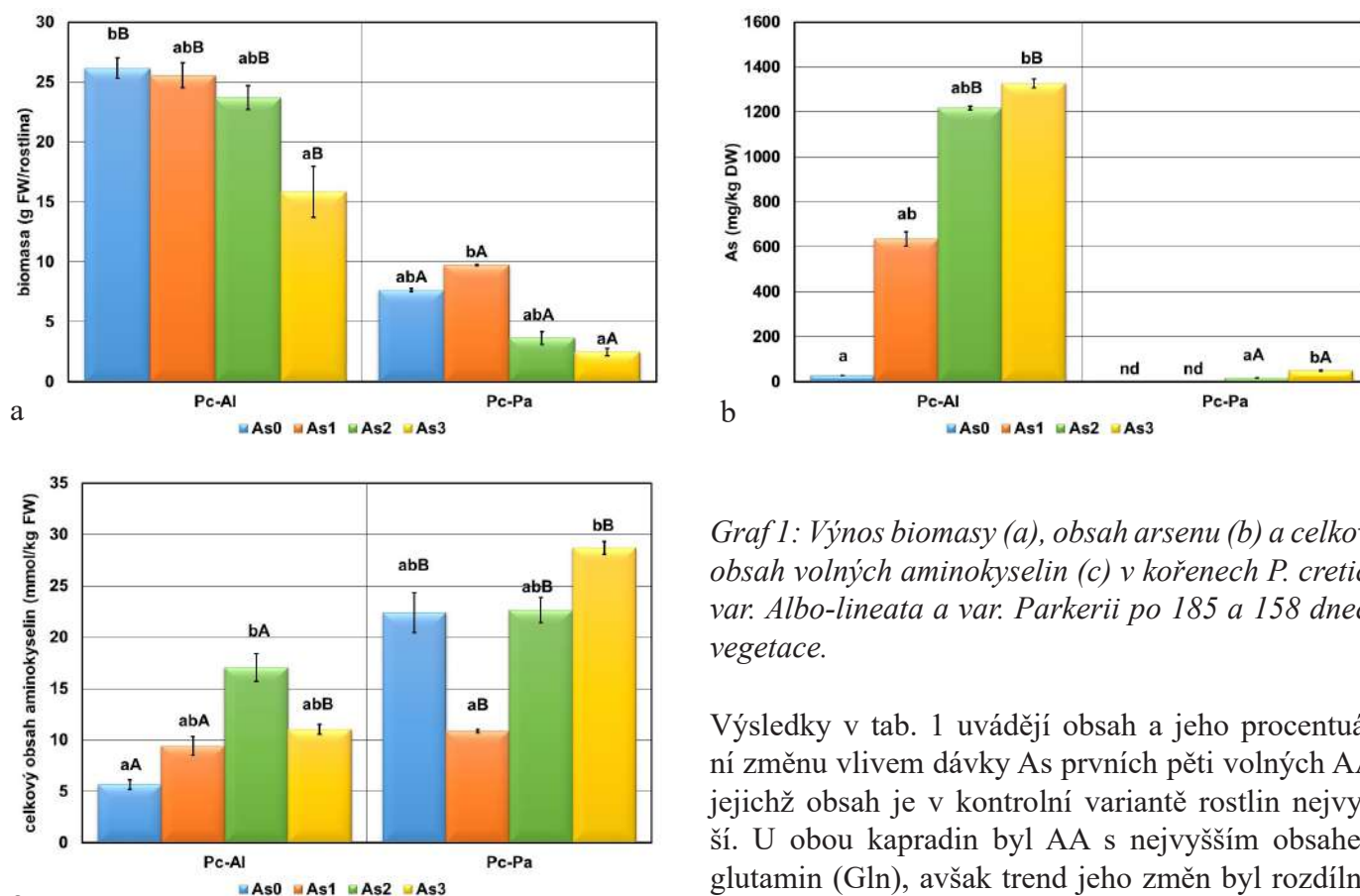
řen obsah volných AA pomocí GC-MS. Data byla vyhodnocena v programu Statistica 12.0 (neparametrický Kruskal-Wallisův test; lineární korelace, $p \leq 0,001^{***}$, $p \leq 0,01^{**}$, $p \leq 0,05^{*}$).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Kořeny jsou první částí rostliny vystavené vlivu As, kde tento metaloid způsobuje inhibici prodlužování a proliferace kořenů /4/ a dochází ke snížení biomasy /5/. V našem pokusu se toxický vliv As na růst kořenů projevil především u *Pc-Pa* (graf 1a). Odběr této kapradiny byl proveden v porovnání s druhou pokusnou rostlinou dříve z důvodu rozsáhlých nekróz na listech a hrozícímu úhynu. U *Pc-Al* byl výnos až 6,5krát vyšší v porovnání s *Pc-Pa* a snižoval se se zvyšující se dávkou As v půdě (graf 1a). Výnos kořenů negativně koreloval s As u *Pc-Al* ($r = -0,71^{**}$) i *Pc-Pa* ($r = -0,83^{***}$).

