

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied

**Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke,
potravinárske a veterinárske vedy pri SAV v Bratislave**



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

Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied

**Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke,
potravinárske a veterinárske vedy pri SAV v Bratislave**

Pořadatelé:

Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů ČZU v Praze

**VLIV ABIOTICKÝCH A BIOTICKÝCH
STRESORŮ NA VLASTNOSTI ROSTLIN 2017**

(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:

Institute of Forest Ecology SAS

Faculty of Agrobiological Sciences, Food and Natural Resources

**INFLUENCE OF ABIOTIC AND BIOTIC
STRESSES ON PROPERTIES OF PLANTS 2017**

(Proceedings of scientific articles)

This publication has not undergone language editing

© **Redakčně zpracoval:** doc. Ing. František Hnilička, Ph.D.

Jazyková korektura: Texty příspěvků neprošly jazykovou úpravou

Foto na titulní straně: Rašeliniště v Kladské.

foto: František Hnilička

Odborný garant konference: František Hnilička (ČZU v Praze)

Margita Kuklová (ÚEL SAV)

Odborní recenzenti: *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, 2017

ISBN: 978-80-213-2767-2

© Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied, 2017

ISBN: 978-80-89408-27-6

OBSAH

	Úvodní slovo	1
<i>L. Hájková, V. Kožnarová, F. Hnilička</i>	Vyhodnocení vybraných agroklimatických charakteristik ve vegetačním období na území ČR za období 1961–2010	3
<i>V. Paganová, Z. Jureková</i>	Plasticita korenov juvenilnych drevin v podmienkach sucha	11
<i>J. Konôpková, P. Hořka, D. Bošiaková, P. Ferus</i>	Dreviny Arboréta Mlyňany a možnosti ich rozmnožovania	19
<i>J. Chrpová, M. Váňová, O. Veškrna</i>	Výskyt žluté zakrslosti ječmene na území ČR	27
<i>I. Fialová, M. Vaculík, M. Vaculíková, M. Luxová</i>	Kremík v živote rastlín	31
<i>M. Galgóci, A. Kormuťák</i>	Niektoré morfológické aspekty makrostrobilov v kontexte introgresívnej hybridizácie hybridného roja borovic na lokalite Medzi Bormi	37
<i>M. Hájková, M. Kummerová, Š. Zezulka</i>	Odezva izolovaných chloroplastů <i>Lemna Minor</i> (L.) na diklofenak	41
<i>M. Ježík, D. Gömöry, L. Ditmarová</i>	Vzt'ah medzi sezónnou dynamikou nárastu obvodou kmeňov mladých jedincov jedle bielej a variabilitou počasia v r. 2016	45
<i>G. Juhásová, K. Adamčíková, E. Ondrušková</i>	Pôvodcovia poškodenia drevín v Arboréte Mlyňany SAV v rokoch 1965 -2017	49
<i>K. Kobetičová, J. Krejsová</i>	Vykazujú rastliny v mikrokosmech vyššiu citlivosť vŕči polutantŕm než rastliny v jednodruhových testech ekotoxicity?	54
<i>K. Kosová, P. Vítámvás, J. Šantrŕček, R. Hynek, L. Štěrbová, J. Chrpová, I. T. Prášil</i>	Proteomická odezva ječmene setého (<i>Hordeum vulgare</i> L.) kultivarů Chevron a Pedant na infekci <i>Fusarium culmorum</i> a aplikaci mykotoxinu deoxynivalenolu	58
<i>M. Kovár, M. Brestič, K. Olšovská, M. Živčák, P. Kušniarová, O. Sytar</i>	Neinvázna analýza rastu rastlín počas sucha využitím automatickej fenotypovacej platformy	63
<i>M. Kuklová, J. Kukla, F. Hnilička, H. Hniličková, I. Pivková</i>	Obsah zinku v pôdach a v listoch druhu <i>Quercus cerris</i> L. zaťažených emisiami z rýchlostnej cesty	69
<i>A. Lešková, I. Fialová, M. Luxová</i>	Vplyv kyseliny salicylovej na toxicitu Sb(V) v kukurici siatej	74
<i>K. A. Mocová, P. Ježková, M. Kobera</i>	Studium fytotoxicity výluhů švestkového a březového dřeva	78
<i>M. Molnárová, J. Ružičková, B. Lehotská, A. Filová, A. Fargašová</i>	Ťažké kovy v rastlinách z lokalít zaťažených starou banskou činnosťou	82
<i>T. Salaj, T. Hazubská-Przybyl, K. Klubicová, J. Salaj</i>	Vegetative propagation of conifer tree species using <i>in vitro</i> techniques	86
<i>J. Tomaškin, J. Tomaškinová</i>	Vplyv vybraných abiotických environmentálnych stresorov na obsah a fluorescenciu chlorofylu krízenca <i>Miscanthus x giganteus</i>	90
<i>J. Tomaškinová, J. Tomaškin</i>	Účinky kyslých depozícií na pôdnu respiráciu	

	kríženca <i>Miscanthus X giganteus</i>	95
M. Živčák, K. Olšovská, L. Botyanszká, P. Kušniarová, M. Brestič	Fyziologické následky fotoinhibície fotosyntému I v listoch rastlín pšenice	98
M. Belušková, P. Mészáros	Štúdium vplyvu kadmia na aktivitu rôznych enzýmov sóje	104
L. Botyanszka, M. Živčák, M. Brestič, K. Olšovská, P. Hauptvogel	Vliv fenotypovanie fyziologických znakov odrôd pšenice využitím hyperspektrálnej analýzy	108
M. Drešlová	Vyluhovateľnosť prvků z různých druhů vermikompostů	112
J. Fazekaš, D. Fazekašová, P. Huličová, Z. Boguská, E. Michaeli	Funkčná diverzita alkalizovaných a metalicky kontaminovaných pôd	116
D. Fazekašová, Z. Boguská, P. Huličová, J. Fazekaš	Flóra a vegetácia na územiach starých environmentálnych záťažů	120
R. Fiala, V. Repka, J. Pavlovkin, M. Čiamporová	Cadmium-induced ROS production in four <i>Arabidopsis</i> species differing in heavy metal tolerance	124
A. Filová, M. Molnárová, L. Jurkovič, J. Ružičková, M. Peško, A. Fargašová	Akumulácia (polo)kovov prasličkou roľnou (<i>Equisetum arvense</i> L.) rastúcou v oblasti skončenej ťažobnej činnosti – v Dúbrave	129
L. Fischerová, Z. Gregorová, L. Gemperlová, J. Moravčíková, K. Raková, I. Matušiková	Beta-1,3-glukanázy a chitinázy v somatickej embryogenezi smrku ztepilého (<i>Picea abies</i>)	133
P. Huličová, D. Fazekašová, J. Fazekaš, Z. Boguská	Fytcenologický výskum vybraných lokalít v podmienkach nepravidelných záplav	136
J. Klimešová, L. Holková, T. Středa	Expresie genů pro dehydriny a intenzita transpirace kukuřice za stresu suchem	140
P. Kušniarová, M. Kovár, K. Olšovská, M. Brestič	Analýza obrazu ako nástroj fenotypovania koreňov sóje	144
J. Lang	Vliv ošetření osiva na klíčivost a vzházivost jestřabiny východní (<i>Galega orientalis</i> Lamb.)	148
J. Macků	Dopady scénáře klimatické změny na lesy ČR	152
M. Opálková, M. Navrátil, M. Burda, V. Špunda	Metodika kontroly kvality měřených hodnot dopadajícího slunečního záření	156
Š. Petrová, A. Solodovnikova, J. Rezek, P. Soudek, T. Vaněk	Vliv polyaromatických polutantů na růst energetických plodin	160
V. Potopová, L. Tůrkott	Extrémní a rizikové meteorologické jevy a jejich dopady na zemědělskou produkci v podmínkách klimatické změny	164
V. Potopová, V. Cazac, B. Boincean	Flood and drought risk management at the Catchment level: a case study in the Republic of Moldava	170
P. Procházková, A. Svejková, F. Chuchma	Vlhkostní poměry prostředí a jejich vliv na výnos pšenice ozimé	174
E. Pšidová, J. Kučerová, K. Slugeňová, M. Ježík, L. Ditmarová	Odozva vybraných populací jedle na aktuálně podmínky prostředí počas vegetačnej sezóny 2016	178
E. Stehnová, H. Středová, L. Hájková	Fenologické projevy pšenice ozimé v minulosti a současnosti	184
I. Tomášková, V. Pešková, T. Vlniešková	Fyziologické parametry smrku ztepilého napadeného kloubnatoú smrkovou (<i>Gemmamyces piceae</i>)	189

<i>L. Tůrkott, D. Hiřmanová, V. Potopová</i>	Teplota vzduchu jako limitující faktor při polním pěstování rajčete jedlého v podmínkách Středních Čech	192
<i>V. Vargová, L. Jančová</i>	Borievka obyčejná v agrolesnických systémech	196
<i>J. Viktorová, K. Řehořová, T. Macek</i>	Příprava v transgenních rostlin odolných vůči stresu	200
<i>V. Zemanová, M. Pavlík, D. Pavlíková</i>	Vliv arсенu na obsah volných aminokyselin v biomase <i>Pteris cretica</i>	204
<i>Š. Zezulka, M. Kummerová, M. Hájková</i>	Růstová odezva hrachu setého (<i>Pisum sativum</i> L.) na přítomnost diklofenaku v prostředí	208
<i>J. Žiarovská, V. Štefúnová, M. Kysel, M. Bežo</i>	Analýza odrůd pšenice letnej s různou odolností vůči suchu markérmí kódujícími oblastí	212
<i>P. Boleček, L. Lengyelová, L. Galuščáková, B. Piršelová</i>	Hodnotenie vplyvu arzenu na rast a obsah fotosyntetických pigmentov kukurice siatej (<i>Zea mays</i> cv. Chapalu)	217
<i>A. Diviaková, H. Ollerová, A. Zacharová, A. Kunca</i>	Zmeny v zdravotnom stave lesa vplyvom ťažby stavebného kameňa	221
<i>F. Hnilička, M. Kuklová, H. Hniličková, J. Kukla</i>	Vliv vodního stresu na vodní režim juvenilních rostlin čiroku a béru	225
<i>H. Ivanová</i>	Biotic stresses of trees – fungi <i>Sordaria macrospora</i> and <i>Sordaria fimicola</i> - morphological characteristics	229
	Nabídka firmy Ekotechnika	234

JMENNÝ REJSTŘÍK

	A			H	
Adamčíková	49	Hájková L.	3, 184
			Hájková M.	41, 208
	B		Hauptvogel	108
Belušková	104	Hazubská-	86
Bežo	212	Przybyl	
Boguská	116, 120, 136	Hірmanová	192
Boinčan	170	Hnilička	3, 69, 225
Boleček	217	Hniličková	69, 225
Bošiaková	19	Holková	140
Botyanszká	98, 108	Hořka	19
Brestič	63, 98, 108, 144	Huličová	116, 120, 136
Burda	156	Hynek	58
				CH	
	C		Chrpová	27, 58
Cazek	170	Chuchma	174
				I	
	Č		Ivanová	229
Čiamporová	124			
				J	
	D		Jančová	196
Ditmarová	45, 178	Ježík	45, 178
Diviaková	221	Ježková	78
Drešlová	112	Juhášová	49
			Jureková	11
	F		Jurkovič	129
Fargašová	82, 129			
Fazekaš	116, 120, 136		K	
Fazekašová	116, 120, 136	Klimešová	140
Ferus	19	Klubicová	86
Fiala	124	Kobera	78
Fialová	31, 74	Kobetičová	54
Filová	82, 129	Konôpková	19
Fischerová	133	Kormuťák	37
			Kosová	58
	G		Kovár	63, 144
Galgóci	37	Kožnarová	3
Galuščáková	217	Krejsová	54
Gemperlová	133	Kučerová	178
Gómóry	45	Kukla	69, 225
Gregorová	133	Kuklová	69, 225

Kummerová	41, 208			R	
Kunca	221				
Kušniarová	63, 98, 144		Raková	133
Kysel'	212		Repka	124
				Rezek	160
				Ružičková	82, 129
			L			
Lang	148				
Lehotská	82		Řehořová	200
Lengyelová	217				
Lešková	74				
Luxová	31, 74				
					S	
			M	Salaj J.	86
Macek	200		Salaj T.	86
Macků	152		Slugeňová	178
Matušíková	133		Solodovnikova	160
Mészáros	104		Soudek	160
Michaeli	116		Stehnová	184
Mocová	78		Středa	140
Molnárová	82, 129		Středová	184
Moravčíková	133		Svejkovská	174
				Sytar	63
			N	Šantrůček	58
Navrátil	156		Špunda	156
				Štefůnová	212
				Štěrbová	58
			O			
Ollerová	221				
Olšovská	63, 108, 144				
Ondrušková	49		Tomaškin	90, 95
Opálková	156		Tomaškinová	90, 95
				Tomášková	189
				Türkott	164, 192
			P			
Paganová	11				
Pavlík	204				
Pavlíková	204		Vaculík	31
Pavlovkin	124		Vaculíková	31
Peško	129		Vaněk	160
Pešková	189		Váňová	27
Petrová	160		Vargová	196
Piršelová	217		Veškrna	27
Pivková	69		Viktorová	200
Potopová	164, 170, 192		Vítámvás	58
Prášil	58		Vlniešková	189
Procházková	174				
Pšidová	178				

Z			Ž		
Zacharová	221	Žiarovská	212
Zemanová	204	Živčák	63, 98, 108
Zezulka	41, 208,			

ÚVODNÍ SLOVO

Opět uplynul rok, kdy jsme se naposledy sešli v rámci multidisciplinární mezinárodní konference o vlivu stresorů na rostliny. Minulý ročník se konal v malebném prostředí města Zvolena, které si právem zaslouží označení hlavní město Lesnictví na Slovensku. Letošní ročník se pro změnu koná v dalším hlavním městě, tentokrát v hlavním městě ČR Praze. Naším přáním je, aby i tento ročník, v pořadí již sedmnáctý, nebyl pro jednotlivé účastníky stresující, ale naopak podnětný.

Jsme rádi, že se našeho vzájemného setkání nezúčastňují pouze tradiční účastníci, ale také další účastníci, ať již z řad doktorandů, začínajících vědeckých pracovníků i těch zkušených. Tento zájem nás pochopitelně těší a jsme mu velmi rádi, neboť bez Vás by se tato konference nemohla konat.

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. V rámci letošního ročníku bude zaměřena také pozornost na ekologické aspekty stresorů a jejich ovlivnění ekosystémů, tím se opět rozšíří naše „portfolio“ vědních disciplín, včetně ekologické fyziologie a klasické ekologie. Velmi oceňujeme také prezentaci příspěvků, které zahrnují popis nových metodických postupů či jejich srovnání s již „klasickými“ metodami. Nezastupitelnou roli v rámci konference je sledování změn biodiverzity a studia vztahů přizpůsobivosti organismů ke změnám klimatu v rámci našeho zeměpisného umístění.

Díky tomuto 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 odrůdy, které se zde již v minulosti pěstovaly, ale byly postupně vytlačeny plodinami více výnosnými, jenž často hůře snášejí nepříznivé působení environmentálních faktorů.

Zároveň bychom chtěli poděkovat pracovníkům katedry botaniky a fyziologie rostlin FAPPZ, kteří pomohli s přípravou a dále i pracovníkům Ústavu ekologie lesa SAV ve Zvolenu za jejich pomoc. Naše poděkování si jistě zaslouží i paní Ing. Ivana Šafářová, která se nám obětavě již několik let stará o finance.

Organizační výbor konference

Vyzvané přednášky

VYHODNOCENÍ VYBRANÝCH AGROKLIMATICKÝCH CHARAKTERISTIK VE VEGETAČNÍM OBDOBÍ NA ÚZEMÍ ČR ZA OBDOBÍ 1961–2010

EVALUATION OF AGROCLIMATIC FEATURES IN VEGETATION PERIOD IN THE CZECH REPUBLIC DURING THE 1961–2010 PERIOD

Lenka Hájková¹, Věra Koznarová², František Hnilička³

¹ Český hydrometeorologický ústav, oddělení biometeorologických aplikací, Na Šabatce 17, 143 06 Praha 4 Komořany hajkova@chmi.cz

² Česká zemědělská univerzita v Praze, FAPPZ, katedra agroekologie a biometeorologie, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 – Suchdol, koznarova@af.czu.cz

³ Česká zemědělská univerzita v Praze, FAPPZ, katedra botaniky a fyziologie rostlin, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 – Suchdol, hnilicka@af.czu.cz

Summary

The temperature conditions of the growing season can be characterized by various criteria, e.g. accumulated temperature. Accumulated temperatures represent the sum of average daily air temperatures beyond a certain limit. The sums of effective temperatures $> 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ and the number of days with average daily temperature (t_d) $> 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ were evaluated based on CHMI meteorological stations measurements during the growing season in 1961–2010 period. Beginning and end of growing season was stated according to CHMI methodology. Data were processed using by Microsoft Excel and CLIDATA-GIS (there were used 274 meteorological stations at elevations from 150 to 1 490 m asl). The average sum of effective temperatures $> 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ during the growing season was 1743.0 $^{\circ}\text{C}$ (1961–1990), and 1816.0 $^{\circ}\text{C}$ (1981–2010). The number of days with average daily temperature (t_d) $> 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ during the growing season was 198 (1961–1990) and 203 (1981–2010).

Key words: growing season, effective temperature, accumulated temperatures, number of days with average daily temperature $> 5\text{ }^{\circ}\text{C}$

Souhrn

Život kulturních rostlin je možný pouze v určitém rozmezí teploty, jejíž tzv. kritické hodnoty jsou dány anatomickou stavbou rostlinného těla. Biologické minimum teploty (tzv. *biologická teplotní nula*, nebo *nula efektivní teploty*) je hodnota, při které rostlina začíná, nebo přestává růst, aktivuje, nebo omezuje metabolické procesy a transformaci energie. U většiny rostlin v pásmu mírného klimatu je to při hodnotě $5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Z měření teploty vzduchu na meteorologických stanicích ČHMÚ byla vypočtena suma efektivních teplot $> 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ a stanoven počet dnů s průměrnou denní teplotou vzduchu (t_d) $> 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ve vegetačním období v letech 1961–2010. V příspěvku bylo zpracováno celkem 274 stanic nacházejících se v rozmezí nadmořské výšky 150 až 1 490 m n. m. Začátek a konec vegetačního období byl stanoven podle metodiky ČHMÚ. Data byla vyhodnocena v prostředí Microsoft Excel a Clidata-GIS. Data byla porovnána dle metodiky WMO se standardním klimatologickým normálem (1961–1990) a nově doporučeným normálem pro operativní účely (1981–2010) a dále po jednotlivých desetiletích. Na základě provedené analýzy lze konstatovat, že průměrná suma efektivních teplot $> 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ve vegetačním období v intervalu standardního klimatologického normálu 1961–1990 je 1743,0 $^{\circ}\text{C}$ a v doporučeném normálu 1981–2010 1816,0 $^{\circ}\text{C}$. Diference mezi normály tak činí 73 $^{\circ}\text{C}$. U počtu dnů s $t_d > 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ byly zjištěny průměrné hodnoty 198 (1961–1990) a 203 (1981–2010); rozdíl je 5 dní. Nejvyšší hodnoty byly u obou charakteristik

zjištěny na stanici Praha-Klementinum (191 m n. m.) a nejnižší hodnoty na stanici Praděd (1490 m n. m.). Desetiletí 1971–1980 bylo nejchladnější; 2001–2010 bylo nejteplejší.

Klíčová slova: vegetační období, efektivní teplot, teplotní sumy, počet dnů s průměrnou denní teplotou vzduchu nad 5 °C

ÚVOD

Počasí je nejdynamičtější složkou přírodního prostředí, která působí nepřetržitě. Jeho dlouhodobý režim, tedy podnebí, je v daném místě limitujícím faktorem pro veškeré přírodní procesy. Je velmi důležitou složkou krajinných procesů, významně ovlivňuje přirozené a umělé ekosystémy, kde jsou v přímém vztahu všechny živé složky. Determinuje vývoj a růst rostlin, kde příznivější meteorologické podmínky urychlují nástup a zkracují jednotlivé fenologické fáze. Počasí tak přímý vliv i na výnosy pěstovaných plodin a tím i na produkci potravin.

Pro studium vývoje organismů v závislosti na teplotě vzduchu byly vytvořeny jednoduché teplotní modely. Mezi jedny z nejstarších patří tzv. suma efektivní teploty, charakterizovaná pomocí standardně měřených údajů, založených na jedné vypočtené hodnotě teploty vzduchu, tzv. průměrné denní teplotě. Efektivní teplota je pak průměrná denní teplota zmenšená o biologické minimum teploty, což je minimální hodnota, kterou je organismus schopen tolerovat. Při dosažení biologického minima teploty vzduchu, rostlina začíná, nebo přestává růst, reguluje metabolické procesy a transformaci energie. V geografických podmínkách ČR se zpravidla jedná o teplotu 5 °C. Podle mnohých klimatologů tato teplota charakterizuje nástup jara na vzestupné části křivky ročního chodu teploty vzduchu a naopak konec podzimu na sestupné části této křivky. Tím je vymezen nástup a konec vegetačního období /1/, ve kterém nastávají příznivé podmínky, které se projevují u rostlin ve změně výšky, velikosti listové plochy, hmotnosti, tvorbě a uspořádání nových struktur. Stanovení vegetačního období, resp. jeho nástupu, trvání a ukončení, definované pomocí dnů s teplotní hranicí, nebo sum teploty nad 5, 10 a 15 °C, tak patří mezi významné agroklimatologické charakteristiky. Dle Meteorologického slovníku /2/ se rozlišuje se tzv. velké vegetační období vymezené nástupem a ukončením průměrné denní teploty 5 °C a vyšší, hlavní (malé) vegetační období s průměrnou denní teplotou 10 °C a vyšší, a vegetační léto s průměrnou denní teplotou 15 °C a vyšší.

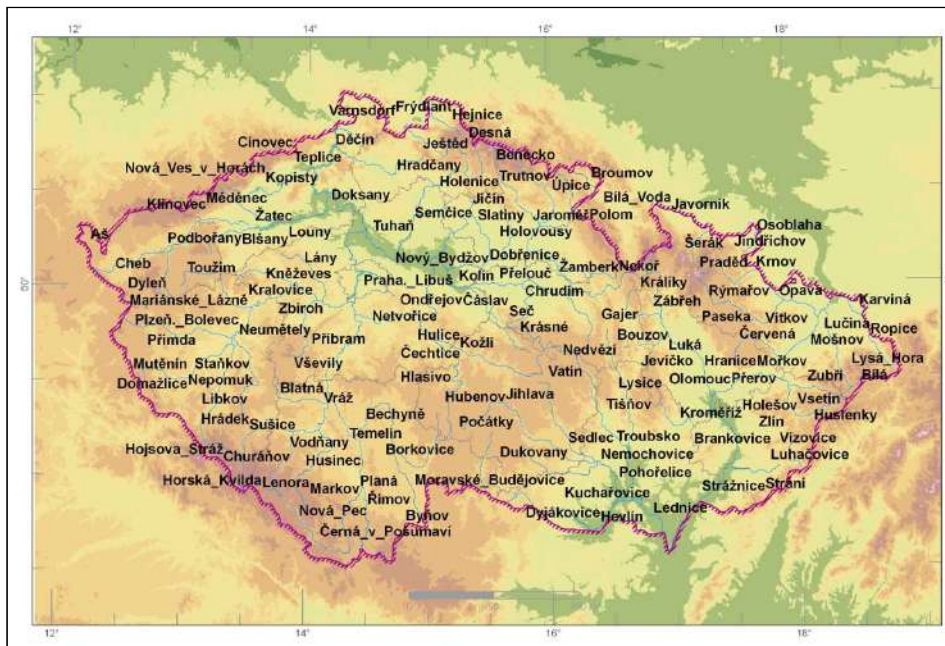
V rámci agroklimatické rajonizace /3/ byla pro území ČSR zpracována mapa teplotních sum nad 10 °C. Mapy průměrné doby trvání průměrné denní teploty nad 5, 10 a 15 °C jsou součástí Atlasů podnebí /4 a 5 /. V současné době jsou mnohé výzkumy zaměřeny na studie dopadů možné změny klimatu na zemědělství, tedy i na změnu trvání vegetačního období a souvisejících sum teplot, a proto jsme v předloženém příspěvku zaměřili na analýzu velkého vegetačního období a teplotních sum nad 5 °C na území ČR a jeho proměnlivost v období 1961 až 2010.

MATERIÁL A METODA

Ke zpracování byla použita data z meteorologických stanic z meteorologické sítě Českého hydrometeorologického ústavu. Celkem bylo zpracováno 274 meteorologických stanic, které jsou rovnoměrně rozmístěny na celém území České republiky (obr. 1) a nacházejí se v rozmezí nadmořské výšky od 150 m (Ústí nad Labem, Mánesovy sady) až 1 490 m n. m. (Praděd).

Data byla exportována z klimatologické databáze ČHMÚ CLIDATA a do výpočtů vstupovaly tzv. technické řady, tj. homogenizované časové řady. Technické datové řady vycházejí ze staničních dat ČHMÚ a jsou vypočteny s pomocí geostatistických metod

(regionální lineární regrese). Samotný výpočet technických řad vychází z metody IDW (metoda vážených inverzních vzdáleností), kdy použité údaje okolních stanic jsou nejprve standardizovány na nadmořskou výšku bodu, pro který je počítána nová řada /6/ a poté je váženým průměrem spočtena nová hodnota.



Obr. 1: Meteorologické stanice sítě Českého hydrometeorologického ústavu

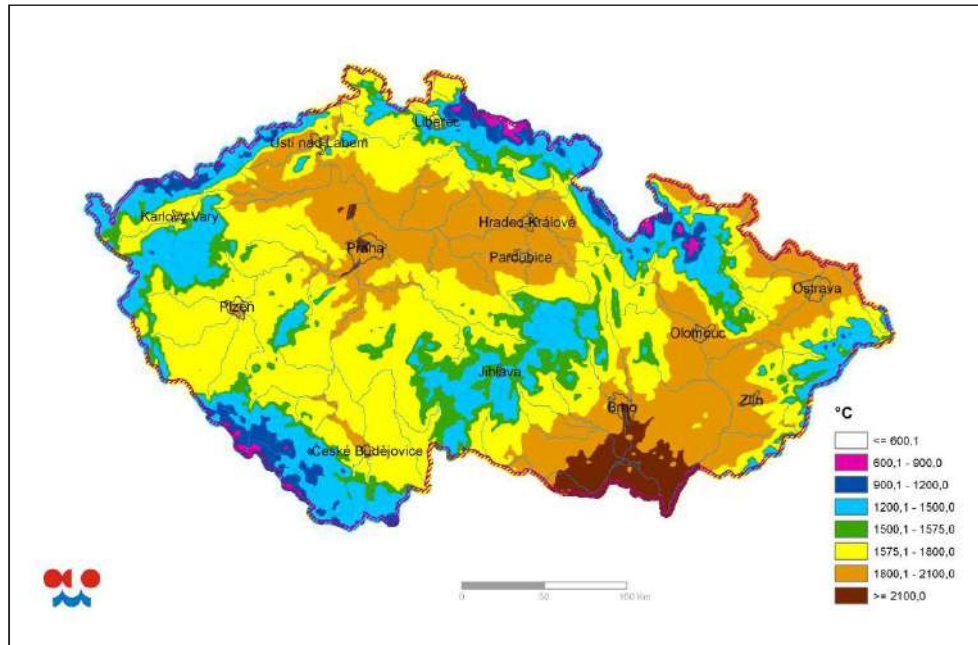
Na základě výsledků měření teploty vzduchu na meteorologických stanicích ČHMÚ byly vypočteny sumy efektivních teplot s $t_d > 5\text{ }^\circ\text{C}$ a počet dnů s $t_d > 5\text{ }^\circ\text{C}$ ve vegetačním období v letech 1961–2010. Začátek a konec vegetačního období byl stanoven podle metodiky používané v ČHMÚ. Počátek trvalého nástupu charakteristických teplot musí spadat do prvního, a jeho konec do druhého pololetí roku. Trvalý výskyt teploty vyšších, nebo rovných $5\text{ }^\circ\text{C}$ začíná prvním dnem období s průměrnou denní teplotou minimálně $5\text{ }^\circ\text{C}$, které trvalo alespoň 6 dnů, a končí dnem, kdy průměrná denní teplota klesla pod $5\text{ }^\circ\text{C}$ na minimálně šest dní. Výpočet efektivní teploty vycházel z průměrné denní teploty vzduchu (t_d), která byla stanovena na základě vztahu $t_d = (t_{7h} + t_{14h} + 2t_{21h})/4$, kde t_{7h} , t_{14h} a t_{21h} jsou termínová měření teploty vzduchu v 7, 14 a 21 h středního místního slunečního času. Pro vyjádření efektivní teploty byla průměrná denní teplota vzduchu (t_d) zmenšena o hodnotu biologického minima ($5\text{ }^\circ\text{C}$). Sumy efektivní teploty ve vymezeném vegetačním období pak byly vyjádřeny v tzv. denostupních. Dále byly stanoveny počty dnů s $t_d > 5\text{ }^\circ\text{C}$.

Data byla statisticky vyhodnocena v prostředí Microsoft Excel. Všechny výpočty byly provedeny ve vegetačním období v letech 1961–2010, dále ve standardním klimatologickém normálu 1961–1990, v nově doporučeném normálu pro operativní účely 1981–2010 na základě Rezoluce Světové meteorologické organizace - WMO, Resolution 4.1 /7/ a po dekádách (1961–1970, 1971–1980, 1981–1990, 1991–2000 a 2001–2010). V jednotlivých obdobích byly vyhodnoceny i regresní rovnice pro zjištění změny ve zpracovávaných agroklimatických charakteristikách.

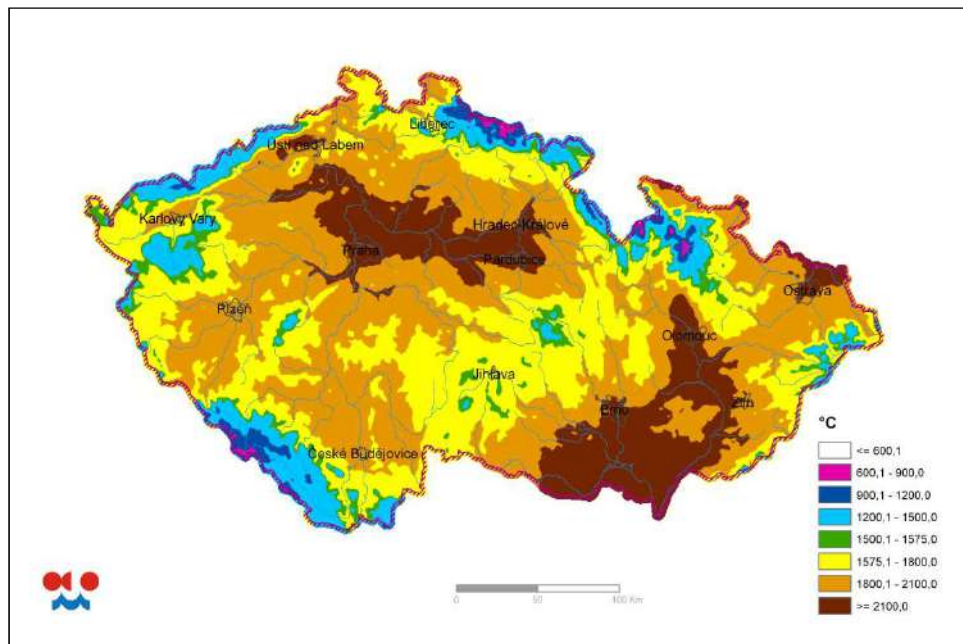
K plošnému vyjádření vypočtených agroklimatických charakteristik bylo využito prostředí Clidata-GIS (ArcGIS 10) a metoda ClidataDEM (za využití lokální lineární regrese) se závislostí na nadmořské výšce.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Pro celé území ČR byly vytvořeny mapy, které vyjadřují prostorové rozložení analyzovaných agroklimatických charakteristik. Na mapě teplotních sum s_{t_d} nad $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ve vegetačním období let 1961–1990 (obr. 2) je patrné, že nejvyšší hodnoty byly dosaženy na území jižní Moravy (např. Mikulovsko, Břeclavsko, Valticko, okolí Brna), v okolí Prahy a ve středních Čechách (Mělnicko), kde sumy přesahují hodnotu $2\ 100\text{ }^{\circ}\text{C}$.



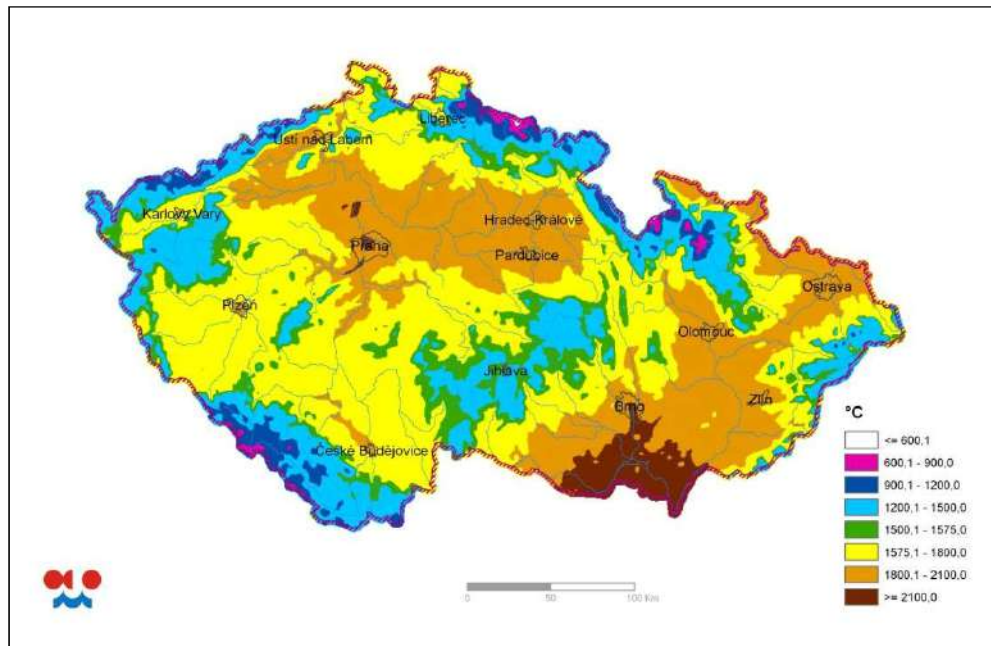
Obr. 2: Rozložení teplotních sum $s_{t_d} > 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ve vegetačním období (standardní klimatologický normál 1961–1990)



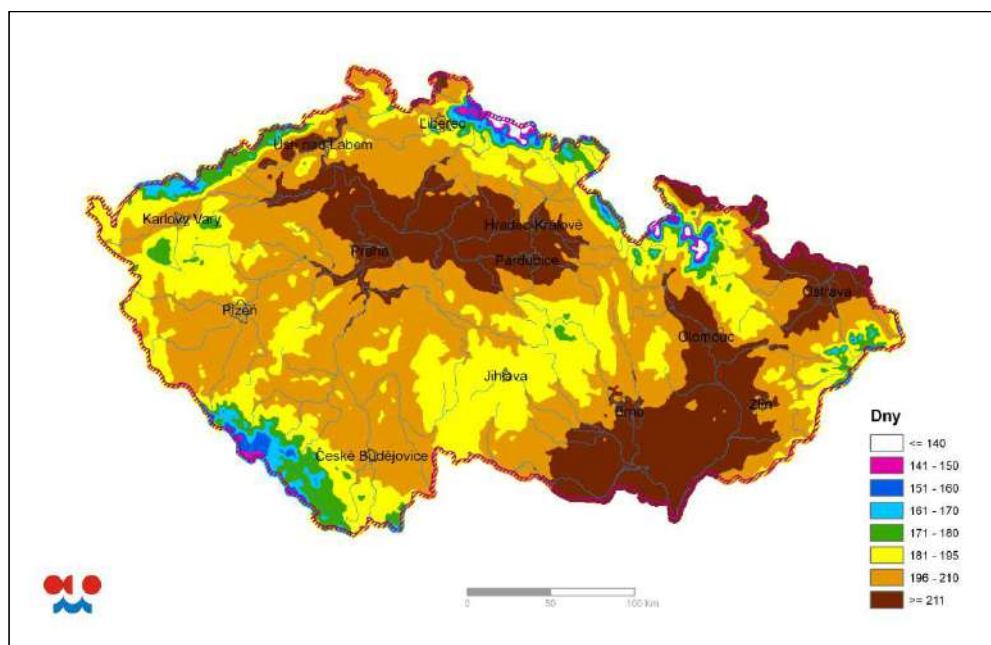
Obr. 3: Rozložení teplotních sum $s_{t_d} > 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ve vegetačním období (normál pro operativní účely 1981–2010)

V období 1981–2010 došlo k výraznému rozšíření oblastí, ve kterých teplotní sumy přesahují hodnotu 2 100 °C (obr. 3). Oblasti se rozšířily již do severních Čech (Ústecko), do Polabí a části východních Čech (Hradecko a Pardubicko), rozšířila se i oblast jižní Moravy (okolí Olomouce a Zlína) a částečně zasahuje i na severní Moravu (Ostravsko). Průměrný nárůst v teplotních sumách mezi obdobími 1961–1990 a 1981–2010 činí 151,3 °C.

Mapa vyjadřující průměrné sumy efektivní teploty vzduchu za období 1961–2010 je uvedena na obr. 4.



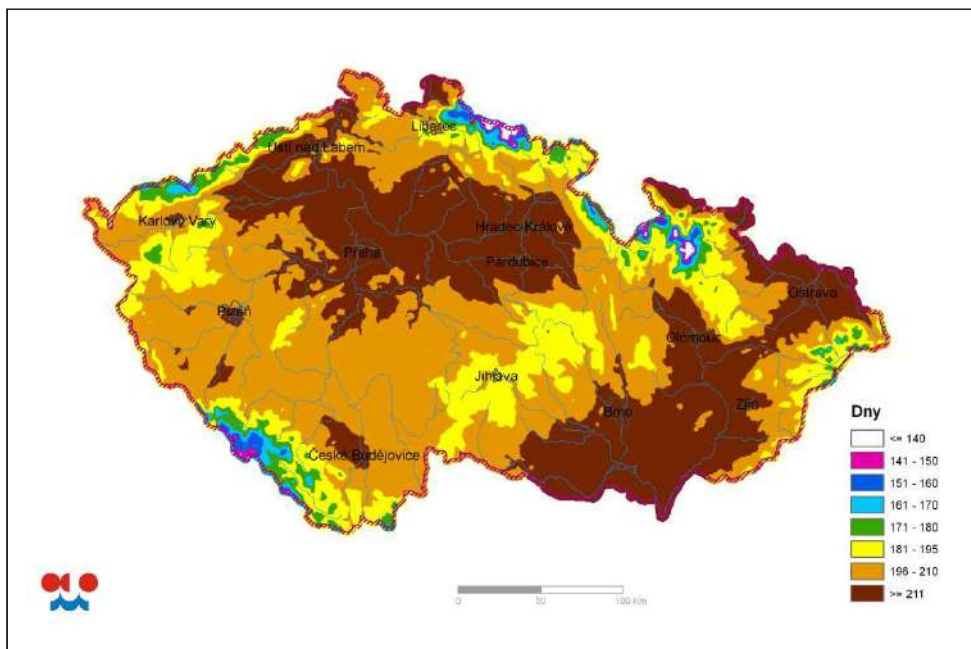
Obr. 4: Rozložení teplotních sum s $t_a > 5$ °C ve vegetačním období v letech 1961–2010



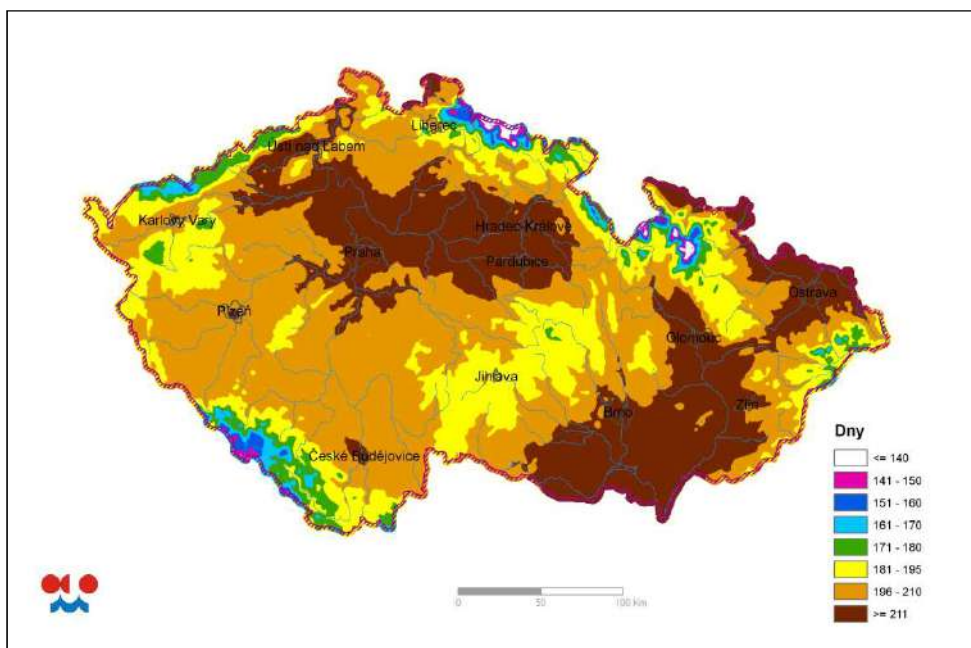
Obr. 5: Počet dní s $t_a > 5$ °C ve vegetačním období (standardní klimatologický normál 1961–1990)

Průměrný počet dní nad 5 °C ve vegetačním období vyjadřuje obr. 5, 6 a 7. I tyto mapy vykazují výraznou změnu v dané agroklimatické charakteristice mezi normálem 1961–1990 a 1981–2010, průměrný nárůst činí 6 dní.

Základní statistické charakteristiky sumy efektivní teploty a počtu dnů s $t_d > 5\text{ °C}$ v různých obdobích jsou uvedeny v tabulce 1 až 4. Třicetiletý průměr sumy efektivní teploty byl v období standardního klimatologického normálu (1961–1990) určen jako 1743,0 °C. V období 1981–2010 došlo ke zvýšení hodnoty na 1816 °C, tj. difference 73,0 °C. Třicetiletý průměr počtu dní s $t_d > 5\text{ °C}$ byl v období 1961–1990 určen jako 198 dní. V intervalu 1981–2010 došlo ke zvýšení hodnoty na 203 dní, tj. difference 5 dní. Při vyhodnocení jednotlivých desetiletí bylo zjištěno, že nejchladnější desetiletí z hlediska výše uvedených agroklimatických charakteristik bylo období 1971–1980, nejteplejší 2001–2010 (obr. 8 a 9).



Obr. 6: Počet dní s $t_d > 5\text{ °C}$ ve vegetačním období (normál pro operativní účely 1981–2010)



Obr. 7: Počet dní s $t_d > 5\text{ °C}$ ve vegetačním období (období 1961–2010)

Regresní rovnice jsou uvedeny v tabulce 5 a 6. Ve všech období je koeficient spolehlivosti (R^2) velmi vysoký, u sumy efektivních teplot je ve všech případech vyšší než 0,7; u počtu dní je ve všech případech vyšší než 0,6.

Průměrné datum začátku velkého vegetačního období za období 1961–2010 vychází na 26. března, za období 1961–1990 na 30. března a za období 1981–2010 na 23. března. Průměrné datum konce vegetačního období vychází následovně: 3. listopadu (1961–2010), 3. listopadu (1961–1990) a 2. listopadu (1981–2010). U začátku vegetačního období dochází k výraznějšímu posunu než u konce vegetačního období.

Tab. 1: Statistické výsledky sumy efektivních teplot (denostupně)

Statistická charakteristika	1961–1990	1981–2010	1961–2010
Průměr	1743	1816	1665
Dolní kvartil	1616	1677	1530
Minimum (Praděd)	519	545	484
Medián	1795	1863	1719
Maximum (Praha, Klementinum)	2394	2499	2284
Horní kvartil	1962	2045	1887
Směrodatná odchylka	324	334	315
Variační rozpětí	777	822	754

Tab. 2: Statistické výsledky počtu dnů s $t_d > 5\text{ }^\circ\text{C}$

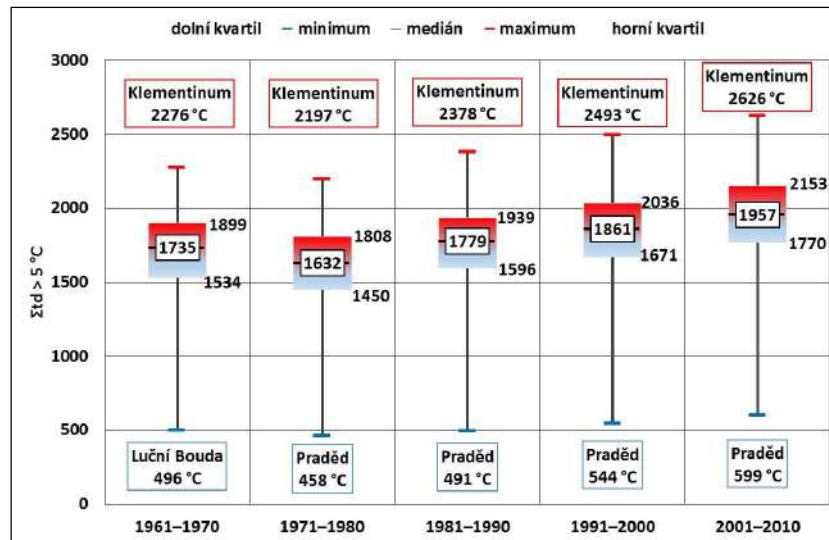
Statistická charakteristika	1961–1990	1981–2010	1961–2010
Průměr	198	203	201
Dolní kvartil	193	197	195
Minimum (Praděd)	104	107	105
Medián	202	207	204
Maximum (Praha, Klementinum)	232	246	239
Horní kvartil	212	217	214
Směrodatná odchylka	20	21	20
Variační rozpětí	39	50	44

Tab. 3: Statistické výsledky sum efektivní teploty (denostupně)

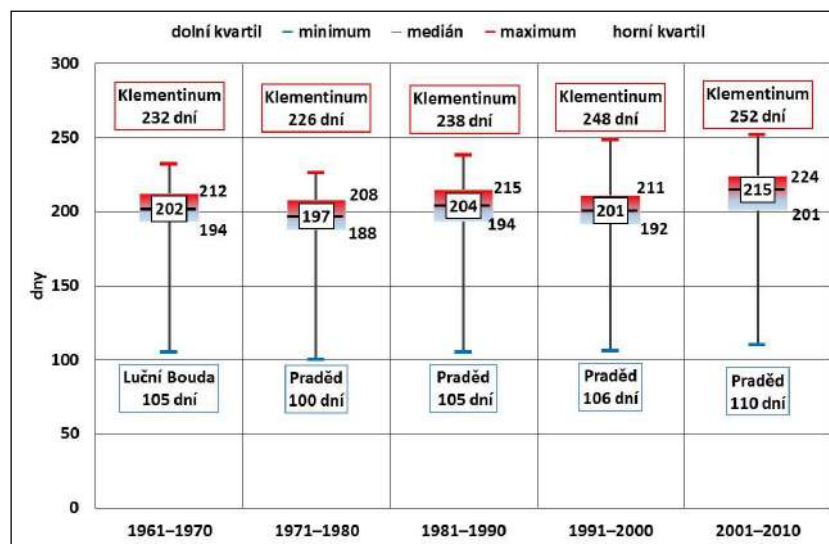
Statistická charakteristika	1961–70	1971–80	1981–90	1991–00	2001–10
Průměr	1679	1589	1726	1814	1908
Medián	1735	1632	1779	1861	1957
Směrodatná odchylka	314	309	323	335	345
Variační rozpětí	742	747	782	821	856

Tab. 4: Statistické výsledky počtu dnů s $t_d > 5\text{ }^\circ\text{C}$

Statistická charakteristika	1961–70	1971–80	1981–90	1991–00	2001–10
Průměr	199	193	201	199	210
Medián	202	197	204	201	215
Směrodatná odchylka	19	21	20	20	22
Variační rozpětí	38	38	44	57	51



Obr. 8: Základní statistické veličiny sum efektivní teploty v jednotlivých desetiletích



Obr. 9: Základní statistické veličiny počtu dnů s $t_a > 5 \text{ °C}$ v jednotlivých desetiletích

Tab. 5 Regresní rovnice sum efektivní teploty (denostupně)

Období	Regresní rovnice	R ²
1961-1990	$y = -3,5093x + 2147,3$	0,7780
1981-2010	$y = -3,7228x + 2328,0$	0,7791
1961-2010	$y = -3,6182x + 2240,8$	0,7802
1961-1970	$y = -3,4690x + 2156,5$	0,7612
1971-1980	$y = -3,4535x + 2063,6$	0,7836
1981-1990	$y = -3,6053x + 2221,9$	0,7772
1991-2000	$y = -3,7191x + 2325,7$	0,7705
2001-2010	$y = -3,8441x + 2436,6$	0,7778

Tab. 6 Regresní rovnice počtu dnů s $t_d > 5 \text{ }^\circ\text{C}$

Období	Regresní rovnice	R ²
1961–1990	$y = -0,2118x + 226,98$	0,7002
1981–2010	$y = -0,2210x + 233,80$	0,7144
1961–2010	$y = -0,2118x + 226,98$	0,7002
1961–1970	$y = -0,1943x + 226,04$	0,6611
1971–1980	$y = -0,2271x + 224,55$	0,7005
1981–1990	$y = -0,2139x + 230,36$	0,7096
1991–2000	$y = -0,2153x + 229,03$	0,6973
2001–2010	$y = -0,2337x + 242,03$	0,7006

ZÁVĚR

V příspěvku byly časově a plošně vyhodnoceny sumy efektivní teploty s průměrnou denní teplotou (t_d) $> 5 \text{ }^\circ\text{C}$ a počty dní s $t_d > 5 \text{ }^\circ\text{C}$ z 274 meteorologických stanic ve správě ČHMÚ v období 1961 až 2010. Z map i tabulek je patrný nárůst sumy efektivní teploty i počtu dnů s teplotou překračující hranici $5 \text{ }^\circ\text{C}$, zejména při porovnání dosud platného standardního klimatologického normálu určeného z období 1961–1990 a nově doporučeného třicetiletého průměru 1981–2010 pro operativní účely. Nechladnějším desetiletím bylo období 1971–1980, nejteplejší byla dekáda 2001–2010. Nejvyšší hodnoty vybraných agroklimatických charakteristik byly zjištěny na stanici Praha, Klementinum (191 m n. m.), kde se projevuje i efekt tepelného ostrova města, nejnižší hodnoty na vysokohorské stanici Praděd (1490 m n. m.).

LITERATURA

- /1/ Anon. Podnebí ČSR – Tabulky. HMÚ, Praha, 1961: 379 s.
 /2/ Sobišek, B., et al. Meteorologický slovník. Academia, Praha, 1993: 594 s., upravená verze <http://slovník.cmes.cz/>
 /3/ Kurpel'ová, M., Coufal, L., Čulík, J. Agroklimatické podmienky ČSSR. HMÚ, Bratislava, 1975: 270 s.
 /4/ Anon. Atlas podnebí ČSR. ČAV, Praha, 1966: 58 mp.
 /5/ Tolasz, R. et al. Atlas podnebí Česka. ČHMÚ, Praha, 2007: 255 s.
 /6/ Štěpánek, P. et al. Interpolation techniques used for data quality control and calculation of technical series: an example of Central European daily time series. *Időjárás*, 2011: 115, 1–2, s. 87–98.
 /7/ www.infomet.cz

Poděkování

Příspěvek vznikl s institucionální podporou Českého hydrometeorologického ústavu a Programu pro dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné instituce poskytované Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

PLASTICITA KOREŇOV JUVENILNÝCH DREVÍN V PODMIENKACH SUCHA

PLASTICITY OF ROOT SYSTEM OF THE JUVENILE WOODY PLANTS UNDER CONDITIONS OF DROUGHT

Viera Paganová¹, Zuzana Jureková²

¹ Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FZKI, Katedra biotechniky zelene, Trieda A. Hlinku 2, 949 76, viera.paganova@uniag.sk

² Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FEŠRR, Katedra regionálnej bioenergetiky, Trieda A. Hlinku 2, 949 76, zuzana.jurekova@uniag.sk

Summary

The results of five-year study of the root system of *Pyrus pyraister* and *Sorbus domestica* using the analytical software WinRhizo are presented. There are documented the interspecific differences in the root architecture (including morphology and topology) of *Sorbus* and *Pyrus* juvenile plants grown under conditions of drought. In the juvenile stage of growth, *Sorbus domestica* has larger root system compared to *Pyrus pyraister*. However, the water scarcity has significantly negative impact on this specimen, demonstrated by dramatic reduction of dry mass accumulation in underground organs and significant reduction in length, volume and surface of the root system. *Pyrus pyraister* maintains balanced values of the length and surface of the root system even under conditions of water deficit. Under the influence of water scarcity, *Pyrus pyraister* has increased the values of root diameter, probably a result of thickening of the epidermis. In drought both woody plants increased investment to the elongation growth of root system, It is documented by increase of the average values of specific root length (SRL) parameter.

Key words: drought, growt, roots, root architecture, woody plants

Súhrn

Prezentujú sa výsledky viacročného štúdia vlastností koreňového systému drevín *Pyrus pyraister* a *Sorbus domestica* s využitím analytického softvéru WinRhizo. Zdokumentovali sa medzidruhové rozdiely v architektúre koreňa juvenilných rastlín *Sorbus* a *Pyrus* pestovaných v podmienkach sucha. *Sorbus domestica* má v juvenilnej fáze rastu v porovnaní s *Pyrus pyraister* väčší koreňový systém. Nedostatok vody má na tento druh preukazne negatívny dopad v podobe dramatického zníženia kumulácie hmoty v podzemných orgánoch a výraznej redukcii jeho dĺžky, objemu a povrchu. Naproti tomu *Pyrus pyraister* aj pri nedostatku vody udrží vyrovnané hodnoty dĺžky a povrchu koreňového systému. Pod vplyvom nedostatku vody sa pri *Pyrus pyraister* preukazne zvýšil parameter priemerná hrúbka koreňa, pravdepodobne ako dôsledok hrubnutia pokožkových pletív. Pri nedostatku vody obe dreviny investovali do predlžovacieho rastu koreňového systému, čo dokumentuje preukazný vzostup priemerných hodnôt parametra špecifická dĺžka koreňa (SRL).

Kľúčové slová: sucho, rast, koreňový systém, architektúra koreňa, dreviny

ÚVOD

V posledných rokoch sa aj v regiónoch strednej Európy objavujú dlhšie obdobia sucha a to už na jar, často aj v jeseni. Typické sú nerovnomerné zrážky a prívalové dažde, vystriedané dlhým obdobím sucha. Sucho poškodzuje vegetáciu vrátane stromov a mení ráz krajiny.

Jedným z prostriedkov na ochranu proti suchu je selekcia a pestovanie suchoodolných druhov. Suchoodolné dreviny majú podzemné orgány organizované v systéme, ktorý je schopný vodu prijímať a aktívne transportovať aj pri jej nízkom obsahu v pôde, nadzemné orgány ju musia efektívne využívať na reakcie fotosyntézy, dýchania a transpirácie. Takýmito vlastnosťami disponujú pôvodné (neintrodukované) druhy drevín, ktoré sú v porovnaní s nepôvodnými prispôsobené lokálnym podmienkam (pôda, vlhkosť, klíma).

Ktoré znaky môžeme považovať za funkčné, indikujúce reakcie orgánov, resp. ich štruktúr na faktor sucha môžeme nájsť v niekoľkých prácach. Funkčné znaky koreňa, akými sú špecifická dĺžka koreňa a hustota koreňových pletív ovplyvňujú schopnosť rastliny dosiahnuť časti pôdy bohaté na živiny a vodu /12/. Špecifická dĺžka koreňa (SRL) sa považuje za dobrý ukazovateľ absorpčnej plochy vytvorenej k určitému objemu koreňa /14/.

Podľa prác /4 a 9/ analýza architektúry koreňa a kvantifikácia jeho štruktúr môže byť využitá pre interakciu plasticity k rôznorodým podmienkam prostredia. Fenotypová plasticita sa vyvíja počas ontogenézy rastliny ako dôsledok prebiehajúcich fyziologických procesov a v rastlinnej ríši je výraznejšia u dlhovekých organizmov, akými sú stromy /2/.

Štúdium koreňa, drevín, je metodicky mimoriadne náročné, čo je určujúce aj pre rozsah dostupných poznatkov, v porovnaní s nadzemnými orgánmi. Autori /19/ sledovali koreňový systém genotypov broskyne (*Prunus persica*), najmä ich morfológiu a architektúru. Uvádzajú, že tieto vlastnosti podstatne ovplyvňujú príjem živín a hospodárenie s vodou. Autori tiež potvrdili, že alokácia suchej hmoty koreľuje s morfológiou koreňa. Korelačné koeficienty hmotnosti koreňa s jeho dĺžkou a špecifickou dĺžkou koreňa (specific root length SRL) boli 0,93 ($P < 0,01$) a -0,44 ($P < 0,01$). Najvyššiu hmotnosť mali korene lokalizované 100 mm pod koreňovým krčkom, tieto boli najdlhšie a mali najnižšiu hodnotu SRL.

Hodnotila sa distribúcia suchej hmoty do nadzemných a podzemných orgánov *Pyrus py-raster* a *Sorbus domestica* v podmienkach diferencovaného vodného režimu /15/. Potvrdili, že jarabina oskorušová (*Sorbus domestica*) v juvenilnej fáze rastu prednostne kumuluje suchú hmotu v koreňovom systéme, zatiaľ čo hruška planá (*Pyrus pyrastrer*) ju distribuuje rovnomerne do nadzemných aj podzemných orgánov. Následne, v detailnejšej analýze /17/ sa identifikovali rozdiely v dĺžke, hrúbke, veľkosti povrchu a objemu koreňa. (Obr. 1 a 2).

V našom príspevku sme zhromaždili výsledky viacročného štúdia, počas ktorého sme sledovali a hodnotili vlastnosti koreňového systému drevín *Pyrus pyrastrer* a *Sorbus domestica*. Prezентujeme aj výsledky, ktoré sme získali v rámci štúdia medzidruhových rozdielov v architektúre koreňa (vrátane morfológie a topológie) juvenilných rastlín *Sorbus* a *Pyrus* pestovaných v podmienkach sucha (sucho versus dobre zavlažované rastliny).

MATERIÁL A METODIKA

V Jarabina oskorušová (*Sorbus domestica*) a hruška planá (*Pyrus pyrastrer*) sú svetlomilné dreviny, ktoré dorastajú do výšky 15-20 m. V zápoji lesných porastov môžu dosiahnuť výšku až 30 m. Častejšie sa vyskytujú ako solitéry v otvorenej krajine.

Oskoruša preferuje teplé a mierne podnebie. Toleruje nižší obsah vody v substráte ale dôležitým faktorom jej úspešného rastu je stály prísun vody /10/. Vodu prijíma koreňovým systémom z hĺbky niekoľkých metrov /8/. Nevyhovujú jej inverzné vlhké lokality v údoliach vodných tokov a plochy zamokrené vysokou hladinou podzemnej vody /7/.

Hruška planá má v porovnaní s oskorušou širšiu ekologickú amplitúdu. Rastie aj na lokalitách s chladnou klímou, v horských oblastiach v nadmorských výškach do 1400 m /13/. Môže rásť takmer na všetkých typoch pôd s výnimkou extrémne kyslých. Kolový koreňový systém umožňuje tejto drevine rásť na veľmi suchých pôdach. Kvôli vysokým nárokom na svetlo sa uplatňuje skôr na extrémnych a okrajových typoch stanovišť, kde je oslabená konkurenčná schopnosť iných druhov drevín /13/.

Rastlinný materiál pre experimenty pochádza z pôvodných lokalít (Tab.1) záujmových drevín na Slovensku. Tieto lokality podmienkami prostredia reprezentujú obvyklé stanovištia hodnotených taxónov (*Pyrus pyraeaster* a *Sorbus domestica*).

Semená sa z plodov extrahovali hneď po zbere. Po vyčistení sa krátko skladovali a upravili v rámci predsejbovej prípravy studenou stratifikáciou pri teplotách -5°C až $+5^{\circ}\text{C}$. Klíčili v nádobách s výsevým substrátom na báze rašeliny. Vo fenologickej rastovej fáze rozvinuté klíčne listy sa semenáčky umiestnili do koreňových boxov so substrátom na báze viac rozloženého rašelinníka (20% tmavej rašeliny a 80% svetlej rašeliny, frakcia 0 – 5 mm pH – 5,5 -6,5 obohateným o živiny 1,0 kg/m³ NPK v pomere 14:16:18).



Obr. 1: Architektúra koreňa a nadzemné orgány *Pyrus pyraeaster*



Obr.2: Architektúra koreňa a nadzemné orgány *Sorbus domestica*

Rastliny boli umiestnené do kovových koreňových boxov zhotovených pre analýzu koreňa juvenilných rastlín /16/. Udržovali v diferencovanom vodnom režime /15, 16/ po dobu 175 dní v mesiacoch apríl – september 2015. Po ukončení doby expozície sa zo substrátu manuálne extrahoval koreňový systém semenáčikov, prepieraním vo vodnom kúpeli, pričom sme dbali na zachovanie celistvej štruktúry koreňa. V oboch variantoch s rôznou úrovňou nasýtenia substrátu sa pri každom druhu analyzovalo po 10 rastlín.

Pri analytickom spracovaní rastlinného materiálu sa využíval systém WinRhizo REG 2009 (Regent Instruments, Kanada, SK0410192). Analýza obrazu koreňového systému umožňuje hodnotenie jeho morfológie, topológie a architektúry. Analyzujú sa umyté korene zbavené substrátu. Údaje z hodnotenia príslušnej vzorky sú zobrazené graficky a pre ďalšie spracovanie aj v dátových súboroch.

Matematicko-štatistická analýza dát bola vykonaná Softvérom Statgraphics Centurion XVII (StatPoint Technologies, USA, XVII (licenčné číslo:S7B0-D10A-57C0-P00S-20P1). Viacfaktorovou analýzou rozptylu sa vyhodnotila preukaznosť rozdielov v parametroch koreňa pri *Pyrus pyraeaster* a *Sorbus domestica*, ako aj vo variantoch s odlišnou úrovňou nasýtenia substrátu (stres a kontrola) s cieľom identifikovať medzidruhové rozdiely v raste koreňov a získať informácie o vplyve sucha na podzemné orgány záujmových drevín. Kvôli

detailnejšej analýze vplyvu diferencovaného vodného režimu na rast koreňovej sústavy oboch záujmových druhov sa získané údaje vyhodnotili aj jednofaktorovou analýzou rozptylu.

Tab. 1: Klimageografická charakteristika lokalít záujmových druhov (Lapin et al. 2002) TI. – priemerná teploty v januári, TVII. – priemerná teplota v júli, T – teplá oblasť, T4 teplý, mierne suchý s miernou zimou, MT – mierne teplá oblasť M6- mierne teplý, vlhký, vrchovinový

Druh	Lokalita	Nadmorská výška m	Expozícia	TI. °C	TVII. °C	Úhrn zrážok mm	Typ	Subtyp
<i>Pyrus pyraeaster</i>	Tŕnie	540	J	-3	18	750	M	M6
<i>Sorbus domestica</i>	Kosihovce	250	J-JV	-2	19	600	T	T4

Hodnotili sa medzidruhové rozdiely aj vplyv odlišnej úrovne nasýtenia substrátu na vybrané parametre koreňa - dĺžku, povrch, objem, hrúbku a suchú hmotnosť. Zo získaných údajov sme vypočítali špecifickú dĺžku koreňa (SRL), ktorá reprezentuje pomer medzi dĺžkou a hmotnosťou koreňa. Tento parameter je považovaný za vysoko plastický a citlivý ukazovateľ, ktorý má aj ekonomický rozmer. Hodnotí "náklady" (investovaná hmotnosť) a ich potenciálnu návratnosť (dĺžka).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pyrus pyraeaster a *Sorbus domestica* sú dreviny s podobnými ekologickými nárokmi na podmienky prostredia. Sú to svetlomilné druhy drevín, ktoré sú považované za tolerantné voči nedostatku vody. Získané dáta dokumentujú preukazné medzidruhové rozdiely na úrovni ich podzemných orgánov, ako aj vplyv nedostatku vody na parametre koreňa.

Parametre zisťované priamym meraním (dĺžka, povrch, hrúbka koreňa) boli podrobené testu normality (Shapiro-Wilkov test na hladine významnosti $\alpha = 0,001$) a testu homogenity odchylok (Levenov test na hladine významnosti $\alpha = 0,05$). Všetky hodnotené parametre majú normálne rozdelenie dát a spĺňajú predpoklad homogenity.

Výsledky analýzy rozptylu pre väčšinu snímaných parametrov koreňa umožnili zamietnuť hypotézu rovnosti priemerných hodnôt. Preukazné rozdiely medzi hruškou planou (*Pyrus pyraeaster*) a jarabinou oskorušovou (*Sorbus domestica*) sa identifikovali v dĺžke koreňa ANOVA($F(1,37)=18,66$, $p=0,0001$), vo veľkosti povrchu koreňa ANOVA ($F(1,37) = 27,38$, $p=0,0000$), v objeme koreňového systému ANOVA ($F(1,37) = 24,90$, $p=0,000$) a v špecifickej dĺžke koreňa ANOVA($F(1,37)=10,35$, $p=0,0027$). Nulová hypotéza bola prijatá len pre parameter priemerná hrúbka koreňa.

Tab.2: Priemerné hodnoty parametrov koreňa a 95% Tukey test pre analyzované druhy (*Pyrus pyraeaster*/*Sorbus domestica*) podľa úrovne nasýtenia substrátu (Kontrola/Stres). Odlíšné písmená indikujú štatisticky preukazný rozdiel priemerných hodnôt

Druh	N	Dĺžka koreňa (mm)	Špecifická dĺžka koreňa (mm.mg ⁻¹)	Povrch koreňa (mm ²)	Objem koreňa (mm ³)	Priemerná hrúbka koreňa (mm)
<i>Pyrus pyraeaster</i>	20	5673,68 A	6,925 B	9244,13 A	3609,18 A	0,819 A
<i>Sorbus domestica</i>	20	9893,31 B	5,093 A	19133,10 B	7414,33 B	0,804 A

Detailnejšie výsledky kvantitatívnej analýzy dát dokumentuje viacnásobné porovnanie priemerov, pri ktorom sa použil Tukey test (Tab. 2). *Sorbus domestica* má v porovnaní s *Pyrus pyraeaster* preukazne dlhšie korene (9893,31 mm), väčší povrch koreňového systému (19133,10 mm²), väčší objem koreňového systému (7414,33 mm³). Rozdiely v hodnotách skúmaných parametrov sú takmer dvojnásobné. *Sorbus domestica* sformovala v porovnaní s *Pyrus pyraeaster* dlhší a objemnejší koreňový aparát s viac ako dvojnásobne väčším povrchom. Získané údaje dokumentujú intenzívny rast podzemných orgánov *Sorbus domestica* do dĺžky, povrchu a objemu. Preukazné rozdiely medzi hodnotenými druhmi sú aj pri parametri špecifická dĺžka koreňa. Priemerná hodnota tohto parametra je však vyššia pri *Pyrus pyraeaster* (6,925 mm.mg⁻¹) a keďže vyjadruje pomer medzi dĺžkou a hmotnosťou koreňa, je zrejme, že *Pyrus pyraeaster* investuje viac do rastu koreňa ako *Sorbus domestica*.

Medzidruhové rozdiely v uvedených ukazovateľoch nemusia však byť pravidlom.

Podľa práce /1/ ekologicky kontrastné druhy môžu mať podobné hodnoty SRL, (napriek rozdielnej architektúre) v prípade, ak druh s tenšími koreňmi má vyššiu hustotu koreňového pletiva (tissue mass density). Vysoká hustota koreňového pletiva je často korelovaná s charakteristikami druhov zo stresových podmienok. Práve tieto znaky zodpovedajú za využitie zdrojov aj reakcie na environmentálne faktory /18/. Korene týchto druhov sú typické tým, že majú zhrubnuté bunkové steny a zmenené proporcie buniek stredného valca a sklerenchýmu /6/.

Medzi hodnotenými druhmi neboli preukazné rozdiely v priemernej hrúbke koreňov (Tab. 2). V tejto súvislosti je zaujímavé, že analyticky zistená priemerná hrúbka koreňa je pri oboch druhoch takmer rovnaká, bez štatisticky preukazných rozdielov. Tento parameter je vypočítaný ako priemerný údaj zo všetkých frakcií koreňového systému. Pri základnom porovnaní druhov v analýze rozptylu je ovplyvnený nedostatkom vody, ktorý pri oboch drevinách, ale najmä pri *Pyrus pyraeaster* podporuje hrubnutie koreňa, konkrétne jeho pokožkových pletív. Korene mali viditeľne zmenenú farbu z bielej na hnedú. Hrubnutie a tvrdnutie koreňov u okrasných rastlín, ktoré boli vystavené stresu z nedostatku vody uvádzajú aj iní autori /5/. Tieto zmeny boli sprevádzané aj zmenou farby z bielej na hnedú, autori ju spájajú so suberizáciou pokožky a exodermis.

Vplyv nedostatku vody na rast konkrétneho druhu dreviny sa vyhodnotil jednofaktorovou analýzou rozptylu. Nedostatok vody preukazne ovplyvnil dĺžku, povrch a objem koreňového systému *Sorbus domestica* (Tab. 3). Hodnoty týchto parametrov (Tab. 4) sa vo variante s nižšou úrovňou nasýtenia substrátu výrazne znížili oproti kontrole: dĺžka koreňového systému o 56%, povrch koreňového systému o 60% a objem koreňového systému o 67%. Naproti tomu sa pri *Sorbus domestica* preukazne zvýšili hodnoty špecifickej dĺžky koreňa (SRL) o 38% v porovnaní s kontrolou, čo naznačuje investíciu do predlžovacieho rastu koreňa pri nedostatku vody.

Tab. 3: Jednofaktorová ANOVA pre vybrané parametre koreňa semenáčikov *Pyrus pyraeaster* a *Sorbus domestica* v podmienkach diferencovaného vodného režimu s nasýtením substrátu na 40 % a 60 % plnej vodnej kapacity

Parameter	<i>Pyrus pyraeaster</i>		<i>Sorbus domestica</i>	
	F hodnota	p-hodnota	F hodnota	p-hodnota
Dĺžka koreňa	0,03	0,8591 n.s.	32,57	0,0000***
Špecifická dĺžka koreňa	2,60	0,1246 n.s.	13,66	0,0017 **
Povrch koreňa	0,00	0,9966 n.s.	49,43	0,0000***
Objem koreňa	3,99	0,0612 n.s.	60,52	0,0000 ***
Priemerná hrúbka koreňa	30,4	0,0000 ***	4,32	0,0521 n.s.

Pri *Pyrus pyraeaster* bola prijatá nulová hypotéza pre parametre dĺžka, povrch a objem koreňa, ako aj špecifická dĺžka koreňa (Tab.3). Nedostatok vody nemal preukazný vplyv na uvedené parametre. *Pyrus pyraeaster* si aj pri nižšej úrovni nasýtenia substrátu vodou udržala vyrovnaný rast koreňovej sústavy, čo dokumentuje viacnásobné porovnanie priemerov a Tukey test (Tab. 4).

Tab. 4: Priemerné hodnoty pre parametre koreňového systému a 95% Tukey test pre *Pyrus pyraeaster* a *Sorbus domestica* podľa úrovne nasýtenia substrátu (Kontrola/Stres). Odlišné písmená indikujú štatisticky preukazné rozdiely priemerných hodnôt.

Parameter	N	<i>Pyrus pyraeaster</i>		<i>Sorbus domestica</i>	
		Kontrola	Stres	Kontrola	Stres
Dĺžka koreňa (mm)	20	5733,88A	5613,48A	13776,3 B	6010,29 A
Špecifická dĺžka koreňa (mm .mg ⁻¹)	20	6,065A	7,785 A	4,282 A	5,904 B
Povrch koreňa (mm ²)	20	9246,74A	9241,53A	27442,8 B	10823,3 A
Objem koreňa (mm ³)	20	4242,7A	2975,66A	11146,6 B	3682,02 A
Priemer koreňa (mm)	20	0,601A	1,037B	0,76 A	0,85 A

Celkový objem koreňov *Pyrus pyraeaster* bol pri nedostatku vody nižší (2975,66 mm³) oproti kontrole (4242,7mm³), avšak rozdiel nie je štatisticky preukazný (Tab. 4.). Nedostatok vody pri *Pyrus pyraeaster* preukazne ovplyvnil len parameter priemerná hrúbka koreňa ANOVA F(1,18)=30,4 p= 0,0000. Vo variante s nižšou úrovňou nasýtenia substrátu bola hodnota tohto parametra 1,037mm, v kontrole 0,601 mm. V dôsledku nedostatku vody, hruška pravdepodobne investovala do syntézy suberínu, ktorý zvyšuje pevnosť bunkových stien a znižuje ich priepustnosť. Výsledkom sú korene s hrubšou a hnedou pokožkou.

ZÁVER

Z analýzy rastu koreňa záujmových druhov v podmienkach diferencovaného vodného režimu, ako aj z výsledkov nášho predchádzajúceho výskumu orientovaného na koreňový systém drevín vyplýva niekoľko zaujímavých poznatkov o ich schopnosti tolerovať sucho pričom tento znak je plastický k nedostatku vody v pôdnom prostredí.

Sorbus domestica má v juvenilnej fáze rastu v porovnaní s *Pyrus pyraeaster* väčší koreňový systém, čo dokumentuje analýza dĺžky, povrchu a objemu ich koreňového systému. Nedostatok vody má na tento druh preukazne negatívny dopad v podobe dramatického zníženia kumulácie hmoty v podzemných orgánoch a výraznej redukcii jeho dĺžky, objemu a povrchu.

Naproti tomu *Pyrus pyraeaster* si aj pri nedostatku vody udrží vyrovnané hodnoty dĺžky a povrchu koreňového systému. Pri nedostatku vody sa u tejto dreviny síce prejavil pokles objemu koreňového systému (o 30%) oproti kontrole, avšak tento rozdiel nie je štatisticky preukazný.

Pri nedostatku vody obe dreviny investovali do predlžovacieho rastu koreňového systému, čo dokumentuje štatisticky preukazný vzostup priemerných hodnôt parametra špecifická dĺžka koreňa (SRL).

Pri *Pyrus pyraeaster* je pod vplyvom nedostatku vody preukazné zvýšenie parametra priemerná hrúbka koreňa, pravdepodobne ako dôsledok hrubnutia pokožkových pletív. Ochrana koreňa pred poškodením v podmienkach sucha môže súvisieť so schopnosťou tejto dreviny efektívne rásť a tolerovať nedostatok disponibilnej vody v pôde.

LITERATÚRA

- /1/ Bouma, T. J., Hengst, K., Koutstaal, B. P., van Soelen, J.: Estimating root lifespan of two grasses at contrasting elevation in a salt marsh by applying vitality staining on roots from in-growth cores. *Plant Ecol.*, 165, 2002:235–245
- /2/ Cornelissen, J. H. C., Lavorel, S., Garnier, E., Diaz, S., Buchmann, N., Gurvich, D. E.: A handbook of protocols for standardized and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* 51, 2003: 335-380.
- /3/ Davies, W. J., Bacon, M. A.: Adaptation of roots to drought. In: de Kroon H, Wisser EJW, editors. *Root ecology. Ecological studies*, vol. 168. New York: Springer, 2003: 173 – 192.
- /4/ Fitter, A. H., Stickland, T. R.: Architectural analysis of plant root systems 2. Influence of nutrient supply on architecture in contrasting plant species. *New Phytol* 118, 1991:383-389
- /5/ Franco, J. A., Martínez-Sánchez, J. J., Fernández, J. A. Bañón, S.: Selection and nursery production of ornamental plants for landscaping and xerogardening in semi-arid environments. *Journal of horticultural science & biotechnology*, 81, 2006: 3-17.
- /6/ Franco, J. A.: Root Development under Drought Stress. <http://bulletin.upct.es/index.php/root>, 2011
- /7/ Hrdoušek, V., Krška, B., Spišek, Z., Bakay, L., Šedivá, J.: Oskeruše, strom pro novou Evropu (The service tree, a tree for a new Europe), Brázda Hodonín, 2014: 240 pp. ISBN 978-80-87387-28-3
- /8/ Kausch, W.: *Der Speierling*. Eigenverlag, Bovenden, 2000: 184 pp.
- /9/ Lynch, J.: Root architecture and plant productivity. *Plant Physiol.* 109, 1995:7-13
- /10/ Májovský, J.: *Sorbus L. emend. Crantz*. In Bertová L. (ed.), *Flora of Slovakia*, IV/3. (in Slovak) Veda, Bratislava, 1992: 405–408.
- /11/ Manes, F., Vitale, M., Donato, E., Giannini, M., Puppi, G.: 2006. Different ability of three Mediterranean oak species to tolerate progressive water stress. *Photosynthetics*, 44, 2006:387 – 393.
- /12/ Masarovičová, E., Májeková, M., Vykouková, I.: *Funkčné znaky a plasticita rastlín*, Bratislava, 2005. ISBN :978-80-223-4033-5
- /13/ Milner, E.: *Trees of Britain and Ireland*, Natural History Museum, London. 2011: 224 pp. ISBN: 9780565092955
- /14/ Nicotra, A. B., Babička, N., Westoby M.: Seedling root anatomy and morphology: an examination of ecological differentiation with rainfall using phylogenetically independent contrasts. *Oecologia*, 130, 2002:136-145
- /15/ Paganová, V., Jureková Z.: Woody plants in landscape planning and landscape design. In: Murat Oyzavuz (ed.) *Landscape Planning*, INTECH Open Access Publisher. 2012. 2012. 199-216. ISBN 978- 953-51-0654-8
- /16/ Paganová, V., Jureková, Z.: Metodika hodnotenia koreňového systému drevín v juvenilnej fáze rastu softvérom WinRhizo = Methodology of the root system assessment of woody plants using software WinRhizo. In *Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2014*. 2014: 110-115.
- /17/ Paganová, V., Jureková, Z., Lichtnerová, H., Černá J.: Medzidruhové rozdiely v raste koreňov drevín v podmienkach sucha = Interspecific differences in root growth of trees under impact of drought. In: *Dendrologické dni v Arboróte Mlyňany SAV 2016*. 2016.: 194-200.
- /18/ Ryser, P.: Intra- and interspecific variation in root length, root turnover and the underlying parameters. In: Lambers H, Poorter H, Van Vuuren MMI (eds) *Variation in plant growth*. Backhuys Publishers, Leiden, 1998: 441–465
- /19/ Tworokski, T., Scorza R.: Root and Shoot Characteristics of Peach Trees with Different growth Habits. *J.Amer.Soc.Hort. Sci.*, 126 (6), 2001:785-790.

Pod'akovanie

Príspevok vznikol s podporou Výskumného centra AgroBioTech vybudovaného v rámci projektu Vybudovanie výskumného centra „AgrobioTech” ITMS 26220220180 a finančnou podporou projektu KEGA 003SPU-4/2017 „Vývoj a implementácia štandardov pre rozvoj a správu zelene v sídlach.

DREVINY ARBORÉTA MLYŇANY A MOŽNOSTI ICH ROZMNOŽOVANIA

WOODY PLANTS IN MLYŇANY ARBORETUM AND WAYS OF THEIR PROPAGATION

Jana Konôpková¹, Peter Hoťka¹, Dominika Bošiaková^{1,2}, Peter Ferus¹

¹Arborétum Mlyňany, detašované pracovisko ÚEL SAV vo Zvolene, 951 52 Vieska nad Žitavou, jana.konopkova@savba.sk, peter.hotka@savba.sk, peter.ferus@savba.sk

²Katedra botaniky a genetiky, Fakulta prírodných vied, Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre, Nábřežie mládeže 91, 949 74 Nitra, dominika.bosiakova@savba.sk.

Summary

In this work is elaborated creation and current state of woody plants collections in 125 years old Mlyňany Arboretum SAS, pointing to the climatic changes that most influenced their development. Attention was also paid to the method of *in vitro* propagation of ornamental plants. The effect of most important factors influencing the success of micropropagation was observed. The state of donor plants and date of collecting the explants were evaluated for mountain pieris (*Pieris floribunda*). For rhododendron 'Azurro' were identified the effects of different types of culture media on the growth of explants. The influence of growth regulators was observed for Japanese dogwood (*Cornus kousa*). The assumption that there are differences in the morphogenic reaction of explants even within the same species was confirmed. Proliferation, elongation of shoots and biomass production are mainly influenced by the composition of culture medium.

Key words: collection of woody plants, introduction, propagation of woody plants, *in vitro* method

List of abbreviations: 2iP - (*N*⁶-[2-Isopentenyl]adenine), BAP – 6- Benzylaminopurine, IAA - Indole-3-acetic acid, NAA – 1-Naphtalen acetic acid, IBA- Indole-3-butyric acid .

Súhrn

V práci je rozpracované budovanie a súčasný stav zbierok drevín 125 ročného objektu Arboréta Mlyňany s poukázaním na klimatické extrémny, ktoré najviac ovplyvnili ich vývoj. Pozornosť sa venovala aj *in vitro* metóde rozmnožovania okrasných rastlín. Sledoval sa vplyv najvýznamnejších faktorov, ktoré ovplyvňujú úspešnosť mikropropagácie. Pri pierise kvetnatom to boli stav donorovej rastliny a termín odberu explantátu, pri rododendrone 'Azurro' sa zisťovali účinky rôznych druhov kultivačných médií na rast explantátov a pri drieni japonskom sa sledoval vplyv rastových regulátorov. Potvrdil sa predpoklad, že v morfogénnej reakcii explantátov sú rozdiely aj v rámci toho istého druhu. Proliferácia, elongácia výhonkov a produkcia biomasy sú ovplyvnené predovšetkým zložením kultivačného média.

Kľúčové slová: zbierky drevín, introdukcia, rozmnožovanie drevín, *in vitro* metóda,

ÚVOD

Charakteristika zbierok drevín

Arborétum Mlyňany je 125 ročný experiment s pestovaním vždyzelených (sempervirentov) a poloopadavých (hiemivirentov) drevín v predhorí Karpát a je známe ako jeden z najoriginálnejších parkových objektov v Strednej Európe. V mikroklimé podrastu

výmladkového dubovo-hrabového lesa vysadil gróf Ambrózy-Migazzi pred 125 rokmi dovtedy neznáme exotické dreviny a dokázal u mnohých z nich schopnosť adaptovať sa na úplne nové pôdno-klimatické pomery. V súčasnosti predstavujú živé zbierky drevín tohto dendrologického objektu výsledok spolu-pôsobenia adaptačných procesov introdukovaných rastlín a vplyvu (vývoja) najmä klimatických pomerov na danom území. Do tohto procesu nezanedbateľne vstupuje faktor človeka (záhradníka), ktorý aklimatizáciu exotických rastlín v nových podmienkach usmerňuje v požadovanom smere – pre úspešné prežitie a následnú reprodukciu nových taxónov na danom území.

Vývoj budovania zbierok

Mikroklima v podraze výmladkového porastu duba cerového (*Quercus cerris*) a hrabu obyčajného (*Carpinus betulus*) utvárala introdukovaným drevinám, postupne vysádzaným od roku 1892, ideálne podmienky pre úspešný proces aklimatizácie. Po výsadbe stromovitých druhov ihličnatých drevín sa po ich dostatočnom priestorovom prírastku pristúpilo k výsadbám vybraných druhov sempervirentov alebo hiemivirentov, pri niektorých druhoch až k výsadbe tisícov jedincov (pri *Prunus laurocerasus*, *Mahonia aquifolium*, *Viburnum rhytidophyllum* a pod.). Dreviny sa vysádzali na viacerých mikrolokality v parku, odlišných expozíciou, inklináciou a hustotou pôvodného porastu. Akonáhle sa mladý porast v nových podmienkach ujal a dobre sa rozrástol, pristúpilo sa k postupnej eliminácii pôvodného porastu duba a hrabu. Iný prístup bol zvolený na tzv. fyto geografických plochách, ktoré boli založené buď na poľnohospodársky využívaných poliach alebo na pozemkoch vinice a ovocného sadu. Na oboch typoch týchto priestranstiev sa pristúpilo najskôr k výsadbe buď rýchlo rastúcich autochtónnych drevín (porasty *Betula verrucosa*) alebo viac-menej odolných stromovitých druhov introdukovaných drevín (*Quercus aliena*, *Quercus acutissima*, *Quercus variabilis*, *Fraxinus pensylvanica*, *Pinus ponderosa*, *Pseudotsuga menziesii*, *Tilia americana* a pod.). Až po ich dostatočnom rozvoji sa začalo s masívnymi výsadbami nižších stromov a krov podľa fyto geografického pôvodu, jednotlivých florozón.

Súčasný stav a zmeny v štruktúre zbierok drevín

V prípade Arboréta Mlyňany došlo k zmenám v štruktúre zbierok v smere poklesu počtu druhov výrazne závislých na vyšších úhrnoch zrážok, najmä po roku 1953, kedy sa plocha rozšírila z pôvodných 40 ha Ambrózyho vždyzeleného parku na súčasných takmer 67 ha. Postupne až dodnes sa presadili v konkurenčnom vzťahu najmä druhy dostatočne odolné voči vlhkovému deficitu (letné takmer bezzrážkové obdobie) a znášajúce mrazivé obdobie bez snehovej pokrývky a najmä neskoré jarné mrazy. Pozornosť sa dlhodobo venuje najmä na udržaniu zbierky vresovištných rastlín (*Rhododendron* sp., *Pieris* sp., *Kalmia* sp., *Leucothoe* sp. a pod.). Snaha Ambrózy-Migazziho v rokoch 1892-1814 vyústila do bohatej zbierky sempervirentov až 248 taxónov. V súčasnosti rastie v zbierkach 273 taxónov týchto drevín a celkový počet taxónov je 1933 (tabuľka 1) / 7/.

Tab. 1: Skupiny drevín rastúcich v Arboréte Mlyňany po poslednej inventarizácii v roku 2012

Skupiny	sp.	ssp.	var.	f.	cv.	Total	%
Ihličnany	131	4	14	7	171	327	16,9
Vždyzelené a poloopadavé dreviny	154	0	15	3	101	273	14,1
Opadavé dreviny	822	7	151	8	345	1 333	69,0
Spolu	1 107	11	180	18	617	1 933	100,0

Klimatické podmienky a ich vplyv na aklimatizáciu introdukovaných drevín

Výrazne priaznivý vplyv mikroklimy na členitom reliéfe arboréta napomáha rastlinám v prvých rokoch po výsadbe stabilizovať sa v podraze konkrétnych dendroexpozícií. Napriek tomu dochádza k poškodeniam nízkymi teplotami v zime, ktoré sa prejavujú vysušajúcim efektom a poškodené dreviny môžu zmrznúť do rôznej hrúbky, respektíve až po úroveň pôdy

alebo až „do koreňa“, kedy drevina uhynie vymrznutím. Čím je cudzokrajná drevina pôvodným areálom viac vzdialená v zmysle zón odolnosti našim podmienkam, tým je jej prežitie (prezimovanie) viac závislé na ochranných zásahoch zmierňujúcich negatívne dopady mrazu.

V rokoch 1901-1950 bola priemerná minimálna teplota v Arboréte Mlyňany v januári -2,1 °C a vo februári -0,4 °C, v rokoch a v rokoch 1971-2011 v januári -1,2 °C a vo februári 0,9 °C. Na prvý pohľad sa zdá, že zvyšovaním priemernej teploty sa podmienky prezimovania introdukovaných drevín zlepšujú. Problémom pomerne teplých zím sú výrazne mrazivé kratšie periódy a následne pri skoršom nástupe vegetačného obdobia sú dreviny ohrozované neskorými jarnými mrazmi. Opačne pôsobia takisto extrémne teploty, napríklad absolútne minimum v roku 1929 bolo -33 °C, a absolútne maximum v júli 2007 bolo namerané +38,3 °C. Čo sa týka množstva zrážok, podmienky arboréta sú charakteristické dvoma maximami, hlavným v máji resp. júni a vedľajším v novembri. Podľa dlhodobého normálu pre roky 1971-2011, priemerné množstvo zrážok v máji za toto obdobie bolo 62,6 mm a v júni 67,5 mm. Aj tu sú však limitujúcim faktorom extrémne suché letá, kedy napríklad apríl v roku 2007 bol bez zrážok a následne v júli boli namerané maximálne teploty nad 30°C.

Rozmnožovanie drevín

Dreviny ako najstaršia zložka ekosystémov tvoria kultúrne spoločenstvá (fytocenózy) vytvárajú podmienky pre existenciu mnohých ďalších rastlinných druhov. Preto je ich reprodukcia je zárukou perspektívnej a obnoviteľnej existencie. Rozmnožujeme ich generatívne, vegetatívne, ako aj metódami *in vitro* /8/. Tradičné metódy rozmnožovania sú dosť obmedzené, pretože u drevín vďaka ich dlhovekosti, ale tiež účinkom rôznych foriem biotického a abiotického stresu, často dochádza k poklesom ich regeneračnej schopnosti a prejavujú sa tiež vysokou genetickou variabilitou v porovnaní s inými rastlinami. Preto k perspektívnym metódam v rozmnožovaní okrasných a lesných drevín patria metódy *in vitro*, ktoré predstavujú zrýchlený a efektívny spôsob rozmnožovania drevín. Rozmnožovaniu okrasných rastlín explantátovými kultúrami sa už niekoľko rokov venuje pozornosť aj v Arboréte Mlyňany.

MATERIÁL A METÓDY

Regenerácia rastlín v podmienkach *in vitro* sa realizuje metódou axilárnych výhonkov, indukciou adventívnych púčikov alebo výhonkov, somatickou embryogenézou. Najčastejšie sa používa metóda axilárnych výhonkov, ktorá sa podobá klasickému spôsobu vegetatívneho množenia. Regenerácia v podmienkach *in vitro* má niekoľko etáp: založenie kultúry, multiplikácia a predlžovací rast výhonkov, zakoreňovanie adventívnych a axilárnych výhonkov, aklimatizácia a adaptácia regenerantov.

Dôležitým vnútorným faktorom, ktorý ovplyvňuje úspešnosť *in vitro* regenerácie drevín je výber vhodných primárnych explantátov s dostatočnou morfogénnou aktivitou. Vo všeobecnosti platí, že mladé juvenilné rastliny poskytujú aktívnejšie explantáty, pričom morfogénny potenciál s vekom rastliny klesá. O regeneračnej kapacite explantátu rozhoduje aj genotyp rastliny. Z ďalších faktorov treba brať do úvahy ontogenetickú fázu vývinu orgánov, pozíciu explantátu na rastline, jeho veľkosť, čas odberu (ročné obdobie) a pod. Predpokladom pre úspešnú iniciáciu primárnej kultúry je tiež dobrý fyziologický stav donorových rastlín, ktoré by mali byť nepoškodené a neinfikované bakteriálnymi, alebo plesňovými chorobami /19/.

Závislosť úspešnosti procesu mikropropagácie od termínu odberu explantátov a fyziologického stavu donorovej rastliny, ktorý významnou mierou ovplyvňuje aj mikroklima porastu bol sledovaný pri pierise kvetnatom (*Pieris floribunda*) rastúcom v pôvodnom Ambrózyho vždyzelenom parku Arboréta Mlyňany. Rastlinné explantáty boli odoberané z axilárnych vegetatívnych púčikov zo 44 ročnej donorovej rastliny pierisu kvetnatého,

v pravidelných mesačných intervaloch v priebehu vegetačného obdobia. Upravené explantáty boli po predchádzajúcej sterilizácii pestované na modifikovanom WPM kultivačnom médiu /14, 23/s prídavkom cytokinínu 2iP v koncentrácii 39,4 μ M za presne definovaných kultivačných podmienok pri 16 hodinovej fotoperióde, teplote 24 °C \pm 1 °C cez deň a 20 °C \pm 1 °C počas noci a intenzite osvetlenia 40 - 50 μ mol.s⁻¹.m⁻² /11/. Po 10 týždňoch kultivácie bolo vyhodnotené percento vitálnych primárnych explantátov a vydiferecované výhonky boli znovu použité na subkultiváciu. Súčasne boli pri každom odbere vyhodnotené mikroklimatické podmienky a to priemerné denné teploty a úhrn zrážok od začiatku vegetačného obdobia po dátum prvého odberu (variant A) a medzi jednotlivými odbermi (variant B, C) a tiež úroveň asimilačných pigmentov v donorovej rastline. Meteorologické charakteristiky boli namerané na Meteorologickej stanici Arboréta Mlyňany a asimilačné pigmenty (chlorofyl *a*, chlorofyl *b* a pomer chlorofylu *a/b*), boli stanovené spektrofotometrickou metódou podľa /13/ a prepočítané na mg.g⁻¹ sušiny.

Jedným z najdôležitejších faktorov riadiacich rast a morfogénu rastlinných pletív v podmienkach *in vitro* je zloženie kultivačného média. Najčastejšie používanými kultivačnými médiami pri rozmnožovaní okrasných drevín sú: MS – Murashige & Skoog médium /16/ a WPM – Woody Plant médium /14/ vyvinuté pre *in vitro* kultiváciu drevín. Pre mikropropagáciu však neexistuje médium so všeobecnou platnosťou. Výber kultivačných médií závisí od rastlinného druhu a od typu pletiva. Chemické zloženie a fyzikálne vlastnosti médií sa tiež prispôsobujú požiadavkám rastliny (explantátu) v rôznych fázach *in vitro* kultivačného cyklu. Dôležitou skupinou látok, ktoré sa pridávajú do kultivačných médií sú aj rastové regulátory (fytohormóny), ktoré vplývajú na procesy rastu a vývinu buď pozitívne a označujeme ich stimulátory (auxíny, gibberelíny, cytokiníny), alebo tieto procesy brzdia a vtedy hovoríme o inhibítoroch (napr. kyselina abscisová, fenolové látky, etylén a pod.). Zákonitosti, ktoré platia o ich účinkoch v intaktných rastlinách, platia aj pri pestovaní *in vitro* kultúr. Pri aplikácii syntetických regulátorov rastu je však potrebné brať do úvahy aj obsah endogénnych fytohormónov.

Účinky rôznych druhov kultivačných médií, pri rovnakom druhu a rovnakej koncentrácii rastových regulátorov, na mikropropagáciu rododendrona 'Azurro' (*Rhododendron* \times *hybridum* 'Azurro') boli vyhodnotené po 14 týždňovej kultivácii na základe rastových parametrov (dĺžka a počet výhonkov, produkcia biomasy). Rastlinné explantáty odobraté z mladých sadeníc rododendrona 'Azurro' boli po predchádzajúcej úprave a sterilizácii uložené na Andersonovo kultivačné médium /1/ a kultivačné médium Economou, Read /4/ s rovnakým obsahom rastových regulátorov (2iP v koncentrácii 39,4 μ M a zo skupiny auxínov IAA v koncentrácii 5,7 μ M) a pestované za presne definovaných kultivačných podmienok /12/.

Závislosť rastu pletivových kultúr od rôznych koncentrácií rastových regulátorov, pri použití rovnakého kultivačného média sa sledovala pri mikropropagácii drieňa japonského (*Cornus kousa*) na základe vyhodnotenia rastových parametrov rastlín, pestovaných v *in vitro* podmienkach. Pletivové kultúry drieňa japonského boli získané z 27-ročných rastlín drieňa japonského, rastúceho na ploche kórejskej dendroflóry v Arboréte Mlyňany a pestované na modifikovanom kultivačnom médiu WPM /14, 6/, obohatenom o rastlinné regulátory typu auxínov (NAA) a cytokinínov (BAP) v rôznych koncentráciách. Zloženie kultivačných médií bolo nasledovné:

C₁: 4,4 μ M BAP, C₂: 4,4 μ M BAP + 0,53 μ M NAA, C₃: 2,2 μ M BAP + 0,53 μ M NAA, C₄: 2,2 μ M BAP .

Po 21 týždňoch pestovania (3. subkultivácii) pri štandardných kultivačných podmienkach boli stanovené rastové charakteristiky - dĺžka a počet výhonkov, produkcia biomasy gravimetricky a celková kapacita proliferácie. Všetky získané výsledky boli vyhodnotené metódami popisnej štatistiky a analýzy rozptylu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Mikropropagácia pierisu kvetnatého potvrdila doterajšie poznatky, že v samotnej morfogénnej reakcii explantátov môžu byť veľké rozdiely, a to aj v rámci toho istého druhu alebo kultivarov toho istého druhu /19/. K podobným záverom dospela aj /24/, ktorá sa zaoberala rozmnožovaním vřdzyelených rastlín z čeľade *Ericaceae* a podarilo sa jej zo 14 taxónov pri 6 úspešne založiť primárnu kultúru. Ako najproblematickejší sa javil pieris japonský a jeho kultivary. Naše výsledky ukázali (tabuľka 2), že najvyššie % vitálnych primárnych explantátov pierisu kvetnatého (80%) bolo získaných pri juvenilných výhonkoch (variant A). Potvrdili sa tak závery /15/ o významnej úlohe tzv. nepriamych faktorov – termín odberu primárnych explantátov, vek a fyziologický stav donorových rastlín, povrchová sterilizácia a preparácia rastlinných explantátov, ktoré okrem vhodných kultivačných podmienok značnou mierou ovplyvňujú úspešnosť procesu mikropropagácie.

Sledovala sa aj koncentrácia chlorofylov (tabuľka 2) v asimilačných orgánoch počas jednotlivých odberov a pri všetkých získaných výsledkoch sa prejavili štatisticky preukazné rozdiely. Najvyššia koncentrácia chlorofylu *a* (5,27 mg.g⁻¹) bola stanovená v období intenzívnej tvorby biomasy (variant B). Pri chlorofyle *b* (1,76 mg.g⁻¹) to bolo v začiatkoch vegetačného obdobia (variant A). Oba pigmenty mali najnižšiu koncentráciu pri poslednom odbere (variant C). Rozdiely v hodnotách pomeru chlorofylu *a/b* sa pohybovali v rozmedzí od 1,77 do 3,34. Korelačnou analýzou sa potvrdila vysoko preukazná negatívna závislosť ($r = -0,9106$) percenta vitálnych výhonkov pierisu kvetnatého od priemernej teploty ovzdušia pri jednotlivých variantoch pokusu. Preukazná korelácia bola zistená aj pri vzájomnom vzťahu medzi iniciáciou primárnej kultúry pierisu kvetnatého a koncentráciou chlorofylu *a* ($r = 0,7261$) a tiež pomerom chlorofylov *a/b* ($r = 0,7910$). Pri chlorofyle *b* je tento vzťah vysoko preukazný – $r = 0,9535$. Vplyvom environmentálnych faktorov na obsah fotosyntetických pigmentov v asimilačných orgánoch sa zaoberali napr. /3,20/ a /10/, ktorý uvádza nasledovné poradie závažnosti vplyvu klimatických faktorov na pigmenty: teplota vzduchu, slnečný svit, globálne žiarenie a zrážky.

Tab.2: Charakteristika jednotlivých variantov pokusu a koncentrácie chlorofylov v donorových rastlinách pierisu kvetnatého

Variant pokusu	Dátum odberu	Priem. denná teplota [°C]	Úhrn zrážok [mm]	Chlorofyl <i>a</i> [mg.g ⁻¹] ± SE ¹	Chlorofyl <i>b</i> [mg.g ⁻¹] ± SE ¹	Chlorofyl <i>a/b</i> [mg.g ⁻¹] ± SE ¹	Vitálne explantáty [%]
A	21.6.	16,02	110,0	4,06 ± 0,829 b	1,76 ± 0,619 b	2,41 ± 0,431 b	80,0
B	21.7.	19,71	117,4	5,27 ± 0,707 c	1,60 ± 0,328 ab	3,34 ± 0,292 c	60,0
C	24.8.	19,41	74,2	1,71 ± 0,315 a	1,05 ± 0,389 a	1,77 ± 0,486 a	43,8

SE¹ – stredná chyba aritmetického priemeru. Rozdiely v hodnotách označených rovnakými písmenami(a) – (d) v rovnakom stĺpci, nie sú štatisticky preukazné na 95 % hladine významnosti (Duncanov test)

Vyhodnotenie procesu mikropropagácie *R. × 'Azurro'* na rôznych druhoch kultivačných médií, s rovnakým prídavkom cytokinínu 2iP (39,4 μM) poukázalo na rozdielnú reakciu explantátov na použité kultivačné médiá. Na základe výsledkov rastových parametrov (tabuľka 3), predovšetkým vyššej hodnoty celkovej kapacity proliferácie (355,9) a počtu výhonkov/explantát (26,88) sa na mikropropagáciu *R. × 'Azurro'* ako vhodnejšie javí Andersonovo kultivačné médium, ktoré uvádza ako najvhodnejšie na pestovanie rododendronov aj /2/.

Pri sledovaní účinku rôznych druhov a rôznych koncentrácií na mikropropagáciu driena japonského bol zistený negatívny účinok prídavku NAA, nakoľko najmenšie priemerné hodnoty počtu výhonkov/explantát a tiež najmenšie priemerné hodnoty dĺžky výhonkov boli zistené pri použití médií C₂ a C₃ (tabuľka 4). Prejavil sa tiež stimulačný vplyv nižšej koncentrácie cytokinínu BAP (2,2 μM) v kultivačnom médiu C₄ na tvorbu výhonkov. Vyššia koncentrácia BAP (4,4 μM) v kultivačnom médiu C₁ pozitívne ovplyvnila ich kvalitu.

Rozdiely v priemerných hodnotách počtu výhonkov/explantát sú štatisticky preukazné, čo potvrdila aj analýza rozptylu.

Tab. 3: Rastové parametre primárnej pletivovej kultúry *Rhododendron* × hybridum 'Azurro' pestovanej na odlišných kultivačných médiách pri rovnakých koncentráciách 2iP (39,4 μ M)

Rastové parametre \pm SE ¹	Andersonovo médium	Economou, Read médium
Počet výhonkov/explantát	26,88 \pm 0,854 a	13,35 \pm 0,425 b
Dĺžka výhonkov [mm]	13,24 \pm 0,104 a	13,24 \pm 0,574 a
Čerstvá hmotnosť [g]	0,036 \pm 0,007 a	0,068 \pm 0,008 b
Sušina [g]	0,004 \pm 0,013 a	0,008 \pm 0,011 b
Pomer čerstvá hmotnosť/sušina	9,00	8,50
Celková kapacita proliferácie	355,9	176,75

SE¹ – stredná chyba aritmetického priemeru. Rozdiely v hodnotách označených rovnakými písmenami(a) – (d) v rovnakom riadku, nie sú štatisticky preukazné na 95 % hladine významnosti (Duncanov test).

Tab. 4: Štatistické vyhodnotenie rastových parametrov pletivových kultúr drieňa japonského po 3. subkultivácii

Rastové parametre \pm SE ¹	Médium C ₁ 4,4 BAP [μ M]	Médium C ₂ 4,4BAP+0,53NAA [μ M]	Médium C ₃ 2,2BAP+0,53NAA [μ M]	Médium C ₄ 2,2 BAP [μ M]
Počet výhonkov/explantát	6,3 \pm 3,368 bc	5,1 \pm 1,101 ab	2,6 \pm 0,809 a	9,6 \pm 6,947 c
Dĺžka výhonkov [mm]	10,52 \pm 3,288 a	8,24 \pm 2,350 a	8,57 \pm 1,584 a	8,92 \pm 1,958 a
Čerstvá hmotnosť [g]	0,038 \pm 0,024 a	0,035 \pm 0,018 a	0,033 \pm 0,011 a	0,032 \pm 0,012 a
Sušina [g]	0,013 \pm 0,011 a	0,008 \pm 0,003 a	0,007 \pm 0,003 a	0,011 \pm 0,005 a
Pomer čerst. hmot./sušina	2,92	4,38	4,71	2,90
Celk. kapacita proliferácie	66,28	42,02	22,28	85,63

SE¹ – stredná chyba aritmetického priemeru. Rozdiely v hodnotách označených rovnakými písmenami(a) – (d) v rovnakom riadku, nie sú štatisticky preukazné na 95 % hladine významnosti (Duncanov test)

Vzhľadom k tomu, že *in vitro* kultúry sa pestujú v kontrolovaných podmienkach v rôznych typoch kultivačných miestností, alebo inkubátorov majú okrem kultivačných médií významný vplyv na rast a morfogenetickú reakciu explantátov aj fyzikálne podmienky kultivácie, ale zovšeobecniť ich účinky je pomerne zložité. Preto je potrebné v kultivačných priestoroch regulovať dĺžku fotoperiody, intenzitu osvetlenia, kultivačnú teplotu a relatívnu vzdušnú vlhkosť.