Rozdíl mezi kapradinami se projevil i v akumulaci As v kořenech (graf 1b). Se zvyšující se dávkou As v půdě se zvyšoval obsah As v kořenech *Pc-Al*. Obsah As v *Pc-Pa* byl nižší v porovnání s *Pc-Al* (v průměru 52krát nižší) a u variant As0 a As1 byl pod mezí detekce přístroje (< 3 mg As/kg DW). Jako hyperakumulátor, rostlina schopná akumulovat více jak 1000 mg As/kg suché biomasy /6/, byl potvrzen *Pc-Al*.

V důsledku stresu As byl ovlivněn profil a obsah volných AA v kořenech obou kapradin. U *Pc-Al* bylo stanoveno 15 volných AA, jejichž obsah byl alespoň u jedné varianty nad mezí detekce. U *Pc-Pa* bylo zjištěno 16 volných AA a celkový obsah AA byl vyšší v porovnání s *Pc-Al* (graf 1c). Varianty s As u *Pc-Al* zvyšovaly celkový obsah AA v porovnání s kontrolou o 66, 200 a 94 %. Naopak u *Pc-Pa* byl celkový obsah AA vlivem varianty As1 snížen o 51,5 % a zvýšen o 1 a 28 % vlivem As2 a As3. V kořenech *Pc-Al* a *Pc-Pa* koreloval celkový obsah AA s As ($r = 0,80^{**}$ a $r = 0,75^{**}$). Jak ukazují i výsledky dalších prací /7, 8, 9/ As narušuje asimilaci N a způsobuje změny v obsahu esenciálních i neesenciálních AA.



Graf 1: Výnos biomasy (a), obsah arsenu (b) a celkový obsah volných aminokyselin (c) v kořenech *P. cretica* var. *Albo-lineata* a var. *Parkerii* po 185 a 158 dnech vegetace.

Výsledky v tab. 1 uvádějí obsah a jeho procentuální změnu vlivem dávky As prvních pěti volných AA, jejichž obsah je v kontrolní variantě rostlin nejvyšší. U obou kapradin byl AA s nejvyšším obsahem glutamin (Gln), avšak trend jeho změn byl rozdílný. V kořenech *Pc-Al* dosahoval Gln 25–46 % a v *Pc-Pa* 16–27 % z celkového obsahu volných AA. Jeho obsah koreloval s As v *Pc-Al* ($r = 0,72^{**}$) i *Pc-Pa* ($r = 0,62^{*}$). Podobný trend změn Gln jako u *Pc-Al* byl zjištěn u hyperakumulátoru As *Pityrogramma*

Rozdílná písmena nad sloupci vyjadřují statisticky významný rozdíl ($\alpha < 0,05$) mezi variantami (malá písmena) a mezi kapradinami (velká písmena), nd - hodnoty pod mezí detekce.

calomelanos /6/. Jak ukazují naše výsledky, AA s nejnižším obsahem byl asparagin (Asn), jehož obsah se pohyboval od $0,15 \pm 0,002$ do $0,35 \pm 0,002$ mmol/kg FW (1,9–2,6 %) v *Pc-Al* a od $0,39 \pm 0,003$ do $0,69 \pm 0,007$ mmol/kg FW (2,3–3,6 %) v *Pc-Pa*. Obsah Asn koreloval s As pouze u *Pc-Al* – $r = 0,80^{**}$. Mezi AA s nejvyšším obsahem patří u obou kapradin serin (Ser) a fenylalanin (Phe), jejichž obsah byl vlivem As zvyšován v *Pc-Al* a snižován v *Pc-Pa*. Podobný trend byl zjištěn v pokusu Tripathi et al. /9/ při porovnávání metabolismu tolerantního a senzitivního kultivaru rýže v odpovědi na stres As.