Tretia etapa v procese mikropropagácie rastlín zahŕňa tvorbu koreňov, ktoré sa na niektorých explantátoch, alebo diferencovaných výhonkoch tvoria aj spontánne. Vo väčšine prípadov je však potrebné tvorbu koreňov umelo indukovať. Na indukciu koreňov sa používajú bežné kultivačné médiá s prevahou auxínov nad cytokinínmi. Najčastejšie používanými auxínmi sú IAA, IBA, NAA. Počas vývinu koreňa nastáva cievne spojenie medzi cievnyim zväzkom diferencovaného koreňa a cievnyim zväzkom pôvodného explantátu, ktoré je dôležité z hľadiska regenerácie celej rastliny. Pri niektorých druhoch je problematické zakorenenie indukovaných výhonkov vzhľadom na nedostatočné cievne spojenie medzi samotným výhonkom a indukovaným koreňom, ktoré je často spôsobené slabým rastom regenerovaných rastlín a znemožňuje úspešný prenos do *ex vitro* podmienok a aklimatizáciu /19/.

Z hľadiska úspešnosti celého procesu je najnáročnejšia etapa aklimatizácie a adaptácie, kedy sú rastliny nútené prekonať stres z prechodu z *in vitro* podmienok, kde boli pestované pri slabej intenzite žiarenia, v aseptickom prostredí, v prostredí s vysokou vzdušnou vlhkosťou, na kultivačnom médiu obsahujúcom pridané cukry a živiny potrebné

k zabezpečení heterotrofného způsobu výživy, do *ex vitro* podmínek. Rostliny pěstované v *in vitro* podmínkách svoj vývoj přispôsobili týmto podmienkam a dochádza u nich k zmenám v anatómii, morfológii a fyziologickej funkcii orgánov a ich častí. Tieto vývojové zmeny komplikujú prechod rastlín z *in vitro* do *ex vitro* podmínek a sú príčinou silných stresových šokov, ktoré po transfere rastlín do pôdy často vedú až k ich úhynu.

Najvýraznejší vplyv na problematický transfer sterilných kultúr do pôdy majú anatomicko-morfologické zmeny listov, stonky, koreňa, kutikuly, zmeny v štruktúre a funkcii prieduchov a znížená fotosyntetická aktivita. Aby sa predchádzalo šoku z veľkých strát vody počas transplantácie je potrebná, postupná aklimatizácia rastlín a preto je vhodné postupne ich premiestňovať do prostredia so znižujúcou sa vzdušnou vlhkosťou /17/. Počas tohto obdobia dochádza k postupnému zlepšovaniu funkčnosti prieduchov a doplňovaniu voskov do epikutikulárnej vrstvy a úroveň prieduchovej a kutikulárnej transpirácie má tendenciu postupne sa znižovať. Proces aklimatizácie je možné ovplyvniť aj zvýšením vitality *in vitro* kultivovaných rastlín a zlepšením ich odolnosti voči stresu prídavkom antitranspirantov /21/ a spomaľovačov rastu /5,1/ prípadne kokultiváciou s endofytickými mikroorganizmami.

Práve biotizácia (bio-hardening; znižovanie citlivosti *in vitro* kultivovaných rastlín voči stresu prostredníctvom kokultivácie s mikroorganizmami) predstavuje novú generáciu metód mikropropagácie rastlín /22/.

LITERATÚRA

- /1/ Anderson, W.C.: A revised Tissue culture medium for shoot multiplication of *Rhododendron*. In J. Amer. Soc. Hort. Sci., 109 (3), 1984: 343-347.
- /2/ Bojarczuk, K.: Regeneracja wybranych gatunkow i odmian rozaneczniokow z sadzonek pedowych i z kultur *in vitro*. Krakow: Plantress. 1995: 112 pp.
- /3/ Demmig-Adams, B., Gilmore, A.M., Adams W.W.: *In vivo* functions of carotenoids in higher plants. *The FASEB Journal*, 1996: 403-412.
- /4/ Economou, A.S., Read P.E.: *In vitro* shoot proliferation of Minnesota Deciduous Azaleas. In Hort. Science, 19 (1), 1984: 60-61.
- /5/ Fletcher, R.A., Sopher, C.R., Vettakkorumakankav, N. N.: Regulation of gibberellins is crucial for plant stress protection. *Plant Growth Regul. Agric. Hortic. Role Commer. Uses* Haworth Press N. Y. P, 2000: 71-87.
- /6/ Hadziabdic, D., Trigiano, R.N., Garton, S., Windham, M.T.: *In vitro* regeneration of *Cornus kousa*. In Hort Science, 40 (4), 2005: 1052.
- /7/ Hořka, P., Barta, M.: *Dreviny Arboréta Mlyňany SAV*, Bratislava: Veda, 2012: 132 pp. ISBN 978-80-224-1252-0.
- /8/ Kamenická, A., Kuba, J., Tomaško, I., Závodný, V.: *Rozmnožovanie okrasných drevín*. Bratislava: VEDA SAV, 2004: 238 pp. ISBN 80-224-0793-3.
- /9/ Kaul, K., Sabharwal, P.S.: Effects of Sucrose and Kinetin on Growth and Chlorophyll Synthesis in Tobacco Tissue Cultures. *Plant Physiol.*, 47 (5), 1971: 691-695.
- /10/ Kirchgessner, H.D., Reichert, K., Hauff, K., Steinbracher, R., Schnitzler J.P., Pfundel, E.E.: Light and temperature, but not UV radiation, affect chlorophylls and carotenoids in Norway spruce needles (*Picea abies* Karst. L.). *Plant, Cell and Environment*, 26, 2003: 1169-1179.
- /11/ Konôpková, J., Bibeň, T. Propagation of two selected species of the genus *Pieris* D. Don. In *Folia Oecologica*, 40 (2), 2013 192-200. ISSN 1336-5266.
- /12/ Konôpková, J., Bošiaková, D., Hořka, P., Ferus, P.: Mikropropagácia rododendronov. In *Dendrologické dni v Arboréte Mlyňany SAV 2016 : Dreviny v meniacom sa prostredí. Vieska nad Žitavou : Arborétum Mlyňany SAV*, 2016:141-145. ISBN 978-80-89408-26-9
- /13/ Lichtenthaler, H.K.: Chlorophylls and Carotenoids: Photosynthetic Biomembranes. *Methods in enzymology*, 148, 1987: 350-382.
- /14/ Lloyd, G.B., McCown, B.H.: Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. *Proc. Int. Plant. Prop. Soc.*, 30, 1980: 421 – 427.
- /15/ Malá, J., Šíma, P.: Možnosti využítí biotechnologických metod v lesním hospodářství. *Lesnická práce*, 11, 2000:<http://www.mzp.cz/ris/ais-ris-info-copy.nsf/da28f37425da72f7c12569e600723950/3b3c948ab8df5dfc1256c370072c41b?OpenDocument>
- /16/ Murashige, T., Skoog, F.. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15, 1962: 473 – 479.

- /17/ Pospíšilová, J., Tichá, I., Kadleček, P., Haisel, D., Plzáková, Š.: Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions. *Biol. Plant.* 42, 1999: 481–497.
- /18/ Rademacher, W.: Growth retardants: effects on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways. *Annu. Rev. Plant Biol.* 51, 2000: 501–531.
- /19/ Salaj, T., Blehová, B., 2006. *In vitro kultúry vyšších rastlín* [In vitro cultures of higher plants]. Bratislava: Univerzita Komenského (Comenius University). 162 p. ISBN 80-223-2061-7
- /20/ Siefermann-Harms, D.: Light and temperature control of season-dependent changes in the α and β -carotene content of spruce needles. *Journal of Plant Physiology*, 143, 1994: 488-494.
- /21/ Smith, E.F., Roberts, A.V., Mottley, J., Denness, S.: The preparation *in vitro* of *Chrysanthemum* for transplantation to soil. IV: The effects of eleven growth retardants on wilting. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 27, 1991: 309–313.
- /22/ Srivastava, P.S., Bharti, N., Pande, D., Srivastava, S., 2002. Role of mycorrhiza in *in vitro* micropropagation of plants, in: Mukerji, K.G., Manoharachary, C., Chamola, B.P. (Eds.), *Techniques in Mycorrhizal Studies*. Springer Netherlands, 2002: 443–468.
- /23/ Starett, M.C., Blazich, F.A., Acedo, J.R., Warren, S.L.: Micropropagation of *Pieris floribunda*. *J. Environ. Hort.*, 11 (4), 1993: 191-195.
- /24/ Šedivá, J.: Množení stálezelených dřevin v podmínkách *in vitro*. *Acta Průhonická*, 66, 1998 :
<http://www.mzp.cz/ris/ais-ris-info-copy.nsf/aa943fb38bfdd406c12568e70070205e/3c20d43de945311080256801007539cf?OpenDocument>

Pod'akovanie

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory projektu VEGA 2/0072/16.

VÝSKYT ŽLUTÉ ZAKRSLOSTI JEČMENE NA ÚZEMÍ ČR

OCURENCE OF BARLEY YELLOW DWARF VIRUS IN THE CZECH REPUBLIC

Jana Chrpová¹, Marie Váňová², Ondřej Veškrna³

¹ Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Drnovská 507, Praha 6 – Ruzyně, chrpova@vurv.cz

² Agrotrest fyto, s. r. o., Havlíčkova 2787/121, Kroměříž

³ SELTON s.r.o., Stupice 24

Summary

The paper presents an assessment of barley yellow dwarf virus (BYDV) and wheat dwarf virus (WDV) occurrence in the period of 2005 – 2012 and also for 2015 for all regions of the Czech Republic. The result is an orientation outline of the areas of occurrence in which it is necessary to pay increased attention to preventative measures against viral diseases.

Key words: cereals, viral diseases, monitoring, variety resistance

Souhrn

V práci je vyhodnocen výskyt žluté virové zakrslosti ječmene (BYDV) a virové zakrslosti pšenice (WDV) v letech 2005–2012 pro všechny kraje České republiky. K dispozici jsou i šetření z roku 2015. Výsledkem je orientační vymezení oblastí výskytu oblastí, v nichž je nutné věnovat preventivním opatřením proti virovým chorobám zvýšenou pozornost.

Klíčová slova: obilniny, virové choroby, monitoring, odrůdová rezistence

ÚVOD

Dlouhodobě jsou sledováni dva nejvýznamnější původci virových chorob – virus zakrslosti pšenice (WDV – Wheat dwarf virus, přenašečem je křísek polní) a virus žluté zakrslosti ječmene (BYDV – Barley yellow dwarf virus, přenašečem jsou mšice). Za závažné můžeme považovat obě choroby, které střídavě nabývají na významu. Poměr jednotlivých infekcí BYDV/WDV se každoročně mění v závislosti na teplotních podmínkách vhodných pro přenašeče v období vzcházení ozimů a dále na rozšíření a množství dostupných zdrojů infekce. K závažnému poškození porostů došlo v minulosti při kalamitní výskytu BYDV v roce 2002. Na jaře 2012 došlo k vyššímu výskytu virových zakrslostí s výraznou převahou WDV především na Moravě. Lokálně se však obě virózy vyskytují každoročně. Na základě údajů o výskytu obou virových chorob byly vymezeny oblasti, s převládajícím výskytem těchto viróz. Ochrana je zaměřena především na likvidaci zdrojů infekce a hubení přenašečů, kterými jsou hmyzí vektory. V případě BYDV lze využít také geneticky podmíněnou rezistenci odrůd. Kalamitní výskyt BYDV v roce 2002 nastolil potřebu tvorby odrůd se zvýšenou rezistencí, které by bylo možné využívat zvláště v rizikových lokalitách.

MATERIÁL A METODA

Vzorky Pro vymezení rizikových oblastí byly využity údaje z pozorování pracovníků ÚKZÚZ (dříve SRS) uveřejněné na níže uvedených webových stránkách:

<http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/skodlive-organismy/informace-o-vyskytu-so-a-poruch/vysledky-pruzkumu-zakrslosti-obilnin/>. Další informace o výskytu virových chorob byly získány z vlastního sběru vzorků z vybraných lokalit ČR, který probíhal v jarním období roku 2015.

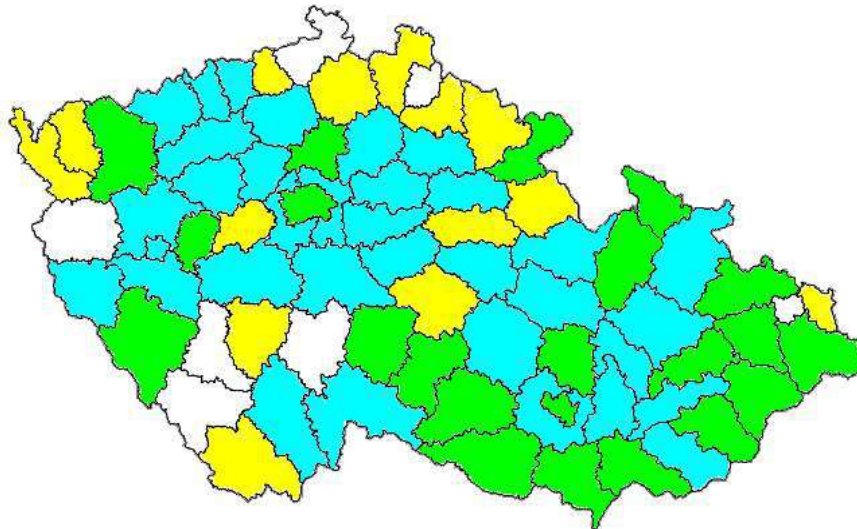
Reakce genotypů pšenice na infekci BYDV je ve VÚRV, v.v.i. hodnocena v maloparcelkových polních pokusech s infekční a kontrolní variantou. Hodnocení rezistence probíhá podle dlouhodobě využívané metodiky /3/. Testované genotypy jsou ve stadiu třetího listu až počátku odnožování infikovány BYDV. Jako vektory viru slouží mšice *Rhopalosiphum padi* ze skleníkových chovů. V době kvetení je vyhodnocena symptomatická reakce podle desetistupňové škály. Po sklizni je stanovena redukce hmotnosti zrna na klas v porovnání s neinfikovanou kontrolou. Důležitá je volba kontrolních odrůd. Průběžně probíhá hodnocení sortimentu registrovaných odrůd.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výskyt BYDV

V rámci sledování provedeného v letech 2004 – 2008 bylo zjištěno, že WDV převládá u pšenice a BYDV u ječmene /1/. Mezi ročníky s významnějším výskytem BYDV pak patří roky 2010 a 2011, kdy ačkoliv obecně převažoval výskyt WDV, svůj podíl na napadení obilnin virovými zakrslostmi měl i hlavní přenašeč BYDV - mšice střemchová (*Rhopalosiphum padi*). Dalším ročníkem s významným výskytem BYDV je rok 2015, kdy se díky mírné zimě a extrémně suchému jaru projevíly podzimní infekce z roku 2014 silnými projevy viróz na jaře 2015. Vyšší podíl na infekcích porostů nesl virus BYDV, jehož výskyt byl zaznamenán i ve vyšších polohách. Převažující výskyt viru BYDV na podzim koreluje s vysoce nadprůměrnými přelety mšic v tomto období.

Na základě provedených opakovaných šetření z období 2005-2012 bylo možno vymezit orientační oblasti výskytu pro jednotlivé přenašeče. Výskyt obou virových chorob dokumentuje obr. 1.



Obr. 1 – Poměr výskytů virových zakrslostí (BYDV a WDV) v jednotlivých okresech v letech 2005 – 2012

Vysvětlivky:

Zelená – poměr zjištěných výskytů BYDV a WDV je vyrovnaný

Modrá – převažuje prokázaný vyšší výskyt WDV nad BYDV

Žlutá – převažuje prokázaný vyšší výskyt BYDV nad WDV

Bílé – nebyla laboratorně potvrzena přítomnost BYDV ani WDV

Orientační vymezení oblastí výskytu

Oblast I

V této oblasti je zřejmá vícenásobná převaha výskytů WDV nad prokázanými výskyty BYDV. Těžiště se nachází ve středních Čechách. Jedná se o následující okresy: Kladno,

Louny, Chomutov, Most, Litoměřice, Příbram, Praha-východ, Mladá Boleslav, Nymburk, Kolín, Jičín, Hradec Králové a odloučenou část území okresů Olomouc a Bruntál.

Oblast II

V této oblasti procházející středem České republiky východozápadním směrem je počet zaznamenaných výskytů WDV dvojnásobný oproti zaznamenaným výskytem BYDV. Zahrnuje území okresů Prostějov, Kroměříž, Brno-venkov, Svitavy, Ústí nad Orlicí, Chrudim, Benešov, Plzeň-jih a Domažlice s přechodnými územími okresů, kde výskyt WDV zhruba 1,5x převyšuje výskyt BYDV – některé již byly zmíněny výše (Uherské Hradiště, Vyškov, Žďár nad Sázavou, Kutná Hora, Praha-západ, Plzeň-město, Plzeň-sever a Rakovník).

Oblast III

V této oblasti je zřetelný vyrovnaný poměr výskytů WDV a BYDV ve sledovaném období, převážnou měrou se nachází na Moravě a ve Slezsku s přesahem do jižních Čech a zahrnuje území okresů Vsetín, Přerov, Nový Jičín, Frýdek-Místek, Opava, Jeseník, Šumperk, Zlín, Hodonín, Břeclav, Znojmo, Brno-město, Blansko, Třebíč, Jihlava, Pelhřimov s přechodnými územími okresů, kde výskyt WDV zhruba 1,5 x převyšuje výskyt BYDV (Uherské Hradiště, Vyškov, Žďár nad Sázavou, Jindřichův Hradec a České Budějovice). Podobně jako u této poměrně ucelené oblasti je zřetelný vyrovnaný poměr výskytů WDV a BYDV v jednotlivých enklávách, které představují okresy Náchod, Mělník, Karlovy Vary, Klatovy, Rokycany a hlavní město Praha.

Oblast IV

Ve volně sdružených spolu nesouvisejících podoblastech (písecká, chebská, liberecká a pardubická) a jednotlivých enklávách okresů Beroun, Havlíčkův Brod a Karviná násobně převažovaly výskyty BYDV nad prokázanými výskyty WDV. Pro píseckou podoblast, zahrnující území okresů Písek, Tábor, Strakonice, Prachatice a Český Krumlov, přitom platí, že ve sledovaném období nebylo laboratorně potvrzených přítomností mnoho, nebyla zjištěna přítomnost WDV, přičemž na Tábořsku, Strakonicku a Prachaticku nebyl potvrzen výskyt viróz vůbec. Totéž lze říci o chebské podoblasti, zahrnující území okresů Cheb, Sokolov a Tachov (na Tachovsku nebyl žádný prokázaný výskyt viróz oproti původním Vackeho šetření). Hojnější výskyt viróz byl v liberecké podoblasti, zahrnující území okresů Liberec, Semily, Trutnov, Česká Lípa, Ústí nad Labem, rovněž bez prokázaného výskytu WDV, což je v kontrastu s dřívějším zjištěním /2/ a okresů Děčín a Jablonec nad Nisou, kde nebyly virózy zjištěny vůbec. Hojné výskyty viróz s převahou BYDV byly zjištěny i v pardubické podoblasti, zahrnující území okresů Pardubice a Rychnov nad Kněžnou.

Odrůdová rezistence

BYDV působí největší škody u ječmene ozimého. Zde je možno kromě dalších ochranných opatření využít i odrůdové rezistence. Účinnou ochranu zajišťuje přítomnost genu *Yd2*. V současné době je již v ČR registrovaná odrůda Travira s genem *Yd2*. Lze předpokládat, že budou registrovány i další odrůdy s tímto genem (новоšlechtění již procházejí registračními zkouškami). V rámci hodnocení prokázala vysokou odolnost k BYDV také odrůda Yatzi (není nositelem genu *Yd2*), která se však v praxi nerozšířila.

U pšenice ozimé nejsou mezi komerčně využívanými odrůdami velké rozdíly v úrovni rezistence a jednoznačné ohodnocení je poměrně obtížné. Do rizikových oblastí je možno doporučit odrůdy, které mají vyšší výnosovou toleranci (Elan, Matylda, Brokat, Fakir, Zeppelin, Athlon). Na základě zkušeností s hodnocením rezistence odrůd a novošlechtění pšenice je současné šlechtění pšenice na rezistenci k BYDV je orientováno především na záchyt silně náchylných materiálů.

ZÁVĚR

Provedená šetření naznačují, že výskyt BYDV představuje rizikový faktor pro pěstování obilnin zvláště v některých částech naší republiky. Šetření z roku 2015 naznačují, že v teplých ročníchích se může tuto virové onemocnění objevit i ve vyšších polohách.

LITERATURA

- /1/Chrpová, J., Šíp V., Štolcová, J., Kumar, J., Veškna, O.: Virové choroby obilnin v ČR - výskyt a možnosti ochrany. Úroda, 10, 2009: 14-18
- /2/Vacke, J.: K výskytu a škodlivosti virové zakrslosti pšenice na obilninách, Obilnářské listy, 1993: 8-9
- /3/Vacke, J., Šíp, V., Škorpík, M.: Reakce vybraných odrůd pšenice jarní na infekci virem žluté zakrslosti ječmene. Genet. A Šlecht., 32, 1996: 95-106.

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory projektu NAZV QJ1310055.

KREMÍK V ŽIVOTE RASTLÍN

SILICON IN PLANTS

Ivana Fialová, Marek Vaculík, Miroslava Vaculíková, Miroslava Luxová
Centrum biológie rastlín a biodiverzity Slovenskej akadémie vied , Dúbravská cesta 9, 845 23
Bratislava, Slovenská republika, i.fialova@savba.sk

Summary

However is silicon not considered as an essential element for higher plants, exerts beneficial effects on plant growth and production. Silicon alleviates both biotic and abiotic stresses, diseases, insects, drought, salinity, toxic impact of metals, nutrient imbalance, etc. The mechanisms of action are still not fully uncovered. It acts as a mechanical barrier and chelator and at the same time it has an influence on antioxidative defense system and plant hormone synthesis.

Key words: silicon, transport, beneficial effect, metal toxicity, pathogens

Súhrn

Kremík, hoci nie je považovaný za esenciálny prvok pre rastliny, má dokázateľne pozitívny vplyv na rast a produkciu rastlín. Zmierňuje účinok biotických a abiotických stresorov, ako sú choroby, škodlivý hmyz, sucho, zasolenie, toxické pôsobenie kovov, nerovnováha živín, ... Mechanizmy pôsobenia však nie sú stále dokonale objasnené. Pôsobí ako mechanická bariéra a chelatátor, zároveň ovplyvňuje antioxidálny obranný systém a syntézu rastlinných hormónov.

Kľúčové slová: kremík, transport, pozitívny účinok, toxicita kovov, patogény

ÚVOD

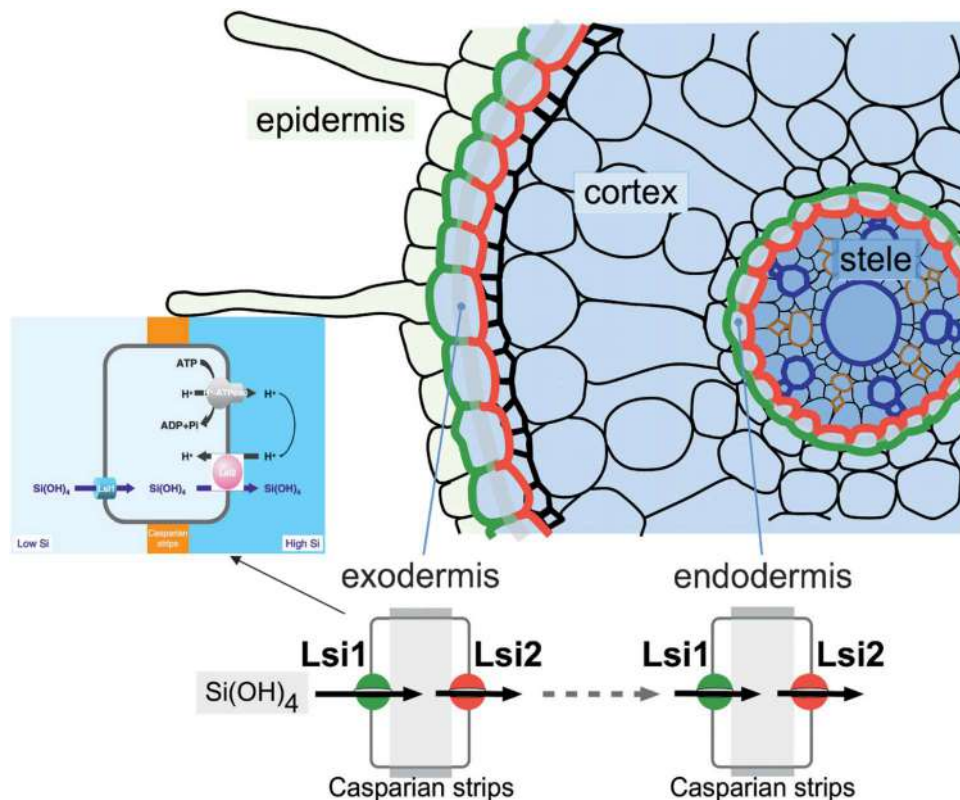
Kremík je tmavosivá kryštalická látka, má kovový lesk, je tvrdý (reže sklo), krehký, štruktúrou podobný diamantu (väzby Si-Si sú slabšie ako väzby C-C, energia väzby Si – Si je približne polovičná v porovnaní s energiou väzby C - C). Vo väčšine zlúčenín je štvorväzbový, jeho väzby majú kovalentný charakter, netvorí vodíkové mostíky, nie je príliš reaktívny. Kremík sa využíva ako polovodič v elektrotechnickom priemysle, v slnečných batériách, na zvýšenie tvrdosti a pevnosti ocele. Je druhým najrozšírenejším prvkom zemskej kôry po kyslíku., tvorí asi 28% zemskej kôry. V pôdnom roztoku sa vyskytuje ako kyselina kremičitá v koncentrácii od 0,1 do 0,6 mM /1/. Vo vodách a jazerách kremík pochádza zo zvetraných kremičitanov a hlinitokremičitanov, jeho koncentrácia je oveľa nižšia ako 120 mg SiO₂ l⁻¹.

Hoci kremík nie je považovaný za esenciálny prvok, bolo dokázané, že je prospešný pre zdravý rast a vývin mnohých rastlinných druhov, osobitne pre lipnicovité ako sú ryža a cukrová trstina a niektoré šachorovité /1, 2, 3,4, 5/. Všetky terestriálne rastliny obsahujú vo svojich pletivách určité množstvo kremíka. Najviac ho akumulujú *Bryophyta* (Machorasty), *Lycopodiophyta* (Plavúňorasty), *Equisetophyta* (Prasličkorasty). Z vyšších rastlín (*Angiospermae*), je dokázaná vyššia akumulácia Si (> 4 %) iba pri niekoľkých taxónoch: *Cyperaceae* (Šachorovité), *Poaceae* (Lipnicovité) a *Balsaminaceae* (Netýkavkovité) /3/. Rastliny *Cucur-*

bitales (Tekvico-tvaré), *Urticales* (Přhl'avotvaré) a *Commelinaceae* (Podenkovité) akumulujú kremík (2–4 % Si) stredne .

Kremík je absorbovaný rastlinami vo forme nenabitej kyseliny kremičitej $\text{Si}(\text{OH})_4$ alebo $\text{Si}(\text{OH})_3\text{O}_2$, a nevratne precipituje do amorfnej formy ($\text{SiO}_2\text{-nH}_2\text{O}$) nazývanej silika, opál, silikagél, fytolity. Pasívny transport nenabitej kyseliny kremičitej difúziou naprieč lipidickou zložkou plazmatickej membrány a/alebo uľahčená difúzia prostredníctvom bielkovinných kanálov sú energeticky nezávislou časťou príjmu Si. Vyskytuje sa u všetkých rastlinných druhov nezávisle od ich schopnosti kremík akumulovať /6/. Príjem a transport kremíka v ryži, typickom akumulátore Si, je aktívny proces /1, 7/. Niektoré dvojkličnolisté ako napr. uhorka, melón, jahoda a sója /8, 9, 10/ prijímajú Si pasívne, ale napr. paradajka /9, 10/ a fazuľa /5/ neprijímajú.

Rozoznávajú sa dva typy kremíkových transportérov, pre influx a eflux. Transportéry zodpovedné za príjem kremíka koreňmi (*Lsi1* a *Lsi2*) boli zatiaľ dokázané v niekoľkých druhoch, napr ryža, jačmeň, kukurica, pšenica, tekvica. Po vstupe Si do koreňového symplastu prostredníctvom influxného transportéra *Lsi1* a prestupe so apoplastu efluxným transportérom *Lsi2*, sa kremík presúva smerom k výhonkom cez xylémové cievy prostredníctvom transpiračného prúdu vo forme kyseliny kremičitej /11,12/.



Obr. 1: Schématické zobrazenie Si transportu v koreňoch ryže . Si je pasívne transportovaný ako kyselina kremičitá z externého roztoku do buniek koreňovej exodermy prostredníctvom *Lsi 1* a následne aktívne vypustený do apoplastu cez *Lsi 2*. Kyselina kremičitá je potom transportovaná do buniek endodermy prenášačom *Lsi 1* a uvoľnená do stély pomocou *Lsi 2*. /13/ (J. F. Ma and N. Yamaji *Cell. Mol. Life Sci.* 2008; 65: 3049 – 3057 doi: 10.1007/s00018-008-7580-x)

Kremík a stres

Toxicita kovov

Bol dokázaný zmierňujúci účinok kremíka na fytotoxicitu kovov a polokovov ako sú mangán, železo, hliník, kadmium, arzén , chróm, olovo, meď a zinok. Mechanizmus

působenia však stále nie je objasnený /14/. Vo všeobecnosti sa predpokladajú dva mechanizmy, ktorými by kremík mohol pôsobiť, externý (*ex planta*) a interný (*in planta*).

Externý mechanizmus je založený na chémii roztokov kovov a ich interakcii s Si, čo spôsobuje zníženú aktivitu a biologickú dostupnosť kovov. Závisí od zvyšujúcej sa hodnoty pH prostredia /15,16/. Li et al. /15/ zistili, že prídanie 800 mg Si kg⁻¹ vo forme kremičitanu sodného do pôdy kontaminovanej olovom výrazne zvýšilo pH pôdy a viazanú frakciu olova, čím sa zmenšila biodostupnosť olova pre rastliny. Už v roku 1940 Wanger /17/ zistil, že koncentrácia minerálov v nadzemných častiach bola vyššia u Si-deficientných rastlín ako u rastlín, ktoré mali dostatok kremíka. V roku 1962 Okuda a Takahashi /18/ dokázali kremíkom sprostredkované zníženie toxicity Fe a Mn v ryži, ktoré pripisovali zníženému príjmu Fe a Mn v prítomnosti kremíka. Horiguchi /19/ zistil, že kremík zmenil distribúciu Mn v ryži, zvýšila sa jeho koncentrácia v koreňoch a znížila v stonkách. Kremíkom posilnená tolerancia na Mn je podľa neho spôsobená obmedzením transportu mangánu medzi koreňom a stonkou. Rovnaký efekt mal kremík na jednoklíčnolisté aj dvojklíčnolisté rastliny pestované s Cd /20, 21, 16/. Pozitívny účinok kremíka na korene mladých rastlín kukurice, ktoré boli stresované antimónom (10 a 50 mg/l⁻¹) dokázali aj Vaculíková a spol., 2014 /22/. Šimková a kol., 2015 /23/ zistili, že kremík znižuje aktivitu antioxidantných enzýmov (SOD, APX a POX) zvýšených pôsobením Zn ako stresora v mladých rastlinách kukurice v hybride Almansa.

Bunková stena

Kremík spevňuje bunkové steny zosilnením suberinizácie, lignifikácie a silifikáciou a pôsobí ako mechanická podpora pre jednoklíčnolisté a papraďorasty, o dvojklíčnolistých rastlinách je málo informácií /24/. Lepšia štruktúrna stabilita je pripisovaná väzbe Si s hemicelulózou bunkovej steny /25, 26; 27/. Kremík tiež pôsobí na formovanie Caspariho pásika v koreňoch rastlín /28/. Biosilifikácia v rastlinách - polymerizácia kyseliny kremičitej v apoplaste, vedie k formovaniu amorfnej kremíkovej bariéry /29/, ktorá pomáha zmierniť biotický aj abiotický stres, zabraňuje infekcii patogénmi a preniknutiu toxických látok ako sú hliník, mangán, kadmium, zinok a sodík do symplastu a transpiračného prúdu /30, 27, 24/.

Zasolenie

Je všeobecne známe, že kremík zvyšuje toleranciu a/alebo odolnosť rastlín na stres zo zasolenia, ale mechanizmy ostávajú stále neobjasnené. Podľa dostupnej literatúry kremík deponovaný v apoplaste ako SiO₂ depozity alebo fytolity môže zvýšiť zadržiavanie vody inhibovaním straty vody transpiráciou, čím znižuje osmotický stres vyvolaný soľou; alebo rozpustný kremík v symplaste by mohol byť aktívne zapojený do fyziologických a biochemických procesov reguláciou expresie génov súvisiacich s biosyntézou hormónov, antioxidantných obranných enzýmov, H⁺-púmp a osmolytov /31/. Pozitívny vplyv kremíka na stres zo zasolenia u koreňov mladých rastlín kukurice, však v závislosti od hybridu, dokázali aj Fialová a spol., 2015 /32/

Sucho a nízke teploty

Približne 33% zemského povrchu patrí medzi arídne oblasti. Podľa súčasných predpovedí globálnych klimatických zmien, frekvencia a sila období sucha bude v určitých oblastiach Zeme narastať /33/. Ďalším klimatickým faktorom, ktorý obmedzuje rast, distribúciu rastlín a rozvoj poľnohospodárstva je nízka teplota. Aplikácia kremíka môže u rastlín zvýšiť toleranciu na suchu a mráz. Zvyšuje fotosyntézu a rast, udržiava membránovú integritu, stabilitu a funkciu, zlepšuje zadržiavanie vody, znižuje kutikulárnu transpiráciu. Zvyšuje aktivitu fotosyntetických enzýmov, fotochemickú účinnosť, znižuje oxidatívne poškodenie posilnením antioxidantnej obrany, podporuje príjem vody koreňmi zlepšením rastu koreňov.

Interakcie s patogénmi

Prospešný účinok kremíka v prevencii pred rastlinnými chorobami je známy mnoho desaťročí, závisí od samotnej rastliny a patogénu. Veľa prác je o pôsobení Si v prípade múčnatky u pšenice (*Triticum aestivum*) /34/, jačmeňa (*Hordeum vulgare*) /35/, uhorky (*Cucumis sativus*) /36/.

Škodlivý hmyz

Kremík proti poškodeniu hmyzom pôsobí dvoma mechanizmami: fyzicky deponovaním opálových fytoolitov v rastline, čím zvyšuje tvrdosť a abrazívnosť pletív alebo biochemickými zmenami a vyvolaním rezistencie. Nakata et al. /37/ uvádza poškodenie listu ryže húsenicou druhu *Naranga aenescens* u *lsi1* mutantov, ktoré majú zmenený aktívny príjem Si, na rozdiel od divého typu ryže. Táto problematika je v súčasnosti veľmi málo prebádaná a opísaná.

LITERATÚRA

- /1/ Epstein, E.: The anomaly of silicon in plant biology. Proc Natl Acad Sci U S A .91, 1994: 11-7
- /2/ Epstein, E.: Silicon. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol., 50, 1999: 641-64
- /3/ Ma, J. F., Takahashi, E.: Soil, fertilizer, and plant silicon research in Japan. Amsterdam: Elsevier, 2002
- /4/ Liang, Y.C. Effects of silicon on enzyme activity, and sodium, potassium and calcium concentration in barley under salt stress. Plant Soil, 209, 1999: 217-224.
- /5/ Liang, Y. C., Wong, J. W. C., Wei, L.: Silicon-mediated enhancement of cadmium tolerance in maize (*Zea mays* L.) grown in cadmium contaminated soil. Chemosphere, 58, 2005: 475-483.
- /6/ Raven, J. A.: Cycling silicon-the role of accumulation in plants. New Phytol., 158, 2003: 419-421
- /7/ Ma, J. F., Yamaji, N.: Silicon uptake and accumulation in higher plants. Trends in Plant Science, 11, 2006: 392-397.
- /8/ Mitani, N., Ma, J. F.: Uptake system of silicon in different plant species. Journal of Experimental Biology, 56, 2005: 1255-1261.
- /9/ Takahashi, E., Ma, J. F., Miyake, Y.: The possibility of silicon as an essential element for higher plants. Comments on Agricultural and Food Chemistry, 2, 1990: 99-122.
- /10/ Ma, J. F., Miyake, Y., Takahashi, E.: Silicon as a beneficial element for crop plants. In: Datnoff, L., Snyder, G., Korndorfer, G. (Eds.), Silicon in Agriculture. Elsevier Science, New York, 2001: 17-39.
- /11/ Casey, W. H., Kinrade, S. D., Knight, T. G., Rains, D. W., Epstein, E.: Aqueous silicate complexes in wheat, *Triticum aestivum* L. Plant Cell Environ, 27, 2003: 51-54.
- /12/ Mitani, N., Ma, J. F., Iwashita, T.: Identification of silicon form in the xylem of rice (*Oryza sativa* L.). Plant Cell Physiol, 46, 2005: 279-283
- /13/ Ma, J. F., Yamaji, N.: Function and transport of silicon in plants. Cell Mol Life Sci, Oct:65(19), 2008:3049-57. doi: 10.1007/s00018-008-7580-x.
- /14/ Liang, Y., Nikolic, M., Bélanger, R., Gong, H., Song, A.: Silicon in Agriculture. From Theory to Practice Springer, 2015. ISBN 978-94-017-9978-2
- /15/ Li, L. B., Zheng, C., Fu, Y. Q., Wu, D. M., Yang, X. J., Shen, H.: Silicate-mediated alleviation of Pb toxicity in banana grown in Pb-contaminated soil. Biol Trace Elem Res., 145, 2012: 101-108
- /16/ Zang, Q., Yan, C. L., Liu, J. C., Lu, H. L., Duan, H. H., Du, J. N., Wang, W. Y.: Silicon alleviation of cadmium toxicity in mangrove (*Avicennia marina* L.) in relation to cadmium compartmentation. J Plant Growth Regul. 33, 2013: 233-42
- /17/ Wagner, F.: The importance of silicic acid for the growth of some cultivated plants, their metabolism, and their susceptibility to true mildews. Phytopathol Z. 12, 1940: 427-479
- /18/ Okuda, A., Takahashi, E.: Effect of silicon supply on the injuries due to excessive amount of Fe, Mn, Cu, As, Al, Co of barley and rice plant. Jpn J Soil Sci Plant Nutr. 33, 1962: 1-8
- /19/ Horiguchi, T.: Mechanism of manganese toxicity and tolerance of plants. 4. Effect of silicon on alleviation of manganese toxicity of rice plants. Soil Sci Plant Nutr. 34, 1988: 65-73
- /20/ Shi, X. H., Zhang, C. C., Wang, H., Zhang, F. S.: Effect of Si on the contribution of Cd in rice seedlings. Plant Soil. 272, 2005: 53-60
- /21/ Farooq, M. A., Ali, S., Hameed, A., Ishaque, W., Mahmood, K., Iqbal, Z.: Alleviation of cadmium toxicity by silicon is related to elevated photosynthesis, antioxidant enzymes, suppressed cadmium uptake and oxidative stress in cotton. Ecotoxol Environ Saf. 86, 2013: 242-249
- /22/ Vaculíková, M., Vaculík, M., Šimková, L., Fialová, I., Kochanová, Z., Sedláková, B., Luxová, M.: Influence of silicon on maize roots exposed to antimony – Growth and antioxidative response. Plant Phys Bioch. 83, 2014: 279-e284

- /23/ Šimková, L., Fialová, I., Vaculíková, M., Luxová M.: The effect of silicon on the activity and isozymes pattern of antioxidative enzymes of young maize roots under zinc stress. *Silicon*, 2015, doi: 10.1007/s12633-015-9376-6
- /23/ Guerriero, G., Hausman, J. F., Legay, S.: Silicon and the plant extracellular matrix. *Front. Plant Sci.* 7, 2016: 463. doi:10.3389/fpls.2016.00463
- /24/ He, C., Ma, J., Wang, L.: A hemicellulose-bound form of silicon with potential to improve the mechanical properties and regeneration of the cell walls in rice. *New Phytol.* 206, 2016: 1051-1062. doi: 10.1111/nph.13282
- /25/ He, C., Wang, L., Liu, J., Liu, X., Li, X., Ma, J. et al.: Evidence for 'silicon' within cell walls in suspension-cultured rice cells. *New Phytol.* 200, 2016: 700-709. doi: 10.1111/nph.12401
- /26/ Ma, J. F., Yamaji, N. A.: cooperative system of silicon transport in plants. *Trends Plant Sci.* 20, 2015: 435–442. doi:10.1016/j.tplants.2015.04.007
- /27/ Vaculík, M., Landberg, T., Greger, M., Luxová, M., Stolaríková, M., Lu, A.: Silicon modifies root anatomy, and uptake and subcellular distribution of cadmium in young maize plants. *Ann Bot.* 110: 433-443
- /28/ Exley, C.: A possible mechanism of biological silicification in plants. *Front. Plant Sci.* 6, 2015: 853. doi:10.3389/fpls.2015.00853
- /29/ Saqib, M., Zoerb, C.: Schubert S. Silicon-mediated improvement in the salt resistance of wheat (*Triticum aestivum*) results from increased sodium exclusion and resistance to oxidative stress. *Funct. Plant Biol.* 35, 633–639. doi: 10.1071/FP08100
- /30/ Liang, Y., Nikolic, M., Bélanger, R., Gong, H., Song, A.: *Silicon in Agriculture*, 2015: 123. ISBN 978-94-017-9977-5: doi: 10.1007/978-94-017-9978-2_6
- /31/ Fialová, I., Šimková, L., Vaculíková M., Luxová M.: Effect of Si on the antioxidative defense of young maize roots under NaCl stress. *Silicon*. 2015. doi: 10.1007/s12633-015-9377-5
- /32/ Shen, X., Zhou, Y., Duan, L., Li, Z., Enejim, A. E., Li, J.: Silicon effects on photosynthesis and antioxidant parameters of soybean seedlings under drought and ultraviolet-B radiation. *J Plant Physiol.* 167, 2010: 1248-1252
- /33/ Bélanger, R. R., Benhamou, N., Menzies, J. G.: Cytological evidence of an active role of silicon in wheat resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f sp *tritici*). *Phytopathology.* 934, 2003: 402-412
- /34/ Jiang, D., Zeyen, R. J., Russo, V.: Silicon enhances resistance of barley to powdery mildew (*Erysiphe graminis* f sp *hordei*). *Phytopathology.* 79, 1989: 119-125
- /35/ Samuels, A. L., Glass, A. D. M., Ehret, D. L., Menzies, J. G.: Mobility and deposition of silicon in cucumber plants. *Plant Cell Environ.* 14, 1991: 485-492
- /36/ Nakata, Y., Ueno, M., Kihara, J., Ichii, M., Taketa, S., Arase S.: Rice blast disease and susceptibility to pests in a silicon uptake-deficient mutant *Isi 1* of rice. *Crop Prot.* 27, 2008: 865-868: doi: 10.1016/j.cropro.2007.08.016

Přednášky

NIEKTORÉ MORFOLOGICKÉ ASPEKTY MAKROSTROBILOV V KONTEXTE INTROGRESÍVNEJ HYBRIDIZÁCIE HYBRIDNÉHO ROJA BOROVIČ NA LOKALITE MEDZI BORMI

SOME MORPHOLOGICAL ASPECTS OF MACROSTROBILS IN THE CONTEXT OF THE INTROGRESSIVE HYBRIDIZATION OF HYBRID SVARM OF PINE ON THE LOCALITY MEDZI BORMI

Martin Galgóci, Andrej Kormuťák

Centrum biologie rastlín a biodiverzity, Ústav Genetiky a biotechnológií rastlín SAV, Akademická 2.
P.O. Box 39A, 95 007 Nitra, Slovenská republika

Summary

In the present work, we examine the process of introgressive hybridization on the Habovka site in relation to the inflow of developing macrostrobils. Of the total of 52 trees evaluated, 18 individuals were macrostrobily, typical for *P. sylvestris* but with a polycormonal branch typical of *P. mugo* species. On the contrary, 3 individuals were in the opposite position, which confirms in both cases their hybrid character. We also observed a high rate of introgressive hybridization in the direction of gene flow of the *Pinus mugo* to *P. sylvestris* 26.3% and the gene flow of *P. sylvestris* to *P. mugo* 12.7%, which in the context of morphometric markers enhances the hybrid status of individuals at the site Habovka.

Key words: Pinus sylvestris L., Pinus mugo Turra, hybrid swarm, developing macrostrobili, branching, introgressive hybridisation

Súhrn

V predloženej práci sa zaoberáme zhodnotením procesu introgresívnej hybridizácie na lokalite Habovka vo vzťahu k zakriveniu vyvíjajúcich sa makrostrobilov. Z celkového počtu 52 hodnotených stromov malo 18 jedincov makrostrobili zahnuté typické pre druh *P. sylvestris* ale s polykormonálnym vetvením typickým pre druh *P. mugo*. Naopak 3 jedince sme zaznamenali v opačnom postavení, čo potvrdzuje v oboch prípadoch ich hybridný charakter. Tiež sme zaznamenali vysokú mieru introgresívnej hybridizácie v smere toku génov *Pinus mugo* na *P. sylvestris* 26,3 % a v smere toku génov *P. sylvestris* na *P. mugo* 12,7 %, ktorá v kontexte s morfometrickými ukazovateľmi umocňuje hybridný status jedincov na lokalite Habovka.

Kľúčové slová: Pinus sylvestris L., Pinus mugo Turra, hybridné roje, vyvíjajúce sa makrostrobili, introgresívna hybridizácia

ÚVOD

Spontána hybridizácia pri druhoch *Pinus sylvestris* a *P. mugo* je známa už od začiatku 19. storočia, kedy boli nájdené jedince z intermediárnym vzhľadom v Alpách, kde sa areály oboch druhov prekrývajú /3, 4, 8/. Charakteristickou črtou pre rod *Pinus* je nepravidelnosť v hybridologických vzťahoch pri medzidruhovej hybridizácii. Mnoho taxónov ktoré sú taxonomicky vzdialené sú fertílné a produkujú potomstvo. Naopak druhy v rámci rodu *Pinus*, ktoré sú často taxonomicky veľmi blízke nie sú schopné sa vzájomne krížiť a produkovať vyvinuté semená /6/. V našej práci sa zaoberáme introgresívnou hybridizáciou medzi druhmi

Pinus sylvestris L. a *Pinus mugo* Turra., vo vzťahu k morfológii vyvíjajúcich sa makrostrobilov. Práve tie nachádzame pri jedincoch s habitom *Pinus mugo* Turra. ohnuté smerom nadol a pri jedincoch vizuálne sa javiacich ako *P. sylvestris* so vzpriamenými makrostrobilami ktoré sú zase typické pre jedince *P. mugo*. Druh *Pinus mugo* je agregátny taxón ktorý v sebe zahrňuje viacero taxonomicky blízkych avšak veľmi ťažko vyhraniteľných jednotiek. Obsahuje druhy *P. uncinata* (Ramond), *P. uliginosa* (A. Neumann) a *P. rotundata* (Link.) a aj samotný druh *P. mugo* Turra., ktoré sú často označované „*in senso lato*“ ako taxóny *P. mugo* agg. /2, 5, 9/.

MATERIÁL A METÓDA

Rodičovské stromy, ktoré boli využité na analýzu rastú na kyslom rašelinisku so spoločenstvom *Pineto rotundae-Spagnethum* na lokalite Medzi Bormi (Habovka) na Orave. Ide o hybridný roj z vyšším stupňom hybridizácie, kde pravdepodobne absentujú jedince rodičovských druhov *Pinus mugo* Turra a *Pinus sylvestris* L. Uvedený hybridný roj predstavuje prechod k taxónu *P. uncinata* Ramond na základe viacerých, aj v tejto práci analyzovaných morfológických znakov. Tvar a zakrivenie makrostrobilov bolo pri jednotlivých jedincoch zaznamenávané fotograficky a následne vyhodnocované vo vzťahu k zaznamenanému habitus daného jedinca. Introgresívna hybridizácia bola hodnotená s využitím prístupu PCR-RFLP analýzy cpDNA. Celkovú DNA sme izolovali z čerstvo vyrašených ihlič materských stromov s využitím CTAB izolačného protokolu podľa Murray a Thompson /7/, s výslednou inkubáciou DNA s 0,5 mg RNAzy pri 37 °C po dobu 30 min. DNA z predpokladaných hybridných embrií získaných zo šišíek materských stromov sme extrahovali z embrií ich naklíčením *in vitro* podmienkach v Petriho miskách na papierovej vlhčenej vate. Získané embryá boli jednotlivo homogenizované v mikroskúmavkách s použitím homogenizačnej tyčinky a SIMAX DNA extrakčného kitu. Úsek *trnV-trnH* CP DNA bol PCR amplifikovaný s primerami 5' -GCTCAGCAAGGTAGAGCACC-3' a 5' -CTTGGTCCACTTGGCTACGT-3' /9/. PCR reakcia prebiehala pri 94 °C po dobu 4 min, nasledovalo 35 cyklov pri 93 °C po dobu 1 min, 56 °C po dobu 1 min., a 72 °C po dobu 2 min. Elongácia štandardne prebiehala pri teplote 72 °C po dobu 10 min. Získané PCR produkty úseku *trnV-trnH* boli následne štiepené s reštrikčným enzýmom *Hinf* I. Takto získané fragmenty boli následne separované v 8% polyakrylamidovom géli a 1 × TBE pufri. Elektroforéza prebiehala po dobu 3 h pri 2,5 V. cm⁻¹. Gély boli vyfarbené v prostredí 1 × TBE s etidium bromidom (0,5 mg. l⁻¹). Hybridný charakter potomstva *P. sylvestris* × *P. mugo* a ich spätných krížení bol hodnotený pre každý strom jednotlivo s použitím *P. sylvestris* a *P. mugo* materského stromu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Intermediárny charakter habitusu jedincov medzi druhmi *Pinus sylvestris* L. a *P. mugo* Turra je veľmi výrazný na lokalite Medzi Bormi (Habovka). Fenotypovo sa prejavuje výskytom jedincov ktoré sú podobné výškou a vzhľadom na jedince *Pinus sylvestris* ale sú bazitoálne vetvené vo forme polykormónov. Naopak na lokalite sme zaznamenali jedince, ktoré sú vzhľadom podobnejšie jedincom *P. mugo* ale sú vyššie a sú monokorme vetvené. V našej práci sme však ako jeden z diagnostických prejavov morfotypu vo vzťahu k hybridnému charakteru jedincov sledovali zakrivenie vyvíjajúcich sa makrostrobilov. Uvedené zistenia boli dávané do súvisu k monokormnému alebo polykormnému charakteru kmeňa. Pre jedince *P. mugo* sú typické makrostrobily vzpriamené a pre druh *P. sylvestris* zahnuté. V našom prípade mali vo veľa prípadoch jedince patriace habitusom k jedincom *P. mugo* zahnuté makrostrobily typické pre jedince *P. sylvestris* a naopak. Uvedené výsledky nám ilustruje tabuľka 1. Na základe výsledkov sme zaznamenali až 18 jedincov z celkového počtu 52 analyzovaných ktoré síce rástli ako polykormóny ale mali zahnuté makrostrobily typické pre

druh *P. sylvestris* a tiež sme zaznamenali 3 jedince ktoré mali síce monokormné vetvenie typické pre druh *P. sylvestris* ale mali vzpriamené vyvíjajúce sa makrostrobily čo je charakteristické pre jedince *P. mugo*. Z uvedenými výsledkami z pohľadu molekulárneho dôkazu prebiehajúceho hybridizačného procesu korelujú aj dosiahnuté výsledky introgresívnej hybridizácie v roku 2013, ako to ilustruje tabuľka 2. Pozorovali sme obojsmerný tok génov v smere otcovský strom *P. mugo* na *P. sylvestris* 26,3 % a tiež aj pomerne vysokú mieru intorgresie v smere *P. sylvestris* ako otcovský strom na *Pinus mugo* 12,7 %.

Tab. 1: Morfotypy z hľadiska vetvenia kmeňov a zahnutia vyvíjajúceho sa makrostrobilu

Medzi Bormi (Habovka)	<i>P. sylvestris</i>	Hybrid (podobný druhu <i>P. sylvestris</i>)	<i>P. mugo</i>	Hybrid (podobný druhu <i>P. mugo</i>)
Monokormné vetvenie	9	3		
Polykormné vetvenie			22	18
Makrostrobili vzpriamené		3	22	
Makrostrobili zahnuté nadol	9			18

Tab. 2: Percentuálny podiel introgresie na lokalite Habovka v roku 2013

Lokalita	Počet analyz. jedincov	Jedince		Počet analyz. embryí	Haplotyp embryí		Podiel hybridných embryí (%)
		Ihlice Haplotyp	Počet		<i>P. mugo</i>	<i>P. sylvestris</i>	
Medzi Bormi (Habovka)	9	<i>P. mugo</i>	4	71	62	9	12,7
		<i>P. sylvestris</i>	5	76	20	56	26,3

Hybridizácia a následne opakujúce sa spätné kríženie s rodičovskými jedincami, má nepopierateľný význam z hľadiska evolúcie rastlín /1/. Extrémne podmienky prostredia si vyžadujú často zmeny na genetickej úrovni, s ktorými sú spojené nové adaptácie a práve takéto potomstvo prežíva a prispieva k evolučnému progresu druhov /10/. Uvedená hypotéza nachádza istú paralelu aj v prípade hybridných rojov medzi druhmi *Pinus sylvestris* a *Pinus mugo* rastúcich na substrátovo extrémnych extrazonálnych stanovištiach, čo v našom prípade predstavuje lokalita Medzi Bormi. Výskyt introgresantov s prebiehajúcou medzidruhovou hybridizáciou na lokalite Habovka, kde je už na prvý pohľad markantne vysoký počet introgresantov. Potvrdzujú to aj nami získané výsledky. Uvedené zistenia sú v určitej paralele aj z výsledkami morfometrických analýz, kde sme zistili vysoký počet hybridných jedincov na základe zakrivenia vyvíjajúcich sa makrostrobilov typických pre jeden druh a vetvenia typického pre druhý druh v rámci jedného hybridného jedinca. Genetická štruktúra každého hybridného roja odzrkadľuje jeho individuálny vývoj v čase. Pre populácie s vysokým podielom introgresantov je známe, že práve introgresanti sa môžu voľne krížiť. Medzi introgresantami dochádza k rozpadu reprodukčných izolačných bariér, na základe čoho sa môžu krížiť nielen medzi sebou, ale aj rodičovskými druhmi navzájom /11, 12/. Na základe uvedeného postulátu sa dá pre lokalitu Habovka predpokladať zvýšený počet hybridných jedincov heterogénnych haplotypov cpDNA embryí a rodičovských stromov. Jedince na

lokalite Habovka predstavujú taxonomicky najbližší možný prechod k taxónu *P. rotundata*, resp. *Pinus uncinata subsp. uliginosa*.

LITERATÚRA

- /1/ Anderson, E., Hubricht, L.: Hybridization in Tradescantia. III. The evidence for introgressive hybridization. In *Am. J. Bot.*, 25, 1938: 396-402.
- /2/ Businsky, R.: Taxonomic essay in the *Pinus mugo* complex and its hybrid populations. *Acta Průhoniana*, 68, 1999: 123-143
- /3/ Brügger, C. G.: Mittheilungen über neue und kritische Pflanzenformen. Erste Serie. In Jahresbericht Naturwissenschaftlicher Gesellschaft Graubündens, 29, 1886: 49-178.
- /4/ Christ, H.: Beiträge zur Kenntnis europäischer Pinus – Arten. III. Die Formen der *Pinus sylvestris* des Ober-Engadins (Ctn. Graubünden). In *Flora*, 22, 1864: 147-160.
- /5/ Kormuťák, A., Ostrolucká, M., Vooková, B., Preťová, A., Fečková, M.: Artificial hybridization of *Pinus sylvestris* L. and *Pinus mugo* Turra. In *Acta Biologica Cracviensia Series Botanica*, 47 (1), 2005: 129-134.
- /6/ Mirov, N. T.: The genus *Pinus*. The Ronald Press Company, New York, 1967
- /7/ Murray, M. G., Thompson, W. F.: Rapid isolation of high molecular DNA. *Nucleic Acid Res* 8, 1980: 4231-4235
- /8/ Neet-Sarqueda, C., Plumettaz-Clot, L. A. C., Bécholey, L.: Mise en évidence de l'hybridation introgressive entre *Pinus sylvestris* L. et *Pinus uncinata* DC. En Valais (Suisse) par deux méthodes multivariées. In *Botanica Helvetica*, 98, 1988: 161-169.
- /9/ Parducci, L., Szmidi, A.: PCR- RFLP analysis of cpDNA in the genus *Abies*. In *Theoretical and Applied Genetics*. 98 (5), 1999: 802-808.
- /10/ Stebbins, G. L.: *Variation and Evolution in Plants*. New York: Columbia University Press, 1950.
- /11/ Wachowiak, W., Celinski, K., Prus-Glowacki, W.: Evidence of natural reciprocal hybridisation between *Pinus uliginosa* and *P. sylvestris* in the sympatric population of the species. In *Flora*, 200, 2005: 563-568.
- /12/ Wachowiak, W., Prus-Glowacki, W.: Hybridisation processes in sympatric populations of pines *Pinus sylvestris* L., *P. mugo* Turra and *P. uliginosa* Neumann. In *Plant Syst. Evol.* 271, 2008: 29-40.

PodĎakovanie

Táto práca bola podporená projektom grantovej agentúry VEGA, projekt číslo 2/0063/17 a projektom COST Action, FP 1403.

ODEZVA IZOLOVANÝCH CHLOROPLASTŮ *LEMNA MINOR* (L.) NA DIKLOFENAK

RESPONSE OF ISOLATED CHLOROPLASTS OF LEMNA MINOR TO DICLOFENAC

Markéta Hájková, Marie Kummerová, Štěpán Zezulka

Masarykova univerzita Brno, Přírodovědecká fakulta, Ústav experimentální biologie – oddělení fyziologie a anatomie rostlin, Kotlářská 2, 611 37 Brno, hajkova.marketa@email.cz

Summary

Results coming from the assessment of the effect of increasing concentration of diclofenac (1, 10, 100 a 1000 μM) on suspension of isolated duckweed (*Lemna minor*) chloroplasts proved a decrease in values of potential and effective quantum yields of chlorophyll fluorescence and non-photochemical quenching (F_V/F_M by 27%, F_{II} by 44%, q_N , by 6% compared to control) and increase in basal fluorescence level (F_0 , by 2% compared to control) only when exposed to DCF 1000 μM . Hill reaction activity of isolated duckweed chloroplasts was significantly inhibited only at DCF 100 μM and especially 1000 μM . The results show that a higher than environment treatment of diclofenac simulating chronic (or high acute) effects may have a negative impact on biochemical and physiological processes at *Lemna minor*. They also illustrate the need for multi-level drug testing, because of lower sensitivity of standardized ecotoxicity tests.

Key words: Lemna minor, diclofenac, suspension of chloroplasts, Hill reaction activity, chlorophyll fluorescence

Souhrn

Z hodnocení vlivu zvyšující se koncentrace diklofenaku (1, 10, 100 a 1000 μM) na suspenzi izolovaných chloroplastů vyplývá, že k významnému snížení hodnot maximálního a efektivního kvantového výtěžku fluorescence chlorofylu (F_V/F_M o 27 %, F_{II} o 44 % ve srovnání s kontrolou), zvýšení hodnoty základní fluorescence (F_0 o 2 % ve srovnání s kontrolou) a snížení hodnoty nefotochemického zhášení fluorescence (q_N , o 6 % ve srovnání s kontrolou) došlo pouze při působení 1000 μM DCF. Aktivita Hillovy reakce izolovaných chloroplastů okřehku byla významně inhibována pouze 100 μM a 1000 μM DCF. Výsledky dokládají, že při simulaci chronického (či vysokého akutního) zatížení diklofenakem dochází u *Lemna minor* k negativním dopadům na biochemické a fyziologické procesy. Zároveň ilustrují potřebu testovat léčiva na více úrovních, jelikož standardizované testy mají nižší citlivost.

Klíčová slova: Lemna minor, diklofenak, suspenze chloroplastů, aktivita Hillovy reakce, fluorescence chlorofylu

ÚVOD

Životní prostředí je stále intenzivněji kontaminováno pseudopersistentními polutanty – léčivy. Riziko spojené s jejich následnou bioakumulací ve vodním prostředí skrze odpadní vody a kaly /1/ dopadá na necílové organismy /2/. K jednomu z monitorovaných nesteroidních analgetik, které je hojně detekováno v prostředí v důsledku nedostatečné degradace v čistírnách odpadních vod, patří diklofenak. Zatížení diklofenakem v odpadních vodách České republiky pokrývá poměrně široké spektrum řádově v $\mu\text{g/l}$ /3/. Koncentrace aplikované v této studii tak odpovídají vysokému – chronickému – stupni zatížení prostředí.

Cílem studie bylo posoudit vliv zvyšující se koncentrace (1, 10, 100 a 1000 μM) diklofenaku na fluorescenci chlorofylu a aktivitu Hillové reakce izolovaných chloroplastů modelové rostliny okřehku menšího (*Lemna minor* L.), jakožto ukazatele přítomnosti stresoru.

MATERIÁL A METODY

Rostliny okřehku menšího (*Lemna minor* L.; Německo) byly kultivovány v řízených podmínkách (teplota 22 ± 2 °C, relativní vzdušná vlhkost 60 %, ozáření 150 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, fotoperioda 12/12) ve skleněných kádinkách (600 ml) ve Sternbergově živném médiu (SM; pH 5.5 ± 0.2). Jednotlivé koncentrace (1, 10, 100 a 1000 μM) diklofenaku (DCF, Sigma-Aldrich, USA) byly připraveny ze zásobního roztoku (DCF byl rozpuštěn v acetonu (čistota $\geq 98,5\%$) v poměru 1: 1 (w: v) a dodáván do destilované vody za získání 50 mM zásobního roztoku). Příprava suspenze izolovaných chloroplastů probíhala podle Kummerové et al. /4/. Aktivita Hillové reakce byla měřena spektrofotometricky při 630 nm za použití UV-VIS spektrofotometru (Specord 205, Analytic Jena, Německo) a výsledky byly vyhodnoceny jako rychlost redukce DCIP (v %) chloroplastovou suspenzí během ozařování. Parametry fluorescence chlorofylu (F_V/F_M , Φ_{II} , NPQ) byly měřeny pomocí fluorometru Handy FluorCam (PSI, Česká republika) při pokojové teplotě (22 ± 2 °C). Pro vyhodnocení výsledků byla použita jednocestná analýza rozptylu (ANOVA) a Tukey HSD test při $P < 0.05$.

VÝSLEDKY A DISKUSE

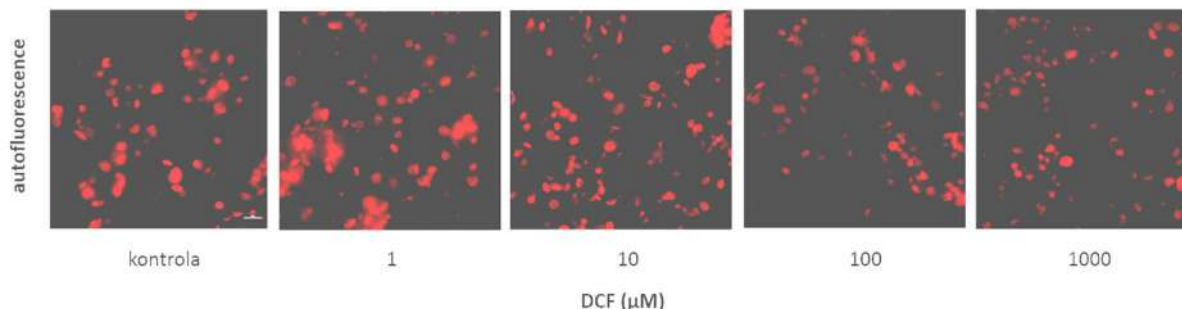
Účinek chronické expozice nízkými či vyššími dávkami diklofenaku na necílové organismy včetně rostlin zůstává téměř neznámý. Tato studie se zabývá otázkou, zda léčiva ovlivňují biochemické a fyziologické procesy probíhající na membránách chloroplastů. Budou i v případě léčiv inaktivovány primární procesy fotosyntézy spojené s fotosystémem II (PSII) podobně jako u řady jiných stresorů?

*Tab. 1: Vybrané parametry fluorescence chlorofylu: základní fluorescence (F_0), maximální kvantový výtěžek PSII (F_V/F_M), efektivní kvantový výtěžek PSII (Φ_{II}), relativní pokles fluorescence chlorofylu (Rfd) a nefotochemické zhášení fluorescence (NPQ) izolovaných chloroplastů *Lemna minor* bez (kontrola) a s diklofenakem (1, 10, 100 a 1000 μM) po 10 minutách. Statistické hodnocení jako u Obr. 2.*

DCF (μM)	F_0 (a.u.)	F_V/F_M	Φ_{II}	Rfd	q_N
0	328.8 ± 34.1^a	0.357 ± 0.005^a	0.130 ± 0.006^a	0.079 ± 0.003^{ab}	0.053 ± 0.012^{ab}
1	334.6 ± 28.9^a	0.367 ± 0.009^a	0.137 ± 0.008^{ab}	0.078 ± 0.005^a	0.055 ± 0.013^{ab}
10	340.2 ± 26.8^{ab}	0.365 ± 0.007^a	0.140 ± 0.004^b	0.080 ± 0.003^{ab}	0.037 ± 0.008^a
100	344.3 ± 26.7^{ab}	0.357 ± 0.005^a	0.131 ± 0.002^{ab}	0.081 ± 0.002^{ab}	0.043 ± 0.009^a
1000	391.7 ± 32.9^b	0.251 ± 0.007^b	0.064 ± 0.005^c	0.085 ± 0.002^b	0.072 ± 0.013^b

V rámci této studie došlo u izolovaných chloroplastů k signifikantním změnám u všech měřených parametrů fluorescence chlorofylu při aplikaci 1000 μM DCF (Tab. 1, Obr. 1) po 10 minutách expozice. Ke zvýšení F_0 obvykle dochází v důsledku reverzibilní inaktivace PSII způsobené mimo jiné organickými stresory /5/. Zatímco při několikanásobně nižším zatížení

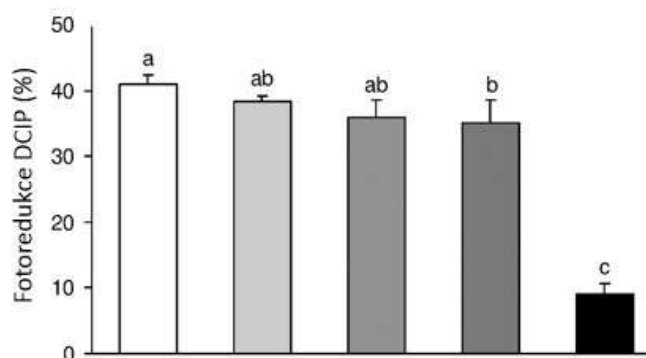
(0,1, 10 a 100 $\mu\text{g/l}$) u intaktních rostlin okřehku byl zaznamenán jen nepatrný účinek DCF na PSII (F_v/F_m , Φ_{II} , NPQ, Rfd) /6/.



Obr. 1: Vizualizace autofluorescence izolovaných chloroplastů *Lemna minor* vystavených působení diklofenaku (DCF, 0, 1, 10, 100 a 1000 μM). Úsečka představuje 10 μm .

Snížení maximálního (F_v/F_m) a efektivního (Φ_{II}) kvantového výtěžku PSII, který souvisí s kapacitou a efektivitu transportu elektronů v PSII, indikuje reakci rostlin, respektive chloroplastů, na zátěž /5/. Absolutní hodnoty F_v/F_m a Φ_{II} jsou u izolovaných chloroplastů nižší než u intaktních rostlin. V souladu s prací Kummerové et al. /5/ tyto výsledky potvrdily, že DCF v ekologicky relevantních koncentracích nevykazoval téměř žádný významný přímý inhibiční účinek na složky PSII, ani na procesy doprovázející elektronový transportní řetězec v tylakoidních membránách izolovaných chloroplastů. Dokonce ani po prodloužení doby expozice u varianty 1000 μM DCF nedošlo k přímému narušení transportního řetězce elektronů mezi fotosystémy II a I.

Na rozdíl od nynějších výsledků docházelo u intaktních rostlin okřehku vystavených působení DCF (0,1, 10 a 100 $\mu\text{g/l}$) po dobu 10 dnů k významným změnám v hodnotách nefotochemického zhášení (Rfd) /6/. Předpokládáme, že mechanismus narušení řetězce přenosu elektronů může být podobný mechanismu způsobenému PAHs /7/ a může být spojen s výskytem potenciálních transformačních produktů DCF (např. 4'-hydroxydiklofenak).



Obr. 2: Rychlost fotoredukce DCIP (v % po 10 minutách inkubace) suspenze chloroplastů *Lemna minor* vystavených působení diklofenaku (DCF, 0, 1, 10, 100 a 1000 μM). Data představují průměr alespoň pěti opakování. Směrodatné odchylky jsou označeny chybovými úsečkami. Písmena značí statisticky významné rozdíly při $P < 0.05$ (ANOVA, Tukey HSD range test).

Otázkou je, zda další reakce ve PSII představují možný cíl léčiv. Obrázek 2 ukazuje změny v aktivitě Hillovy reakce izolovaných chloroplastů okřehku. Značný rozdíl v množství

redukovaného syntetického akceptoru elektronů DCIP (2,6-dichlorindofenol) byl zaznamenán u 100 μM a zejména 1000 μM DCF (o 3 %, respektive 73 %). Tato skutečnost naznačuje možnou vyšší akutní citlivost tohoto konkrétního fotosyntetického procesu na přítomnost léčiv v prostředí ve srovnání s parametry fluorescence chlorofylu

Expozice vysokými koncentracemi DCF (100 a 1000 μM) ovlivnila aktivitu Hillovy reakce (Obr. 2), která může být způsobena oxidativním stresem narušujícím funkci membrán. K významným změnám ve funkci fotosystému II odrážejících se v parametrech fluorescence chlorofylu docházelo pouze u varianty 1000 μM DCF.

Tato studie ukazuje, že se akutní vyšší koncentrace léčiv v prostředí simulující chronické efekty mohou podílet na inhibici produkce kyslíku a účinnosti fotosyntézy, což nakonec může vést až k omezení růstu a produkce rostlin.

LITERATURA

- /1/ Kümmerer, K.: The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use - present knowledge and future challenges. *Journal of environmental management*, 90 (8), 2009: 2354-2366.
- /2/ Zhang, D. Q., Gersberg, R. M., Ng, W. J., Tan, S. K.: Removal of pharmaceuticals and personal care products in aquatic plant-based systems: A review. *Environmental Pollution*, 184, 2014: 620-639.
- /3/ Vymazal, J., Dvořáková Březinová, T., Koželuh, M., Kule, L.: Occurrence and removal of pharmaceuticals in four full-scale constructed wetlands in the Czech Republic – the first year of monitoring. *Ecological Engineering*, 98, 2017: 354-364.
- /4/ Kummerová, M., Krulová, J., Zezulka, Š., Tříška, J.: Evaluation of fluoranthene phytotoxicity in pea plants by Hill reaction and chlorophyll fluorescence. *Chemosphere*, 66, 2006: 489-496.
- /5/ Mallakin, A., Babu, T. S., Dixon, D. G., Greenberg, B. M.: Sites of toxicity of specific photooxidation products of anthracene to higher plants: Inhibition of photosynthetic activity and electron transport in *Lemna gibba* L. G-3 (Duckweed). *Environmental Toxicology*, 17, 2002: 462-471.
- /6/ Kummerová, M., Zezulka, Š., Babula, P., Tříška, J.: Possible ecological risk of two pharmaceuticals diclofenac and paracetamol demonstrated on a model plant *Lemna minor*. *Journal of Hazardous Material*, 302, 2016: 351-361.
- /7/ Zezulka, Š., Kummerová, M., Babula, P., Váňová, L.: *Lemna minor* exposed to fluoranthene: Growth, biochemical, physiological and histochemical changes. *Aquatic toxicology*, 140-141, 2013: 37-47.

Poděkování

Uvedená práce vznikla v rámci projektu GAČR I 3046-N28.

VZŤAH MEDZI SEZÓNNOU DYNAMIKOU NÁRASTU OBVODOU KMEŇOV MLADÝCH JEDINCOV JEDLE BIELEJ A VARIABILITOU POČASIA V R. 2016

THE LINK BETWEEN INTRA-ANNUAL STEM CIRCUMFERENCE INCREASE AND WEATHER VARIABILITY DURING 2016 IN YOUNG EUROPEAN SILVER FIR TREES

Marek Ježík¹, Dušan Gömöry², Ľubica Ditmarová¹

¹ Ústav ekológie lesa SAV, L. Štúra 2, 960 53 Zvolen, Slovenská republika, jezik@savzv.sk

² Lesnícka fakulta TU vo Zvolene, T. G. Masaryka 24, 960 53 Zvolen, Slovenská republika

Summary

Seasonal dynamics of daily stem circumference increase (SCI) of young silver fir trees was studied during 2016 season. At the beginning and to the end of the growing season, low-frequency SCI was closely correlated with day length. The low-frequency part of SCI, associated with processes of new tree ring formation, correlated mainly with temperature during high soil water potential (Ψ_w) among meteorological variables. Precipitation deficit and decreased Ψ_w seem to influence low frequency SCI dynamics during June and July. The high frequency part of the signal was linked mainly with precipitation. Spectral analysis of SCI daily values allowed us to analyze the influence of individual factors in more detail.

Key words: European silver fir, stem circumference increase, weather variability

Súhrn

Počas sezóny 2016 sme sledovali dennú dynamiku nárastu obvodov kmeňov (SCI) mladých jedincov jedle bielej. Na začiatku a v závere sezóny dynamika formovania SCI tesne korelovala predovšetkým s dĺžkou dňa. Nízko-frekvenčná zložka SCI, spájaná s procesom formovania ročného kruhu, korelovala počas vysokého vodného potenciálu pôdy (Ψ_w) spomedzi meteorologických faktorov predovšetkým s teplotou. Zrážkový deficit a pokles Ψ_w , zdá sa ovplyvnili sezónnu dynamiku nízko-frekvenčnej zložky SCI počas júna a júla. Vysokofrekvenčná zložka signálu bola spojená predovšetkým s variabilitou zrážkových udalostí. Spektrálna analýza denných hodnôt SCI umožňuje detailnejšiu analýzu vplyvov jednotlivých faktorov.

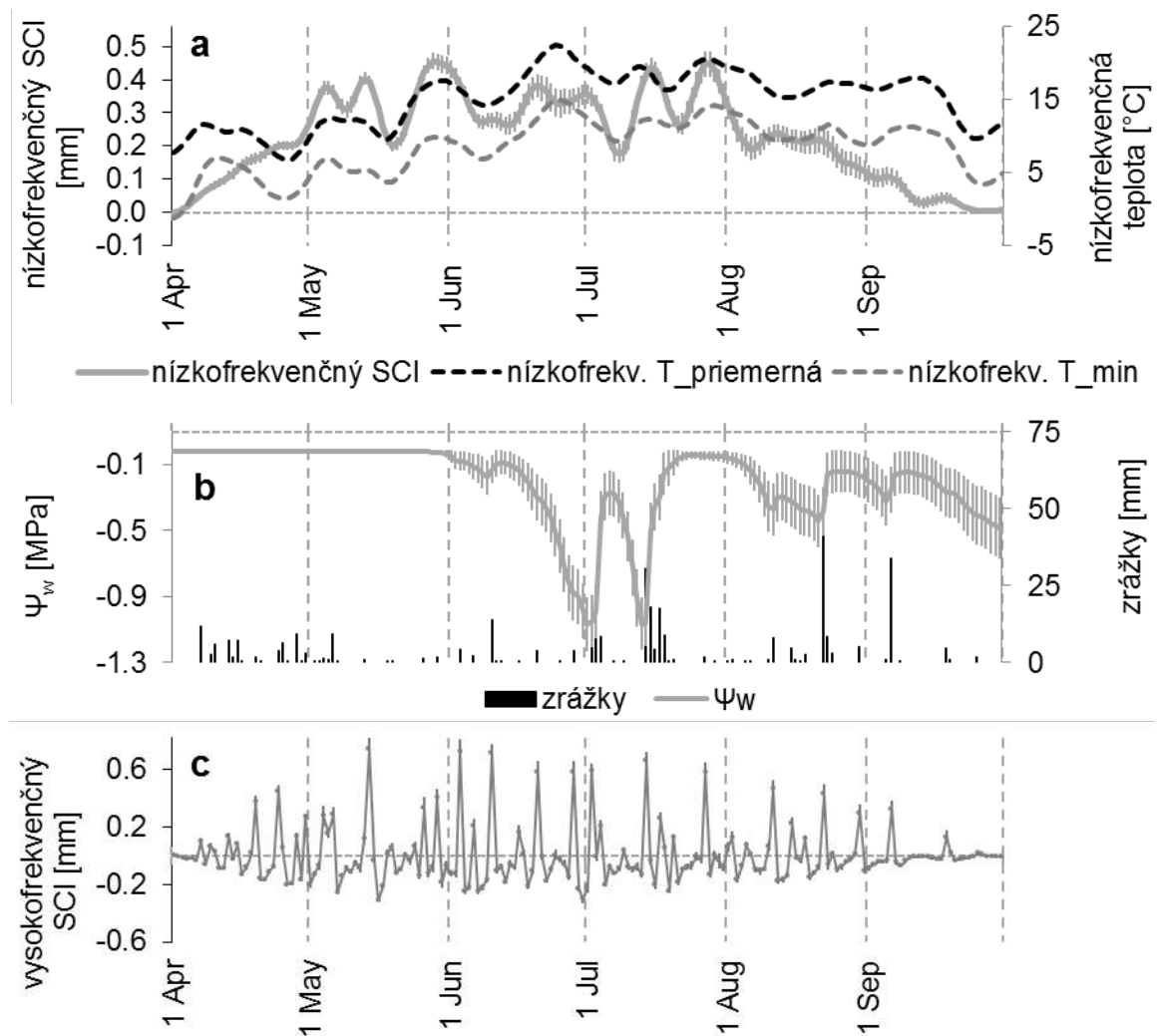
Kľúčová slová: jedľa biela, nárast obvodov kmeňov, variabilita počasia

ÚVOD

Jedľa biela (*Abies alba* Mill.) je jedna z najproduktívnejších a ekologicky najhodnotnejších pôvodných európskych drevín, študovaná aj s ohľadom na jej chradnutie, ktoré sa periodicky vyskytovalo v areáli jej prirodzeného rozšírenia [1]. V súčasnosti narastá význam poznávania odozvy jednotlivých druhov a ich schopností prispôbovať sa novým environmentálnym podmienkam vyplývajúcim z prebiehajúcich klimatických zmien. Z uvedených dôvodov sme v r. 2016 sledovali vzťahy medzi sezónnou dynamikou nárastu obvodov kmeňov (SCI) mladých jedincov jedle bielej a variabilitou počasia.

MATERIÁL A METÓDA

Štúdia prebiehala na provenienčnej ploche (390 m n.m.) jedle bielej (*Abies alba* Mill.) situovanej severovýchodnej časti Slovenska neďaleko obce Hertník. Počas sezóny 2016 sme v rámci 5 proveniencií vybrali 6 jedincov (celkovo 30 jedincov) pre merania sezónnej dynamiky zmien obvodov kmeňov. Merané stromy mali vek na jar 2016 vek 16 rokov. Obvody kmeňov (automatické dendrometre DRL 26 pre malé kmene, EMS Brno) boli zaznamenávané kontinuálne v 20 min. intervaloch. Denné nárasty obvodov kmeňov (SCI) boli vypočítané z hodinových priemerov o 6h 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 boli filtrované s použitím 13 dní dlhých Hammingových filtrov pre extrakciu vysoko- a nízko-frekvenčného spektra.



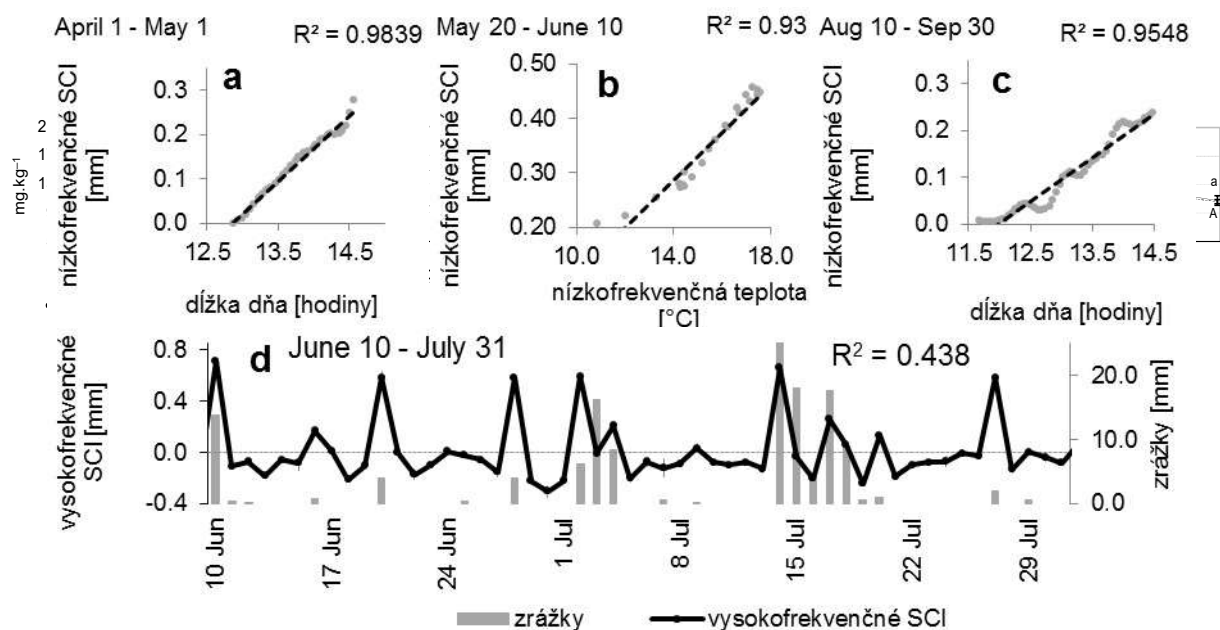
Obr. 1: Sezónny priebeh nízko-frekvenčných denných SCI a nízko-frekvenčných priemerných a minimálnych denných teplôt (a), denných úhrnov zrážok a priemerného vodného potenciálu pôdy (b) a vysokofrekvenčných denných SCI (c). Vertikálne čiary reprezentujú 95% intervaly spoľahlivosti.

V tejto štúdii sme použili priemerné krivky pre všetkých 30 stromov keďže sme zaznamenali rovnaký synchronný priebeh všetkých proveniencií poukazujúci na environmentálnu kontrolu tejto charakteristiky.

Na voľnej ploche v rámci provenienčnej plochy sme merali slnečnú radiáciu, teplotu vzduchu, vlhkosť vzduchu a úhrny zrážok. Merania vodného potenciálu pôdy (Ψ_w) prebiehali na každej mikroploche v 15, 30 a 50 cm hĺbke (kontinuálne do -1.44 MPa, s použitím sádrových bločkov (Delmhorst Inc., USA)) a zároveň na 2 mikroplôškach pri meteo meraniach. Celkovo bolo použitých 36 sádrových bločkov, 12 pre každú hĺbku.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Celkovo bolo vegetačné obdobie (apríl – september) 2016 teplotne nadnormálne (+1.9°C), a zrážkovo deficitné (76% z dlhodobého priemeru) s najväčšími odchýlkami teplôt v mesiacoch apríl a jún (Obr. 1a, +2.6°C) a zrážkovo deficitnými mesiacmi máj a jún (Obr. 1b, 43 resp. 28% z dlhodobého priemeru) a približne 1. polovica júla, čo sa prejavilo na poklese hodnôt vodného potenciálu pôdy až k -1.00 MPa na prelome júna - júla a k polovici júla. Nízko-frekvenčný signál SCI reprezentujúci predovšetkým prírastkové procesy v rámci tvorby nového ročného kruhu /5, 6/ na začiatku a ku konci sezóny tesne koreloval s fotoperiódou (Obr. 1a, 2a, c) čo je zrejme spojené s vnútornými faktormi súvisiacimi s hormónmi a rastovými regulátormi. Sezónna nízko-frekvenčná zložka SCI prudko začala stúpať na rozdiel od 2015 /7/ už začiatkom apríla, čo pravdepodobne súviselo s vyššou teplotou a následne bola synchronizovaná s teplotou približne do konca 1. júnovej dekády (Obr. 1a, 2b).



Obr. 2: Vzájomné vzťahy medzi nízko-frekvenčným SCI a dĺžkou dňa počas obdobia 1. apríl-1. máj (a) a 10. august – 30. september (c), a medzi nízko-frekvenčným SCI a nízko-frekvenčnou priemernou dennou teplotou (b) v období 20. máj-10. jún. Priebeh a vzájomný vzťah medzi vysokofrekvenčným SCI a zrážkami (c) v období 10. jún – 31. júl.

Predovšetkým každé výraznejšie ochladenie sa manifestovalo na poklese nízko-frekvenčného SCI. Približne v polovici júna začala byť synchronizácia nízko-frekvenčných signálov teploty a SCI narúšaná deficitom zrážok a s tým súvisiacimi poklesmi Ψ_w , keďže rast jedle sa zdá byť senzitivnejší k vodnému stresu počas leta v porovnaní s bukom /9/, ktorý reaguje na takéto poklesy zníženým SCI /6/. Napriek rozdielnemu rytmu počas sezón 2015 /7/ a 2016 sme zaznamenali prakticky rovnaký sezónny nárast obvodu. Sezónne zmeny obvodu

kmeňov jedle bielej sledovali /3/ a /8/. Sezónnou dynamikou formovania xylému a floému jedle bielej sa zaoberali /4/, ktorí konštatujú užšie prepojenie dynamiky formovania xylému s vonkajšími environmentálnymi faktormi ako v prípade floému.

Vysokofrekvenčný signál SCI predstavuje náhle zmeny nárastu obvodu. Pozitívne hodnoty vysokofrekvenčného SCI boli spojené predovšetkým so zrážkovými udalosťami (Obr. 1b, c, 2d), najmä keď po dňoch bez zrážok nasledovala zrážková udalosť čo je v súlade s prácami /2, 5 a 6/. Rozdelenie pôvodného signálu SCI na nízko- a vysoko-frekvenčnú zložku uľahčuje identifikáciu a interpretáciu environmentálnych vplyvov na jeho dynamiku.

LITERATÚRA

- /1/ Bošefa, M., Petráš, R., Sítková, Z., Priwitzer, T., Pajčík, J., Hlavatá, H., Sedmák, R., Tobin, B. : Possible causes of the recent rapid increase in the radial increment of silver fir in the Western Carpathians. *Environmental Pollution*, 184, 2014: 211–221.
- /2/ Duchesne, L., Houle, D.: Modeling day to day stem diameter variation and annual growth of balsam fir (*Abies balsamea* (L.) Mill.) from daily climate. *Forest Ecology and Management*, 262, 2011: 863–872.
- /3/ Ďurský, J., Mozoľová, Z.: Dynamika hrúbkového rastu stromov horského lesa počas vegetačného obdobia. In CD: Perspectives of the ecological research in mountain forest ecosystems, ISBN 80-88853-45-1, Poľana 22.-25. Október 2001: p11.
- /4/ Gričar, J., Čufar, K.: Seasonal Dynamics of Phloem and Xylem Formation in Silver Fir and Norway Spruce as Affected by Drought. *Russian Journal of Plant Physiology*, 55, 2008: 597–603.
- /5/ Ježík, M., Blaženec, M., Střelcová, K.: Intraseasonal stem circumference oscillations: their connection to weather course. *Folia Oecologica*, 34, 2014: 105–115.
- /6/ Ježík, M., Blaženec, M., Kučera, J., Střelcová, K., Ditmarová, E.: 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/ifer1829-009.
- /7/ Ježík, M., Blaženec, M., Ditmarová, E.: Vzťah medzi sezónnou dynamikou nárastu obvodu kmeňov mladých jedincov jedle bielej a variabilitou počasia v r. 2015. The link between intra-annual stem circumference increase and weather variability during 2015 in young European silver fir trees. Influence of abiotic and biotic stresses on properties of plants 2016, proceedings of scientific articles, ÚEL SAVZvolen a ČZU Praha, 2016: 157–160.
- /8/ Knott, R.: Seasonal Dynamics of the diameter increment of fir (*Abies alba* Mill.) and beech (*Fagus sylvatica* L.) in a mixed stand. *Journal of Forest Science*, 50, 2004: 149–160.
- /9/ Maxime, C., Dendrik, D.: Effects of climate on diameter growth of co-occurring *Fagus sylvatica* and *Abies alba* along an altitudinal gradient. *Trees*, 25, 2011: 265–276.

PodĎakovanie

Táto práca sa zrealizovala s finančnou podporou projektov APVV 0436/10, APVV 0480/12, APVV 0135/12, APVV 0306/16 a VEGA 0034/14.

PŔVODCOVIA POŠKODENIA DREVÍN V ARBORÉTE MLYŇANY SAV V ROKOCH 1965 -2017

IMPACT WOODY PLANT DAMAGING AGENTS IN ARBORTUM MLYŇANY SAS IN 1965 -2017

Gabriela Juhásová¹, Katarína Adamčíková², Emília Ondrušková²

¹ Slovenská Moskovská 32, 949 01 Nitra, súdny znalec, bývalá samostatná vedecká pracovníčka ÚEL SAV, juhasova.gabriela@savzv.sk

² Ústav ekológie lesa SAV Zvolen, Pobočka biológie drevín Nitra, Akademická 2, 949 01 Nitra, katarina.adamcikova@savzv.sk, ondruskova@savzv.sk

Summary

The research of microscopic fungi causing damage on woody plants in Arboretum Mlyňany SAS began in 1965. The aim of this research was to determine the possible introduction of microscopic parasitic fungi together with their hosts from different parts of the world. Within the woody plants collection approximately 2200 taxa have been found, that were cultivated for the first time in Slovakia. In the first stage the microscopic fungi causing damage on broadleaved woody plants as *Prunus*, *Rhododendron*, *Skimmia*, *Mahonia*, *Mahoberberis*, *Berberis*, *Magnolia* were detected. Within coniferous ones the pathogens on *Juniperus*, *Thuja* and *Pinus* were studied. A special interest has been given to pathogens of *Castanea sativa*. The host spectrum has been extended and detailed evaluations have been carried out after the new workplace in Nitra (IFE SAS, Branch for Woody Plants Biology) establishment. Besides morphological assessment the pathogens have been identified and studied also on molecular level.

Key words: Arboretum Mlyňany, introduced woody plants, fungi

Súhrn

Výskum pôvodcov poškodenia drevín mikroskopickými hubami v Arboréte Mlyňany SAV sa začal v roku 1965. Cieľom výskumu bolo zistiť, či sa s introdukovanými drevinami z rôznych častí sveta dovezli s hosťiteľskými drevinami aj pôvodcovia poškodenia. V kolekcii cca 2200 taxónov sa vyskytovali dreviny, ktoré sa na Slovensku pestovali prvýkrát. V prvej etape sme zaznamenali pôvodcov poškodenia listnatých drevín rodov *Prunus*, *Rhododendron*, *Skimmia*, *Mahonia*, *Mahoberberis*, *Berberis*, *Magnolia* z ihličnatých drevín boli zastúpené rody *Juniperus*, *Thuja*, *Pinus*. Podrobne sme sa venovali pôvodcom poškodenia *Castanea sativa*. Po vzniku nového pracoviska v Nitre (ÚEL SAV Zvolen) sa rozsah pozorovaných drevín rozšíril a pôvodcovia poškodení boli okrem morfológieho posúdenia analyzované aj na úrovni molekulárnej biológie.

Kľúčová slová: Arborétum Mlyňany, introdukované dreviny, huby

ÚVOD

Zbierka drevín v Arboréte Mlyňany SAV je zameraná na stále zelené listnaté dreviny a introdukované listnaté opadavé dreviny. Táto kolekcia drevín je najbohatšou zbierkou nielen na Slovensku, ale aj v Strednej Európe. Podľa inventarizácie zbierky drevín sa v Arboréte Mlyňany /1/ nachádza 1107 druhov, 11 poddruhov, 18 variet, 18 foriem, 617 kultivarov z 83 čeľadí, a 235 rodov. Významnú časť zbierky predstavujú listnaté stálezelené dreviny,

ihličnaté dreviny a opadavé listnaté dreviny. Optimálne podmienky pre rast a vývoj drevín sú zabezpečené nielen vhodnými pestovateľskými postupmi, ale aj inventarizáciou pôvodcov ich poškodenia. Dobrý zdravotný stav a realizácia ochranných opatrení sa môže zabezpečiť, ak sú známe príčiny poškodenia. V arborétach, botanických záhradách, parkoch a iných dendrologických zbierkach spôsobujú veľké škody predovšetkým huby. Cieľom výskumu bolo zistiť zdravotný stav introdukovaných drevín s ohľadom na poškodenie spôsobené hubovými patogénmi.

MATERIÁL A METÓDY

Pri inventarizácii škodlivých činiteľov sme postupovali tak, že sme odobrali vzorky z drevín, na ktorých sme našli výrazné zmeny oproti zdravým rastlinám. Podľa symptómov poškodenia hostiteľských drevín (farebné zmeny, rany, škvrnitosti na listoch, múčnaté povlaky, prítomnosti reprodukčných orgánov húb, pyknídy, chasmotéciá) sme odbrali vzorky na ďalšie laboratórne spracovanie.

Fytopatologické hodnotenie drevín sme pravidelne realizovali aj v škôlkach, kde sa pestovali dreviny na novú výsadbu. Zbierka drevín v Arboréte Mlyňany sa rozširovala o druhy, ktoré sa v škôlkach dopestovali priamo dovozom semenáčikov, sadeníc a semien, ktoré sa získali výmenou cez Index Seminum alebo priamo zberom z expedícií (Kaukaz, Čína, Severná Kórea) a z významných botanických záhrad a dendrologických zbierok u nás a v zahraničí.

V laboratórnych podmienkach boli vzorky vyhodnotené pomocou svetelnej mikroskopie binokulárnym mikroskopom Olympus BX 51. Na analýzu biometrických charakteristík fruktifikačných útvarov sme použili softvér QuickMicroPhoto 2.3 v obraze prenesenom digitálnym fotoaparátom. V prípade, že spóry neboli pod mikroskopom viditeľné, pripravili sme vlhké komôrky. Odoberatý biologický materiál sme dali do sterilnej sklenenej Petriho misky s navlhčeným filtračným papierom. Vo vlhkom prostredí sa spóry z rastlinného materiálu rýchlejšie uvoľňovali, sporulovali.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Od roku 1965 doteraz sme diagnostikovali pôvodcov poškodenia, ktoré na hodnotenej lokalite boli opísané prvý raz a následne sa našli aj v dendrologických zbierkach na Slovensku. Výsledky inventarizácie pôvodcov poškodenia sme spracovali a postupne sme ich doplnili a publikovali /3, 4, 5, 6/. Biologický materiál je archivovaný v Plant Pathology Herbarium (NR) na Ústave ekológie lesa SAV, Pobočka biológie drevín v Nitre. V tabuľke 1 uvádzame najčastejšie huby, ktoré sme zaznamenali na hodnotenej lokalite.

Medzi dreviny poškodené vysokým stupňom poškodenia patria druhy rodu *Rhododendron*. Výsledky hodnotenia zdravoťem stavu sú vo viacerých prácach našich aj zahraničných autorov /2, 5, 6, 7/.

Mnohé ochorenia sledovaných druhov drevín boli pozorované v okolitých štátoch a následne sa o niekoľko rokov objavili aj u nás napríklad pôvodcovia múčnatiek *Erysiphe elevata* /8, 9/ alebo huba *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr., ktorá spôsobuje rakovinu kôry gaššana jedlého. Štúdiu rozšírenia aj možnosťam biologickej ochrany voči tejto parazitickej hube sme sa venovali niekoľko desaťročí, výsledky sú spracované vo viacerých monografiách /10, 11, 12/.

Otázkam ochrany rastlín v rámci EU sa venuje primeraná pozornosť. V rámci EPPO sa eviduje menný zoznam karanténnych škodlivých činiteľov. V členských štátoch EU musia mať dovážané rastliny tzv. fytosanitárny certifikát o zdravotnom stave drevín. Aj vďaka týmto medzinárodne platným opatreniam môžeme konštatovať, že sme nezaznamenali výskyt poškodeného sadbového materiálu v Arboréte Mlyňany. Diagnostikované mikroskopické

huby sa v arboréte vyskytovali v dôsledku ich prirodzeného rozšírenia prostredníctvom klimatických (vietor, dážď) alebo biotických vektorov (hmyz, vtáky).

Tab. 1: Mikroskopické huby pôvodcovia poškodenia na vybraných drevinách v Arboréte Mlyňany

Rod	Pôvodca ochorenia, poškodenia
<u>Berberis</u>	<i>Aecidium graveolens</i> Otth. <i>Septoria berberidis</i> Niessl <i>Microsphaera berberidis</i> (DC. ex Mérat) Lév. <i>Heterosporium berberidis</i> Ranoj <i>Phoma berberidicola</i> Vest. <i>Microsphaera berberidis</i> (DC ex Mérat) Lév. <i>Puccinia brachypodii</i> Otth. var. <i>arrenatheri</i> (Kleb.) Cummin et H. C. Greene <i>Phyllosticta berberidicola</i> Speg. <i>Mycosphaerella berberidis</i> (Auers.) Lindau
<u>Castanea</u>	<i>Cryphonectria parasitica</i> (Murr.) Barr <i>Cryptodiaporthe castaneae</i> (Tul.) Wehm. <i>Cytospora intermedia</i> Nitsche <i>Pseudovalsa modonia</i> (Tul.) Höhn. <i>Coryneum modonium</i> (Saci.) Grif. et Maubl. <i>Mycosphaerella maculiformis</i> (Pers.) Schröet. <i>Cylindrosporium castaneae</i> (Lév.) Krenner <i>Phomopsis castaneae</i> Voronin <i>Phyllosticta maculiformis</i> Sacc. <i>Phytophthora cambivora</i> (Petri) Buisman <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands <i>Valsa intermedia</i> Nitschke. <i>Diplodia</i> sp. <i>Discella castaneae</i> Sacc. <i>Libertella</i> sp.
<u>Juniperus</u>	<i>Phomopsis juniperovae</i> Hohn. <i>Gymnosporangium sabiniae</i> Wint. <i>Mycosphaerella juniperina</i> (Ell.) Tomilin <i>Lophodermium juniperi</i> (Grev.) Darker
<u>Magnolia</u>	<i>Macrosporium cladosporoides</i> Desm. <i>Colletotrichum magnoliae</i> Camara <i>Glomerella cingulata</i> (Stan.) Spauld. et Schrenk <i>Phyllosticta magnoliae</i> Sacc.
<u>Mahonia</u>	<i>Cumminsiiella sanguinea</i> (Pk.) Art. <i>Microsphaera berberidis</i> (DC. ex Mérat) Lév. <i>Phyllosticta mahoniae</i> Keissl. <i>Septoria mahoniae</i> Pass. <i>Hendersonia sarmentorum</i> f. <i>mahoniae</i> Hollós

Tab. 1 pokračování: Mikroskopické huby pôvodcovia poškodenia na vybraných drevinách v Arboréte Mlyňany

Rod	Pôvodca ochorenia, poškodenia
<u>Pinus</u>	<i>Diplodia pinea</i> (Desm.) Kick. <i>Cenangium ferruginosum</i> Fr. <i>Phacidium infestans</i> P. Karsten <i>Lophodermium pinastri</i> (Schrad.:Fr.) Chev. <i>Lophodermium seditiosum</i> Minter, Staley et Mill. <i>Mycosphaerella pini</i> R. Rostrup. <i>Sphaeropsis sapinea</i> (Desm) Dyko et Sutton
<u>Prunus</u>	<i>Valsa cincta</i> Fr. <i>Cytospora cincta</i> Sacc. <i>Coryneum beijerinckii</i> Oud. <i>Cryptocline phacidiella</i> (Grove) Arx
<u>Rhododendron</u>	<i>Phytophthora parasitica</i> Dast. <i>Pycnostysanus azaleae</i> (PK.) Mason. <i>Septoria azaleae</i> Vogl. <i>Pestalotiopsis quepini</i> (Desm.) Sutton <i>Guignardia philoprina</i> (Berk. et Curt.) Van der Aa. <i>Exobasidium rhododendri</i> Cram.
<u>Skimmia</u>	<i>Phomopsis skimmiae</i> Grove <i>Phyllosticta skimmiae</i> Gutner <i>Phytophthora parasitica</i> Rands. <i>Ascochyta skimmii</i> (Roum.) Sacc.
<u>Thuja</u>	<i>Pestalozzia funerea</i> Desm. <i>Armillaria mellea</i> (Vahl. et Kumm.) Fr. <i>Didymascella thujina</i> (E. J. Durand) Maire <i>Keithia thujina</i> E. J. Durand

LITERATÚRA

- /1/ Hořka, P., Barta, M.: Dreviny Arboréte Mlyňany SAV, Bratislava: VEDA Vydavateľstvo SAV, 2012: 132 s.
- /2/ Ferus, P., Hořka, P., Konôpková, J., Pastirčák, M., Majeská, M., Gubiš, J.: Zdravotný stav zbierky rododendronov v Arboréte Mlyňany ÚEL SAV: súčasnosť a vyhliadky do budúcnosti: Dendrologické dni v Arboréte Mlyňany SAV 2016: Zborník referátov z vedeckej konferencie, 2016: 76 – 81
- /3/ Juhásová, G., Hrubík, P.: Choroby a škodcovia cudzokrajných drevín na Slovensku. Acta dendrobiologica, 1984: 164 s.
- /4/ Juhásová, G.: Výsledky fytopatologického výskumu drevín v Arboréte Mlyňany. Lesnictví, 32, 1986: 505-514
- /5/ Juhásová, G., Hrubík, P., Adamčíková, K., Kobza, M., Ondrušková, E.: História ochrany rastlín v Arboréte Mlyňany SAV. Dendrologické dni v Arboréte Mlyňany SAV, 2009: 111 – 117
- /6/ Juhásová, G., Adamčíková, K., Kobza, M., Ivanová, E., Ondrušková, E., Pastirčáková, K., Kádasi-Horáková, M.: Budovanie výkumu fytopatologickej problematiky drevín Arboréte Mlyňany SAV, Dreviny vo verejnej zeleni 2013: 12 – 23
- /7/ Juhásová, G., Ondrušková, E., Adamčíková, K., Hořka, P.: Pôvodcovia poškodenia rododendronov. Zahradníctví 11, 2015:
- /8/ Vajna, L., Fischl, G., Kiss, L.: *Erysiphe elevata* (syn. *Microsphaera elevata*), a new North American powdery mildew fungus in Europe infecting *Catalpa bignonioides* trees. Plant Pathology, 2004:
- /9/ Pastirčáková, K., Pastirčák, M., Juhásová, G.: The *Catalpa* powdery mildew *Erysiphe elevata* in Slovakia. Cryptogamie Mycologie 27(1), 2006: 31-34
- /10/ Juhásová, G.: Hubové choroby gaštanu jedlého (*Castanea sativa* Mill.). VEDA Vydavateľstvo SAV, 1999:189

- /11/ Juhásová, G., Adamčíková, K., Kobza, M., Ondrušková, E.: Gaštan jedlý na Slovensku. Perspektívy jeho ochrany a pestovania. ÚEL SAV Zvolen. Pobočka biológie drevín Nitra, 2012:156
- /12/ Adamčíková, K., Kobza, M., Juhásová, G., Ondrušková, E., Bolvanský, M., Kádasi Horáková, M. Gaštan jedlý na Slovensku a v Európe: pestovanie, ochrana, variabilita a využitie. 1. vyd. Nitra : Garmond, 2014. 155 s.

Pod'akovanie

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory projektu VEGA 2/0069/14 a 2/0071/14.

VYKAZUJÍ ROSTLINY V MIKROKOSMECH VYŠŠÍ CITLIVOST VŮČI POLUTANTŮM NEŽ ROSTLINY V JEDNODRUHOVÝCH TESTECH EKOTOXICITY?

ARE PLANTS IN MICROCOSM EXPERIMENTS MORE SENSITIVITY TO POLLUTANTS THAN PLANTS IN STANDARD ECOTOXICITY TESTS?

Klára Kobetičová, Jitka Krejsová

České vysoké učení technické v Praze, Stavební fakulta, Katedra materiálového inženýrství a chemie, Thákurova 7, 166 29 Praha 6 – Dejvice, Klara.Kob@seznam.cz

Summary

Today, multi-species microcosms belong to modern methods of determining anthropogenic and natural stress on living organisms including plants. They always include at least one representative of producers, consumers and microbes. Using these methodologies, it is possible to study not only the influence of the stressor, but also the mutual interactions of the present organisms. Results from microcosm studies are therefore considered to be more relevant than those obtained from standard single species tests. This work is a review of papers focusing on comparing the response of plants used in multispecies assays and plants used in standard single-species laboratory tests.