Tab. 1: Obsah vybraných volných aminokyselin a jejich procentuální změny vlivem dávky As v kořenech *P. cretica* var. *Albo-lineata* a var. *Parkerii* po 185 a 158 dnech vegetace

rostlina	AA (mmol/kg FW)	As0	As1	As2	As3
Pc-Al	glutamin	$1,4 \pm 0,5$ a	+ 200 % ab	+ 432 % b	+ 180 % ab
	kyselina glutamová	$0,6 \pm 0,04$ ab	- 9 % a	+ 78 % ab	+ 98 % b
	tyrosin	$0,5 \pm 0,002$ a	+ 25 % ab	+ 138 % b	+ 67 % ab
	fenylalanin	$0,4 \pm 0,003$ a	+ 26 % ab	+ 143 % b	+ 71 % ab
	serin	$0,3 \pm 0,009$ a	+ 14 % ab	+ 118 % b	+ 55 % ab
Pc-Pa	glutamin	$6,2 \pm 1,9$ ab	- 71 % a	- 41 % ab	+ 23 % b
	fenylalanin	$2,1 \pm 0,004$ b	- 44 % a	- 13 % ab	- 13 % ab
	ornitin	$1,7 \pm 0,002$ a	- 43 % a	+ 22 % a	+ 22 % a
	kyselina glutamová	$1,5 \pm 0,1$ a	- 48 % a	+ 29 % a	+ 31 % a
	serin	$1,5 \pm 0,07$ b	- 43 % a	- 10 % ab	- 2 % ab

Statisticky významný rozdíl ($\alpha < 0,05$) mezi variantami vyjadřují rozdílná písmena ($n = 6$).

Další volné AA, které byly stanoveny v kořenech obou kapradin jsou alanin (Ala), glycin (Gly), valin (Val), leucin (Leu), isoleucin (Ile), threonin (Thr), prolin (Pro), kyselina asparagová (Asp), kyselina glutamová (Glu) a tyrosin (Tyr). V kořenech *Pc-Al* byl stanoven také tryptofan (Trp). Naopak v kořenech *Pc-Pa* tato AA nebyla stanovena, avšak byl stanoven ornitin (Orn) a histidin (His). Toxicita nejvyšší dávky As - 250 mg/kg půdy se projevila v kořenech *Pc-Al* akumulací Trp a v *Pc-Pa* akumulací His. Tyto AA, které jsou substrátem pro antioxidační sloučeniny /6/, nebyly u ostatních variant stanoveny. Důležitou AA, která je zapojena přes signální procesy do regulace růstu rostliny je Pro /10/. Tato AA vykazovala u *Pc-Al* a *Pc-Pa* stejný trend jako Ser a Phe. Zvýšený obsah u *Pc-Al* potvrzuje, že toxickému prvku tolerantní rostliny nadměrně akumulují Pro /10/. Obsah všech zmíněných AA, s výjimkou Trp, koreloval s As v *Pc-Al* – $r = 0,60-0,82^{**}$. Podobné výsledky byly pozorovány u tolerantního kultivaru rýže /9/. V kořenech *Pc-Pa* koreloval As, mimo již zmíněného Gln, pouze s Val ($r = 0,78^{**}$), Glu ($r = 0,64^{*}$), Orn ($r = 0,63^{*}$) a Tyr ($r = 0,78^{**}$). Obsah jednotlivých volných AA byl signifikantně rozdílný mezi rostlinami u všech variant. V kořenech *Pc-Al* vykazoval obsah jednotlivých AA, s výjimkou Ala, Glu, Val a Trp, stejný trend jako celkový obsah volných AA – zvýšení vlivem As v porovnání s kontrolou (tab. 1). V kořenech *Pc-Pa* stejný trend obsahu jako celkový obsah volných AA vykazoval Glu, Gln a Orn. Jak dokazují výsledky obsahů jednotlivých volných AA a jejich trendy, byl v metabolismu AA v kořenech obou kapradin jednoznačný rozdíl, ačkoli se jedná o stejný rostlinný druh. Více tolerantní rostlinou vůči stresu As se jeví kapradina *Pc-Al* v porovnání s *Pc-Pa*.

LITERATURA

/1/ Rodríguez-Ruiz M, Aparicio-Chacón MV, Palma JM, Corpas FJ: Arsenate disrupts ion balance, sulfur and nitric oxide metabolisms in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L.) plants. Environmental and Experimental Botany, 161, 2019: 143-156.

/2/ Kumar A, Singh RP, Singh PK, Awasthi S, Chakrabarty D, Trivedi PK, Tripathi RD: Selenium ameliorates arsenic induced oxidative stress through modulation of antioxidant enzymes and thiols in rice (*Oryza sativa* L.). Ecotoxicology, 23, 2014: 1153-1163.

/3/ Lea PJ, Forde BG: The use of mutants and transgenic plants to study amino acid metabolism. Plant Cell and Environment, 17, 1994: 541-556.

/4/ Finnegan PM, Chen W: Arsenic toxicity: the effects on plant metabolism. *Frontiers in Physiology*, 3, 2012: article 182.