Key words: microcosms, producers, ecotoxicity

Souhrn

Vícedruhové mikrokosmy dnes patří k moderním metodám stanovení antropogenního i přírodního stresu na živé organismy, včetně rostlin. Zahrnují vždy minimálně jednoho zástupce producentů, konzumentů a mikroorganismy. Pomocí těchto metodik lze tedy studovat nejen vliv stresoru, ale také vzájemné interakce přítomných organismů. Výsledky z mikrokosmových studií proto bývají brány za relevantnější než data získaná pomocí standardních testů s jedním druhem organismu. Tato práce je rešeršního charakteru a zaměřuje se na porovnání citlivosti rostlin používaných v mikrokosmových studiích a ve standardních jednodruhových laboratorních testech.

Klíčová slova: mikrokosmy, producenti, ekotoxicita

ÚVOD

Většina environmentálních norem je založena na použití jednodruhových testů toxicity pro studium efektů na živé organismy. I když tyto testy poskytují mnoho užitečných informací o růstu, úmrtnosti, reprodukční schopnosti a dalších důležitých parametrech, chybí zde realistický pohled na životní prostředí a neměří odpovědi na vyšší biologické úrovni organizace než jednodruhové. Organismy v přirozeném prostředí ovlivňuje nejen přítomnost polutantů a jejich koncentrace, ale také přítomnost jiných organismů a jejich vzájemný boj o prostor a živiny /1/.

Proto se od 80. let minulého století začaly rozvíjet a validovat metodiky zahrnující přítomnost více druhů a trofických skupin organismů v použitém systému. Obecně, do této skupiny systémů řadíme mesokosmy a mikrokosmy. Mesokosmy jsou většinou systémy *in-situ*, které umožňují reálnější simulaci dějů v okolním prostředí. Jedná se o ohrazené části rybníků, jezer, pobřežních ekosystémů, nebo o pokusné nádrže a toky /2/. Mesokosmy jsou

zjednodušené polní studie, které se díky svému uspořádání podobají reálným podmínkám a umožňují celkem dobře kontrolu experimentálních podmínek. Mikrokosmy jsou *in-situ* nebo *ex-situ* experimenty přizpůsobené pro přírodní nebo laboratorní podmínky - Standardized Aquatic Microcosms (SAM), Mixed Flask Culture (MFC), FIFRA Microcosm (ASTM, US EPA, OECD), Soil Core Microcosm – ASTM E1197-87 /2/.

Pokud se podíváme do jakékoliv online vědecké databáze (např. WoS, Scopus), pod pojmem mikrokosmos/mezokosmos se nám označí více než dvěstěčtyřicet příspěvků [3]. Většina těchto článků ale nepopisuje použití mikrokosmu, jak je definován pro ekotoxikologické účely v některé z výše uvedených norem. Po selekci na výzkumné články, ve kterých je environmentální problematika studována mimo jiné na nižších a vyšších rostlinách se dostaneme pouze k několika desítkám vědeckých prací. Těch, které se zabývají porovnáním výsledků z jednodruhových nebo vícedruhových systémů s producenty ve stejném časovém období, najdeme pouze kolem deseti /3/.

Tento příspěvek rozebírá studie dostupné z vědeckých databází nebo konferenčních příspěvků /4-12/. Za zájmové organismy byly vybrány všechny autotrofní rostliny (sladkovodní řasy, vodní makrofyta, suchozemské rostliny). Jednotlivé studie jsou zařazeny dle roku vzniku, aby byl vidět vývoj těchto metodik od roku 2003 do roku 2016.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Variabilita, opakovatelnost a síla statistické analýzy u rostlin *Myriophyllum* spp. v testech ekotoxicity /4/

V této studii byly použity druhy *Myriophyllum* spp., *Myriophyllum sibiricum* a *Myriophyllum spicatum* v outdoorové mikrokosmové studii, která trvala 3 až 6 týdnů a bylo zde sledováno celkem 10 endpointů. Růstové parametry byly ze statistického hlediska ty nejrelevantnější. Data byla srovnávána s daty z laboratorních experimentů. U druhu *Myriophyllum sibiricum* byla zjištěna nižší variabilita v endpointech, což naznačuje, že je u tohoto druhu možné používat menší množství opakování pro každou koncentraci. Data z mikrokosmové studie byla srovnatelná s daty z kontrolních laboratorních jednodruhových experimentů.

Efekty 8 farmaceutických směsí pro druhy *Lemna gibba* a *Myriophyllum sibiricum* v mikrokosmových testech /5/

Zde byl autory sledován vliv směsí osmi běžně používaných farmak (atorvastatin, acetaminofen, kofein, sulfamethoxazol, carbamazepin, levofloxacin, sertralin a trimethoprim). Použité koncentrace se pohybovaly v rozmezí od 0,044 po 24,538 $\mu\text{mol/L}$. Testy trvaly 35 dní a bylo zaznamenáno růst rostlin a množství chlorofylu. Výsledky byly vyjádřeny pomocí indexů toxicity (EC_{10} , EC_{25} a EC_{50}). Citlivost rostlin byla srovnatelná, zvyšovala se se zvyšující se koncentrací farmak ve vodě. Nicméně, vypočítaný rizikový quocient (HQ) byl pro oba druhy vyšší z dat získaných z jednodruhových testů. Jeho hodnoty se však vyskytovaly pod hodnotou 1, což indikuje nízký toxický potenciál kombinací těchto farmak pro mykrofyta ve vodním prostředí.

Porovnání růstu *Myriophyllum* spp. v laboratorních a polních experimentech pro ekotoxikologické testování /6/

Je všeobecně známo, že vyjadřování ekotoxicity sedimentu na organismech planktonních (řasy, okřehek) může vést k jejímu podhodnocení nebo nadhodnocení a proto bylo v této studii použito rostliny *Myriophyllum* spp. v laboratorním experimentu za decimovaných podmínek a v mezokosmu za přírodních podmínek. Čerstvá biomasa, délka hlavního kořene, délka postranních kořenů, totální délka rostlin a formování kořenů byly sledovanými endpointy. V obou typech experimentů byly získány podobné hodnoty s nízkou variabilitou dat.

Herbicidní efekty metazachlóru na okřehek (*Lemna minor* a *Spirodela polyrhiza*) v testech toxicity s různým trofickým statutem a komplexností /7/

V této studii byl použit modifikovaný standardizovaný mikrokosmos (*Lemna minor*) a rybníkový mezokosmos (*Spirodela polyrhiza*). Bylo zjištěno, že citlivost okřehekových organismů je podobná. V porovnání s dvouděložnými makrofyty jsou navíc jednoděložné okřešky citlivějšími, a proto vhodnějšími modelovými organismy v případě růstu.

Silné limity růstu plovoucího rostliny *Lemna gibba* díky submerzní rostlině *Elodea nuttallii* za laboratorních podmínek /8/

Mnohokrát byl prokázán vliv plovoucích rostlin na rostliny ponořené kvůli jejich schopnosti stínit vodní hladinu. Nebyl ale nikdy studován vliv opačný, tedy vliv ponořených rostlin na rostliny plovoucí na hladině. V této studii byl sledován vliv přítomnosti ponořených rostlin na jejich růst. Pokud bylo množství živin ve vodě dostatečné, obě rostliny profitovaly. V případě že bylo ve vodě živin málo, přítomnost druhu *Elodea* silně zredukovala množství druhu *Lemna gibba*. Tyto výsledky posilují teorii, že přítomnost ponořených rostlin může redukovat výskyt plovoucích rostlin.

Porovnání statického a průtokového mikrokosmového systému /9/

Kolektiv autorů v roce 1997 vyvinul stitický 2L sladkovodní mikrokosmos obsahující řasy, okřehek, pakomáry, dafnie a embrya žab v třítýdenním experimentu. Tento systém se osvědčil pro testování různých polutantů. O 17 let později vyvinuli průtokový mikrokosmos, ve kterém dochází k obměně kontaminované vody. Bylo potvrzeno, že v tomto systému dochází k lepší stabilizaci fyzikálně-chemických parametrů systému, k redukci variability a zlepšení vitality organismů oproti statickému mikrokosmu a byl tak vyvinut systém lépe napodobující přírodní podmínky.

Nová metoda pro stanovení ekotoxicity v půdním prostředí - laboratorní vícedruhový mikrokosmos /10/

V této studii byla zjišťována citlivost rostliny salátu (*Lactuca sativa*) v jednodruhovém a ve vícedruhovém laboratorním půdním testu. Kontaminantem byla kyselina boritá, o koncentraci 400 mg/kg půdy. Kromě salátu byly v půdě v mikrokosmu přítomny přirozeně se vyskytující mikroorganismy a introdukované roupice. Byl sledován růst kořene a biomasa rostlin. Bylo zjištěno, že salát v mikrokosmu vykazoval horší růst kořenů než v jednodruhovém testu a stejně tak zde došlo ke snížení sušiny oproti rostlinám ve standardním testu. Důvodem může být např. okusování kořenů roupicemi vedoucí i ke snížení celkové biomasy rostlin. Větší citlivost rostlin vůči kyselině borité byla prokázána u testu jednodruhového.

Vícedruhové testy (mikrokosmy) pro testování chemických látek ve vodách /11/

V této studii autorky vyvinuly jednoduchý sedmidenní akvatický laboratorní mikrokosmos s dafniemi, okřehekem (*Lemna minor*) a řasami (*Desmodesmus subspicatus*). Citlivost organismů byla testována pomocí KCl a bylo zjištěno, že růstová rychlost řas je stejná v obou testech, růstová rychlost u okřešku vyšší naopak ve vícedruhovém testu, což však bylo ovlivněno skladbou použitého média. Citlivějším organismem byl okřehek. Vyšší rozdíl v toxicitě mezi metodikami byl zaznamenán opět u okřešku, což naznačuje vysokou citlivost tohoto organismu.

Modelování interakcí řas a okřešku pod chemickým tlakem v laboratorním mikrokosmu /12/

Zde bylo testováno kadmium v 2L mikrokosmu /9/ a byly zde modelovými producenty *Lemna minor* a řasou *Pseudokirchneriella subcapitata*. Byl zjištěn vliv mezidruhových interakcí na okřehek, nikoliv na řasy. Růstová rychlost obou organismů se snižovala se zvyšující se koncentrací kadmia, negativní vliv řas na růst okřešku se také snižoval se zvyšující se koncentrací polutantu, což naznačuje, že řasy jsou při zvýšených koncentracích ke kadmiu citlivější.

LITERATURA

- /1/ Cairns, J.: Multispecies toxicity testing. Bulletin of the Ecological Society of America, 1984: 301-304.
- /2/ Fargašová, A.: Viacduhové hodnotenie toxicity – mikrokosmy. Recenzovaný sborník z konference Vodárenská biologie 2017, 2017: 122-128.
- /3/ Web of ScienceTM, Thomson Reuters, available on 8th Juni 2017: <https://apps.webofknowledge.com/>
- /4/ Hanson, M. L., Sanderson, H., Solomon, K. R.: Variation, replication, and power analysis of *Myriophyllum* spp. microcosm toxicity data. Environmental Toxicology and Chemistry, 22, 2003:1318-1329.
- /5/ Brain, R. A., Johnson, D. J., Richards, S. M., Hanson, M. L., Sanderson, H., Lam, M. W., Young, C., Mabury, S. A., Sibley, P. K., Solomon, K. R.: Microcosm evaluation of the effects of an eight pharmaceutical mixture to the aquatic macrophytes *Lemna gibba* and *Myriophyllum sibiricum*. Aquatic Toxicology, 70, 2004: 23-40.
- /6/ Knauer, K., Mohr, S.; Feiler, Feiler, U.: Comparing growth development of *Myriophyllum* spp. in laboratory and field experiments for ecotoxicological testing. Environmental Science and Pollution Research, 208, 2008: 322-331.
- /7/ Mueller, R., Berghahn, R., Hilt, S.: Herbicide effects of metazachlor on duckweed (*Lemna minor* and *Spirodela polyrhiza*) in test systems with different trophic status and complexity. Journal of Environmental Science and Health Part B-Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes, 45, 2010: 95-101.
- /8/ Szabo, S., Scheffer, M., Roijackers, R., Waluto, B., Braun, M., Nagy, P. T., Borics, G., Zambrano, L.: Strong growth limitation of a floating plant (*Lemna gibba*) by the submerged macrophyte (*Elodea nuttallii*) under laboratory conditions. Freshwater Biology, 55, 2010: 681–690.
- /9/ Clément, B. J. P., Delhave, H. L., Triffault-Bouchet G. G.: Comparison of laboratory batch and flow through microcosm bioassays. Ecotoxicology and Environmental Safety, 108, 2014: 217–223.
- /10/ Kobetičová, K., Pejčochová, V., Kočí, V.: Nová metoda pro stanovení ekotoxicity v půdním prostředí - laboratorní vícedruhový mikrokosmos. Chemické listy, 11, 2015: 874-878.
- /11/ Kobetičová, K., Kasperová, A.: Vícedruhové testy (mikrokosmy) pro testování chemických látek ve vodách. Recenzovaný sborník z konference Vodárenská Biologie 2016, 2016, 139-144.
- /12/ Lamonica, D., Clement, B., Charles, S., Lopes, Ch.: Modelling algae-duckweed interaction under chemical pressure within a laboratory microcosm. Ecotoxicology and Environmental Safety, 128, 2016: 252-265.

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory grantu SGS16/199/OHK1/3T/11.

PROTEOMICKÁ ODEZVA JEČMENE SETÉHO (*HORDEUM VULGARE* L.) KULTIVARŮ CHEVRON A PEDANT NA INFEKCI *FUSARIUM CULMORUM* A APLIKACI MYKOTOXINU DEOXYNIVALENOLU

PROTEOME RESPONSE OF BARLEY (*HORDEUM VULGARE* L.) CULTIVARS CHEVRON AND PEDANT TO *FUSARIUM CULMORUM* INFECTION AND MYCOTOXIN DEOXYNIVALENOL APPLICATION

Klára Kosová¹, Pavel Vítámvás¹, Jiří Šantrůček², Radovan Hynek², Ludmila Štěrbová¹, Jana Chrprová¹, Ilja Tom Prášil¹

¹Laboratoř biologie steru a biotechnologie ve šlechtění, Odbor genetiky a šlechtění rostlin, Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Drnovská 507, 161 06 Praha 6 - Ruzyně, Česká republika, kosova@vurv.cz

² Ústav biochemie a mikrobiologie, Fakulta potravinářské chemie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6 - Dejvice, Česká republika

Summary

Fusarium head blight (FHB) represents an important disease of cereal spikes adversely affecting the quality of grain due to mycotoxin accumulation. In our experiment, *Fusarium culmorum* inoculation and mycotoxin deoxynivalenol (DON) application on two barley cultivars, Chevron, moderately resistant to FHB, and Pedant, susceptible to FHB, were compared 10 days after inoculation including visual evaluation of spike damage, determination of DON content in mature grains and total proteome analysis using two-dimensional differential gel electrophoresis (2D-DIGE) approach followed by LC-MS/MS identifications of protein spots revealing qualitative and quantitative differences (more than 2-fold change at 0.05 level) between experimental variants. Although only moderate differences between the two cultivars and between *Fusarium*- and DON-treated variants were found in grain damage and DON content, proteomic analysis of 2D-DIGE gels detected 98 differentially abundant spots resulting in 93 protein identifications. Both *Fusarium* infection and DON application induced several defence-related proteins; however, DON treatment revealed reduced accumulation of chaperones and an absence of inhibitors against pathogen-produced inhibitors of lytic enzymes. Genotypic differences in storage proteins (globulins, hordeins) were found between Chevron and Pedant which were validated by 1D SDS-PAGE of mature grain protein extracts.

Key words: Fusarium head blight; proteome analysis; deoxynivalenol; defence-related proteins; barley

Souhrn

Klasové fusariosy představují významnou chorobu obilnin, která snižuje výnos a kvalitu zrna díky akumulaci mykotoxinů. V našem experimentu bylo vizuálně hodnoceno poškození zrn, akumulace mykotoxinu deoxynivalenolu (DON), a složení proteomu u dvou odrůd ječmene Chevron (mírně rezistentní odrůda) a Pedant (citlivá odrůda) 10 dnů po aplikaci mykotoxinu DON anebo inokulací *Fusarium culmorum*. Analýza totálního proteomu pomocí dvourozměrné diferenční gelové elektroforézy (2D-DIGE) následovaná identifikací 98 diferencióálně abundantních proteinových spotů vykazujících kvalitativní a kvantitativní rozdíly (více než 2-násobek na hladině 0.05) mezi variantami. Infekce *F. culmorum* i aplikace

DON vyvolaly akumulaci ochranných proteinů, avšak aplikace samotného mykotoxinu vedla k menší míře akumulace chaperonů a k absenci inhibitorů lytických enzymů produkovaných patogenem. Byly zjištěny genotypové rozdíly ve složení zásobních proteinů (globuliny, hordeiny), které byly validovány pomocí 1D SDS-PAGE s extraktem ze zralých zrn.

Klíčová slova: klasové fusariosy; analýza proteomu; deoxynivalenol; ochranné proteiny; ječmen

ÚVOD

Klasové fusariosy představují významný soubor chorob klasu obilnin způsobených houbovými patogeny rodu *Fusarium*, především *Fusarium culmorum* a *Fusarium graminearum*. Napadení klasů houbou *Fusarium* snižuje výnos a především kvalitu zrna v důsledku produkce mykotoxinů, z nichž nejvýznamnějším je trichothecenový mykotoxin deoxynivalenol (DON). Ječmen setý se obecně vyznačuje náchylností ke klasovým fusariosám, je u něho známá pouze mírná rezistence a nebyly u něho zatím popsány žádné kandidátní geny rezistence /1/. Švýcarská odrůda Chevron je známá svou mírnou rezistencí ke klasovým fusariosám /2/. Byly již publikovány práce zaměřené na proteomickou odezvu vůči patogenům rodu *Fusarium* u kulturních (pšenice setá, ječmen setý, tritikale) i planých (pšenice dvouzrnka, oves nahý) obilnin /3-6/, přičemž kromě původních typů patogena byly použity i mutanty se sníženou tvorbou mykotoxinů /7/.

Cílem našeho experimentu bylo studium odezvy dvou odrůd ječmene, mírně rezistentní odrůdy Chevron a citlivé odrůdy Pedant, na inokulaci *F. culmorum* a na aplikaci mykotoxinu DON na klasy v době kvetení a následné vizuální hodnocení rozsahu poškození rostlin, analýza obsahu DON (ve zralých zrnech) a analýza proteomu pomocí techniky dvojrozměrné diferenciální gelové elektroforézy (2D-DIGE) s následnou identifikací vybraných proteinových spotů pomocí LC-MS/MS. Záměrem bylo identifikovat proteiny indukované fusariovou infekcí i aplikací DON s důrazem na odlišnosti mezi *Fusarium* a DON a rozdíly mezi oběma kultivary.

MATERIÁL A METODIKA

Rostliny ječmene setého (*Hordeum vulgare* L.) odrůd Chevron a Pedant byly pěstovány ve skleníku na pozemku VÚRV, v.v.i., Praha 6 - Ruzyně. V době kvetení rostlin byla provedena jak inokulace *Fusarium culmorum* metodou tzv. single floret, tak aplikace roztoku deoxynivalenolu (DON; 10 µg/µL). Vzorky klasů z rostlin kontrolních (neošetřených) i rostlin ošetřených *F. culmorum* anebo DON pro analýzu proteomu byly odebrány 10 dnů po inokulaci (10 dai), hodnocení poškození zrn bylo provedeno 14 dnů po inokulaci (14 dai) a hodnocení obsahu DON bylo provedeno 45 dnů po inokulaci (45 dai). Obsah DON byl stanoven pomocí enzymové imunoassay RIDASCREEN®FAST DON (R-Biopharm AG, Darmstadt, Německo). Vzorky pro analýzu totálního proteomu byly extrahovány pomocí směsi kyselina trichloroctová (TCA)/aceton/fenol dle našich předchozích studií /8/. Extrakty byly rozpuštěny v lyzačním pufru (Bio-Rad Manual, Hercules, California, USA), byla stanovena koncentrace rozpustných proteinů (2D QuantKit), vzorky byly obarveny fluorescenčními barvivou CyDye (GE Healthcare Manual) a naneseny na IPG stripy (24 cm; pI 5-8) a byla provedena isoelektrická fokusace (max. napětí 10,000 V; 75,000 Vh) následovaná gelovou elektroforézou (SDS-PAGE; 12% akrylamid). Výsledné gely byly oskenovány pomocí laserového scanneru PharosFX Fluorescent Imager (Bio-Rad) a byly vyhodnoceny pomocí softwaru PD Quest Advanced, v. 8.0.1, multichannel application (Bio-Rad). Pro identifikaci byly vybrány proteinové spoty vykazující významné kvalitativní anebo kvantitativní rozdíly (min. 2násobný rozdíl na hladině 0.05). Statistická a bioinformatická analýza

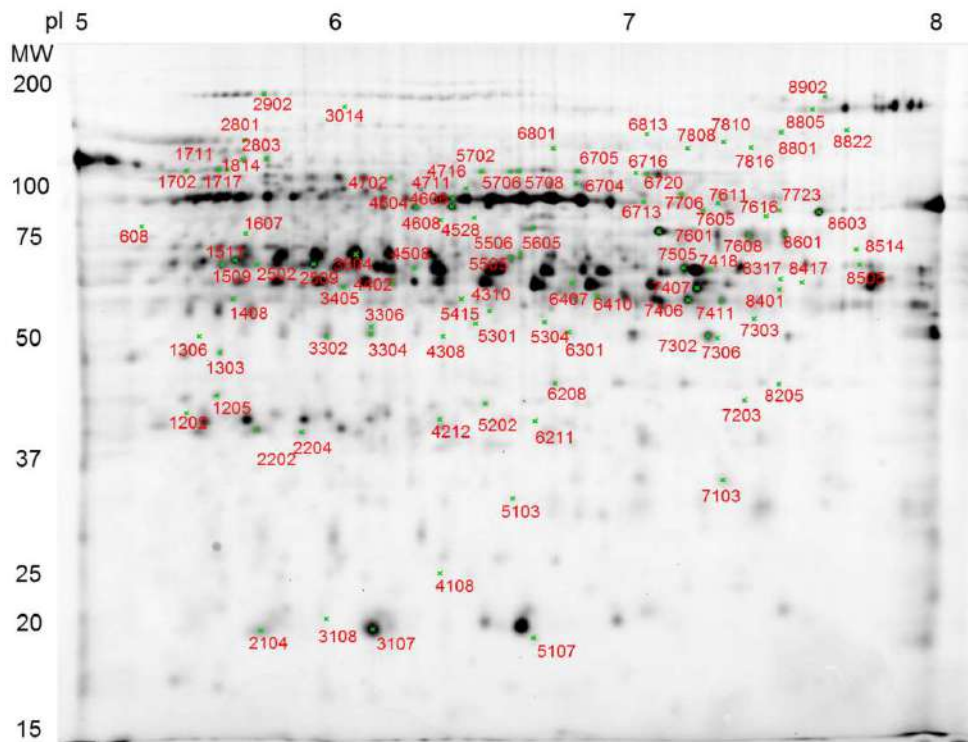
dat byla provedena pomocí softwarů STATISTICA, verze 11 (StatSoft Inc.), PermutMatrix /9/, a pomocí proteinových databází Uniprot (www.uniprot.org), Expasy (www.expasy.org) a Gene Ontology (www.geneontology.org).

VÝSLEDKY A DISKUSE

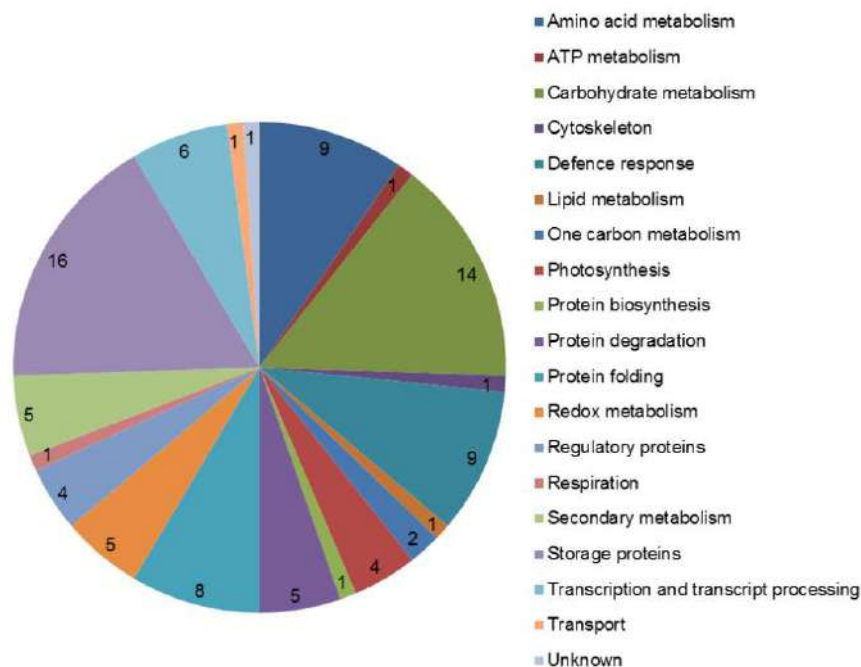
Vizuální hodnocení poškození zrn (10 dai) a stanovení obsahu DON ve zralých zrnech (45 dai) neprokázalo významné rozdíly mezi kultivary a aplikací DON versus *F. culmorum* (Tabulka 1). Proteomická analýza však vedla k detekci 98 proteinových spotů vykazujících významné kvantitativní anebo kvalitativní rozdíly mezi variantami, z nichž se 93 spotů podařilo identifikovat (Obrázek 1). Identifikované spoty byly na základě funkční kategorizace dle biologického procesu v databázi Gene Ontology rozčleněny do 19 funkčních skupin (Obrázek 2), přičemž nejvíce identifikovaných proteinů bylo v kategorii zásobních proteinů (globuliny, hordeiny), z nichž některé vykazovaly konstitutivní rozdíly mezi oběma kultivary. Dalšími výrazně zastoupenými skupinami byly proteiny spojené s karbohydrátovým metabolismem, proteiny spojené se stresovou odezvou a s redoxním metabolismem, chaperony, proteiny spojené s degradací proteinů, proteiny spojené s fotosyntézou, respirací a ATP metabolismem. Proteomická analýza ukázala podobnou odezvu rostlin na infekci *F. culmorum* i na ošetření mykotoxinem DON spočívající v indukci stresových proteinů (z-serpin, SGT1, USP-A like), proteinů spojených s redoxním metabolismem (enzymy askorbát-glutathionového cyklu) a proteinů spojených s ubikvitin-dependentní proteasomální degradací proteinů, což potvrzuje předchozí zjištění, že samotný mykotoxin DON působí jako virulentní faktor /10/. Byly ovšem zjištěny i rozdíly v odezvě na působení *F. culmorum* a DON, které se projeví zejména ve snížené akumulaci chaperonových proteinů (proteiny podílející se na ochraně podjednotek klíčového fotosyntetického enzymu ribulosa-1,5-bisfosfát karboxylasy/oxygenasy) a v absenci inhibitorů lytických enzymů patogena ve variantě ošetřené pouze mykotoxinem DON. Proteomická analýza s využitím techniky 2D-DIGE tak dokázala přinést zajímavé výsledky v experimentu, kde byly zjištěny pouze minimální rozdíly v morfologických a biochemických charakteristikách rostlin.

Tab. 1.: Výsledky vizuálního hodnocení poškození klasu (škála 1 - 9) a stanovení obsahu mykotoxinu deoxynivalenolu (DON) ve zralých zrnech vzorků ječmene setého (Chevron, Pedant). Škála poškození zrna: 1 < 5%, 2 = 5-17%, 3 = 18-30%, 4 = 31-43%, 5 = 44-56%, 6 = 57-69%, 7 = 70-82%, 8 = 83-95% , 9 > 95%. Obsah DON v ppm (mg kg⁻¹). Odlišná písmena značí statisticky významné rozdíly na hladině 0.05 dle Duncanova testu rozpětí.

Kultivar	Chevron		Pedant	
Varianta	Infekce	DON	Infekce	DON
	(1-9)	(mg kg ⁻¹)	(1-9)	(mg kg ⁻¹)
Kontrola	1	0a	1	0a
<i>F. culmorum</i>	1.5	0.55b	1.5	0.56b
DON	1	1.53d	2	0.87c



Obr. 1: Repräsentativní 2D-DIGE gel s vyznačenými polohami 98 diferenciálně abundantních proteinových spotů vykazujících kvalitativní anebo kvantitativní rozdíly mezi experimentálními variantami (interní standard označený fluorescenčním barvivem Cy2).



Obr. 2: Funkční klasifikace 93 identifikovaných proteinových spotů dle kritéria „biologický proces“ podle databáze Uniprot (www.uniprot.org). Čísla značí počty identifikovaných proteinových spotů v jednotlivých kategoriích.

LITERATURA

- /1/ 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, 2009: 87–105.
- /2/ Steffenson, B.J., Smith, K.P.: Breeding barley for multiple disease resistance in the Upper Midwest region of the USA. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 42, 2006: 79–85.
- /3/ Zhou, W.C., Kolb, F.L., Riechers, D.E.: Identification of proteins induced or upregulated by *Fusarium* head blight infection in the spikes of hexaploid wheat (*Triticum aestivum*). *Genome* 48, 2005: 770–780.
- /4/ Geddes, J., Eudes, F., Laroche, A., Selinger, L.B.: Differential expression of proteins in response to the interaction between the pathogen *Fusarium graminearum* and its host, *Hordeum vulgare*. *Proteomics* 8, 2008: 545–554.
- /5/ Eggert, K., Pawelzik, E.: Proteome analysis of *Fusarium* head blight in grains of naked barley (*Hordeum vulgare* subsp. *nudum*). *Proteomics* 11, 2011: 972–985.
- /6/ Perlikowski, D., Wisniewska, H., Kaczmarek, J., Goral, T., Ochodzki, P., Kwiatek, Majka, M., Augustyniak, A. Kosmala, A.: Alterations in kernel proteome after infection with *Fusarium culmorum* in two triticales cultivars with contrasting resistance to *Fusarium* head blight. *Frontiers in Plant Science*, 7, 2016: 1217.
- /7/ Dornez, E., Croes, E., Gebruers, K., Carpentier, S., Swennen, R., Laukens, K., Witters, E., Urban, M., Delcour, J., Courtin, C.M.: 2-D DIGE reveals changes in wheat xylanase inhibitor protein families due to *Fusarium graminearum* Δ Tri5 infection and grain development. *Proteomics*, 10, 2010: 2303–2319.
- /8/ Vítámvás, P., Urban, M.O., Škodáček, Z., Kosová, K., Pitelková, I., Vítámvás, J., Renaut, J., Prášil, I.T.: Quantitative analysis of proteome extracted from barley crowns grown under different drought conditions. *Frontiers in Plant Science*, 6, 2015: 479.
- /9/ Caraux, G., Pinloche, S.: PermutMatrix: a graphical environment to arrange gene expression profiles in optimal linear order. *Bioinformatics*, 21, 2005: 1280–1281.
- /10/ Desmond, O.J., Manners, J.M., Stephens, A.E., MaClean, D.J., Schenk, P.M., Gardiner, D.M., Munn, A.L., Kazan, K.: The *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol elicits hydrogen peroxide production, programmed cell death and defence responses in wheat. *Molecular Plant Pathology* 9, 2008: 435–445.

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory výzkumného záměru MZe ČR RO016 a za podpory projektů MŠMT ČR LD14087 a LD15167, které jsou součástí mezinárodních akcí COST FA1208 a FA1306.

NEINVÁZNA ANALÝZA RASTU RASTLÍN POČAS SUCHA VYUŽITÍM AUTOMATICKEJ FENOTYPOVACEJ PLATFORMY

NON-INVASIVE ANALYSIS OF PLANT GROWTH UNDER DROUGHT USING AUTOMATICAL PHENOTYPING PLATFORM

Marek Kovár, Marián Brestič, Katarína Olšovská, Marek Živčák, Patrícia Kušniarová, Oksana Sytar
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FAPZ, Katedra fyziológie rastlín, Tr. A. Hlinku 2,
949 76 Nitra, Slovensko, marek.kovar@uniag.sk

Summary

High-throughput plant phenotyping collect large amounts of experimental data about plant surface, geometry and functional features that can be used to understand of plant growth and productivity in stressful environments. In this study, PlantScreen™ phenotyping platform at the Slovak University of Agriculture in Nitra, was used to investigate of growth dynamics and geometrical responses of four sorghum genotypes to drought. Analyse of experimental data has been observed genotypic differences in time dependent growth dynamics and in formation of the geometrical structure of plants affected by gradual dehydration of soil substrate. Taken together, we demonstrate to the enormous potential of an automatic phenotyping platform and image analysis for study of plant growth responses to environmental stresses.

Key words: phenotyping, PlantScreen™, growth, drought, sorghum

Súhrn

Fenotypovanie rastlín s vysokou priepustnosťou zberá veľké množstvo experimentálnych údajov o veľkosti povrchu rastliny, jej geometrických a funkčných znakoch, čo umožňuje lepšie pochopiť dynamiku rastu a produktivity v podmienkach stresu. V tejto štúdií bola využitá PlantScreen™ fenotypovacia platforma Slovenskej poľnohospodárskej Univerzite v Nitre, na hodnotenie rastových a štrukturálnych reakcií štyroch genotypov ciroku k suchu. V experimente boli pozorované genotypové rozdiely v dynamike rastu a utvárania geometrickej štruktúry rastlín ovplyvnených postupnou dehydratáciou pôdneho substrátu. Záverom poukazujeme na obrovský potenciál automatickej fenotypovacej platformy a analýzy obrazu rastliny v štúdiu rastových reakcií rastlín počas environmentálnych stresových situácií.

Kľúčové slová: fenotypovanie, PlantScreen™, rast, sucho, cirok

ÚVOD

V súčasnosti je najväčšou výzvou v agrobiologickom výskume potreba do roku 2050 zdvojnásobiť produkciu potravinových zdrojov /1/, najmä zo skupiny obilnín. Zvýšenie produkčnej výkonnosti plodín musí byť nevyhnutne spojené s toleranciou genotypov k abiotickým a biotickým stresovým situáciám, ako aj s ich nutričnou kvalitou a tiež minimalizáciou ekologickej stopy v technológiách pestovania a spracovania rastlinných produktov. Genomická charakterizácia genetických zdrojov je v súčasnom období s rozvojom techník sekvenovania nestále rýchlejšia a finančne lacnejšia. Výraznou limitáciou v procese skríningu genotypov z vyššou produkčnou výkonnosťou sa tak stal popis funkčných prejavov, t.j. charakterizácia fenotypu, ako výsledok interakcií medzi genotypom a prostredím (G×E)

/2, 3/. Konvenčné metódy kvantitatívneho popisu znakov a fyziologickej aktivity rastlín (gazometria, meranie vodného režimu, biochemické a molekulárne metódy, rastová analýza, a pod.) sú časovo a finančne náročné. Vďaka technickým pokrokom vo vývoji neinváznych senzorov pre 2D a 3D zobrazovanie rastlín v prísne kontrolovaných laboratórnych /4/, ako aj poľných podmienkach prostredia /5/ a tiež dostupnosti robotizácie a pokročilých výpočtových analýz /6/ sa vo svete stále rýchlejšie rozširuje využitie automatických fenotypovacích platforiem pre hodnotenie geometrických, štrukturálnych a funkčných parametrov veľkého množstva genetických zdrojov. Cirok predstavuje alternatívnu C4 obilninu, ktorej význam narastá najmä z dôvodu jej širokého spektra využitia v potravinárskom priemysle, krmivárstve, výrobe papiera a bioenergetike /7/. Rastliny ciroku sa vyznačujú vysokou odolnosťou voči abiotickým stresovým faktorom, najmä k suchu a zasoleniu /8/. Plodina je tiež charakteristická vysokou rýchlosťou rastu nadzemnej biomasy /9, 10/. Cieľom práce bolo pomocou automatickej fenotypovacej platformy PlantScreen™ a analýzy obrazu kvantifikovať rastovú a štrukturálnu odozvu genotypov ciroku cukrového, vyznačujúcich sa rôznou mierou tolerancie k osmotickému stresu, na podmienky postupne narastajúceho sucha.

MATERIÁL A METÓDA

Rastliny ciroku cukrového [*Sorghum bicolor* var. *saccharatum* (L.) Moench.], genotypov Tian Xuan 29, Tian Xuan 35, Tian Xuan 97 (všetky tri pôvodom z Číny) a Rio (pôvodom z USA) rástli v plastových nádobách v pôdnom substráte (1,8 kg) v pestovateľskom priestore fenotypovacej platformy PlantScreen™ (PSI, Drašov, Česká republika) a regulovaných podmienkach pestovania (osvetlenie $400 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, fotoperiódá 12 /12 h, teplota prostredia 25 / 19 °C, vlhkosť prostredia $38\pm 6\%$ a vlhkosť substrátu 70 % poľnej vodnej kapacity). Rast a geometria rastlín boli merané automaticky RGB zobrazovacím systémom od 6 dňa po vzhádzaní (6. DAE) počas nasledujúcich 10 týždňov. Od 21. DAE bol na skupine rastlín aplikovaný protokol postupnej dehydratácie prerušením zavlažovania substrátu.

Individuálne rastliny boli automaticky fenotypované využijúc dve zobrazovacie RGB kamery (GigE uEye UI-5480SE-C/M, IDS, Nemecko) v konfigurácii pre vrchný a bočný snímkový pohľad. RGB obraz bol snímaný v rozlíšení 2560×1920 pixelov s efektívnou plochou zobrazenia 710×530 mm (vrchné zobrazenie) a 1030×1500 mm (bočné zobrazenie). Rastliny boli fenotypované každý druhý deň zaznamenávaním RGB snímok jedného vrchného zobrazenia a štyroch bočných zobrazení (v horizontálnom otáčaní rastlín v uhloch 0, 45, 90 a 135 stupňov). Jednotlivé snímky automaticky spracoval (korekcia plošného skreslenia obrazu, binarizácia, odstránenie pozadia) a morfometricky analyzoval softvér PlantScreen Data Analyzer (PSI, Drašov, Česká republika). Plocha rastliny bola kalkulovaná integrálnym súčtom všetkých pixelov rastliny z jedného vrchného a štyroch bočných zobrazení. Hodnotené vybrané rastové a geometrické parametre uvádza Tab. 1. Na konci dehydratačného cyklu boli v plne vyvinutom 4 liste (od bázy) rastliny z dobre-hydratovaných (WW) aj z dehydratovaných (WS) podmienok stanovené relatívny obsah vody (RWC) gravimetricky a vodný potenciál (ψ_w) tlakovou komorou Scholanderovho typu 3115 (Soilmoisture Equipment Corp., Santa Barbara, USA). Relatívna rýchlosť rastu (RGR) bola kalkulovaná z integrálnej plochy rastliny (A) ako: $\text{RGR} = \ln A_2 - \ln A_1 / t_2 - t_1$. Pri kalibrácii systému bola listová plocha rastliny bola manuálne stanovená skenovacou metódou využijúc skener HP ScanJet G3110 v rozlíšení 3510×2550 pixelov a 600 ppi a analyzovaná programom ImageJ verzia 1.46 (<http://imagej.nih.gov/ij>). Štatistická analýza bola uskutočnená programom Statistica verzia 10.

Tab. 1: V experimente hodnotené rastové a geometrické parametre.

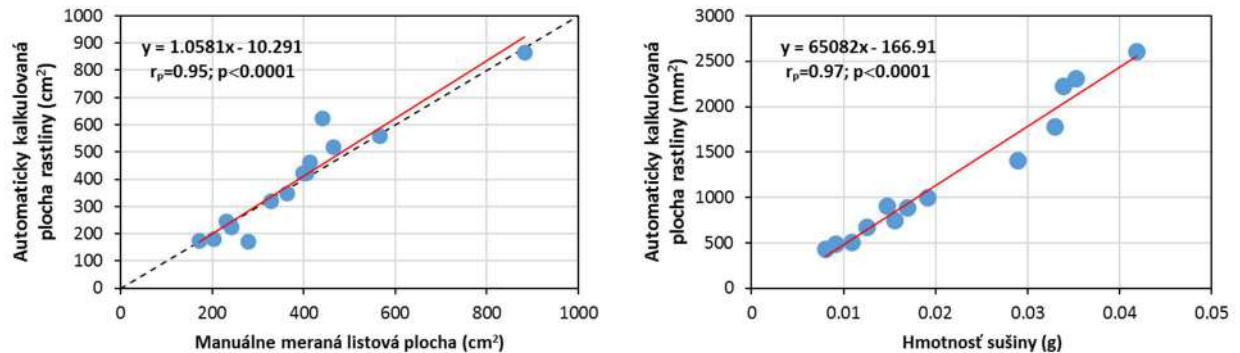
Parameter	Popis parametra	Kalkulácia parametra
Plocha rastliny	Celková plocha rastliny	Integrovaný počet pixelov
RGR	Relatívna rýchlosť rast	$\ln A_2 - \ln A_1 / t_2 - t_1$
Perimeter	Dĺžka obvodu plochy rastliny	
Kompaktnosť	Pomer medzi plochou a povrchom konvexného obalu obklopujúceho rastlinu	Plocha / Povrch konvexného obalu
Kruhovitosť	Pomer medzi plochou a obvodom rastliny	$4 * \pi * \text{Plocha} / \text{Obvod}^2$
Kruhovitosť-2	Pomer medzi plochou a obvodom konvexného obalu rastliny	$4 * \pi * \text{Plocha konvexného obalu} / \text{Obvod konvexného obalu}^2$
Excentricita	Parameter popisujúci mieru rozdielu medzi plochou konvexného obalu a kružnicou, ktorá má stred v ťažisku rastliny	$2 * \sqrt{((1/2 * \text{Dĺžka hlavnej osi})^2 - (1/2 * \text{Dĺžka kratšej osi})^2)} / \text{Dĺžka hlavnej osi}$
RMS	Rotačná symetria tvaru	$\{\text{Plocha}(\text{iba kruhu}) + \text{Plocha}(\text{Plocha konvexného obalu})\} / \text{Plocha}(\text{priesečník})$
SOL	Štíhlosť listov	$\text{Obvod skeletu}^2 / \text{Plocha}$

VÝSLEDKY A DISKUSIA

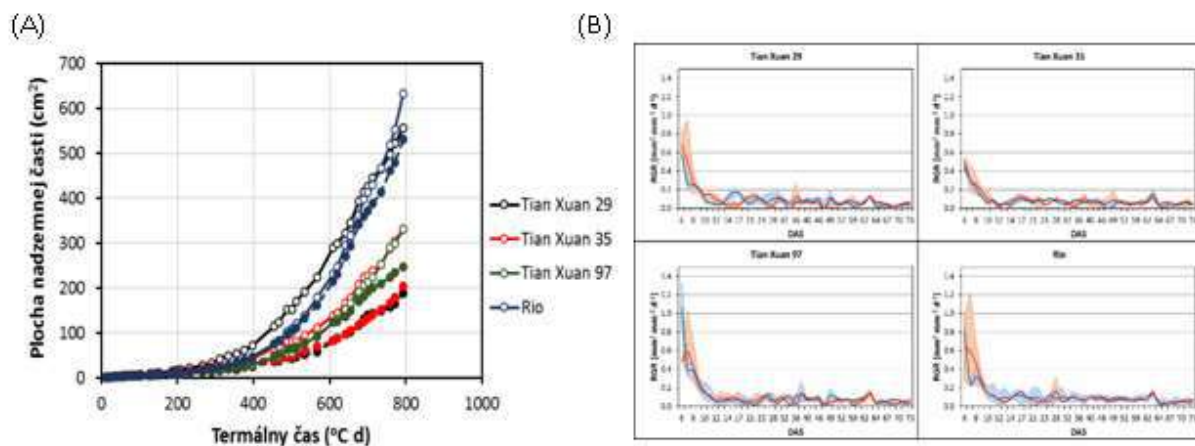
Automatické fenotypovanie genetických zdrojov dovoľuje paralelný skrining mnohých kvantitatívnych znakov spojených s rastom a výkonnosťou rastliny pestovanej v podmienkach environmentálnych stresov. V tomto experimente s využitím automatickej fenotypovacej platformy PlantScreen™ v RGB zobrazovacej jednotke bola hodnotená časová dynamika rastových zmien štyroch genotypov ciroku cukrového. Plocha nadzemnej časti rastliny bola kalkulovaná upraveným integrovaným súčtom z efektívnych pixelov prislúchajúcich rastline a extrahovaných z jedného vrchného a štyroch bočných snímok /11, 12/. Lineárna regresná analýza vzťahov medzi automaticky hodnotenou plochou rastliny ciroku a manuálne zistenou listovou plochou (Graf 1A) a hmotnosťou sušiny rastliny (Graf 1B) ukázali tesné lineárne závislosti s hodnotami regresných koeficientov (r_p) na úrovni 0.95 a 0.97 ($p < 0.0001$). Podobné úrovne vzťahov medzi týmito parametrami boli pozorované mnohými autormi pri rastlinách ryže, jačmeňa, pšenice, hrachu /11, 12, 14/, ale aj ciroku /13/. Tento algoritmus kvantifikácie plochy nadzemnej časti rastliny bol následne použitý počas celého experimentu.

Rast nadzemnej plochy rastliny ciroku v závislosti na termálnom čase ukazuje Graf 2A. Termálny čas (alebo suma efektívnych teplôt) bol kalkulovaný podľa /9/ s bazálnou teplotou $T_0 = 10$ °C. Najrýchlejšie plochu nadzemnej časti rastliny v podmienkach dobrej hydratácie (WW) vytváral genotyp Tian Xuan 29 a najväčšiu plochu na konci experimentu utvorili rastliny genotypu Rio (633 cm^2) po dosiahnutí termálneho času 794 °C. Relatívna rýchlosť rastu (RGR) nadzemnej plochy bola najvyššia v prvých fázach ontogenézy (Graf 2B). Najintenzívnejšie novú plochu rastliny v tejto fáze ontogenézy (6.-12. DAE) vytváral genotyp Rio (priemer $0,60 \text{ mm}^2 \cdot \text{mm}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$). Vysoká úroveň RGR v počiatočných fázach ontogenézy rastlín je spájaná s prechodom z heterotrofnej výživy klíčencov do autotrofie /10, 13/. Pozorovaný pokles RGR na priemernú úroveň $0,04 \text{ mm}^2 \cdot \text{mm}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ v neskoršej fáze ontogenézy sa vyznačuje výraznými, genotypovo signifikantnými osciláciami. Postupná dehydratácia pôdneho substrátu aplikovaná od 21. DAE, spôsobila signifikantnú a genotypovo závislú redukciu RWC a ψ_w , spojenú s poklesom rýchlosti rastu nadzemnej časti rastliny (Tab. 2). Genotypy Tian Xuan 29 a Tian Xuan 97 reagovali na sucho citlivejšie,

s výraznejším poklesom RWC a ψ_s , ako pri genotypoch Tian Xuan 35 a Rio. Najvýznamnejšia redukcia rastu (takmer 3-násobná) počas sucha bola pozorovaná pri genotypu Tian Xuan 29. Na druhej strane, vodný stres najmenej ovplyvnil rast nadzemnej časti rastliny pri genotypoch Rio (17% redukcia) a Tian Xuan 97 (25% redukcia rastu).



Graf 1: Regresný vzťah medzi automaticky kalkulovanou plochou rastliny (cm^2) systémom PlantScreen™ a manuálne meranou listovou plochou (cm^2) rastliny (A) a hmotnosťou sušiny rastliny (B). Červená čiara = lineárny regresný vzťah; čiarkovaná čierna čiara = sklon 1:1.



Graf 2: Ontogenetický nárast plochy nadzemnej časti ciroku v závislosti na termálnom čase (A) a relatívna rýchlosť rastu (RGR, $\text{mm}^2 \cdot \text{mm}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$) (B). Plné čiary = dobre hydratované rastliny (WW); čiarkované čiary = vodný stres (WS); modrá čiara = WW; červená čiara = WS; modrá a červená plocha predstavuje min-max rozpätie.

Detailnou analýzou zosnímaných obrazov počas celého experimentu sme boli schopní exaktne kvantifikovať efekt dehydratácie na vertikálnu štruktúru a architektúru rastliny parametrami ako: kompaktnosť, kruhovitosť, excentricita, rotačná symetria tvaru (RMS) a štihlosť (SOL) (Tab. 1 a Tab. 2). Manuálna kalkulácia týchto geometrických parametrov je zložitá a časovo náročná /10/. Zistili sme, že WS signifikantne redukoval kompaktnosť, kruhovitosť, excentricitu rastlín, RMS a SOL vo všetkých sledovaných genotypoch, okrem Tian Xuan 97. Parameter kruhovitosť, kalkulovaný z vrchného pohľadu na rastlinu, informuje o fyloxií listov a je ovplyvnený štihlosťou listu, obvodom listu a jeho dĺžkou. Hodnoty parametra blízke 0 popisujú striedavé (180°) postavenie listov vo vertikálnej štruktúre rastliny (kruh má hodnotu parametra 1) /6/. Kompaktnosť rastliny kalkulovaná ako priemer bočných priemetov rastliny referuje o postavení listov (erektofilné vs. planofilné postavenie), ako aj o potenciálnej zmene postavenia listov v dôsledku vädnutia. Kompaktnejšie rastliny (parameter sa blíži k 1) majú masívnejšie, resp. erektofilnejšie listy. Pozorovali sme, že WS

spôsobil pokles hodnoty kompaktnosti rastliny vo všetkých genotypoch, čo je možné prisúdiť viac planofilnému postaveniu listov dôsledkom zníženia uhla sklonu listov smerom k horizontálnej rovine z dôvodu poklesu turgoru. Naopak, ohýbanie ontogeneticky staršieho erektofilného listu (najmä v jeho prostrednej časti) v dôsledku poklesu turgoru sa prejaví zvýšením hodnoty kompaktnosti /11/. Tiež je možné aproximovať zmeny tohto parametra z individuálne fenotypovaných rastlín na porast a kvantifikovať potenciál pre otváranie porastu v dôsledku výskytu stresových situácií /10, 11, 14/.

Tab. 2: Relatívny obsah vody (RWC; %), vodný potenciál (ψ_w ; MPa) a rastové (plocha rastliny v cm^2 ; RGR v $\text{mm}^2 \cdot \text{mm}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ a perimeter rastliny v cm^2) a geometrické parametre v štyroch genotypoch ciroku ovplyvnených dobrou hydratáciou (WW) a vodným stresom (WS).

	Tian Xuan 29		Tian Xuan 35		Tian Xuan 97		Rio	
	WW	WS	WW	WS	WW	WS	WW	WS
RWC	92,0±2,5	74,7±3,7	93,7±1,0	84,32±3,8	91,6±2,5	76,0±2,8	92,9±1,7	85,7±3,1
ψ_w	-0,53±0,0	-1,45±0,2	-0,45±0,1	-1,0±0,1	-0,48±0,1	-1,5±0,2	-0,35±0,1	-0,9±0,1
Plocha rastliny	557±90	188±11	331±9	204±38	331±97	248±27	634±218	531±112
RGR	0,03±0,01	0,06±0,01	0,04±0,02	0,04±0,02	0,06±0,03	0,02±0,01	0,07±0,01	0,05±0,03
Perimeter	40,5±5,7	19,51±4,1	29,5±6,2	18,7±5,5	30,4±7,5	19,2±1,7	55,7±20,4	45,2±7,8
Kompaktnosť	0,22±0,07	0,13±0,03	0,19±0,05	0,15±0,04	0,23±0,05	0,26±0,05	0,20±0,07	0,18±0,02
Kruhovitost'	0,02±0,00	0,03±0,01	0,03±0,01	0,03±0,00	0,03±0,01	0,05±0,00	0,02±0,01	0,02±0,00
Excentricita	1,32±0,65	0,58±0,28	0,94±0,23	0,49±0,22	1,21±0,25	1,29±0,42	0,69±0,50	0,60±0,18
RMS	0,97±0,02	0,81±0,2	0,92±0,05	0,79±0,08	0,97±0,01	0,96±0,04	0,75±0,20	0,82±0,09
SOL	185±9	97±15	123±31	94±7	122±37	65±6	219±86	223±50

Záverom môžeme konštatovať, že neinvázna analýza a kvantitatívny popis rastovej dynamiky a vertikálnej štruktúry rastliny pomocou automatickej fenotypovacej platformy PlantScreen™ odhalili signifikantné rozdiely v tolerancii štyroch genotypov ciroku k suchu. Zároveň získané experimentálne výsledky môžu byť ďalej využité pre konštrukciu modelov rastu ciroku v podmienkach deficitu vody.

LITERATÚRA

- /1/ Ray, D.K., Mueller, N.D., West, P.C., Foley, J.A.: Yield trends are insufficient to double global crop production by 2050. Plos ONE, 8, 2013: e66428
- /2/ Fiorani, F., Schurr, U.: Future scenarios for plant phenotyping. Annual Review of Plant Biology, 64, 2013, 267-291
- /3/ Junker, A., Muraya, M.M., Weigelt-Fischer, K., Arana-Ceballos, F. et al.: Optimizing experimental procedure for quantitative evaluation of crop plant performance in high throughput phenotyping system. Frontiers in Plant Science, 5, 2015: 770
- /4/ Chen, D., Neumann, K., Friedel, S., Kilian, B. et al.: Dissecting the phenotypic components of crop plant growth and drought responses based on high-throughput image analysis. The Plant Cell, 26, 2014: 4636-4655.
- /5/ Araus, J.L., Cairns, J.E. Field high-throughput phenotyping: the new crop breeding frontiers. Trends in Plant Science, 19, 2014: 52-61
- /6/ Klukas, CH., Chen, D., Pape, J.-M.: Integrated analysis platform: an open-source information system for high-throughput plant phenotyping. Plant Physiology, 165, 2014: 506-518
- /7/ Smith, C.W., Frederiksen, R.A.: Sorghum: origin, history, technology and production. John Wiley & Sons, 2000, 840 s. ISBN-10: 0471242373
- /8/ Tari, I., Laskay, G., Takács, Z., Poór, P.: Response of sorghum to abiotic stress: a review. Journal of agronomy and crop science, 199, 2013: 264-274
- /9/ Lafarge, T., de Raissac, M., Tardieu, F.: Elongation rate of sorghum leaves has a common response to meristem temperature in diverse African and European environmental conditions. Field Crops Research, 58, 1998: 69-79

- /10/ Neilson, E.H., Edwards, A.M., Blomstedt, C.K., Berger, B. et al.: Utilization of a high-throughput shoot imaging system to examine the dynamic phenotypic responses of a C4 cereal crop plant to nitrogen and water deficiency over time. *Journal of Experimental Botany*, 66, 2015: 1817-1832
- /11/ Golzarian, M.R., Frick, R.A., Rajendran, K., Berger, B. et al.: Accurate inference of shoot biomass from high-throughput images of cereal plants. *Plant Methods*, 7, 2011: 1-11
- /12/ Hairmansis, A., Berger, B., Tester, M., Roy, S.J.: Image-based phenotyping for non-destructive screening of different salinity tolerance traits in rice. *Rice*, 7, 2014: 1-10
- /13/ Miller, R.E., Gleadow, R.M., Cavagnaro, T.R.: Age versus stage: does ontogeny modify the effect of phosphorus and arbuscular mycorrhizas on above- and below-ground defence in forage sorghum? *Plant Cell Environment*, 37, 2014: 929-942
- /14/ Truong, S.K., McCornick, R.F., Rooney, W.L., Mullet, J.E.: Harnessing genetic variation in leaf angle to increase productivity of *Sorghum bicolor*. *Genetics*, 201, 2015: 1229-1238

PodĎakovanie

Práca vznikla za finančnej podpory projektov APVV-15-0721 a VEGA-16-003-00.

OBSAH ZINKU V PŮDACH A V LISTOCH DRUHU *QUERCUS CERRIS* L. ZAŤAŽENÝCH EMISIAMI Z RÝCHLOSTNEJ CESTY

ZINC CONTENT IN SOILS AND *QUERCUS CERRIS* L. LEAVES LOADED BY EMISSIONS FROM EXPRESSWAY

Margita Kuklová¹, Ján Kukla¹, František Hnilička², Helena Hniličková², Ivica Pivková¹

¹ Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied, Štúrova 2, 960 53 Zvolen, Slovenská republika, kuklova@savzv.sk

² Česká zemědělská univerzita v Praze, Katedra botaniky a fyziologie rostlin, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 – Suchbátka, Česká republika

Summary

In this work we evaluate the impact of polluted air on zinc content in soils and in *Quercus cerris* L. leaves in 5 forest geobiocoenoses (*Querci-Fageta typica*, *Fagi-Querceta typica*) situated near the expressway R1, in the section of Nitra – Tekovské Nemce (plots G1–G4) and in 8 km distant reference zone (control plot G5). From the results it is clear, that in organic soil horizons were Zn contents substantially lower (17.9–33.4 mg kg⁻¹) compared to mineral soil layers (mg kg⁻¹): G1 – Epidystric Haplic Luvisol (58.42±3.9) > G2 – Haplic Luvisol (50.5±2.1) > G4 – Dystric Stagnic Cambisol (48.6±2.9) > G3 – Dystric Stagnic Cambisol (43.9±10) > G5 – Dystric Cambisol (34.7±1.9), however, the Zn limit value in the soils has not been exceeded. The Zn deficiency (<20 ppm) in *Q. cerris* leaves was found only on the G3 and G5 plots with the lowest Zn content in the mineral layers.

Key words: road traffic, forest ecosystems, *Quercus cerris* L., leaves, soils, zinc pollution

Súhrn

V práci hodnotíme vplyv znečisteného vzduchu na obsah zinku v pôdach a v listoch druhu *Quercus cerris* L. v 5 lesných geobiocenózach (*Querci-Fageta typica*, *Fagi-Querceta typica*) nachádzajúcich sa v blízkosti rýchlostnej cesty R1, v úseku Nitra – Tekovské Nemce (plochy G1-G4) a v 8 km vzdalenej referenčnej zóne (kontrolná plocha G5). Výsledky ukázali, že v organických horizontoch boli obsahy Zn podstatne nižšie (17,9–33,4 mg kg⁻¹) ako v minerálnych vrstvách pôd (mg kg⁻¹): G1 – luvizem podzolová (58,4±3,9) > G2 – kambizem modálna (50,5±2,1) > G4 – luvizem kambizemná pseudoglejová (48,6±2,9) > G3 – kambizem pseudoglejová (43,9±10) > G5 – kambizem modálna (34,7±1,9), avšak hraničná hodnota Zn v pôdach nebola prekročená. V listoch druhu *Q. cerris* sa deficit Zn (<20 ppm) zistil len na plochách G3 a G5 s najnižším obsahom Zn v minerálnych vrstvách.

Kľúčové slová: cestná doprava, lesné ekosystémy, *Quercus cerris* L., listy, pôdy, znečistenie zinkom

ÚVOD

Výfukové plyny automobilov, rezíduá olejov, čiastočky pneumatík spolu s prírodným biogénnym materiálom sa môžu absorbovať na povrch prachu a predstavovať tak možný vektor kontaminácie väčšej časti územia /1/. Kontaminovaná pôda sa stáva zdrojom znečistenia ostatných zložiek životného prostredia a potravinového reťazca /2/. Zatiaľ čo prirodzené obsahy ťažkých kovov sú pomerne nízke, rastlinám viac-menej neprístupné, ich antropogénne obsahy môžu byť podstatne vyššie a vyskytovať sa aj v mobilnej forme. Medzi najviac znečistené patria cesty a k nim priliehajúce poľnohospodárske a lesné pozemky.

Z hľadiska možnosti kontaminácie pôdy predstavujú výrazné riziko najmä zvýšené obsahy kovových elementov. Za určitých podmienok prostredia (hodnôt pôdnej reakcie, teploty, vlhkosti, sorpčnej kapacity a pod.) môžu kovy prechádzať cez koreňovú sústavu až do vegetatívnych a generatívnych orgánov rastlín a negatívne ovplyvňovať ich vitalitu a rast. Nadbytok, resp. nedostatok zinku spôsobuje napr. poruchy vo výžive rastlín a práve z tohto dôvodu je dôležité kontrolovať riziko pohybu tohto elementu v systéme pôda – rastlina /3/.

Cieľom tejto štúdie bolo zistiť, aký vplyv majú emisie produkované cestnou dopravou na obsah zinku vo vrchných vrstvách pôd a v asimilačných orgánoch duba cerového (*Quercus cerris* L.) nachádzajúcich sa v tesnej blízkosti cesty a v referenčnej zóne.

MATERIÁL A METÓDA

Obsah zinku v organických (Oo) a minerálnych vrstvách pôd a v asimilačných orgánoch duba cerového (*Quercus cerris* L.) sa zisťoval v segmentoch skupín typov geobiocenóz *Querci-Fageta typica* a *Fagi-Querceta typica* situovaných v tesnej blízkosti rýchlostnej cesty R1, v úseku Nitra – Tekovské Nemce. V segmentoch skúmaných geobiocenóz, ktoré sa zachovali prevažne len v podobe väčších, či menších enkláv dominuje najmä dub cerový a dub mnohoplodý, len ojedinele aj dub letný a buk lesný. Typická je výrazne vyvinutá krovitá vrstva zložená najmä z vtáčieho zobu, trnky obyčajnej a rôznych druhov hlohov a ruží, ktoré miestami vytvárajú súvislú, len ťažko priechodnú húštinu. Výskyt týchto spoločenstiev je podmienený špecifickým charakterom vodného režimu pôd, ktorý sa v letnom období prejavuje extrémnym nedostatkom vody /4/. Rýchlostná cesta R1 Nitra – Tekovské Nemce bola do užívania odovzdaná v októbri 2011. Odber vzoriek pôd sa realizoval v roku 2016, rastlín v rokoch 2011 až 2016, a to vo vzdialenosti približne 30 m od rýchlostnej cesty, len v prípade kontrolnej plochy Obyce vo vzdialenosti 8 km od R1. Základné údaje o plochách sú uvedené v Tab. 1.

Tab. 1: Základné geobiocenologické charakteristiky.

	G1	G2	G3	G4	G5
Lokalita	Kynecký les	Janíkovský bok	Mladý Háj, Olichov	Urbársky les	Obyce (kontrola)
Lesný vegetačný stupeň	3. dubovo-bukový	2. bukovo-dubový		3. dubovo-bukový	2. bukovo-dubový
Skupina typov geobiocénov	<i>Querci-Fageta typica</i>	<i>Fagi-Querceta typica</i>		<i>Querci-Fageta typica</i>	<i>Fagi-Querceta typica</i>
Pôdny typ	luvizem podzolová	kambizem modálna	kambizem pseudoglejová	luvizem kambizemná pseudoglejová	kambizem modálna

Vzorky organických horizontov pôd sa odoberali z každej geobiocenologickej plochy v troch opakovaniach. Vzorky minerálnej pôdy boli odobrané z hĺbok 0–5 cm, 10–20 cm a 20–30 cm. Pôdne vzorky sa vysušili na vzduchu, preosiali cez sito a následne sa v suspenzii jemnozeme stanovili hodnoty aktívnej reakcie pôdy potenciometricky, pomocou digitálneho pH-metra Inolab pH 720. Celkový obsah pôdneho Zn sa stanovil vo výluhu lúčavky kráľovskej metódou AAS na prístroji GBC SensAA /5/.

Následne sa odobrali vzorky asimilačných orgánov druhu *Quercus cerris* L. Listy boli odobrané stratifikovaným výberom v troch opakovaniach, približne zo spodnej tretiny koruny stromov. Každý odber pozostával približne z 50 ks listov. Vzorky rastlinného materiálu boli vysušené pri 80 °C počas 48 hodín a zhomogenizované na achátovom mlyne firmy Fritsch (<0.001 mm). Celkové obsahy Zn boli stanovené v extrakte koncentrovanej HNO₃ metódou AAS na prístroji GBC SensAA.

Transferové koeficienty (TK) boli vypočítané ako pomer obsahu Zn v listoch duba k obsahu Zn v pôde. Rastliny sú totiž schopné selektívne akumulovať špecifické chemické prvky, v dôsledku čoho možno niektoré z nich využiť vo funkcii citlivých indikátorov obsahu týchto elementov.

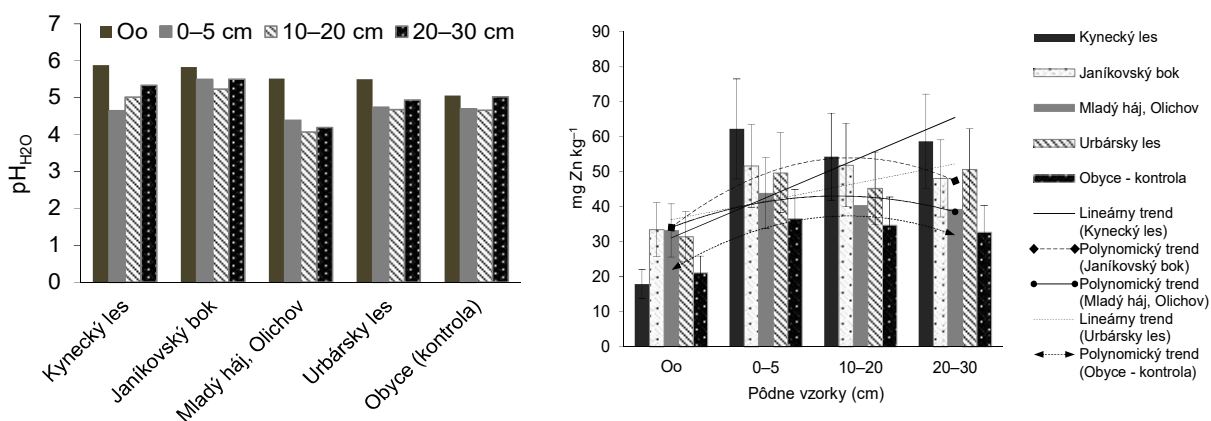
Zo zistených koncentrácií prvkov sa vypočítali základné štatistické charakteristiky a vyhodnotenie výsledkov sa vykonalo v programe Statistica 9 (StatSoft, 2008).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pôdna reakcia je významným faktorom podmieňujúcim mobilitu rizikových prvkov, a tým aj ich prístupnosť pre rastliny. Pôdy skúmaných geobiocenóz sú kyslé (s $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ 4,62 – 5,49 vo vrstve 0–5 cm), v prípade lokality Mladý háj Olichov až veľmi kyslé ($\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ 4,38 vo vrstve 0–5 cm), (Obr. 1).

Obsahy zinku sú pomerne vyrovnané, a to tak v organických (4,1–7,7%) ako aj v minerálnych vrstvách (7,5–14,3%) skúmaných pôd. Svedčia o tom hodnoty vypočítaných štandardných odchýlok (Obr. 1). Najnižšie obsahy Zn sa zistili v organických pôdnych horizontoch (Oo), kým v najspodnejšej minerálnej vrstve 20–30 cm boli podstatne vyššie – v luvizemi podzolovej (G1) o 228%, v kambizemi modálnej (G2) o 30%, v kambizemi pseudoglejovej (G3) o 24%, v luvizemi kambizemnej pseudoglejovej (G4) o 38% a v kambizemi modálnej na kontrolnej ploche G5 Obyce 36%.

Limitné obsahy Zn v pôdach stanovené vo výluhu lúčavky kráľovskej sa pohybujú v rozpätí od 100 do 200 mg kg^{-1} /5/. Celkové obsahy Zn stanovené v pôdnych vzorkách skúmaných geobiocenóz boli podstatne nižšie. V minerálnych vrstvách obsahy Zn dosahovali nasledovné hodnoty (mg kg^{-1}): G1 – luvizem podzolová (58,4±3,9) > G2 – kambizem modálna (50,5±2,1) > G4 – luvizem kambizemná pseudoglejová (48,6±2,9) > G3 – kambizem pseudoglejová (43,9±10). Najnižší obsah Zn (34,71±1,91 mg kg^{-1}) sa zistil v kambizemi modálnej na referenčnej ploche Obyce (G5).



Obr. 1: Obsah Zn ($x \pm s_x$) a pôdna reakcia v organickom horizonte (Oo) a minerálnych vrstvách pôd v roku 2016.

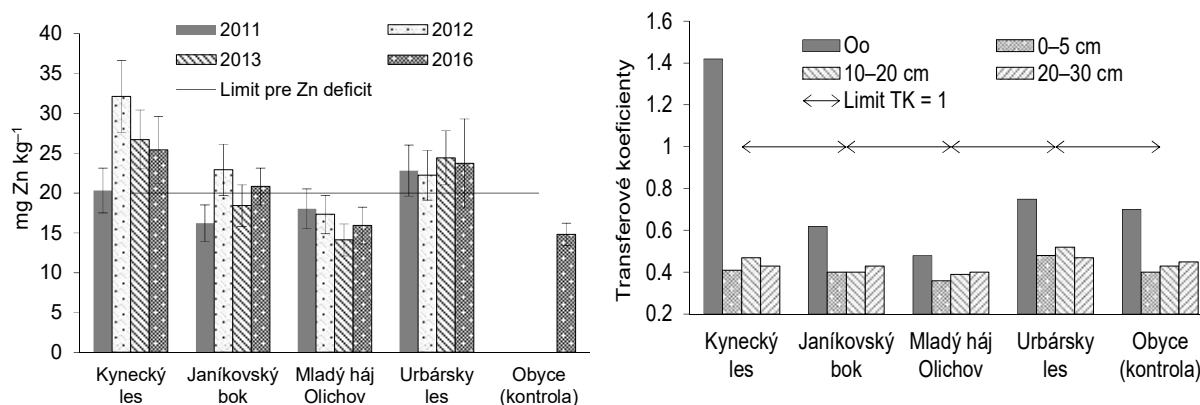
Zvýšené koncentrácie kovov v organických horizontoch pôd súvisia spravidla s účinkom znečisteného ovzdušia. Na druhej strane vyššie obsahy kovov v hlbších horizontoch pôd sú skôr dôkazom prirodzene vyššieho obsahu kovov v materskej hornine. Riziko prechodu ťažkých kovov do rastlín nie je podmienené len ich celkovou koncentráciou v pôde, ale aj ich mobilitou, ktorá závisí najmä od vlastností pôdy (pôdna reakcia, obsah humusu a i.).

V listoch duba cerového sa obsah Zn v sledovaných rokoch trvale pohyboval pod pozad'ovou hodnotou 50 mg kg^{-1} , ktorú uvádza /6/. Priemerná koncentrácia v asimilačných

orgánoch lesných druhov na Slovensku (*P. abies*, *P. sylvestris*, *A. alba*, *F. sylvatica*, *Q.* sp.) dosahuje hodnotu $42,7 \pm 34,91 \text{ mg Zn kg}^{-1}$, s rozpätím od 4,01 do 691 mg kg^{-1} /7/. Autori uvádzajú absolútne najvyššiu hodnotu Zn v rastlinách v okolí metalurgie neželeznatých kovov.

Na základe zistených údajov možno konštatovať, že počnúc rokom 2012 postupne klesal obsah Zn v listoch duba na všetkých meracích bodoch, s výnimkou plochy v Urbárskom lese, kde môžeme pozorovať jeho mierny nárast cca o 7 až 10% (Obr. 2). Pod deficitnú hodnotu $<20 \text{ ppm}$ /8/ klesli hodnoty Zn v listoch ceru rastúceho na ploche Mladý háj Olichov a na referenčnej ploche Obyce. Z literatúry je známe, že pri nedostatku Zn sa môže zastaviť rast rastlín, spomaľujú sa fyziologické funkcie a negatívne je ovplyvnená tiež produktivita rastlín /9/.

Transferový koeficient vyšší než 1 bol zistený len v prípade pomeru koncentrácií Zn zistených v listoch druhu *Q. cerris* a v organickom horizonte geobiocenózy Kynecký les (G1), (Obr. 2). Je to pravdepodobne dôsledok kombinovaného vplyvu emisií pochádzajúcich z dopravy a emisií produkovaných mestom Nitra. Nižší obsah Zn v organických horizontoch pôd, v porovnaní s listami ceru, môže súvisieť s vymývacím účinkom kyslej zrážkovej vody vedúcej k acidifikácii humusových vrstiev.



Obr. 2: Obsah Zn ($\bar{x} \pm s_x$) v listoch duba cerového a transferové koeficienty Zn v systéme pôda–rastlina (Oo = organický horizont, pôdne vrstvy: 0–5cm, 10–20 cm, 20–30 cm).

LITERATÚRA

- /1/ Omar, N.Y.M.J., Abas, M.R.B., Rahman, N.A., Tahir, N.M., Rushdi, A.I., Simoneit, B.R.T.: Levels and distributions of organic source tracers in air and roadside dust particles of Kuala Lumpur, Malaysia. *Environ. Geol.*, 52 (8), 2007: 1485–1500.
- /2/ Makovníková, J., Barančíková, G., Dlapa, P., Dercová K.: Inorganic contaminants in soil ecosystems. *Chemické Listy*, 100 (6), 2006: 424–432.
- /3/ Tóth, T., Vollmannová, A., Musilová, J., Bystrická, J., Hegedusová, A., Jomová, K.: Rizikové prvky antropogénneho pôvodu v pôdach stredného Spiša. *Chemické listy*, 100 (8), 2006: 701–702.
- /4/ Kuklová, M., Kukla, J., Pivková, I., Hniličková, H., Hnilička, F.: Obsah energie a popola v organických horizontoch pôd a v listoch druhu *Quercus cerris* L. zaťažených emisiami z rýchlostnej cesty. In 39. Mezinárodní český a slovenský kalorimetrický seminář : sborník příspěvků. Zodp. red. Zdeněk Černošek, Jana Holubová, Eva Černošková; Pardubice : Univerzita Pardubice, 2017: 131–134.
- /5/ MPRV (Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR). Zákon č. 220/2004 Z. z. o ochrane a využívaní poľnohospodárskej pôdy. Bratislava: príloha č. 2, čiastka 96, 2004
- /6/ Markert, B.: Instrumental multielement analysis in plant materials: a modern method in environmental chemistry and tropical systems research. CETEM/CNPq, Rio de Janeiro, Série Tecnologia Ambiental, 1995: 32 p.
- /7/ Vrana, K., Rapant, S., Bodiš, D., Marsina, K., Maňkiovská, B., Čurlík, J., Šefčík, P., Daniel, J., Lučivjanský, L., Lexa, J., Pramuka, S.: Geochemical Atlas of the Slovak Republic at a scale of 1:1,000,000. *Journal of Geochemical Exploration*, 60, 1997: 7–37.

- /8/ Mousavi, S. R.: Zinc in Crop Production and Interaction with Phosphorus. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 5, 2011: 1503–1509.
- /9/ Abdou, A.S., F.H. Al-Darwish, M.E. Saleh, K.A. El-Tarabily, M.S. Azirun, Rahman, M.M.: Effects of elemental sulfur, phosphorus, micronutrients and *Paracoccus versutus* on nutrient availability of calcareous soils. Australian Journal of Crop Science, 5 (5), 2011: 554–561.

Pod'akovanie

Táto práca bola podporovaná Vedeckou grantovou agentúrou MŠ SR a SAV (projekt č. 2/0005/17, 2/0120/17) a S projektu MŠMT České republiky.

VPLYV KYSELINY SALICYLOVEJ NA TOXICITU SB(V) V KUKURICI SIATEJ

INFLUENCE OF SALICYLIC ACID ON TOXICITY OF ANTIMONATE IN MAIZE

Alexandra Lešková, Ivana Fialová, Miroslava Luxová

Centrum biológie rastlín a biodiverzity Slovenskej Akadémie Vied, Dúbravská cesta 9, 84315
Bratislava, alexandra.leskova@savba.sk

Summary

We tested the influence of salicylic acid (SA) application on toxicity of antimonate (Sb(V)) on growth of maize (*Zea mays* L.) plants. We first aimed to determine the most suitable method of SA application to achieve beneficial effects of SA on Sb(V) stressed maize plants (hybrid Valentina) by assessing different growth parameters. Then we assessed whether plants' sensitivity towards Sb(V) and/or SA depends on their genetic background, by testing different hybrids under Sb(V) stress and SA application. We found that pretreatment of maize grains with SA either by imbibition or priming can have some potentially alleviating effects on Sb(V) toxicity. Furthermore we showed that maize hybrids differ in their sensitivity towards Sb(V) as well as SA application. SA application had a mild stimulating effect on root growth and fresh biomass of shoots of hybrid Valentina in both control and Sb(V) stressed plants, while it exacerbated Sb(V) toxicity in other hybrids, or did not influence those.

Key words: antimony, maize, toxicity, salicylic acid

Súhrn

V hydroponicky pestovanej kukurici siatej (*Zea mays* L.) sme testovali účinky aplikácie kyseliny salicylovej (SA) na toxicitu antimónu (Sb(V)). S cieľom výberu najvhodnejšej metódy kultivácie rastlín so SA, ktorá bude mať potenciálne zmierňujúci účinok na toxicitu Sb(V), sme skúmali rôzne spôsoby aplikácie SA na hybride Valentina. Taktiež sme si kládli otázku, či citlivosť rastlín na Sb(V) a SA je závislá od ich genetického pozadia, pozorovaním rastových parametrov rôznych hybridov kukurice po vystavení Sb(V) a SA. Zistili sme, že ošetrovanie semien rastlín roztokom SA pred jej vysiatím či už prostredníctvom imbibície alebo primingu má potenciálny zmierňujúci účinok na toxicitu Sb(V). Rôzne hybridy mali odlišné reakcie na prítomnosť Sb(V) a/alebo SA. Aplikácia SA mierne stimulovala rast koreňov a tvorbu čerstvej biomasy výhonkov kontrolných, aj Sb(V) stresovaných rastlín hybridu Valentina, kým inhibovala tieto parametre ostatných hybridov alebo nemala na ne žiaden účinok.

Kľúčové slová: antimón, kukurica, toxicita, kyselina salicylová

ÚVOD

Antimón patrí medzi neesenciálne prvky, ktorý môže byť vo zvýšených koncentráciách toxický pre rastliny /1/. Kyselina salicylová (SA) je rastlinný hormón, ktorý hrá dôležitú úlohu v obranných mechanizmoch rastlín voči napadnutiu patogénom, ale aj voči rôznym abiotickým stresom. Exogénna aplikácia SA mala preukázateľný zmierňujúci účinok na stres voči suchu, nízkej teplote, zasolení, ale aj toxicite Cd /2, 3/. Jej vplyv na rastliny avšak silne závisí od jej aplikovanej koncentrácie, spôsobu aplikácie a druhu alebo kultivaru rastliny /4/. Ako aplikácia SA vplýva na stres vyvolaný Sb nie je doteraz prebádaný. Naším cieľom bolo preto preskúmať vplyv rôznych spôsobov aplikácie SA na rastové charakteristiky významnej

poľnohospodárskej plodiny, kukurici siatej vystavenej Sb(V), ako aj variabilitu v citlivosti rôznych hybridov kukurice na Sb(V) a SA.

MATERIÁL A METÓDY

Vysterilizované semená kukurice siatej (*Zea mays* L.) hybridu Valentina sme pestovali hydroponicky 12 dní v Hoaglandovom živnom médiu v nasledovných variantoch: 1) Kontrola, 2) Kontrola + kyselina salicylová (SA), 3) 50 mg.l⁻¹ Sb(V), 4) 50 mg.l⁻¹ Sb(V) + SA; s koncentráciou, spôsobom aplikácie a dĺžkou expozície SA špecifikovanej v tabuľke 1. Ďalšie experimenty sa uskutočnili okrem Valentiny aj na ďalších 7 hybridoch kukurice: Bejm, Allscor, Robertana, Markíza, Torena, Almansa a Amanita. V týchto experimentoch sa SA aplikovala prostredníctvom primingu semien v roztoku 500 µM SA (Tab. 1) a Sb(V) sa aplikoval koncentrácii 25 mg.l⁻¹. Rastliny sme pestovali v rastovej komore v režime 16/8 h fotoperiody pri svetelnej intenzite 180 µmol.m⁻²s⁻¹ a teplote 24/22 °C deň/noc. Gravimetricky sme stanovili hmotnosť čerstvej biomasy rastlín a ďalej sme stanovili dĺžku koreňov a listovú plochu.

Tab. 1: Použitý experimentálny dizajn kultivácie hybridu Valentina kukurice siatej v prítomnosti Sb(V) a kyseliny salicylovej (SA)

Forma aplikácie SA	Koncentrácia SA (µM)	Aplikácia SA		Aplikácia 50 mg. l ⁻¹ Sb(V)	
		Dĺžka expozície/Frekvencia aplikácie	Začiatok aplikácie (deň)	Dĺžka expozície (dni)	Začiatok aplikácie (deň)
Foliárne	100	jednorázovo	5.	5	7.
Do živného média	10	9 dní	3.	9	3.
	25	2 dni	3.	7	5.
Imbibícia semien	500	24 h	- ^a	9	3.
Priming semien	500	16 h	- ^b	9	3.

^aSemená sa pred vysiatím namočili do roztoku SA alebo destilovanej vody (kontrola) a prepláchli sa v destilovanej vode

^bSemená sa pred vysiatím namočili do roztoku SA alebo destilovanej vody (kontrola), prepláchli sa v destilovanej vode a vysušili sa do pôvodnej hmotnosti.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Testovali sme rôzne spôsoby aplikácie kyseliny salicylovej (SA) na rastové charakteristiky kontrolných a antimónom (50 mg.l⁻¹ Sb(V)) stresovaných rastlín kukurice siatej, konkrétne hybridu Valentiny (Tab. 2). Foliárna aplikácia SA nemala žiaden vplyv na merané parametre, kým prídavok SA do živného média rastlín mal negatívny účinok na rast koreňov ako kontrolných tak aj Sb(V) stresovaných rastlín, nezávisle od načasovania prídavku Sb(V) alebo koncentrácie a doby kultivácie rastlín v SA (Tab. 2). Takáto aplikácia SA negatívne ovplyvnila najvše aj čerstvú biomasu koreňov kontrolných rastlín.

Imbibícia semien kukurice v roztoku SA mala naopak pozitívny vplyv na čerstvú biomasu výhonkov, aj listovú plochu kontrolných rastlín a spôsobila mierny (14 %) nárast listovej plochy aj Sb(V) stresovaných rastlín, v porovnaní s Sb(V) variantom bez prídavku SA (Tab. 2). Priming semien kukurice v roztoku SA síce mierne zredukoval rast koreňov kontrolných rastlín, avšak mierne (12 %) predĺžil rast Sb(V) stresovaných rastlín oproti samotnému Sb(V) variantu.

Ošetrovanie semien kukurice SA prostredníctvom imbibície alebo primingu semien sa preukázali teda ako najvhodnejšie metódy aplikácie SA pre potenciálne zmiernenie toxicity Sb(V) v tomto hybride kukurice. Naše výsledky korešpondujú so zisteniami [3], keď priming semien SA mal taktiež prospešný účinok na rastové charakteristiky ryže vystavenej nízkym

teplotám. Pre ďalšie experimenty sme zvolili prídavok SA vo forme primingu semien v roztoku SA.

Tab. 2: Vplyv kyseliny salicylovej (SA) na rastové charakteristiky kukurice siatej hybridu *Valentina* pestovanej v prítomnosti antimónu (Sb(V))

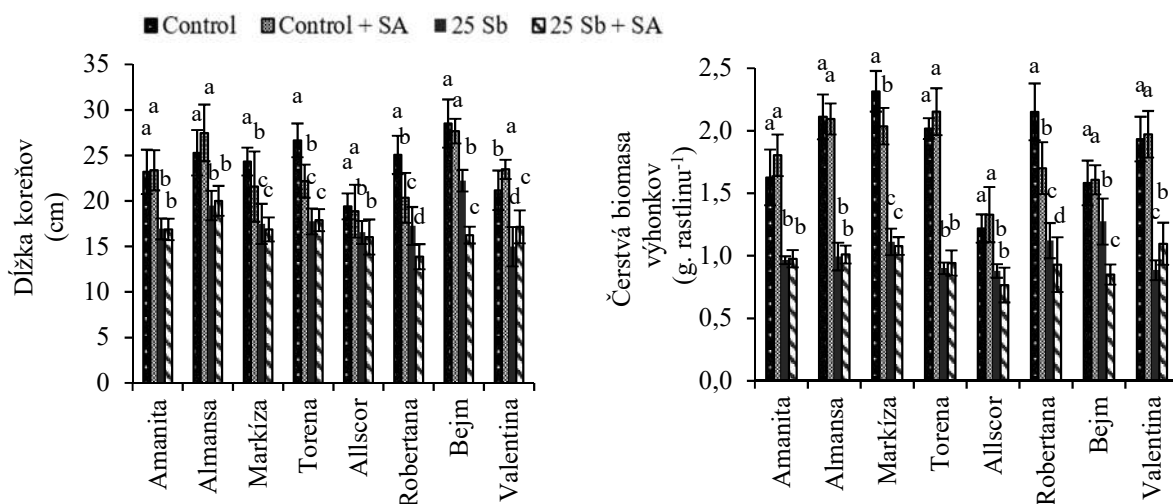
Forma aplikácie SA	Variant	Dĺžka koreňov (cm)	Čerstvá biomasa koreňov (g. rastlinu ⁻¹)	Čerstvá biomasa výhonkov (g. rastlinu ⁻¹)	Listová plocha (cm ²)
Foliárne	Kontrola	17,76 ± 1,38 a	0,87 ± 0,09 a	1,92 ± 0,24 a	63,85 ± 7,93 a
	Kontrola +100 SA	16,88 ± 1,36 a	0,85 ± 0,06 a	1,75 ± 0,13 a	58,96 ± 5,30 a
	50 Sb*	11,48 ± 1,02 b	0,72 ± 0,01 b	0,80 ± 0,04 b	30,73 ± 3,51 b
	50 Sb* + SA	10,35 ± 1,64 b	0,56 ± 0,11 b	0,72 ± 0,10 b	32,52 ± 2,40 b
V roztoku	Kontrola	23,25 ± 1,51 a	1,19 ± 0,14 a	2,58 ± 0,26 a	74,12 ± 6,57 a
	Kontrola + 10 SA	14,80 ± 1,19 c	1,18 ± 0,09 a	1,89 ± 0,20 b	65,73 ± 4,95 a
	50 Sb	13,16 ± 1,00 d	0,85 ± 0,06 b	0,94 ± 0,19 c	35,32 ± 3,46 b
	50 Sb + 10 SA	11,75 ± 0,86 d	0,85 ± 0,08 b	0,90 ± 0,08 c	35,57 ± 3,04 b
	Kontrola + 25 SA	21,25 ± 1,78 b	1,28 ± 0,09 a	2,49 ± 0,28 a	80,54 ± 7,60 a
	50 Sb**	15,24 ± 1,61 c	0,86 ± 0,11 b	1,07 ± 0,12 c	38,98 ± 3,53 b
	50 Sb** + 25 SA	12,07 ± 1,79 d	0,91 ± 0,07 b	1,07 ± 0,14 c	38,00 ± 3,06 b
Imbibícia	Kontrola	20,39 ± 1,10 a	1,03 ± 0,09 a	1,99 ± 0,16 b	64,56 ± 7,14 b
	Kontrola + 500 SA	21,30 ± 2,06 a	1,07 ± 0,07 a	2,29 ± 0,19 a	73,19 ± 7,27 a
	50 Sb	14,09 ± 1,46 b	0,81 ± 0,05 b	0,83 ± 0,04 c	32,24 ± 2,56 d
	50 Sb + 500 SA	13,61 ± 1,40 b	0,85 ± 0,08 b	0,95 ± 0,07 c	37,53 ± 3,39 c
Priming	Kontrola	18,50 ± 1,01 a	0,93 ± 0,10 a	2,01 ± 0,09 a	63,85 ± 5,30 a
	Kontrola + SA	17,39 ± 1,33 b	0,83 ± 0,10 ab	1,92 ± 0,13 a	65,93 ± 5,98 a
	50 Sb	12,66 ± 0,94 d	0,75 ± 0,05 b	0,93 ± 0,08 b	38,00 ± 3,86 b
	50 Sb + SA	14,35 ± 1,24 c	0,78 ± 0,03 b	0,91 ± 0,06 b	36,36 ± 2,66 b

V grafe sú uvedené priemerné hodnoty ± SD. Dávka Sb je uvedená v mg.l⁻¹, kým SA v mikromolárnych koncentráciách. Rozdielne písmená nasledujúce po hodnotách rastových parametrov poukazujú na hladiny významnosti rozdielov medzi jednotlivými variantmi pri p < 0.05. *Antimón sa aplikoval v týchto experimentoch od 5., **3. dňa kultivácie (viď. Tab. 1).

Ďalej sme skúmali variabilitu citlivosti rôznych hybridov kukurice na toxicitu Sb(V) a charakter a mieru účinku aplikácie SA na základe rastových parametrov. Pre tieto experimenty sme si zvolili nižšiu koncentráciu Sb(V), keďže naše preliminárne experimenty ukázali, že hybridy sú vysoko citlivé na Sb(V). Všetky hybridy kukurice mali preukázateľne redukovaný rast koreňov a zníženú biomasu výhonkov účinkom 25 mg.l⁻¹ Sb(V) (graf 1). Táto miera inhibície sa líšila medzi jednotlivými hybridmi a pohybovala v rozmedzí 15 až 33 % pre rast koreňov, a 20 až 54 % pre tvorbu čerstvej biomasy výhonkov.

Priming semien v SA mal odlišný vplyv na hybridy. Na Sb(V) málo odolná *Valentina* reagovala opäť pozitívne na SA, a to miernou stimuláciou rastu koreňov a čerstvej biomasy výhonkov v kontrolnom variante. Podobný pozitívny vplyv mal priming aj v kombinácii s aplikáciou Sb(V), v porovnaní so samotným Sb(V) variantom (graf 1). Naopak hybrid *Bejm*, ktorý bol najrezistentnejší na Sb(V), kultiváciou v Sb(V) v kombinácii s primingom v SA reagoval významnou redukciiu rastu koreňov, aj tvorby biomasy výhonkov v porovnaní s Sb(V) bez primingu v SA. Iné hybridy nereagovali na prítomnosť SA (*Amanita*, *Almansa*, *Allscor*), alebo reagovali negatívne (*Markíza*, *Torena*, *Robertana*) (graf 1). Odlišný vplyv aplikácie SA na rastové parametre rastlín zistili aj v rôznych kultivároch pšenice po ich vystavení zasoleniu /5/.

Súhrne, spôsob aplikácie a koncentrácia SA vo významnej miere ovplyvňujú odolnosť rastlín na stresory, akým je Sb(V). Genetické pozadie rastlín je taktiež rozhodujúce pri ich citlivosti na Sb(V) a charaktere a miery reakcie na p SA. Aplikácia SA preto má potenciál v zmiernení toxicity Sb(V) v kukurici, pri správnej voľbe kultivačných podmienok a hybridu.



Graf 1: Vplyv kyseliny salicylovej (SA) na dĺžku koreňov a čerstvú biomasu výhonkov rôznych hybridov kukurice siatej pestovaných v prítomnosti Sb(V). V grafe sú uvedené priemerné hodnoty \pm SD. Rozdielne písmená nad hodnotami rastových parametrov poukazujú na hladiny významnosti rozdielov medzi jednotlivými variantmi v rámci toho istého hybridu pri $p < 0.05$.

LITERATÚRA

- /1/ Vaculíková, M., Vaculík, M., Šimková, L., Fialová, I., Kochanová, Z., Sedláková, B., Luxová, M. Influence of silicon on maize roots exposed to antimony – Growth and antioxidative response. *Plant Physiology and Biochemistry*, 83, 2014: 279-284
- /2/ Tamás, L., Mistrík, I., Alemayehu, A., Zelinová, V., Bočová, B., Huttová, J. Salicylic acid alleviates cadmium-induced stress responses through the inhibition of Cd-induced auxin-mediated reactive oxygen species production in barley root tips. *Journal of Plant Physiology*, 173, 2015: 1-8
- /3/ Wang, W., Chen, Q., Hussain, S., Mei, J., Dong, H., Peng, S., Huang, J., Cui, K., Nie, L. Pre-sowing seed treatments in direct-seeded early rice: consequences for emergence, seedling growth and associated metabolic events under chilling stress. *Scientific reports*, 6, 2016: 19637.
- /4/ Chen, Y.E., Cui, J.M., Li, G.X., Yuan, M., Zhang, Z.W., Yuan, S., Zhang, H.Y. (2016) Effect of salicylic acid on the antioxidant system and photosystem II in wheat seedlings. *Biologia Plantarum*, 60, 2016: 139-14
- /5/ Arfan, M., Athar, H.R., Ashraf, M. Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in two differently adapted spring wheat cultivars under salt stress? *Journal of Plant Physiology*, 164, 2007: 685-694

Pod'akovanie

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory VEGA 2/0018/17. Ďakujeme pani Irene Mravíkovej za excelentnú technickú pomoc v laboratóriu.

STUDIUM PHYTOTOXICITY VÝLUHŮ ŠVESTKOVÉHO A BŘEZOVÉHO DŘEVA

STUDY ON PHYTOTOXICITY OF LEACHATES FROM PLUM AND BIRCH WOOD

Klára A. Mocová, Petra Ježková, Miroslav Kobera

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, FTOP, Ústav technologie ochrany prostředí,
Technická 5, 166 28 Praha 6 – Dejvice, Klara.Mocova@vscht.cz

Summary

Plum (*Prunus domestica* L.) and birch (*Betula pendula* L.) woodchips were stored for a period of 6 weeks under different temperatures (-20 °C, 4 °C and 20 °C). Water leachates were prepared from both fresh and stored material. The leachates were subsequently tested for their effect on growth and chlorophyll content in duckweed (*Lemna minor* L.). Fresh woodchip-leachates were found the most toxic. Birch was less toxic in comparison with plum, where leachate made from fresh and freeze-stored woodchips showed lethal impact. The wooden leachates toxicity seems to be related more to the fungi species grown on wood than to its total number.

Key words: Prunus domestica L., *Betula pendula* L., woodchips, water leachate, *Lemna minor* L., phytotoxicity, microorganisms

Souhrn

Ze vzorků švestkového (*Prunus domestica* L.) a březového (*Betula pendula* L.) dřeva byla vyrobena štěpka, která byla skladována po dobu 6 týdnů při různých teplotách (-20 °C, 4 °C a 20 °C). Z čerstvého i skladovaného materiálu byly vytvořeny vodné výluhy, u nichž byly testovány účinky na růst a obsah chlorofylu vůči okřešku (*Lemna minor* L.). Nejvíce toxické byly výluhy z čerstvého dřeva. Bříza se ukázala jako méně toxická než švestka, jejíž výluh z čerstvého a v mrazu skladovaného materiálu působil letálně. Toxicita výluhů dřeva souvisí spíše s druhovým složením mikroskopických hub rostoucích na dřevě, než s jejich celkovým počtem.

Klíčová slova: Prunus domestica L., *Betula pendula* L., dřevěná štěpka, vodný výluh, *Lemna minor* L., fytotoxicita, mikroorganismy

ÚVOD

Dřevěná štěpka má široké použití. V půdách má mj. funkci sorbentu – váže na sebe těžké kovy a redukuje tak jejich vymývání a následnou kontaminaci povrchové nebo spodní vody. Štěpka přidávaná do půdy navíc půdu obohacuje o živiny. Je-li přidávána na povrch, potlačuje díky alelopatickým chemikáliím růst plevelů /1/.

Velký význam má použití dřevěné štěpky v sanačních technologiích, a to při úpravě vody znečištěné dusíkatými látkami v podmínkách *in situ*, např. v blízkosti zemědělských provozů /2/. Alternativou k nákladným čistírnám odpadních vod je výstavba nízkonákladových bioreaktorů, které obsahují denitrifikační bakterie. Dřevěná štěpka pak představuje jeden z typů možných náplní bioreaktoru a slouží jako zdroj uhlíku pro denitrifikační mikroorganismy /3/.

Důležitou vlastností štěpky je její velký povrch, díky němuž dochází při styku s vodou k silnému vyluhování potenciálně toxických látek, především fenolů. Podstatný význam ale mohou mít také toxiny či metabolity mikroorganismů, které na dřevě žijí, či nízké pH /4/.

Cílem této práce bylo zjistit, jaké účinky má výluh štěpky ze švestky a břízy na okřehek (*Lemna minor* L.) s ohledem na různé způsoby skladování štěpky a dobu louhování.

MATERIÁL A METODY

Na několika lokalitách v okolí Prahy byl proveden odběr vzorků ze švestky (*Prunus domestica* L.) a břízy (*Betula pendula* L.). Vybrány byly větve čerstvě odříznuté od stromů, olistěné, do průměru 2,5 cm. Větve byly naštěpkovány a buď ihned použity k přípravě výluhu anebo nejprve uskladněny v plastových krabičkách v temnu a při teplotě -20 °C, 4 °C a 20±2 °C po dobu 6 týdnů. Výluh dřevěné štěpky (50 g sušiny vzorku / 500 ml H₂O) byl prováděn ve skleněných lahvích umístěných na rotační třepačce „hlava – pata“, při 7 rpm po dobu 1, 3 nebo 5 dnů. Následně byly výluhy centrifugovány (250ml nádoby, 4600 rpm, 10 min, 4 °C) a filtrovány. Hodnota pH výluhů nebyla upravována.

Okřehek (*Lemna minor* L., kultura Steinberg) byl pěstován ve 100ml kádinkách v 75 ml koncentrovaného výluhu nebo sterilního kontrolního média Steinberg /5/ po dobu 7 dní při teplotě 24 ± 1 °C a osvětlení 5000-6000 lux, 16 h / 8 h (světlo / tma). Na začátku, po 3 dnech a na konci expozice byla pomocí digitální analýzy obrazu (Nis Elements /6/) stanovena celková listová plocha rostlin. Po ukončení expozice byl stanoven také obsah celkového chlorofylu na jednotku listové plochy (extrakce v methanolu, spektrofotometr Hach DR/ 2400, Německo, výpočet dle /7/). Hodnoty velikosti listové plochy byly vyjádřeny v podobě růstové rychlosti, obsah chlorofylu jako hodnoty zjištěné na konci testu. Výsledky byly hodnoceny pomocí Tukeyho testů mnohonásobného srovnávání.

Výluhy byly dále naočkovány na agarové plotny (agar OGYE - Oxytetracycline Glucose Yeast Extract ~ 18,5 g / 500 ml H₂O; chloramfenikol ~ 50 mg) a inkubovány při 24 °C a ve tmě po dobu 6 dnů. Po ukončení inkubace byly stanoveny počty kolonií a spočítán obsah houbových mikroorganismů na 1 ml vzorku.

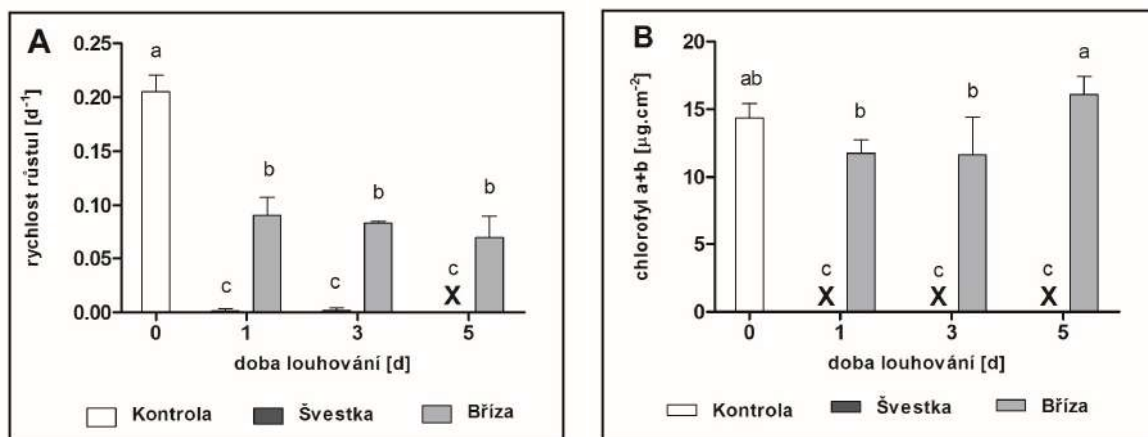
VÝSLEDKY A DISKUSE

Výluhy z čerstvé švestkové štěpky byly bez ohledu na dobu louhování pro okřehek letální. Ve výluzích břízy došlo k průkazně nižšímu růstu oproti kontrolním rostlinám, nicméně obsah chlorofylu byl srovnatelný s kontrolou (Graf 1).

Tab. 1: Hodnoty pH, vodivosti a počtu mikroskopických hub ve výluzích švestky a břízy.

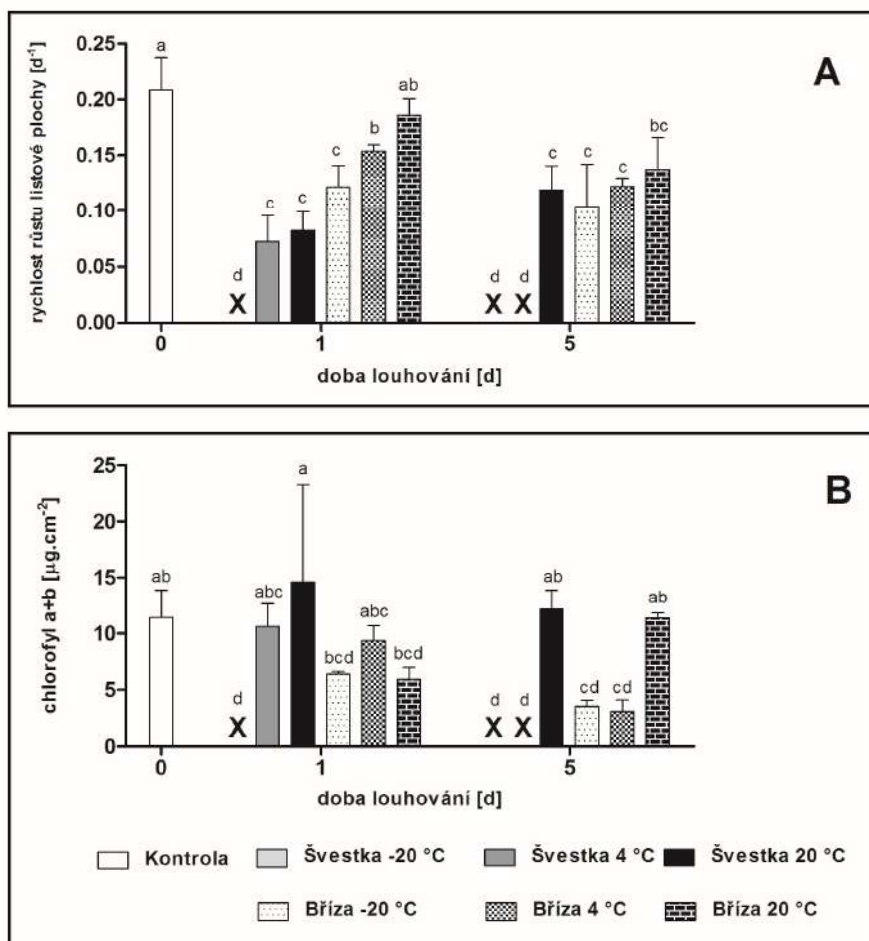
Vzorek (Výluh)	pH	vodivost ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	počet mikroskopických hub (ml^{-1})			
			čerstvý	skladovaný 6 týdnů (°C)		
				-20	4	20
Kontrola	5,5	903	-	-	-	-
Švestka	4,7	1116	$1,5 \times 10^4$	2×10^3	$5,3 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$
Bříza	6,5	319	$7,1 \times 10^4$	$5,3 \times 10^5$	8×10^5	$2,7 \times 10^5$

U kontrolního vzorku (Steinbergovo médium) nebyly počty mikroorganismů stanovovány.



Graf 1: Vliv doby louhování čerstvé švestkové a březové štěpky na růst listové plochy (A) a obsah celkového chlorofylu (B) u okřehku.

Kontrola (0) – Steinbergovo médium; X... nulové hodnoty měřeného znaku; sloupce označené stejnými písmeny se mezi sebou statisticky významně neliší ($\alpha = 0,05$).



Graf 2: Vliv výluhů švestkové a březové štěpky skladované při různých teplotách na růst listové plochy (A) a obsah celkového chlorofylu (B) u okřehku.

Kontrola (0) – Steinbergovo médium; X... nulové hodnoty měřeného znaku; sloupce označené stejnými písmeny se mezi sebou statisticky významně neliší ($\alpha = 0,05$).

Uchování materiálu při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ vedlo k přibližně stejným účinkům výluhů na okřehek jako u výluhů z čerstvé štěpky; v případě švestky došlo opět k úhynu rostlin. U vzorků skladovaných při $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ se již projevil vliv doby louhování; 5denní výluh ze švestky měl opět letální účinek, březový způsoboval oproti 1dennímu výluhu nižší růst. Zajímavé je podstatné snížení toxicity obou druhů štěpky, která byla skladována při $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Přestože byla oproti ostatním vzorkům značně pokrytá mikroskopickými houbami (mycelia byla dobře viditelná již pouhým okem), celkový počet buněk na jednotku objemu ve výluhu byl nižší než ve výluzích ze vzorků skladovaných v chladu či mrazu (Graf 2, Tab. 1). Je-li skladován již hotový výluh dřeva, mění se u něj obsah organických látek i toxicita. Původní intenzita toxických účinků výluhu osiky se zachovala dlouhodobě pouze při nízkých teplotách skladování. Za laboratorních teplot se ztrácejí chemicky labilní látky a toxicita výluhu se snižuje /8/. K podobným změnám zřejmě dochází při laboratorní teplotě i u samotné štěpky.