/5/ Kofroňová M, Hrdinová A, Mašková P, Soudek P, Tremlová J, Pinkas D, Lipavská H: Strong antioxidant capacity of horseradish hairy root cultures under arsenic stress indicates the possible use of *A Armoracia rusticana* plants for phytoremediation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 174, 2019: 295-304.

/6/ Campos NV, Araújo TO, Arcanjo-Silva S, Freitas-Silva L, Azevedo AA, Nunes-Nesi A: Arsenic hyperaccumulation induces metabolic reprogramming in *Pityrogramma calomelanos* to reduce oxidative stress. *Physiologia Plantarum*, 157, 2016: 135-146

/7/ Singh N, Ma LQ, Vu JC, Raj A (2009a) Effects of arsenic on nitrate metabolism in arsenic hyperaccumulating and non-hyperaccumulating ferns. *Environmental Pollution* 157:2300–2305.

/8/ Dwivedi S, Mishra A, Tripathi P, Dave R, Kumar A, Srivastava S, Chakrabarty D, Trivedi PK, Adhikari B, Norton GJ, Tripathi RD, Nautiyal CS (2012) Arsenic affects essential and non-essential amino acids differentially in rice grains: inadequacy of amino acids in rice based diet. *Environment International* 46:16–22.

/9/ Tripathi P, Tripathi RD, Singh RP, Dwivedi S, Chakrabarty D, Trivedi PK, Adhikari B: Arsenite tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) involves coordinated role of metabolic pathways of thiols and amino acids. *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 2013: 884-896.

/10/ Abbas G, Murtaza B, Bibi I, Shahid M, Niazi NK, Khan MI, Amjad M, Hussain M, Natasha: Arsenic uptake, toxicity, detoxification, and speciation in plants: physiological, biochemical, and molecular aspects. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15, 2018:1-45.

PODĚKOVÁNÍ

Uvedená práce vznikla za finanční podpory projektu GA ČR č. 17-10591S a NutRisk Centre reg. č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000845.



SPONZOŘI


Půda

Voda

Rostliny

Meteorologie

Sedimenty

Geotechnika

EkoTechnika

EkoTechnika spol. s r.o. byla založena v roce 1967.

Naše firma vyrábí a máří přístroje pro pedologii, geologii, hydrogeologii, hydrologii, meteorologii, geotechniku, výzkum rostlin a diagnostiku životního prostředí.

Máme zákazníky jsou vědecké instituce, vysoké a střední školy, zemědělské společnosti, integrované geologové, hydrogeologové, státní instituce.

Dodáváme přístroje jsou vyráběny předními světovými výrobci ADC, Bioscientific Ltd., Delta-T Devices Ltd. a dalšími, které vyhradně zastupujeme v ČR a SR.

Vyrábíme také vlastní přístroje a měřicí softwar.







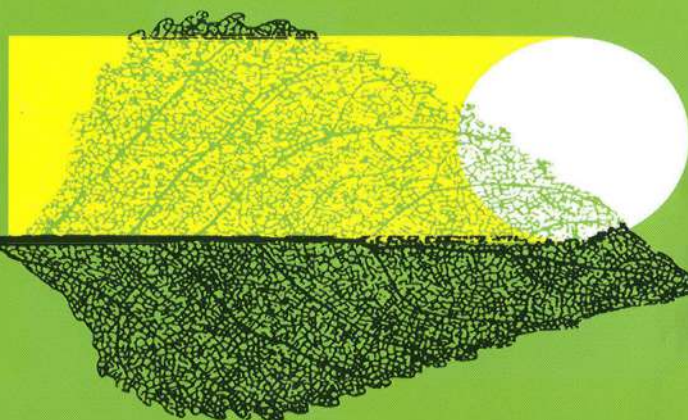

www.ekotechnika.cz

Mgr. Tomáš Havel / havel@ekotechnika.cz / +420 602 243 447

57 (1-4) 2019

International
Journal
for Photosynthesis
Research

Published
by the Academy
of Sciences
of the Czech Republic



PHOTOSYNTHETICA

Název: **Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2019**

Editor: Ing. Věra Kožnarová, CSc.

Vydavatel: Česká zemědělská univerzita v Praze

Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied

Odborní recenzenti: doc. RNDr. Jan Novák, DrSc.; Mgr. Jana Šlégrová

Tisk: Power Print

Náklad: 80 ks

Počet stran: 190

Vydání: první

Rok vydání: 2019

ISBN: 978-80-213-2949-2 Česká zemědělská univerzita v Praze

ISBN: 978-80-89408-35-1 Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied

Texty příspěvků neprošly jazykovou úpravou.