Již dříve bylo zjištěno, že chemické složení a pH výluhů dřeva se u různých druhů stromů liší /9/ a stejně tak se liší i jejich toxicita vůči vodním organismům /4, 8/. Z našeho experimentu vyplývá, že zejména švestková štěpka může být pro vodní rostliny významně toxická, a to zřejmě díky kvalitě přítomných plísní, nízkému pH, případně toxickým látkám přítomných v samotném dřevě. Naproti tomu redukce růstu rostlin (Graf 1, A) a obsahu chlorofylu (Graf 2, B) v březovém výluhu mohla být mj. způsobena i nižším obsahem minerálů – oproti kontrole byla vodivost výluhu přibližně třikrát nižší. Březová štěpka obsahovala v každém případě vyšší počet houbových buněk než švestkové dřevo (Tab. 1). Přesto s jedinou výjimkou působil na okřehek příznivěji výluh z břízy (Graf 1, 2). Spíše než celkový počet ovlivňuje zřejmě toxicitu dřeva druhové složení přítomných mikroorganismů. V případě břízy to byly zejména kvasinky, u švestky se objevily kromě kvasinek i plísně.

Výsledky naší práce potvrdily význam studia toxicity dřeva pro vodní rostliny. V následujícím období se zaměříme také na další druhy stromů (např. jehličnany).

LITERATURA

- /1/ Chalker-Scott, L., Impact of mulches on landscape plants and the environment-a review. *Journal of Environmental Horticulture*, 25 (4), 2007: 239-249.
- /2/ Schipper, L.A., Robertson, W.D., Gold, A.J., Jaynes, D.B., Cameron, S.C.: Denitrifying bioreactors - An approach for reducing nitrate loads to receiving waters. *Ecological Engineering*, 36 (11), 2010: 1532-1543.
- /3/ Moorman, T.B., Parkin, T.B., Kaspar, T.C., Jaynes, D.B.: Denitrification activity, wood loss, and N_2O emissions over 9 years from a wood chip bioreactor. *Ecological Engineering*, 36 (11), 2010: 1567-1574.
- /4/ Rex, J., Dubé, S., Krauskopf, P., Berch, S.: Investigating Potential Toxicity of Leachate from Wood Chip Piles Generated by Roadside Biomass Operations. *Forests*, 7 (2) 40, 2016: doi: 10.3390/f7020040.
- /5/ ISO 20079: Water quality - Determination of toxic effect of water constituents and waste to duckweed (*Lemna minor*) - Duckweed growth inhibition test. 2005.
- /6/ NIS-Elements [CD-ROM]. ver. 4.2 Praha: Laboratory Imaging, 2014.
- /7/ Wellburn, A.R.: The spectral determination of chlorophyll a and chlorophyll b as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*, 144, 1994: 307-313.
- /8/ Taylor, B.R., Goudey, J.S., Carmichael, N.B.: Toxicity of aspen wood leachate to aquatic life: Laboratory studies. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15 (2), 1996: 150-159.
- /9/ Svensson, H., Marques, M., Kaczala, F., Hogland, W.: Leaching patterns from wood of different tree species and environmental implications related to wood storage areas. *Water and Environment Journal*, 28 2014: 277-284.

ŤAŽKÉ KOVY V RASTLINÁCH Z LOKALÍT ZAŤAŽENÝCH STAROU BANSKOU ČINNOSTÍ

HEAVY METALS IN PLANTS FROM LOCALITIES INFLUENCED BY OLD MINES

Marianna Molnárová¹, Jana Ružičková¹, Blanka Lehotská², Alexandra Filová¹, Agáta Fargašová¹

¹ Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra environmentálnej ekológie, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava 4, Slovenská republika, molnarova@fns.uniba.sk, ruzickova@fns.uniba.sk, filova32@uniba.sk, fargasova@fns.uniba.sk

² Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra krajinskej ekológie, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava 4, Slovenská republika, lehotska@fns.uniba.sk

Summary

Malé Karpaty Mts. in the Slovakia are known for their higher concentration of antimony, arsenic and lead in the geological bedding. Near Pernek and Pezinok villages are old mining sites where antimony have been mined in the past century. These mines present environmental risks for the environment. We studied accumulation of toxic metals (As, Cd, Pb, Sb) and essential elements (Cu, Zn) in the roots and leaves of the plants bishop's goutweed (*Aegopodium podagraria*), slender false brome (*Brachypodium sylvaticum*) and town avens (*Geum urbanum*) on the upper and lower streams of Gidra, Trniansky and Stoličný creek. Higher As transport into the leaves of *G. urbanum* and *A. podagraria* was on the upper stream of Trniansky creek, while for *B. sylvaticum* on the upper stream of Stoličný creek. Antimony didn't detected in the plants, but cadmium, copper and zinc were higher accumulated in the leaves of *A. podagraria* and *G. urbanum* on the more localities.

Key words: heavy metals, old mines near Pezinok, transportation index (Ti), accumulation, plants

Súhrn

Malé Karpaty sú známe zvýšeným obsahom antimónu, arzenu a olova v geologickom podloží. V okolí Perneku a Pezinku sa nachádzajú staré banské diela, v ktorých sa ešte v minulom storočí ťažil antimón a v súčasnosti predstavujú tieto staré bane environmentálne riziko pre okolie. V práci sme sledovali prítomnosť toxických prvkov (As, Cd, Pb, Sb), ako aj esenciálnych prvkov (Cu, Zn) v koreňoch a listoch rastlín kozonohy hostcovej (*Aegopodium podagraria*), mrvíce lesnej (*Brachypodium sylvaticum*) a kuklíku mestskom (*Geum urbanum*) na hornom a dolnom toku Gidry, Trnianskeho a Stoličného potoku. Zvýšený transport As do listov *G. urbanum* a *A. podagraria* bol na hornom toku Trnianskeho potoku, kým pri *B. sylvaticum* bol vyšší obsah As v listoch na hornom toku Stoličného potoku. Antimón sa nám nepodarilo v rastlinách potvrdiť, ale kadmium, meď a zinok sa dobre akumulovali v listoch *A. podagraria* a *G. urbanum* na viacerých lokalitách

Kľúčové slová: ťažké kovy, staré bane pri Pezinku, transportačný index (Ti), akumulácia, rastliny

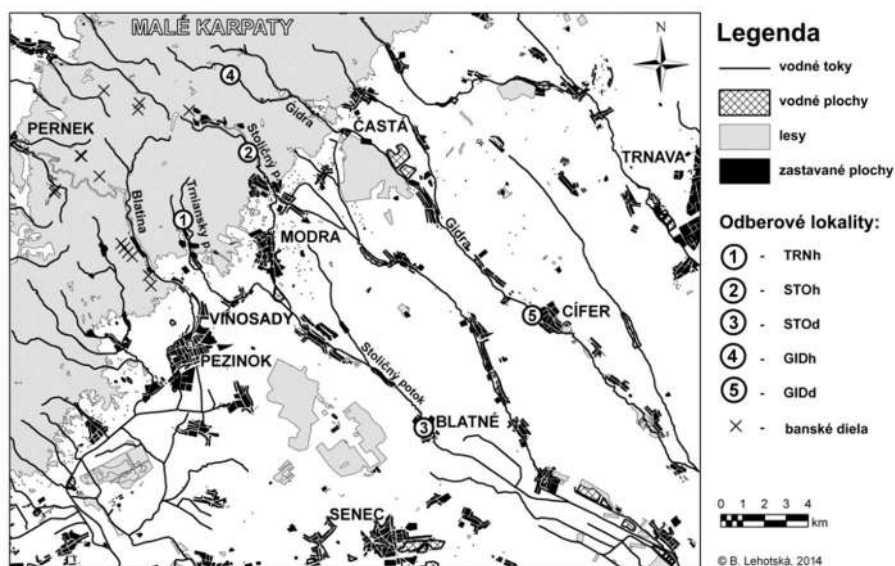
ÚVOD

Zasolení Malé Karpaty v okolí Pezinka a Perneku sú charakteristické zvýšeným výskytom As, Cd, Sb a Pb, ako aj Cu a Zn v geologickom podloží, pôde a sedimentoch /1/. Nachádzajú sa tu viaceré už nepoužívané banské diela, ako napr. Kolársky Vrch so štôľnou

Sirková /2, 3/, kde ešte pred druhou svetovou vojnou prebiehala intenzívna ťažba antimónu, či bane a štôlne v blízkosti Pezinka /4/. Tieto banské diela predstavujú významný zdroj znečistenia arzénom a antimónom niekoľko kilometrov pozdĺž toku Blatina (obr. 1) /4/. Arzén v pôde dlho zostáva (1000 až 3000 rokov) a pravidelne obohacuje vrchný pôdny horizont prostredníctvom vegetácie, atmosférickej depozície a sorpcie pôdnym organickým materiálom /5, 6/. Študovali sme tri lokality v pohorí Malých Karpát (horný tok potokov Trniansky, Stoličný a Gidra) a dve na ich dolných tokoch blízko obcí Blatné a Cífer (obr. 1). Keďže v blízkosti prameňa Stoličného potoka sa nachádza nepomenovaná štôlna č. 8 (krížik na mape, obr. 1), predpokladáme, že práve na hornom toku tohto potoka sa budú vybrané kovy (hlavne As a Sb) akumulovať v rastlinách.

MATERIÁL A METÓDA

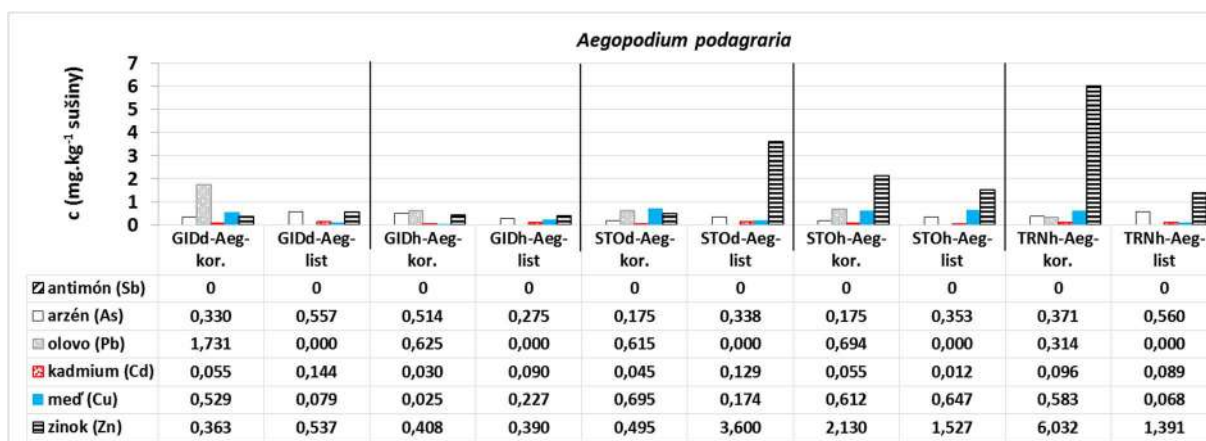
Študované lokality sa nachádzajú v blízkosti potokov Trniansky, Stoličný a Gidra (obr. 1). Trniansky potok sa za Vinosadmi vlieva do Stoličného potoka, kde sa na jeho dolnom toku nachádza ďalšie odberové miesto (STOd). Podobne sme sledovali aj dolný tok rieky Gidry pri obci Cífer (GIDd). Z miestnej vegetácie sme vybrali rastliny, nachádzajúce sa na viacerých lokalitách: kozonoha hostcová (*Aegopodium podagraria* L.), mrvica lesná (*Brachypodium sylvaticum* (Huds.) P. Beauv.) a kuklík mestský (*Geum urbanum* L.). Rastliny boli prenesené v chlade do laboratória, umyté vo vodovodnej a destilovanej vode, po oddelení koreňov a listov usušené pri 55 °C. Minimálne 11 mg sušiny sa rozkladalo v 5 ml konc. HNO₃:H₂O₂ (4:1) cez noc a na druhý deň sa v autoklávoch ZA-1 (Česká republika) zmineralizovala pri 180 °C na 1 hod /7/. Po ochladení sa zmes doplnila na 25 ml destilovanou vodou a elektrochemicky stanovila na prístroji EcaFlow 150 GLP (Istran, Slovenská republika). Metóda je porovnateľná s metódou AAS /8/. Translokáciu kovov z koreňov do výhonkov sme vyjadrili tzv. *transportačným faktorom*, či *indexom* (Ti) /9/: $Ti = (\text{koncentrácia kovu v liste})/(\text{koncentrácia kovu v koreni})$.



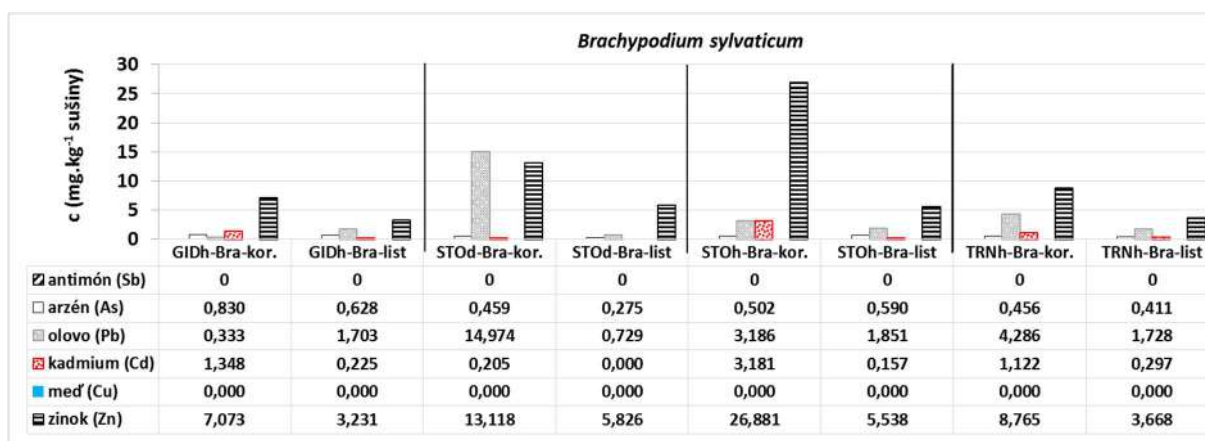
Obr. 1: Mapa odberových miest v Malých Karpatoch. Legenda: ① TRNh – horný tok Trnianskeho potoka v Kučišdorfskej doline blízko Pezinka, ② STOh – horný tok Stoličného potoka pri Modre-Harmónii, ③ STOd – dolný tok Stoličného potoka pri Blatnom, ④ GIDh – horný tok Gidry pri Píle, a ⑤ GIDd – dolný tok Gidry pri Cíferi.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Predpokladanú prítomnosť antimónu sme v koreňoch ani v listoch sledovaných rastlín nepotvrdili na žiadnej študovanej lokalite (obr. 2 – 4), a preto sme nemohli ani vypočítať transportačný index Ti pre tento prvok (tab. 1). Na rozdiel od Sb sme arzén preukázali ako koreňoch, tak aj v listoch všetkých troch rastlín, pričom najvyššie Ti sme pre *A. podagraria* a *B. sylvaticum* potvrdili na hornom toku Stoličného potoka (STOh, tab. 1), z čoho vyplýva zvýšený transport As z koreňov do listov (obr. 2 – 4). I keď olovo nebolo zistené v listoch *A. podagraria* (obr. 2), jeho vyššie koncentrácie sa pozorovali v listoch *G. urbanum* (obr. 4) a vysoké koncentrácie v listoch *B. sylvaticum* (obr. 3). Vyššie koncentrácie Cd, Cu a Zn sme pozorovali v koreňoch *G. urbanum* na dolných tokoch potokov, kým na horných potokoch sa ich koncentrácia zvyšovala viac v listoch (obr. 4). Naopak – na všetkých sledovaných lokalitách sa Cd a Zn viac akumuloval v koreňoch *B. sylvaticum* (obr. 3).

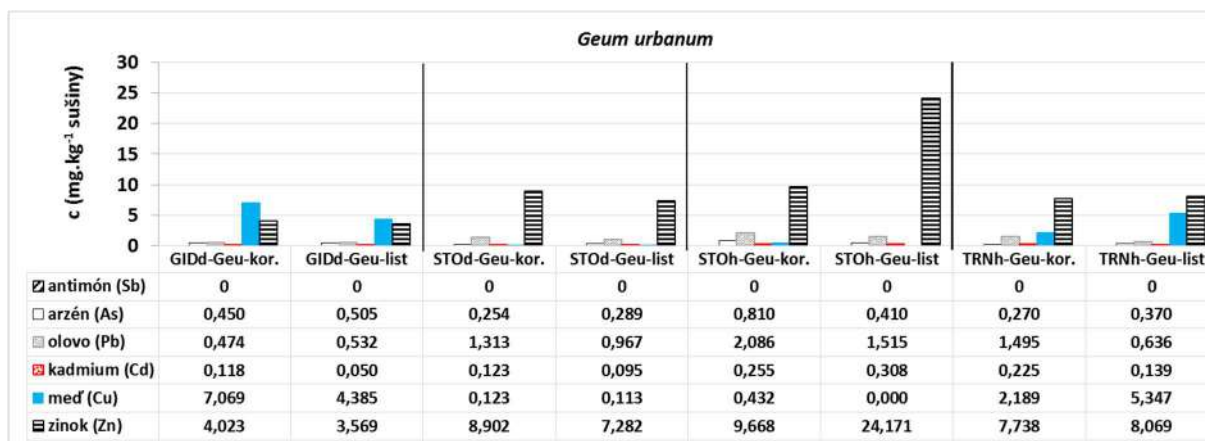


Obr. 2: Koncentrácia študovaných kovov v koreňoch (kor.) a listoch (list) *A. podagraria* na sledovaných lokalitách ($n = 3$). Legenda: ako na obr. 1.



Obr. 3: Koncentrácia študovaných kovov v koreňoch (kor.) a listoch (list) *B. sylvaticum* na sledovaných lokalitách ($n = 3$). Legenda: ako na obr. 1.

Tučným písmom sú v tab. 1 znázornené hodnoty $Ti > 1,00$; čo poukazuje na zvýšený presun daného kovu z koreňa do výhonku a na jeho akumuláciu v nadzemnej časti rastliny. Podčiarknuté hodnoty ($Ti < 0,30$) zas poukazujú na zadržiavanie kovu v koreňoch. V literatúre sa zatiaľ sledovala len akumulácia kovov v *G. urbanum*, ale naše výsledky sú v súlade aj s údajmi pre podobné rastliny /10, 11/.



Obr. 4: Koncentrácia študovaných kovov v koreňoch (kor.) a listoch (list) *G. urbanum* na sledovaných lokalitách ($n = 3$). Legenda: ako na obr. 1.

Tab. 1: Transportačné indexy (T_i) pre študované kovy v rastlinách na sledovaných lokalitách

rastlina	<i>Aegopodium podagraria</i>					<i>Brachypodium sylvaticum</i>					<i>Geum urbanum</i>				
	GIDd	GIDh	STOd	STOh	TRNh	GIDd	GIDh	STOd	STOh	TRNh	GIDd	GIDh	STOd	STOh	TRNh
Ti (As)	1,69	0,53	1,93	2,02	1,51	-	0,76	0,60	1,18	0,90	1,12	-	1,14	0,51	1,37
Ti (Pb)	-	-	-	-	-	-	5,11	0,05	0,58	0,40	1,12	-	0,74	0,73	0,43
Ti (Cd)	2,63	3,01	2,89	0,21	0,93	-	0,17	-	0,05	0,27	0,43	-	0,77	1,21	0,62
Ti (Cu)	0,15	8,91	0,25	1,06	0,12	-	-	-	-	-	0,62	-	0,92	-	2,44
Ti (Zn)	1,48	0,96	7,27	0,72	0,23	-	0,46	0,44	0,21	0,42	0,89	-	0,82	2,50	1,04

LITERATÚRA

- 1/ Veselský, J., Forgáč, J., Mejeed, S.Y.: Kontaminácia pôdy a aktívnych riečnych sedimentov Malých Karpát (oblast Pezinok – Pernek). Mineralia Slovaca, 28, 1996: 209 – 218.
- 2/ Cambel, B.: Hydrotermálne ložiská v Malých Karpatoch, mineralógia a geochemia rúd. Acta Geologica et Geographica Universitatis Comenianae: Geologica 3, 1959: 1 – 348.
- 3/ Fľaková, R., Ženišová, Z., Sracek, O., Krčmár, O., Ondrejková, 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.
- 4/ Majzlan, J., Lalinská, B., Chovan, M., Jurkovič, L., 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.
- 5/ Bowen, H.J.M.: Environmental Chemistry of the Elements. Academic Press: London, UK, 1979, 348 s.
- 6/ Alloway, B.J.: Soil processes and the behaviour of metal. In: Alloway, B.J. (Ed.): Heavy Metals in Soils, Chapman and Hall: Glasgow, UK, 1990, s. 7 – 28.
- 7/ 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.
- 8/ Beinrohr, E.: Prietokové elektroanalytické metódy v praxi. 2 THETA: Český Těšín, Česká republika, 2013, 112 s.
- 9/ 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.
- 10/ Stefanowicz, A.M., Stanek, M., Woch, M.W.: High concentrations of heavy metals in beech forest understory plants growing on waste heaps left by Zn-Pb ore mining. Journal of Geochemical Exploration, 169, 2016: 157 – 162.
- 11/ Onete, M., Paucă-Comănescu, M., Bianu, E., Ion, S.: Heavy metals content of soil and plants from central parks (Bucharest, Romania). In: "Metal Elements in Environment, Medicine and Biology", Tome VIII, Publishing House "Eurobit" Timișoara, 2008, s. 1 – 6.

Pod'akovanie

Výskum sa zrealizoval s finančnou podporou grantu Vedeckej grantovej agentúry MŠVVaŠ SR VEGA 1/1139/11, VEGA 1/0098/14 a KEGA 029UK-4/2016.

VEGETATIVE PROPAGATION OF CONIFER TREE SPECIES USING *IN VITRO* TECHNIQUES

VEGETATÍVNE ROZMNOŽOVANIE IHLIČNATÝCH DREVÍN POUŽITÍM *IN VITRO* TECHNÍK

Terézia Salaj¹, Teresa Hazubska-Przybyl², Katarína Klubíková¹, Ján Salaj¹

¹ Plant Science and Biodiversity Center SAS, Institute of Plant Genetics and Biotechnology, Akademická 2, 950 07 Nitra, Slovak Republic

² Institute of Dendrology, PAS, Parkowa 5, 62-035 Kornik, Poland

Summary

In recent years progress has been achieved in micropropagation of conifer trees and whole plants (plantlets, somatic seedlings) were obtained using *in vitro* techniques. The *in vitro* techniques of propagation have several advantages over propagation by seeds or conventional vegetative propagation. In conifer species *in vitro* plantlet regeneration can be achieved in three different ways: a) by axillary bud development, b) by initiation of adventitious buds, c) by somatic embryogenesis. In this review we describe the different *in vitro* techniques used for conifer trees micropropagation.

Key words: micropropagation, plant growth regulators, somatic embryogenesis

Súhrn

V poslednom období sa dosiahli značné úspechy v mikrorozmnožovaní ihličnatých drevín a regenerácia celých rastlín bola zaznamenaná použitím *in vitro* techník. Rozmnožovanie pomocou *in vitro* techník má niekoľko výhod oproti rozmnožovaniu semenami alebo konvenčným metódam vegetatívneho rozmnožovania. Regenerácia ihličnatých drevín v podmienkach *in vitro* sa uskutočňuje cestou vývinu axilárnych púčikov, indukciou adventívnych púčikov alebo somatickou embryogenezou. V tomto prehľade popisujeme rôzne *in vitro* techniky používané na mikrorozmnožovanie ihličnatých drevín.

Kľúčové slová: mikrorozmnožovanie, rastové regulátory, somatická embryogéza

INTRODUCTION

Micropropagation is the true-to-type propagation of plants using *in vitro* techniques /1/. This technique has several advantages over propagation by seeds or conventional vegetative propagation /2/: for establishment of cultures very small pieces of tissues are used (explants), the propagation is carried out in aseptic conditions free from pathogens, the cultivation occurs under controllable environmental conditions – temperature, nutritional conditions, light regime, plant production can be continued all the year round and it is independent from seasonal changes. The regeneration of plants occurs from already preexisting meristems or *de novo* through formation of meristemoids and their continuous development. By *in vitro* techniques the plants can be propagated from axillary buds, by formation of adventitious buds/shoots or somatic embryogenesis. The shoots developed from axillary or adventitious buds are rooted and by this step the plant regeneration is completed. The somatic embryos are bipolar structures with shoot and root pole. In the plant micropropagation process several stages are distinguished: the preparation stage (stage 0), initiation of culture (stage 1), multiplication (stage 2), elongation and root induction (stage 3), transfer to greenhouse conditions (stage 4).

IN VITRO PROPAGATION OF CONIFER TREES

In conifer species *in vitro* plantlet regeneration can be achieved in three different ways: a) by axillary bud development, b) by initiation of adventitious buds, c) somatic embryogenesis.

Axillary bud development

Axillary bud development is initiated mainly in juvenile explants as shoot tips isolated from seedlings or brachyblasts /3/. The explants are cultivated on nutrient media containing cytokinin (6-benzyladenine, BA) for 2-3 weeks and following the initiated buds are separated from original explants, transferred to hormone free medium for elongation. The elongated shoots are rooted using auxins (indoleacetic acid - IAA, indolebutyric acid - IBA) and finally are transferred to soil.

Using this technique plantlet development was referred for *Picea abies*, *Pinus nigra*, *Pinus ponderosa*, *Larix decidua*, *Pseudotsuga menziesii*. Despite of this fact, this technique is frequently used for micropropagation of hardwood trees.

Adventitious bud development

Adventitious buds can be induced on juvenile explants as zygotic embryos, cotyledons, segments dissected from seedlings. Important requirement is the presence of cytokinin in the nutrient medium for defined time period. The cytokinin concentration as well as duration of its effect has important impact on adventitious bud initiation. Short exposure time lead the gradual necrosis of original explants, longer exposure time causes their overgrowing by callus /4/. The buds elongation occurs on hormone-free medium. After some elongation growth on hormone-free medium the adventitious shoots are separated from original explants and rooted by application of auxins (mostly IBA). Through this technique regenerated plantlets were obtained in *Picea abies*, *Picea glauca*, *Pinus radiata*, *Pinus sylvestris*, *Pinus banksiana*, *Pinus nigra*, *Abies alba*, *Chamaecyparis nootkatensis*.

Somatic embryogenesis

Somatic embryogenesis is the process of embryo formation from somatic cells of a plant body under *in vitro* condition without sexual fusion of gametes. Somatic embryogenesis in conifers was first described for Norway spruce /5, 6/ and in following period for other conifer species. The process includes several steps as follows: initiation of embryogenic tissues, proliferation, somatic embryo maturation, somatic seedling regeneration. For initiation mostly juvenile explants were used (immature or mature zygotic embryos, segments of seedlings), although recently initiation from mature trees was also successful /7/. The culture of explants on nutrient media containing auxins as well as cytokinins resulted in embryogenic tissue initiation. The embryogenic tissues are maintained on solid media (usually of the same composition as was used for initiation) by regular transfers in 2-3 week intervals. The most important components of embryogenic tissues are somatic embryos composed of meristematic embryonal part and suspensor characterised by long vacuolised cells arranged into bundles. The embryogenic tissue is characterised by cellular heterogeneity and besides typical bipolar organised somatic embryos contains also different cells types as single meristematic cells or groups of meristematic cells, single long vacuolised cells. The maturation of somatic embryos requires transfer of tissues from proliferation medium to maturation medium containing abscisic acid (ABA) and high- or low-molecular weight osmotica (e.g. polyethylene glycol, maltose). The development of somatic embryos resembles the development of their zygotic counterparts in seeds and can be classified into four different stages: stage 1- embryos composed of small, densely cytoplasmatic cells subtended by a suspensor, stage 2-embryos with a more prominent and dense meristematic region (precotyledonary), stage 3 - embryos with cotyledons, stage 4 - green plantlets /8/. The regenerated plantlets are designed as somatic seedlings (or emblings). The maturation of somatic embryos is accompanied by structural and biochemical changes. Somatic seedling regeneration has been achieved in *Abies*

alba, *Abies nordmanniana*, *Picea glauca*, *Picea mariana*, *Picea abies*, *Pinus sylvestris*, *Pinus nigra*, *Pinus strobus*, *Pinus caribaea*, *Pinus pinaster*, etc. The process of somatic embryogenesis is illustrated on the Fig. 1.

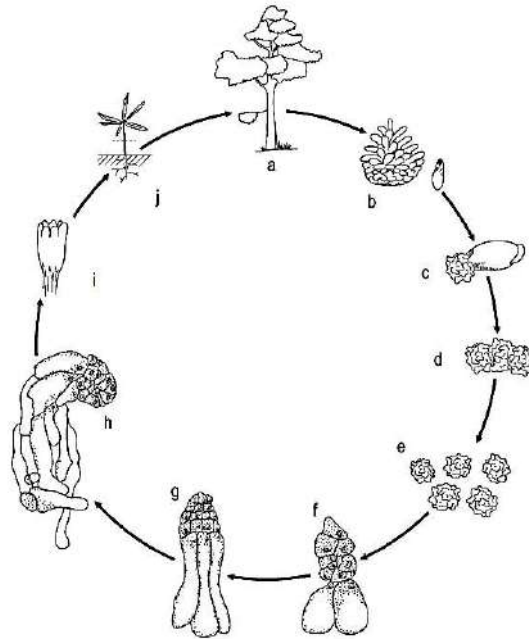


Fig. 1 Somatic seedlings regeneration through the process of somatic embryogenesis: green cones containing immature seeds are taken from an adult tree (a, b), the immature seeds are dissected and placed on nutrient medium, resulting in embryogenic tissue initiation (c), the initiated tissue is proliferating (d), and separated into several pieces (e), bipolar somatic embryos are observable in the proliferating tissue (f, g, h), the bipolar structures develop into cotyledonary somatic embryos (i), the cotyledonary somatic embryos germinate and give rise to somatic seedlings (j) that have the potential to develop in an adult tree (from /9/).

The advantage of somatic embryogenesis is the possibility of cryopreservation of embryogenic tissues and long-term storage in liquid nitrogen. Successful cryopreservation and following somatic seedling regeneration has been reported for a number of conifer species. During the cryopreservation procedure the structural organisation of somatic of somatic embryos is disintegrated and mostly the meristematic cells of embryonal part survived the low temperature storage. Mitotic activity has been observed in survived cells, leading to formation of meristematic cell clumps and gradually to bipolar somatic embryo differentiation /10/.

REFERENCES

- /1/ Debergh, P. C., Read, P. E: Micropropagation. In: Micropropagation. Eds. Debergh, P.C., Zimmermann, R.H., Kluwer Academic Publisher, The Netherlands, 1991: 1-13.
- /2/ George, E. F.: Plant Propagation by Tissue Culture, Part 1: The Technology Exegetics Limited, 1993.
- /3/ Berljak, J., Jelaska, S.: Repeatable bud formation in *Pinus nigra* shoot tip culture. *Acta Biologica*, 17, 1994: 17-26.
- /4/ Salajová, T.: Adventitious bud development *in vitro* on mature embryos of *Pinu nigra*. *Arn. Biologia*, 48, 1993: 105-108.
- /5/ 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 Science*, 38, 1985: 53-60.

- /6/ Chalupa, V.: Somatic embryogenesis and plant regeneration from cultured immature and mature of *Picea abies* L. Karst – Communicationes Inst, For. Czechoslovakia, 14, 1985: 57-63.
- /7/ Klimaszewska, K., Overton, C., Steward, D., Rutledge, R. G.: Initiation of somatic embryos and regeneration of plants from primordial shoots of 10-year-old white spruce and expression profiles of 11 genes followed during the tissue culture process. *Planta*, 233, 2011: 635-647.
- /8/ von Arnold, S., Hakman, I.: Regulation of somatic embryo development in *Picea abies* by abscisic acid (ABA). *J. Plant Physiol.*, 132, 1998: 164-169.
- /9/ Salaj, T., Ostrolucká, M.G.: Techniky *in vitro* a ich využitie pri lesných drevinách. In: Využitie inovatívnych vedeckých prístupov na zvýšenie efektívnosti lesného hospodárstva. Nitra, 2010: 35-50.
- /10/ 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 work was supported by project COST FA 1306 (MVTS - Slovak Academy of Sciences).

VPLYV VYBRANÝCH ABIOTICKÝCH ENVIRONMENTÁLNÝCH STRESOROV NA OBSAH A FLUORESCENCIU CHLOROFYLU KRÍŽENCA *MISCANTHUS X GIGANTEUS*

THE INFLUENCE OF SELECTED ABIOTIC ENVIRONMENTAL STRESSORS ON THE CHLOROPHYLL CONTENT AND FLUORESCENCE MISCANTHUS X GIGANTEUS HYBRID

Ján Tomaškin, Judita Tomaškinová

Univerzita Mateja Bela v Banskej Bystrici, Fakulta prírodných vied, Katedra životného prostredia, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica, Slovenská republika, jan.tomaskin@umb.sk

Summary

The contribution presents the results of impact of abiotic chemical stresses in the soil environment (salinisation, acidification, inorganic risk elements from the industry) on the content and fluorescence of chlorophyll of a hybrid *Miscanthus x giganteus*. In regulation conditions of a pot experiment, we applied graduated doses of these stresses and assessed their impact on effective and maximum quantum yield PSII (yield Y(II) or Fv/Fm test) during a vegetational season in 2016. Y(II) value was in the range from 0.57 to 0.70, Fv/Fm of 0.72 to 0.78. There were no significant differences between assessed stressors and control. The chlorophyll content of 11.70 SPAD units was rated in the control variant, several variants - especially salinity and acidity, had a significantly higher content of chlorophyll. *Miscanthus x giganteus* had a good resistance to effect of assessed chemical stresses, a damage of the assimilation apparatus of the plants did not occur, the species has preconditions for cultivation even in mildly contaminated soil environment, eg. for energy use.

Key words: chemical stressor, risk element, chlorophyll fluorescence, Miscanthus x giganteus

Súhrn

V príspevku uvádzame výsledky vplyvu abiotických chemických stresorov v pôdnom prostredí (zasolenie, acidifikácia, anorganické rizikové prvky z priemyslu) na obsah a fluorescenciu chlorofylu kríženca *Miscanthus x giganteus*. V regulovaných podmienkach nádobového pokusu sme počas vegetačnej sezóny r. 2016 aplikovali stupňované dávky uvedených stresorov a hodnotili sme ich vplyv na efektívny a maximálny kvantový výťažok PSII (yield Y(II), resp. Fv/Fm test). Y(II) nadobúdal hodnoty v intervale 0,57 – 0,70, Fv/Fm 0,72 – 0,78. Medzi hodnotenými stresormi a kontrolou sme nezaznamenali významné rozdiely. Na kontrolnom variante sme zaznamenali obsah chlorofylu 11,70 SPAD jednotiek, viaceré varianty - predovšetkým salinity a acidity mali obsah chlorofylu významne väčší. *Miscanthus x giganteus* dobre toleroval vplyv hodnotených chemických stresorov, k poškodeniu asimilačného aparátu rastlín nedošlo, druh má predpoklady pre pestovanie aj v mierne kontaminovanom pôdnom prostredí, napr. pre energetické využitie.

Kľúčové slová: chemický stresor, rizikový prvok, fluorescencia chlorofylu, Miscanthus x giganteus

ÚVOD

Jedným z aktuálnych environmentálnych problémov súčasnosti je aj degradácia a kontaminácia pôdy. V príspevku hodnotíme vplyv chemickej degradácie pôdy, konkrétne zasolenie, acidifikáciu a priemyselné znečistenie anorganickými rizikovými prvkami na vegetáciu. Vplyv uvedených faktorov sme hodnotili v regulovaných podmienkach nádobového pokusu, kde ako modelový rastlinný taxón sme vybrali miskant obrovský - *Miscanthus x giganteus* Greef et Deu. (kríženec *Miscanthus sinensis* a *Miscanthus sacchariflorus*). Druh *Miscanthus x giganteus* je často testovaný na reakciu k abiotickým chemickým faktorom, odporúča sa pre fytoremediáciu kontaminovaných pôd /8, 1/. Má však širšie uplatnenie, môže byť využitý aj ako surovina pre energetické účely na výrobu tepla, poskytuje úrody 25 – 30 t.ha⁻¹ sušiny /7/.

Uvedené formy degradácie pôdy môžu predstavovať abiotické chemické stresory, ktoré majú často negatívny dopad na zdravotný stav vegetácie a v konečnom dôsledku môže dôjsť až k odumieraniu jedincov prípadne celej populácie. Vplyv stresorov na rastliny je možné charakterizovať ako stresovú reakciu (stres), ktorá sa prejavuje anatomicko-morfologickými a funkčnými zmenami /3/. Prvým prejavom stresu rastlín resp. ich listov je poškodenie asimilačného aparátu, predovšetkým fotosystému II (PSII) /5/. Meranie fluorescencie chlorofylu poskytuje informáciu o rozsahu, v akom je PSII schopný absorbovať a využívať fotosynteticky účinnú radiáciu. Parametre fluorescencie chlorofylu v listoch môžu byť použité aj ako indikátory stresu vyvolané abiotickými chemickými stresormi /4, 11/.

Cieľom práce bolo posúdiť vplyv vybraných abiotických chemických stresorov na obsah a parametre fluorescencie chlorofylu a celkovú vitalitu kríženca *Miscanthus x giganteus*.

MATERIÁL A METÓDY

Počas vegetačnej sezóny r. 2016 sme v nádobovom pokuse hodnotili vplyv simulovanej salinity, acidifikácie a priemyselného znečistenie anorganickými rizikovými prvkami tvorenými úletmi tuhých znečisťujúcich látok v oblasti pôsobenia magnezitového priemyslu Jelšavy a Lubeníka a odpadovým kalom, ktorý vzniká pri spracovaní bauxitu a výrobe oxidu hlinitého resp. hliníka v Žiari nad Hronom na obsah a fluorescenciu chlorofylu kríženca *Miscanthus x giganteus*. Každý hodnotený stresor bol pripravený v troch stupňovaných dávkach. Salinitu pôdneho prostredia sme simulovali prípravou slaných roztokov rozpustením 20, 30 a 60 g chloridu sodného v objeme dvoch litrov vody, acidifikáciu prípravou kyslých roztokov (na báze kyseliny dusičnej) s pH 6, 5 a 4 v objeme dvoch litrov vody. Tuhé znečisťujúce látky a odpadové kaly sme získali z blízkeho okolia závodov (SMZ, a.s., Jelšava resp. Slovalco, a.s., Žiar nad Hronom) a v dávkach 1, 2 a 3 kg sme ich zmiešali s príslušným množstvom záhradníckeho substrátu (výrobca: AGRO CS a.s. ČR). V tabuľke 1 uvádzame varianty pokusu, vrátane kontroly, ktorú tvoril čistý záhradnícky substrát.

Úlety tuhých znečisťujúcich látok tvorí hlavne MgO a obsahujú približne 25 – 50 % Mg, 5 % Fe, 2 % Ca, 0,5 % SiO₂, 0,3 % Mn a stopové množstvá niektorých ďalších prvkov /2/. Odpadové červené kaly majú chemické zloženie: 45 % Fe₂O₃, 15 % Al₂O₃, 13 % SiO₂, 7,5 % Na₂O, 6 % TiO₂, 2 % CaO /6/. Z rizómov predpestované rastliny *Miscanthus x giganteus* sme získali z Génovej banky SR (VÚRV, Piešťany) a v počte po 2 ks. sme ich dňa 27. 6. 2016 zasadili do veľkoobjemových črepníkov s príslušnými objemami pôdnych substrátov. Na variantoch A1 – B3 sme počas júla a augusta v dvojtyždňových intervaloch aplikovali zálievku pripravenými roztokmi stresorov v objeme 0,4 l na variant. Rastliny var. C1 – D3 boli zasadené do kontaminovanej pôdy, kontrolné rastliny do 10 l čistého záhradníckeho substrátu.

Tab. 1: Varianty pokusu

Variant	Abiotický chemický stresor	Dávka chemického stresora	Množstvo záhradníkeho substrátu (v litroch)
A1	salinita	20 g NaCl / 2 l vody = 10 ‰	10
A2		30 g NaCl / 2 l vody = 15 ‰	10
A3		60 g NaCl / 2 l vody = 30 ‰	10
B1	acidita	pH 6	10
B2		pH 5	10
B3		pH 4	10
C1	tuhé znečisťujúce látky (MgO)	1 kg	9,5
C2		2 kg	9
C3		3 kg	8,5
D1	odpadové kaly	1 kg	9,5
D2		2 kg	9
D3		3 kg	8,5
kontrola	-	-	10

Počas vegetačnej sezóny sme uskutočnili 3 merania obsahu a fluorescencie chlorofylu v termínoch 1. augusta, 23. augusta a 7. septembra 2016. Obsah chlorofylu dospelých listov (v tzv. hodnotách SPAD) sme zaznamenali chlorofylmetrom CCM-200 plus (Opti-Sciences, Inc., USA). Vyššie hodnoty SPAD indikujú vyššiu koncentráciu chlorofylu. Fluorescenciu chlorofylu sme hodnotili testami Yield Y(II) a Fv/Fm prístrojom OS5p chlorophyll fluorometer (Opti-Sciences, Inc., USA). Uvedené testy sú štandardné záťažové testy, ktoré sa používajú na identifikáciu a kvantifikáciu hladiny stresu v rastlinách. Výsledkom meraní je efektívny kvantový výťažok PSII - Y(II) - meraný za denného svetla a maximálny kvantový výťažok PSII - Fv/Fm - meraný po 30 min. zatienia listov. Fv/Fm nadobúda pre väčšinu rastlinných druhov hodnoty 0,79 – 0,84, znížené hodnoty indikujú stres rastlín /5/.

Výsledky obsahu a fluorescencie chlorofylu sme vyhodnotili štatistickým programom Statgraphic verzia 5.0 metódou dvojfaktorovej analýzy variancie (test LSD α 0,05).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Priemerné hodnoty kvantových výťažkov PSII, obsah chlorofylu a štatistické hodnotenie výsledkov uvádzame v tabuľke 2. Posúdili sme vplyv variantov abiotických chemických stresorov a kontroly a taktiež zmeny v troch termínoch merania na hodnotené parametre.

Efektívny kvantový výťažok PSII Y(II) listov nadobúda hodnoty v intervale od 0,571 (variant A1) do 0,703 (variant B3). V uvedenom rozpätí sa nepotvrdili žiadne významné rozdiely, môžeme teda konštatovať, že nebol potvrdený vplyv abiotického stresora na premenlivosť hodnoteného znaku. Preukazné rozdiely neboli zaznamenané ani v jednotlivých termínoch merania.

Citlivejšie na abiotické stresory reagoval maximálny kvantový výťažok PSII Fv/Fm. Počas merania sme najnižšiu hodnotu 0,718 zaznamenali na variante A1, najvyššiu hodnotu na variante B3, resp. C1 (0,767 resp. 0,776). Medzi uvedenými variantmi sú síce preukazné rozdiely, ale medzi všetkými ostatnými hodnotenými variantmi vrátane kontroly sa výraznejšie rozdiely nepotvrdili. Preukazné rozdiely neboli zaznamenané ani v jednotlivých termínoch merania. Hodnotený rastlinný taxón relatívne dobre znáša abiotickú environmentálnu záťaž, jeho kvantové výťažky PSII nevykazujú výraznejšiu deštrukciu.

Miscanthus x giganteus najcitlivejšie reaguje na zmeny obsahom chlorofylu. Môže to byť vyvolané skúmanými stresormi, ale aj vysokou variabilitou daného znaku. Najnižší obsah chlorofylu sme zaznamenali pri variantoch C3, C2 (6,233 resp. 7,767 SPAD), niekoľko násobne väčší obsah pri variantoch B1 a A2 (24,133 resp. 24,733 SPAD). Rozdiely medzi uvedenými variantmi sú významné. Pri kontrolnom variante sme zaznamenali obsah

chlorofylu len 11,700 SPAD jednotiek, viaceré varianty s environmentálnym stresorom majú obsah chlorofylu signifikantne väčší ako kontrolný variant. Obsah chlorofylu výrazne kolíše aj pri viacnásobnom meraní toho istého listu, je preto náročné jednoznačne určiť, či zmenu obsahu chlorofylu vyvoláva nejaký stresor, alebo prípadne iné vplyvy.

Tab. 2: Vplyv abiotických environmentálnych stresorov na kvantové výťažky PSII a obsah chlorofylu kríženca *Miscanthus x giganteus*

Faktor vplyvu		Kvantové výťažky PSII		Obsah chlorofylu (SPAD)
		Y(II)	Fv/Fm	
variant	A1	0,571 a	0,718 a	14,267 abcd
	A2	0,573 a	0,759 bc	24,733 e
	A3	0,686 a	0,749 bc	19,600 cde
	B1	0,672 a	0,752 bc	24,133 e
	B2	0,685 a	0,753 bc	13,633 abcd
	B3	0,703 a	0,767 c	20,133 de
	C1	0,693 a	0,776 c	18,100 cde
	C2	0,632 a	0,759 bc	7,767 ab
	C3	0,633 a	0,735 ab	6,233 a
	D1	0,662 a	0,751 bc	14,567 bcd
	D2	0,658 a	0,764 bc	16,933 cde
	D3	0,672 a	0,763 bc	13,167 abcd
	kontrola	0,685 a	0,759 bc	11,700 abc
LSD α 0,05		0,14144	0,03091	8,24591
meranie	1	0,674 a	0,757 a	18,708 b
	2	0,664 a	0,754 a	15,485 ab
	3	0,629 a	0,751 a	13,108 a
LSD α 0,05		0,06795	0,01485	3,96121

Rozdielne písmená a, b, c, d, e poukazujú na signifikantné rozdiely pri $p < 0,05$; medzi zhodnými písmenami nie sú významné rozdiely.

Na základe dosiahnutých výsledkov konštatujeme, že *Miscanthus x giganteus* dobre toleruje vplyv hodnotených abiotických chemických stresorov. Reakciou na vyvolaný stres je rezistencia rastlín, k poškodeniu fotosyntetického aparátu rastlín nedošlo. *Miscanthus x giganteus* je tolerantný k salinite, zvýšenú toleranciu na soľný stres zistili Torello et Rice /9/ aj u iných druhov tráv (*Festuca rubra* var. *Trichophylla* a *Poa pratensis*). V súvislosti s acidifikáciou Strašil et al. /7/ uvádzajú, že optimálne pH pôdy pre *Miscanthus x giganteus* je v rozpätí 5,5 – 6,5 a pri pH nad 7, 0 boli pozorované výnosové depresie. Získané výsledky dávajú predpoklad pestovania uvedeného druhu napr. ako energetického zdroja aj v mierne kontaminovanom pôdnom prostredí, taktiež na devastovaných plochách, alebo plochách určených k rekultivácii. Uvedené konštatovanie je v zhode aj s výsledkami iných autorov /1, 8, 10/.

LITERATÚRA

- Figala, J., Vranova, V., Rejšek, K., Formanek, P.: Giant miscanthus (*Miscanthus x Giganteus* Greef Et Deu.) – A Promising Plant for Soil Remediation: A Mini Review. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 63(6), 2015: 2241–2246
- Hančulák, J., Bobro, M.: Vplyv magnezitového priemyslu na imisnú záťaž oblasti Jelšavy tuhými imisiami. *Acta Montanistica Slovaca*, 9 (4), 2004: 401–405
- Hnilička, F., Hniličková, H.: Obecná koncepcie stresu. In Hnilička, F., Středa, T. (ed.): *Rostliny v podmímkách stresu - Abiotické stresory*. Praha : ČZU v Praze, 2016: 2–27, ISBN: 978-80-213-2680-4
- Joshi M.K., Mohanty P.: Chlorophyll a Fluorescence as a Probe of Heavy Metal Ion Toxicity in Plants. In: Papageorgiou G.C., Govindjee (eds) *Chlorophyll a Fluorescence. Advances in Photosynthesis and Respiration*, vol 19. Dordrecht : Springer, 2004: 637–661

- /5/ Maxwell K., Johnson G.J.: Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51, 2000: 659–668
- /6/ Schwarz, M., Lalík, V., Vanek, M.: Možnosti využitia odpadového kalu z výroby oxidu hlinitého. *Chem. Listy*, 105, 2011: 114–121
- /7/ Stražil Z.: Základy pěstování a možnosti využití ozdobnice (*Miscanthus*). Uplatněná metodika pro zemědělskou praxi. Ed.: VÚZT Praha, 2009: 1–48
- /8/ Techer, D., Martinez-Chois, C., Laval-Gilly, P. et al.: Assessment of *Miscanthus × giganteus* for rhizoremediation of long term PAH contaminated soils. *Appl. Soil Ecol.*, 62, 2012: 42–49
- /9/ Torello, W. A., Rice, L. A.: Effects of NaCl stress on proline and cation accumulation in salt sensitive and tolerant turfgrasses. *Plant and Soil*. 93 (2), 1986: 241–247
- /10/ Wanat, N., Austuruy, A., Joussein, E. et al.: Potential of *Miscanthus × giganteus* grown on highly contaminated technosols. *J. Geochem. Explor.*, 126–127, 2013: 78–84
- /11/ Zurek G, Rybka K, Pogrzeba M, Krzyżak J, Prokopiuk K.: Chlorophyll a Fluorescence in Evaluation of the Effect of Heavy Metal Soil Contamination on Perennial Grasses. *PLoS ONE*, 9(3), 2014: 1–10

PodĎakovanie

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“.

ÚČINKY KYSLÝCH DEPOZÍCIÍ NA PŮDNU RESPIRÁCIU KRÍŽENCA *MISCANTHUS X GIGANTEUS*

THE EFFECTS OF ACIDIC DEPOSITION ON SOIL RESPIRATION IN MISCANTHUS X GIGANTEUS HYBRID

Judita Tomaškinová, Ján Tomaškin

Univerzita Mateja Bela v Banskej Bystrici, Fakulta prírodných vied, Katedra životného prostredia,
Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica, Slovenská republika, jan.tomaskin@umb.sk

Summary

The contribution presents the results of environmental stress impact – simulation of acid deposition on the soil respiration of a hybrid *Miscanthus x giganteus*. In regulation conditions of a pot experiment, we applied graduated doses of three treatments with pH values of 4, 5 and 6 which were prepared by dilution of nitric acid with deionized water and assessed their impact on Net CO₂ Exchange Rate (NCER) during summer and autumn aspect in 2016 and spring aspect in 2017. The lowest soil respiration was recorded in the pH4 (0,2364 g CO₂ · h⁻¹ · m⁻²) variant, a higher with deposition of pH5 and pH6, and the highest soil respiration was recorded in the control variant (0,4974 g CO₂ · h⁻¹ · m⁻²). Results showed that soil respiration is significantly reduced by increasing applications of acid deposition and may be related to the disruption of biotic processes in the soil environment due to increased acidification. The annual aspect significantly effect the variability of soil respiration. The lowest respiration was recorded during autumn aspect (0,3080 g CO₂ · h⁻¹ · m⁻²), significantly higher during the spring aspect and the highest in the summer aspect (0,4941g CO₂ · h⁻¹ · m⁻²).

Key words: soil respiration, acidic deposition, chemical stressor, Miscanthus x giganteus

Súhrn

Príspevok prezentuje výsledky vplyvu environmentálneho stresora v podobe simulácie kyslých zrážok na pôdnu respiráciu kríženca *Miscanthus x giganteus*. V regulovaných podmienkach nádobového pokusu sme v letnom a jesennom aspekte 2016 a jarnom aspekte 2017 aplikovali tri stupňované dávky kyslých depozícií s hodnotami pH 4, 5, 6 (plus kontrola) a hodnotili sme ich vplyv na čistý prietok CO₂ (NCER). Najnižšiu respiráciu sme zaznamenali na variante s pH4 (0,2364 g CO₂ · h⁻¹ · m⁻²) vyššiu pri depozícii s pH5 a pH6 a najvyššiu pôdnu respiráciu sme zaznamenali v kontrolnom variante (0,4974 g CO₂ · h⁻¹ · m⁻²). Výsledky preukázali, že pôdna respirácia sa signifikantne znižuje so zvyšovaním aplikácií kyslých depozícií a môže to súvisieť s narušením biotických procesov v pôdnom prostredí vplyvom zvyšovania acidifikácie. Na premenlivosť pôdnej respirácie má signifikantný vplyv aj ročný aspekt. Najnižšiu respiráciu sme zaznamenali v jesennom aspekte (0,3080 g CO₂ · h⁻¹ · m⁻²), signifikantne vyššiu v jarnom aspekte a preukazne najvyššiu v letnom aspekte (0,4941g CO₂ · h⁻¹ · m⁻²).

Kľúčové slová: pôdna respirácia, kyslé depozície, chemický stresor, Miscanthus x giganteus

ÚVOD

Predpokladá sa, že pôsobenie environmentálnych stresov spôsobených acidifikáciou a zmenou klímy, sa zintenzívni a viac rozšíri. Abiotické stresy v prostredí, ako napríklad sucho, vysoká salinita, teplotný stres a deprivácia živín, znižujú fotosyntetickú kapacitu rastliny a spôsobujú jej nadmerné namáhanie /1, 4, 5, 6/, čo sa môže prejaviť anatomicko-morfologickými a funkčnými zmenami /3/, viesť k chybám v raste rastlín a produktivite biomasy. Rastlinná biomasa je primárne produktom fotosyntézy, procesu vyžadujúceho CO₂, H₂O, biogénne prvky a

slnéčné žiarenie. V súčasnosti je produktivita biomasy rastlín vážne postihnutá nepriaznivými environmentálnymi stresmi vyplývajúcimi z acidifikácie a klimatických zmien. Najviac ohrozené sú rastliny s dlhodobým obdobím rastu, ako sú viacročné plodiny a dreviny, kde dlhodobý stres môže rastlinu poškodiť. Naopak, pod vplyvom dlhodobého pôsobenia stresorov si veľké množstvo rastlinných druhov vyvinulo komplexné mechanizmy na úpravu rastu a prispôsobenie sa rôznym podmienkam prostredia /1, 4, 5, 6/.

Kľúčovým cieľom pre 21. storočie je teda pestovať plodiny so zvýšenou schopnosťou prežitia a optimálnym rastom za stresových podmienok. Cieľom práce bolo posúdiť vplyv kyslých depozícií na pôdnu respiráciu kríženca *Miscanthus x giganteus* a jeho potenciálnu adaptáciu aj v kontexte využitia na fytoremediáciu oblastí s vysokou koncentráciou.

MATERIÁL A METÓDY

Počas letného a jesenného aspektu v roku 2016 a jarného aspektu v roku 2017 sme hodnotili vplyv simulovanej acidifikácie na pôdnu respiráciu kríženca *Miscanthus x giganteus* v nádobovom pokuse. Hodnotený stresor bol pripravený v troch stupňovaných dávkach roztokov s hodnotami pH 4, 5 a 6 zriedením kyseliny dusičnej (reakčný stupeň Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) deionizovanou vodou. Deionizovaná voda použitá v rámci tejto simulácie bola čistená Milli-Q water čistiacim systémom (Millipore, Bedford, USA). Do výskumu bola zaradený aj kontrolný variant (K), kde neboli aplikované kyslé depozície a pH pôdneho prostredia malo hodnotu 6,8.

Z rizómov predpestované rastliny *Miscanthus x giganteus* sme získali z Génovej banky SR (VÚRV, Piešťany) a v počte po 2 ks sme ich dňa 27. 6. 2016 zasadili do veľkoobjemových črepníkov s 10 litrovým objemom pôdneho substrátu. Na takto pripravenom nádobovom pokuse sme počas júla a októbra 2016 a marca a apríla 2017 v týždňových intervaloch aplikovali zálievku pripravenými roztokmi stresorov v objeme 0,4 l na variant. Počas každého ročného aspektu sme uskutočnili 5 opakovaní merania v časovom odstupe 7 dní. Pôdnu respiráciu sme hodnotili v termínoch 9. augusta do 30. augusta 2016; 2. októbra - 30. októbra 2016 a v roku 2017 a v termínoch od 14. marca do 12. apríla.

Kontinuálne merania aktuálnej pôdnej respirácie resp. čistého prietoku CO₂ na jednotku plochy (NCER) boli realizované prístrojom na meranie pôdnej respirácie LCi-SD (Opti-Sciences, Inc., USA), ktorý pozostáva z meracej valcovej komory (spodný prsteneč s manžetou z nerezovej oceli a vrchná odoberateľná časť s akrylovou komorou, ktorá sa pripája priamo k ramenu LCi). Meranie je korigované atmosférickým tlakom (750 – 1250 mBar) pomocou špeciálneho výpustného ventilu, ktorý zabraňuje nežiaducemu kolísaniu tlaku vo vnútri komory v priebehu merania (nedochádza ku skresleniu). Za účelom zabezpečenia pravidelných intervalov meraní bola použitá časová funkcia pri každom meraní v minútových intervaloch. Povrchová plocha „uzavretej pôdy“ v komore je nominálne 97,5 cm² a objem pôdy v komore je nominálne 803 cm³. V tomto uzavretom priestore prebieha meranie diferenčného toku CO₂ s vysoko presným IRGA analyzátorom umiestnenom v ramene. Hodnoty NCER (μmol CO₂ · s⁻¹ · m⁻²) boli prepočítané na g CO₂ · h⁻¹ · m⁻².

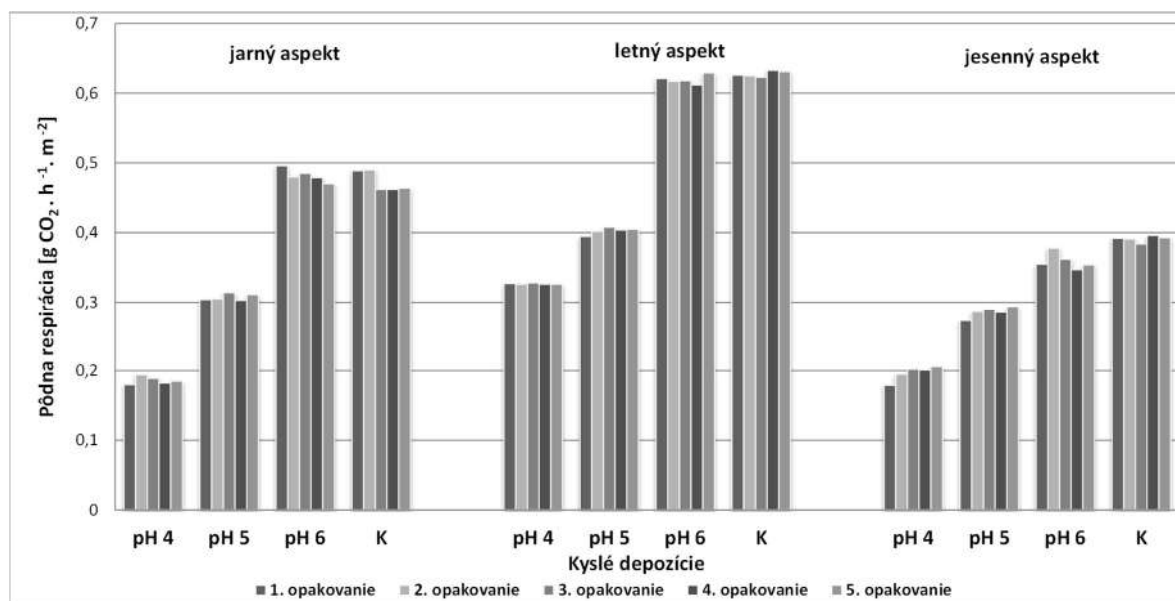
Výsledky boli štatisticky vyhodnotené multifaktorovou analýzou variancie na 95 aj 99 percentnej hladine preukaznosti LSD testom, kde ako faktor vplyvu boli hodnotené tri varianty kyslých depozícií (pH 4, 5, 6) a K. Druhým faktorom vplyvu bol hodnotený ročný aspekt merania.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Priemerné hodnoty pôdnej respirácie a štatistické hodnotenie výsledkov uvádzame v Graf 1 a Tab. 1. Posúdili sme vplyv simulácie acidifikácie na pôdnu respiráciu v 3 variantoch (pH 4, 5 a 6) a kontroly a v 3 ročných aspektoch.

Najnižšiu pôdnu respiráciu sme zaznamenali na variante s pH4 (0,2364 g CO₂ · h⁻¹ · m⁻²), vyššiu pôdnu respiráciu sme zaznamenali pri variante s pH5, nasledoval variant s pH6 a najvyššiu pôdnu respiráciu sme zaznamenali v kontrolnom variante (0,4974 g CO₂ · h⁻¹ · m⁻²). Medzi všetkými hodnotenými variantmi sme v uvedenom poradí zaznamenali vzájomné vysoko signifikantné rozdiely v pôdnej respirácii pri oboch štandardných hladinách LSD testu. Na

základe štatistického hodnotenia bol potvrdený vysoko preukazný vplyv kyslej depozície na premenlivosť pôdnej respirácie.



Graf 1: Vplyv environmentálneho stresu v podobe kyslých depozícií na pôdnu respiráciu kríženca *Miscanthus x giganteus* vo všetkých aspektoch roka

Tab. 1: Vplyv environmentálneho stresu v podobe kyslých depozícií na pôdnu respiráciu kríženca *Miscanthus x giganteus*. Rozdielne písmená a, b, c, d, e poukazujú na významné rozdiely pri $p < 0,05$ resp. aj $p < 0,01$; medzi zhodnými písmenami nie sú významné rozdiely.

Faktor vplyvu		Respirácia pôdy [g CO ₂ · h ⁻¹ · m ⁻²]
kyslé depozície	pH 4	0,2364 a
	pH 5	0,3317 b
	pH 6	0,4869 c
	kontrola	0,4974 d
LSD α 0,05		0,00524
LSD α 0,01		0,00710
ročný aspekt	jarný	0,3622 b
	letný	0,4941 c
	jesenný	0,3080 a
LSD α 0,05		0,00454
LSD α 0,01		0,00615
opakovanie	1.	0,3863 a
	2.	0,3907 a
	3.	0,3887 a
	4.	0,3858 a
	5.	0,3890 a
LSD α 0,05		0,00585
LSD α 0,01		0,00793

Podobne citlivo reagovala respirácia pôdy aj počas merania v jednotlivých ročných aspektoch. Najnižšiu pôdnu respiráciu sme zaznamenali v jesennom aspekte (0,3080 g CO₂ · h⁻¹ · m⁻²). Signifikantne vyššiu pôdnu respiráciu sme zaznamenali v jarnom aspekte (0,3622 g CO₂ · h⁻¹ · m⁻²) a signifikantne najvyššiu v letnom aspekte (0,4941 g CO₂ · h⁻¹ · m⁻²). Ročný aspekt má významný vplyv na premenlivosť hodnoteného parametra. Uvedenú skutočnosť sme potvrdili na oboch hladinách preukaznosti LSD testu. Celý experiment sme zrealizovali v 5 opakovaníach, medzi opakovaniami sme nezaznamenali preukazné rozdiely, čo dokumentuje metodickú aj experimentálnu správnosť pokusu.

Na základě dosažených výsledků konstatujeme, že reakcí na vyvolaný environmentální stres prostřednictvím simulace acidifikace v 3 různých variantách (v pořadí pH 6, 5, 4) je signifikantně prokázáno snižování biotických procesů v půdě (koreňové respirace, mikrobiální respirace a respirace půdních živočichů) nádobového pokusu s *Miscanthus x giganteus*, t.j. že so zvyšováním aplikované kyslé depozice klesá respirace půdy. Kříženec *Miscanthus x giganteus* toleruje zvýšenou acidifikaci půdy a neproukázal snížení celkové vitality, což potvrzují aj Tomaškin a Tomaškinová /9/, kteří uvádějí, že hodnotený druh dobře toleruje aj vliv abiotických chemických stresorů v podobě acidifikace a reakcí na vyvolaný stres je aj rezistence druhu, k poškození fotosyntetického aparátu. Stražil et. al. /7/ taktéž uvádějí, že optimum pH půdy pro kříženec *Miscanthus x giganteus* je 5,5 – 6,5 a ku výnosovým depresiám dochází iba ak sa pH půdy pohybuje mimo uvedené optima.

Z výsledků výzkumu vyplývá, že *Miscanthus x giganteus* je vhodné využít aj v oblastech postihnutých zvýšenou acidifikací, což potvrzují aj viaceré výskumy zamerané na možnosti jeho pestovania aj v mierne kontaminovanom pôdnom prostredí /2, 8, 9, 10/.

LITERATÚRA

- /1/ Garg, B., Misra, S., Tuteja, N.: Emerging Strategies to Face Challenges Imposed by Climate Change and Abiotic Stresses in Wheat. In Tutej, N., Gill, S. S. (eds.): Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance. Weinheim : Wiley-Blackwell, 2014: 437–458. ISBN: 978-3-527-33491-9.
- /2/ Figala, J., Vranova, V., Rejšek, K., Formanek, P.: Giant miscanthus (*Miscanthus x giganteus* Greef Et Deu.) – A Promising Plant for Soil Remediation: A Mini Review. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis, 63(6), 2015: 2241–2246
- /3/ Hnilička, F., Hniličková, H.: Obecná koncepce stresu. In Hnilička, F., Středa, T. (ed.): Rostliny v podmínkách stresu - Abiotické stresory. Praha : ČZU v Praze, 2016: 2–27, ISBN: 978-80-213-2680-4.
- /4/ Knight, H., Knight, M.R. Abiotic stress signalling pathways, specificity and cross-talk. Trends Plant Sci., 6, 2001: 262–267.
- /5/ Osakabe, Y., Osakabe, K., Shinozaki, K.: Plant Environmental Stress Responses for Survival and Biomass Enhancement, In Tutej, N., Gill, S. S. (eds.): Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance. Weinheim : Wiley-Blackwell, 2014: 79–97. ISBN: 978-3-527-33491-9.
- /6/ Singh, R.B.: Climate Change and Abiotic Stress Management in India In Tutej, N., Gill, S. S. (eds.): Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance. Weinheim : Wiley-Blackwell, 2014: 57–77. ISBN: 978-3-527-33491-9.
- /7/ Stražil Z.: Základy pěstování a možnosti využití ozdobnice (*Miscanthus*). Uplatněná metodika pro zemědělskou praxi. Ed.: VÚZT Praha, 2009: 1–48
- /8/ Techer, D., Martinez-Chois, C., Laval-Gilly, P. et al.: Assessment of *Miscanthus x giganteus* for rhizoremediation of long term PAH contaminated soils. Appl. Soil Ecol., 62, 2012: 42–49
- /9/ Tomaškin, J., Tomaškinová, J.: Vplyv vybraných abiotických environmentálnych stresorů na obsah a fluorescenciu chlorofylu kříženca *Miscanthus x giganteus*. In Hnilička, F. (ed.) Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2017: vliv klimatu a antropogenní činnosti na vývoj fytoocenóz (Mezinárodní konference 12. – 14. září 2017 v Kruhové hale Technické fakulty ČZU v Praze [in press].
- /10/ Wanat, N., Austuruy, A., Joussein, E. et al.: Potential of *Miscanthus x giganteus* grown on highly contaminated technosols. J. Geochem. Explor., 126–127, 2013: 78–84

Pod'akovanie

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“.

FYZIOLOGICKÉ NÁSLEDKY FOTOINHIBÍCIE FOTOSYSTÉMU I V LISTOCH RASTLÍN PŠENICE

PHYSIOLOGICAL CONSEQUENCES OF PSI PHOTOINHIBITION IN WHEAT LEAVES

Marek Živčák, Katarína Olšovská, Lenka Botyanszká, Patrícia Kušniarová, Marián Brestič
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FAPZ, Katedra fyziológie rastlín, Trieda A. Hlinku 2,
949 76 Nitra, Slovenská republika, xbotyanszka@is.uniag.sk

Summary

Photosystem I (PSI) photoinhibition represent mostly irreversible damage with a slow recovery. The aim of the study was to assess the effect of PSI photoinhibition on photosynthesis *in vivo*. The inactivation of PSI was done by a series of short light saturation pulses applied by fluorimeter in darkness, which led to decrease of PSI photochemical activity. No PSI recovery was observed within 2 days, whereas the PSII was fully recovered. The CO₂ assimilation was strongly inhibited; the decrease was not caused by stomatal closure. Our results clearly indicate that PSI electron transport limited the CO₂ assimilation. Low values of light-induced NPQ indicated a decrease in formation of transthylakoid proton gradient (ΔpH). Our results clearly show that PSI photoinhibition represents a serious damage at the molecular level with strong consequences on primary metabolism.

Key words: photosynthesis, PSI photoinhibition, light, electron transport, stress

Súhrn

Fotoinhibícia fotosystému I (PSI) predstavuje ireverzibilné poškodenie molekulárnych štruktúr s veľmi pomalou rýchlosťou regenerácie. Cieľom našej práce bolo posúdiť vplyv PSI fotoinhibície na fotosyntézu *in vivo*. Inaktivácia PSI bola realizovaná sériou krátkych silných svetelných pulzov v tme, ktorý viedol k poklesu fotochemickej aktivity PSI, pričom počas nasledujúcich 48 hodín sme nepozorovali akýkoľvek spätný nárast fotochemickej aktivity, kým aktivita PSII sa dostala do normálu. Naše výsledky jasne ukazujú, že limitácia funkcie PSI viedla k priamemu poklesu asimilácie CO₂. Navyše, nízke namerané hodnoty NPQ indikujú pokles fotoprotekčných funkcií, čo je spôsobené zníženou schopnosťou formovať transthylakoidný protónový gradient. Fotoinhibícia fotosystému I tak predstavuje závažné poškodenie na molekulárnej úrovni s následkami na primárny metabolizmus rastliny.

Kľúčové slová: fotosyntéza, fotoinhibícia PSI, svetlo, elektrónový transport, stres

ÚVOD

Fotosyntetická asimilácia je výsledkom tak fotochemických reakcií na úrovni tylakoidov v chloroplastoch ako aj bichemických procesov tmavej fázy fotosyntézy. Za hlavné limity fotosyntézy sú zvyčajne považované difúzna rezistencia pre príjem CO₂ cez prieduchy a mezofyl a aktivita enzýmov Calvinovho cyklu. Z primárnych procesov sa pozornosť zvyčajne obracia na aktivitu fotosystému II (PSII), ktorý je všeobecne považovaný za citlivé miesto, poškodzované v rôznych stresových reakciách. Na druhej strane, fotosystém I (PSI) je tradične považovaný za veľmi stabilný /1/, s výnimkou nízkych teplôt, kde významné poškodenie PSI bolo jasne zdokumentované /2,3/. Keďže nízke teploty majú množstvo ďalších následkov, vrátane poklesu aktivity enzýmov a oxidatívneho poškodenia, nie je ani tu poškodenie PSI jednoznačne považované za proces limitujúci fotosyntetickú výkonnosť. Pozornosť na fotosystém I sa obracia opäť v posledných rokoch, kedy sa ukazuje,

že PSI je zraniteľný aj v normálnych podmienkach, ak je rastlina vystavená nerovnomernému ožiareniu, teda tzv. fluktuáciám svetla /4,5,6/, pričom počet prác ukazujúcich na poškodenie PSI v rôznych stresových podmienkach dnes prudko pribúda.

Jedným z vážnych argumentov o závažnosti tohto javu je veľmi pomalá regenerácia poškodeného PSI trvajúca niekoľko dní, pričom regenerácia nemusí byť úplná zatiaľ čo PSII plne zreaguje za niekoľko hodín /3,7/. Absentuje však dostatok informácií o priamom fyziologickom vzťahu medzi fotoinhibíciou PSI a fotosyntetickou výkonnosťou rastlín, čo je dané aj metodickým problémom ako odlišiť priamy účinok PSI fotoinhibície od ostatných účinkov stresov. V tejto súvislosti však veľkú príležitosť poskytlo pozorovanie publikované japonskými autormi, ktorí si všimli, že aplikácia silných pulzov svetla v tme vedie k pomerne rýchlej inaktivácii značnej časti PSI /8/, čo predstavuje unikátnu možnosť pre štúdium fotoinhibície PSI, čo bolo aj predmetom našej práce.

MATERIÁL A METÓDY

Ako rastlinný materiál boli využité rastliny pšenice letnej f. jarnej (*Triticum aestivum* L.) kultivar Corso. Rastliny boli pestované v nádobách v štandardnom rašelinovom substráte v rastovej komore s umelým osvetlením a plne kontrolovanými podmienkami (fotoperiódá 10/14 h tma/svetlo pri 16/20°C; intenzita svetla na úrovni listov ~ 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$).

Fluorescenčné merania a merania redoxného stavu PSI boli realizované prístrojom Dual PAM-100 (Walz, Germany), s analýzou dát /9,10/.

Gazometrické merania výmeny plynov boli realizované infračerveným analyzátorom Ciras2, PP-systems, UK), pri plne regulovaných podmienkach v listovej komore gazometra (teplota listu 20°C, obsah CO₂ v atmosfére 380 ppm, relatívna vlhkosť vzduchu 50-60%, intenzita aktinického svetla 1000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) meranie bolo súčasťou svetelných kriviek.

Inaktivácia PSI bola realizovaná postupom publikovaným japonskými autormi /8/, kde list adaptovaný na tmu po dobu 15 minút bol vystavený saturačným pulzom fluorometra Dual-PAM-100 (dĺžka pulzu 300 ms, intenzita 15 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) po v tme, po dobu 15 minút. Miesto inaktivácie bol označené a následné merania boli realizované na rovnakom mieste.

Merania fotosyntetických parametrov boli realizované vždy pred fotoinhibičnou expozíciou, 2 hodiny po fotoinhibícii, 1 deň a 2 dni po fotoinhibícii. Merania úrovne PSI inaktivácie bolo následne realizované pravidelne až do 14 dňa po fotoinhibícii. Rastliny boli o fotoinhibícii ihneď umiestnené do rovnakých podmienok, ako rásti pred fotoinhibíciou

Merania boli realizované v opakovaniach, analyzované nanalýzou variancie (ANOVA) a rozdiely boli porovnávané Tukeyovým post-hoc testom. Detaily metodiky pokusu sú popísané v našich predošlých prácach /11,12/.

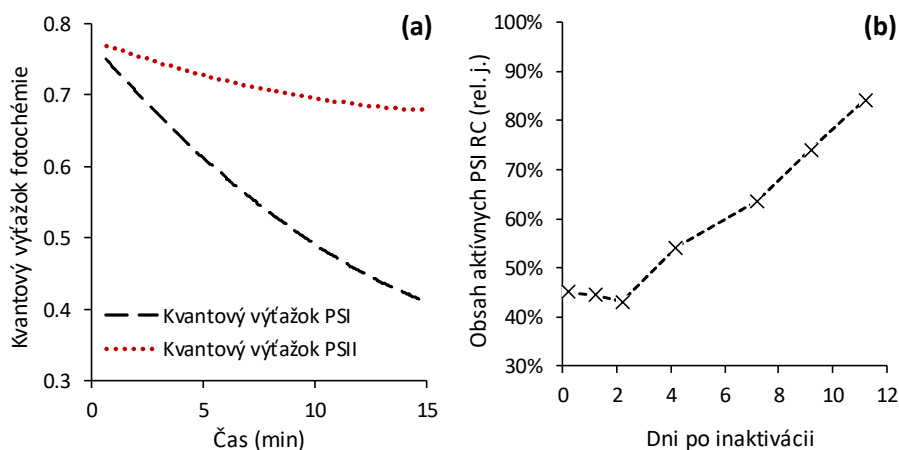
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Ta ako bolo publikované /8/, pôsobenie krátkych zábleskov veľmi silného svetla v tme viedlo k závažnému poklesu fotochemickej efektívnosti PSI, pri pomerne nepatrnom poklese kvantovej efektívnosti PSII (Obr. 1). Následná analýza transmittančných spektier ukázala pokles obsahu aktívnych PSI reakčných centier o viac než 50%, ktorý bez zmeny pretrvával nasledujúce 2 dni, pričom postupnú regeneráciu sme pozorovali až od 4. dňa.

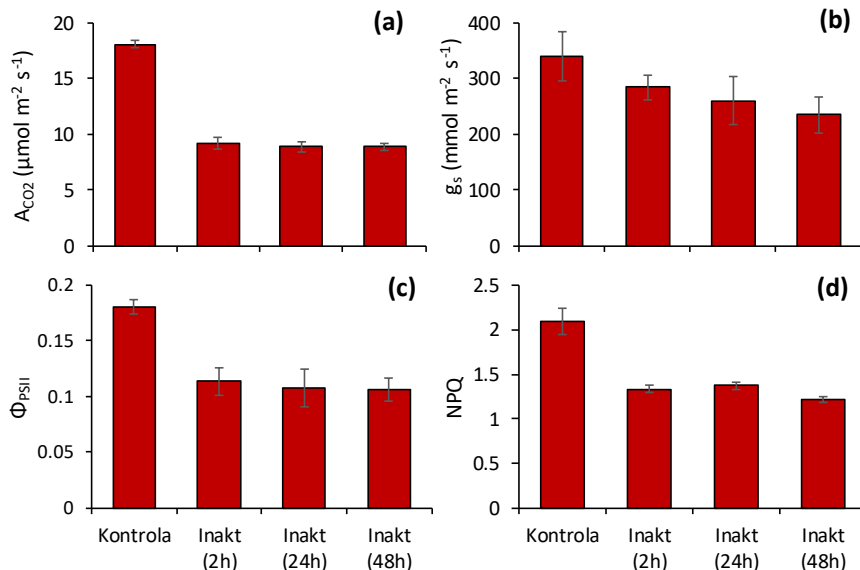
Poškodenie PSI sa následne prejavilo signifikantným poklesom fotosyntetickej asimilácie približne na polovičnú úroveň (Obr. 2). Tento pokles nebol spôsobený zatváraním prieduchov, keďže namerané hodnoty prieduchovej vodivosti (g_s) boli pomerne vysoké a indikovali plné otvorenie prieduchov aj pri inaktivovaných rastlinách.

Podobne, pokles kvantového výťažku PSII zodpovedal zníženiu asimilácie. Na druhej strane, namiesto očakávaného nárastu NPQ pri znížení asimilácie na svetle bol pozorovaný jeho pokles. Tento pokles sa dá vysvetliť nedostatočným formovaním transtylakoidného protónového gradientu kvôli nedostatočnej rýchlosti cyklického elektrónového transportu, ktorý

je limitovaný absenciou dostatočného počtu funkčných PSI reakčných centier /13/. Okrem priameho účinku nedostatku PSI na fotosyntézu, svoju úlohu môže zohrávať aj nepriama limitácia nedostatočnou aktivitou enzýmov Calvinovho cyklu, keďže aktivita mnohých z nich je riadená redoxnou signalizáciou cez tioredoxín-ferredoxínový systém, ktorý je závislý od redoxného stavu akceptorovej strany PSI /14/.



Obr. 1: (a) Trend poklesu kvantového výťažku fotochémie PSII a PSI následkom saturáčnych pulzov. (b) Obsah aktívnych PSI reakčných centier počas 12 dní nasledujúcich po fotoinhibícii, PSI vyjadrených ako percento v porovnaní so stavom pred fotoinhibičnou expozíciou.



Obr. 2: Hodnotenie účinku PSI fotoinhibície na hodnoty fotosyntetických parametrov po inaktivácii PSI (po 2, 24 a 48 hodinách). (a) Asimilácia CO_2 listom, (b) prieduchová vodivosť (g_s) meraná gazometrom súbežne s asimiláciou CO_2 . (c) Kvantový výťažok PSII fotochémie pri $1000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ svetla. (d) Index nefotochemického uhasínania fluorescencie (NPQ).

Sumárne, naše výsledky ukazujú výrazný priamy negatívny efekt fotoinhibície PSI na celkovú fotosyntézu listov. Odolnosť k fotoinhibícii tak môže byť významný prvok pre udržanie fotosyntetickej výkonnosti a produktivity rastlín vystavených premenlivým podmienkam prostredia.

LITERATÚRA

- /1/ Powles S. B.: Photoinhibition of Photosynthesis Induced by Visible Light. *Ann Rev Plant Physiol*, 35, 1984: 15-44
- /2/ Scheller H.V., Haldrup A.: Photoinhibition of photosystem I. *Planta*, 221, 2005:5-8.
- /3/ Sonoike K. Photoinhibition of photosystem I: its physiological significance in the chilling sensitivity of plants. *Plant Cell Physiol* 37, 1996 :239–247
- /4/ Suorsa M., Jarvi S., Grieco M. et al.: Proton gradient regulation is essential for proper acclimation of *Arabidopsis* photosystem I to naturally and artificially fluctuating light conditions. *Plant Cell* 24, 2012: 2934-2948
- /5/ Tikkanen M, Mekala N.R., Aro E.M.: Photosystem II photoinhibition-repair cycle protects Photosystem I from irreversible damage. *Biochim Biophys Acta* 1837, 2014: 210-215
- /6/ Kono M., Noguchi K., Terashima I.: Roles of the cyclic electron flow around PSI (CEF-PSI) and O₂-dependent alternative pathways in regulation of the photosynthetic electron flow in short-term fluctuating light in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol* 55, 2014: 990-1004
- /7/ Zhang Z.S., Jia Y.J., Gao H.Y., Zhang L.T., Li H.D., Meng Q.W.: Characterization of PSI recovery after chilling-induced photoinhibition in cucumber (*Cucumis sativus* L.) leaves. *Planta* 234, 2011: 883–889
- /8/ Sejima T., Takagi D., Fukayama H., Makino A., Miyake, C.: Repetitive Short-Pulse Light Mainly Inactivates Photosystem I in Sunflower Leaves. *Plant Cell Physiol* 55, 2014: 1184-1193
- /9/ Klughammer C., Schreiber U. Saturation pulse method for assessment of energy conversion in PS I. *Planta* 192, 1994: 261-268
- /10/ Kalaji, M. H., Goltsev, V. N., Zivcak, M., Brestic, M.: Chlorophyll Fluorescence: Understanding Crop Performance—Basics and Applications. CRC Press, 2017, 222 s.
- /11/ Zivcak M., Brestic M., Kunderlikova K., Olsovska K., Allakhverdiev S.I.: Effect of photosystem I inactivation on chlorophyll a fluorescence induction in wheat leaves: does activity of photosystem I play any role in OJIP rise? *J Photochem Photobiol B* 152, 2015: 318–324
- /12/ Zivcak M., Brestic M., Kunderlikova K., Sytar O., Allakhverdiev S.I.: Repetitive light pulse-induced photoinhibition of photosystem I severely affects CO₂ assimilation and photoprotection in wheat leaves. *Photosynth Res* 126, 2015: 449–463
- /13/ Wang C., Yamamoto H., Shikanai T.: Role of cyclic electron transport around photosystem I in regulating proton motive force. *Biochim Biophys Acta* 1847, 2015: 931-938
- /14/ Meyer Y., Belin C., Delorme-Hinoux V., Reichheld J.P., Riondet C.. Thioredoxin and glutaredoxin systems in plants: molecular mechanisms, crosstalks, and functional significance. *Antiox Redox Signaling* 17, 2012: 1124-1160

Pod'akovanie

Práca bola podporená projektmi VEGA-1-0923-16, VEGA-1-0831-17 a APVV-15-0721.

Postery

ŠTÚDIUM VPLYVU KADMIA NA AKTIVITU RÔZNYCH ENZÝMOV SÓJE

STUDY OF CADMIUM EFFECT ON THE ACTIVITY OF VARIOUS ENZYMES IN SOYBEAN

Martina Belušková, Patrik Mészáros

Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre, Katedra botaniky a genetiky, Nábřežie mládeže 91, 949 74
Nitra, pmeszaros@ukf.sk

Summary

The aim of this work was to identify potential correlations between activity of enzymes – catalase, ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase – mutually as well as with application of large concentration range of cadmium in roots of soybean. Cadmium caused increased as well as decreased enzyme activity. We detected significantly increased accumulation of catalase at lower concentrations of cadmium (5 and 100 mg.l⁻¹ Cd²⁺) and on the other side reduced accumulation of guaiacol peroxidase at higher concentrations of cadmium (300, 400 and 500 mg.l⁻¹ Cd²⁺). The results of our experiment suggest a positive correlation between the activity of catalase and ascorbate peroxidase in response to cadmium concentrations, furthermore a negative correlation between the activity of guaiacol peroxidase and cadmium concentrations. Our results may help to identify efficient markers of amount or toxicity of heavy metals in plants or environment.

Key words: heavy metals, oxidative stress, antioxidative enzymes, soybean

Súhrn

Cieľom práce bolo identifikovať potenciálne vzťahy medzi aktivitou študovaných enzýmov – katalázy, askorbát peroxidázy a guajakol peroxidázy – navzájom, ako aj k aplikovanej širokej koncentračnej škále kadmia v koreňoch sóje fazuľovej. Vplyv kadmia na testované enzýmy sa prejavil tak so zvýšenou, ako aj zníženou enzýmovou aktivitou. Zistili sme štatisticky významne zvýšenú akumuláciu katalázy pri nižších koncentráciách kadmia (5 a 100 mg.l⁻¹ Cd²⁺) a naopak zníženú akumuláciu guajakol peroxidázy pri vyšších koncentráciách kadmia (300, 400 a 500 mg.l⁻¹ Cd²⁺). Z výsledkov našich experimentov vyplýva, že existuje pozitívna korelácia medzi aktivitami katalázy a askorbát peroxidázy v odpovedi na kadmium, ako aj negatívna korelácia medzi aktivitou guajakol peroxidázy a koncentráciou kadmia, čo môže byť prakticky využiteľné napr. pri identifikácii vhodných markerov množstva resp. toxicity ťažkých kovov v rastline alebo životnom prostredí.

Kľúčové slová: ťažké kovy, oxidačný stres, antioxidantné enzýmy, sója fazuľová

ÚVOD

Ťažké kovy sú schopné vyvolať oxidačné poškodenie v rastlinách a to buď priamo, alebo nepriamo prostredníctvom reaktívnych foriem kyslíka (ROS). ROS sú definované ako vysoko reaktívne a čiastočne redukované formy kyslíka, ku ktorým patrí napr.: superoxidový radikál, singletový kyslík, hydroxilový radikál a peroxid vodíka. Tieto vznikajú nielen v menšom množstve počas bežných metabolických procesov v chloroplastoch, mitochondriách, peroxizómoch, plazmatickej membráne, apoplastoch, endoplazmatickom retikule a bunkovej stene, ale aj vo zvýšenej koncentrácii ako výsledok vplyvov stresových faktorov životného prostredia. Zvýšená hladina ROS môže viesť v rastlinách k oxidačnému stresu, teda k

nerovnováhe medzi tvorbou ROS a antioxidačnou ochranou, ktorá vyúsťuje v poškodení proteínov, lipidov, sacharidov a DNA /1/. Naopak, nízke koncentrácie ROS môžu byť výhodné alebo dokonca nevyhnutné v niektorých bunkových procesoch, ako je intracelulárna signalizácia a obrana proti mikroorganizmom, taktiež pri raste a diferenciácii buniek /2/.

Kadmium je redoxne neaktívny kov schopný indukovať tvorbu ROS redukciou antioxidačných enzýmov, alebo inhibíciou prenosu elektrónov v mitochondriách. Vyvoláva poškodenie ako je peroxidácia lipidov, oxidácia proteínov, inhibícia enzýmov a poškodenie nukleových kyselín.

Obrana rastlín voči toxickým účinkom ROS zahŕňa neenzymatické (glutatión, kyselina askorbová, α -tokoferol a karotenoidy) a enzymatické antioxidyanty (superoxiddismutáza, kataláza, askorbát peroxidáza, glutatión reduktáza, guajakol peroxidáza). Antioxidačné enzýmy sú schopné stabilizovať alebo deaktivovať voľné radikály skôr, než zaútočia na bunkové štruktúry. Vedia znížiť energiu voľných radikálov alebo zabudovať ich voľné elektróny a tým ich stabilizovať. Okrem toho môžu prerušiť oxidačnú reťazovú reakciu a tým minimalizovať škody spôsobené voľnými radikálmi. Antioxidačné enzýmy sú preto absolútne nevyhnutné pre udržanie bunkovej a systémovej homeostázy /3/.

V našej práci sme testovali aktivitu 3 antioxidačných enzýmov: katalázy (CAT), askorbát peroxidázy (APX) a guajakol peroxidázy (GPX). Všetky tieto tri enzýmy sa podieľajú na eliminácii H_2O_2 , odlišná je však ich lokalizácia v bunke, ďalšia funkcia a niektoré mechanizmy účinku. CAT je lokalizovaná predovšetkým v peroxizómoch. Jej hlavnou úlohou je heterolytické štiepenie dvoch molekúl H_2O_2 za vzniku vody a molekuly kyslíka. Enzým je schopný okrem redukcie aj oxidácie peroxidu vodíka, čím sa výrazne líši od peroxidáz /4/. APX sa podieľa tiež na eliminácii H_2O_2 , je lokalizovaná v chloroplastoch, cytosole, mitochondriách, apoplaste a peroxizómoch, a na rozdiel od CAT v eliminačnej reakcii potrebuje špecifický kofaktor – askorbát. GPX eliminuje okrem H_2O_2 aj fosfolipidové peroxidy vznikajúce v bunke počas oxidačného stresu /5/.

MATERIÁL A METÓDA

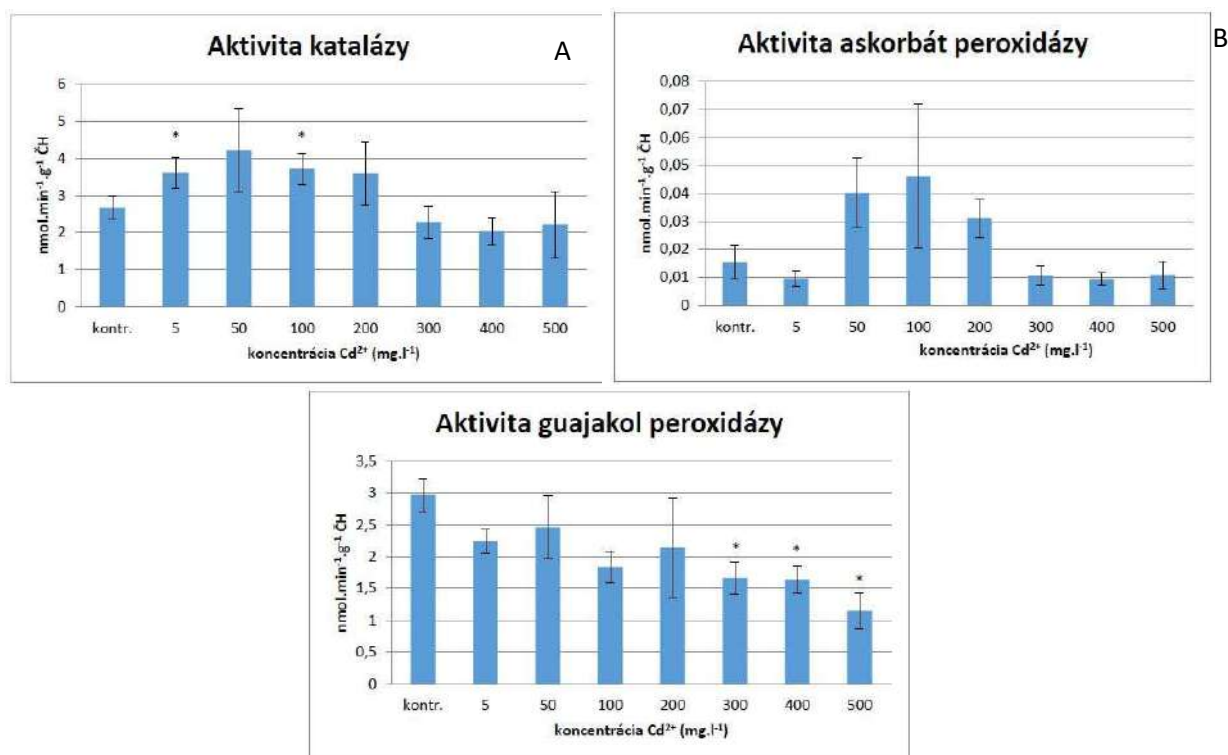
Korene testovanej odrody sóje fazuľovej (*Glycine max* L. MERLIN) sme vystavili účinkom širokej koncentračnej škály kadmia (0, 5, 50, 100, 200, 300, 400, 500 $mg.l^{-1} Cd^{2+}$) aplikovaného vo forme roztokov $CdCl_2 \cdot 2H_2O$ po dobu 48 hodín. Aktivitu vybraných antioxidačných enzýmov, a to katalázy, askorbát peroxidázy a guajakol peroxidázy, sme stanovili v proteínových extraktoch koreňov spektrofotometricky podľa /6, 7/.

Získané údaje sme podrobili štatistickým analýzám využitím programu MS Excel. Štatistickú významnosť rozdielov pri porovnávaní súborov sme stanovili Studentovým t-testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Miera aktivity CAT stúpala v porovnaní s kontrolou až do 50 $mg.l^{-1} Cd^{2+}$, kde bola zároveň zaznamenaná jej najvyššia aktivita. Následne aktivita katalázy klesala a ustálila sa na úrovni 300-500 $mg.l^{-1} Cd^{2+}$, a to mierne avšak štatisticky nevýznamne pod úrovňou kontrolnej vzorky. Štatisticky významné zmeny v aktivite katalázy sme zaznamenali v prípade 5 $mg.l^{-1} Cd^{2+}$ (+35%) a 100 $mg.l^{-1} Cd^{2+}$ (+39%) (oba $P \leq 0,05$) (Graf 1A). /8/ namerali zvýšenú aktivitu CAT pri pôsobení 25 ppm Cd^{2+} na korene *Raphanus sativus* L., avšak potlačenú aktivitu pri koncentrácii 50 ppm Cd^{2+} . Po dlhšom skúmaní zistili, že špecifické zníženie aktivity CAT pri vyššej koncentrácii môže byť spôsobené dlhodobou expozíciou stresu a teda degradáciou enzýmov. Z výsledkov /10/ vyplýva, že nízke koncentrácie Cd (5 a 10 $mg.l^{-1}$) sú schopné aj potláčať aktivitu katalázy v rastlinách bôbu. /11/ pozorovali aktivitu tohto enzýmu v koreňoch hrachu (*Pisum sativum* L. cv. Azad). Aktivita CAT bola najvyššia pri stredných koncentráciách (40 $mg.l^{-1}$) a pri zvýšení koncentrácie tohto kovu (400 $mg.l^{-1}$) klesla. Zistili, že

na aktivitu CAT má vplyv nie len zvyšujúca sa koncentrácia Cd, ale rovnako aj dĺžka expozície, nakoľko aktivita CAT výrazne klesala oproti kontrole so zvyšujúcou sa dĺžkou expozície.



Graf 1: Aktivita CAT (A), APX (B) a GPX (C) v koreňoch sóje po vystavení toxickým vplyvom rôznych koncentrácií Cd. Údaje znázorňujú aritmetický priemer zo štyroch biologických repetícií. Chybové úsečky znázorňujú strednú chybu priemeru. Štatistická významnosť výsledkov je vyjadrená pri hladinách: * $P \leq 0,05$.

Pri študovaní aktivity askorbát peroxidázy sme zaznamenali zaujímavý priebeh enzýmovej odpovede. Kým, v porovnaní s kontrolnou vzorkou, sa pri najnižšej (5 mg.l⁻¹ Cd²⁺) a najvyšších koncentráciách (300, 400, 500 mg.l⁻¹ Cd²⁺) aktivita APX mierne znížila, jeho aktivita bola naopak indukovaná až trojnásobne strednými koncentraciami aplikovaného ťažkého kovu (50, 100, 200 mg.l⁻¹). Ani jedna z nameraných hodnôt však nebola štatisticky významná (Graf 1B). Publikované výsledky /9/ dokumentujú, že aktivita APX stúpa až do koncentrácie 45 mg.l⁻¹ Cd, následne pri hodnote 60 mg.l⁻¹ Cd nastane pokles v aktivite tohto enzýmu. Tento pokles bol však stále nad úrovňou kontroly. /11/ skúmali tiež aktivitu APX. Rovnako ako aj v prípade CAT vykazovala APX najvyššiu aktivitu pri stredných koncentraciách Cd (40 mg.l⁻¹), ktorá následne postupne klesala. V prípade APX však spozorovali pozitívny vzťah medzi dĺžkou expozície rastlín kadmium a aktivitou APX, čo predstavuje zásadný rozdiel medzi CAT a APX.

V prípade ďalšieho antioxidantného enzýmu guajakol peroxidázy sme zaznamenali zníženú aktivitu oproti kontrole pri všetkých testovaných koncentraciách kadmia. Najvýraznejšie a zároveň aj štatisticky preukázateľné poklesy sme zistili pri 300, 400 a 500 mg.l⁻¹ o 44, 45 resp. až o 60% ($P \leq 0,05$) (Graf 1C). Identifikovali sme nepriamu závislosť medzi zvyšujúcou sa koncentraciou kadmia a znižujúcou sa aktivitou guajakol peroxidázy na úrovni vysokej tesnosti ($r = -0,88$), čo môže odzrkadľovať postupnú degradáciu enzýmov GPX vplyvom čoraz silnejšieho toxického tlaku kadmium. Zmeny v aktivite GPX vplyvom Cd sledovali aj /10/ v bôbe. Na rastlinu aplikovali Cd v koncentraciách 5 a 10 mg.l⁻¹, ktoré

potlačali aktivitu GPX. Zároveň pozorovali nadměrnou akumulaci H_2O_2 , čo dokázali aj histochemickými farbeniami koreňov. Znížená aktivita GPX v koreňoch bôbu vplyvom 4 a 40 μM Cd bola opísaná aj autormi /11/, zároveň ale poukázali na jej mierne zvýšenú aktivitu v listoch.

Z výsledkov našich experimentov ako aj z výsledkov viacerých iných autorov /10, 11/ vyplýva, že obranná reakcia rastlín voči toxickým vplyvom ROS je veľmi komplexná a skladá sa z viacerých zložiek, ktoré sú navzájom prepojené. Aktivita enzýmov CAT a APX sa javí ako synchronická, čo sa korelačnými analýzami potvrdilo na úrovni vysokej tesnosti ($r = 0,78$). Pri extrémnych koncentráciách ťažkých kovov môže zároveň dôjsť k degradácii antioxidantných enzýmov /9/ čím sa stane enzymatický antioxidantný obranný systém rastliny (čiastočne) neúčinným. V rastline však existujú aj iné mechanizmy pomocou ktorých sa môže vysporiadať s negatívnymi účinkami ROS. Tieto sú zabezpečené napr. aj neenzymatickou zložkou antioxidantnej obrany, ktoré sa však v tejto práci neštudovali.

Zistili sme, že aplikované koncentrácie kadmia sú schopné vyvolať potlačenú a zároveň aj výrazne indukovanú akumuláciu testovaných enzýmov. Vzájomné vzťahy medzi aktivitami jednotlivých enzýmov ako ani medzi enzýmovými aktivitami a aplikovanou koncentračnou škálou kadmia však neboli vždy jednoznačné. Ako štatisticky významné sme zaevidovali zvýšenú akumuláciu CAT pri nižších koncentráciách Cd a zníženú akumuláciu GPX pri vyšších koncentráciách Cd. V študovanej oblasti vedy a výskumu môže byť ďalej aplikovateľná nami identifikovaná pozitívna korelácia medzi aktivitami CAT a APX v odpovedi na Cd, ako aj negatívna korelácia medzi aktivitou GPX a koncentráciou kadmia, a to napr. pri identifikácii vhodných ukazovateľov množstva resp. toxicity ťažkých kovov v rastline alebo životnom prostredí.

LITERATÚRA

- /1/ Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S. et al.: Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*, 2012.
- /2/ Matés, M.J., Pérez-Gómez, C., Núñez De Castro, I.: Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, 32, 1999: 595-603.
- /3/ Mohammed, A.E.: Antioxidant enzymes. Croatia: InTech, 2013. ISBN 978-953-51-0789-7.
- /4/ Qujeq, D., Rezvani, T.: Catalase (antioxidant enzyme) activity in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Diabetes and Metabolism*, 15, 2007: 22-24.
- /5/ Navrot, N., Collin, V., Gualberto, J. et al.: Plant glutathione peroxidases are functional peroxiredoxins distributed in several subcellular compartments and regulated during biotic and abiotic stresses. *Plants Physiology*, 142, 2006: 1364-1379.
- /6/ El-Tayeb, M.A.: Differential response of two *Vicia faba* cultivars to drought: growth, pigments, lipid peroxidation, organic solutes, catalase and peroxidase activity. *Acta Agronomica Hungarica*, 54, 2006: 25-37.
- /7/ Kováčik, J.: Stresová fyziológia rastlín (Návody na cvičenia). Košice: UPJŠ v Košiciach. 2012, 50 s.
- /8/ El-Beltagi, H.S., Mohamed, A.A., Rashed, M.M.: Response of Antioxidative Enzymes to Cadmium Stress in Leaves and Roots of Radish (*Raphanus sativus* L.). *Notulae Scientia Biologicae*, 4, 2010: 76-82.
- /9/ Muradoglu, F., Gundogdu, M., Ercisli, S. et al.: Cadmium toxicity affects chlorophyll a and b content, antioxidant enzyme activities and mineral nutrient accumulation in strawberry. *Biological research*, 48, 2015: 11.
- /10/ Lin, A., Zhang, X., Chen, M. et al.: Oxidative stress and DNA damages induced by cadmium accumulation. *Journal of Environmental Sciences*, 19, 2006: 596-602.
- /11/ Dixit, V., Pandey, V., Shyam, R.: Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad). *Journal of Experimental Botany*, 52, 2001: 1101-1109.

Pod'akovanie

Práca vznikla za finančnej podpory projektov VEGA 1/0061/15 a UGA VIII/14/2017.

VLIV FENOTYPOVANIA FYZIOLOGICKÝCH ZNAKOV ODRÔD PŠENICE VYUŽITÍM HYPERSPEKTRÁLNEJ ANALÝZY

PHENOTYPING OF THE PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF WHEAT VARIETIES USING HYPERSPECTRAL ANALYSIS

Lenka Botyanszka¹, Marek Živčák¹, Marián Brestič¹, Katarína Olšovská¹, Pavol Hauptvogel²

¹ Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FAPZ, Katedra fyziológie rastlín, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika, xbotyanszka@is.uniag.sk

² Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Výskumný ústav rastlinnej výroby Piešťany, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, Slovenská republika

Summary

Hyperspectral analysis has been introduced as an alternative technology to characterize the different properties of crop canopies. For verifying reliability of hyperspectral indices, the hyperspectral field records as well as the subsequent wheat analyses were made in more than 100 genotypes in the collection of National Genebank in Piestany (Slovakia). The traits of wheat varieties were correlated with a set of hyperspectral indices developed to estimate different properties. The selected genotypes provided relatively high diversity in all observed traits. The results indicated that numerous parameters designed for estimation of specific wheat varieties traits expressed only poor correlation with measured data; anyway, we also identified the parameters with relatively good correlation across the entire collection of wheat genotypes.

Key words: phenotyping, hyperspectral analysis, crop properties, wheat varieties

Súhrn

Hyperspektrálna analýza bola zavedená ako alternatívna technológia na charakterizáciu vybraných vlastností plodín. V tejto súvislosti, otvorenou zostáva otázka spoľahlivosti jednotlivých hyperspektrálnych indexov. Pre jej overenie boli realizované hyperspektrálne merania na listoch pšenice a ich následné analýzy pri viac ako 100 genotypoch v zbierke Génovej banky NPPC-VÚRV Piešťany (Slovensko). Charakteristiky odrôd pšenice korelovali s hyperspektrálnymi indexmi vyvinutými na odhad rôznych vlastností. Pozorovali sme značnú variabilitu medzi genotypmi vo všetkých sledovaných znakoch. Výsledky ukázali, že mnohé parametre navrhnuté na odhad špecifických znakov odrôd pšenice, ako je napríklad obsah chlorofylu, prejavili iba slabú úroveň korelácie s nameranými údajmi. Na druhej strane, identifikovali sme aj parametre s relatívne dobrou koreláciou v celej kolekcii genotypov pšenice.

Kľúčové slová: fenotypovanie, hyperspektrálna analýza, vlastnosti plodín, odrody pšenice

ÚVOD

Predpokladá sa, že celosvetový dopyt po potravinách si vyžiada zdvojnásobenie poľnohospodárskej produkcie do roku 2050, zároveň prebiehajúca zmena klímy zhorší túto výzvu vystavením poľných plodín abiotickým stresovým podmienkam /1, 2/. Neinvasívne a rýchle metódy poľného fenotypovania majú za úlohu odhaliť genotypové rozdiely v morfológických, vývojových a agronomických vlastnostiach plodín, ale na pochopenie rozdielov v interakciách medzi rastlinami a životným prostredím sú potrebné aj merania základných fyziologických a biochemických vlastností, ktoré umožnia spoľahlivú

interpretáciu nameraných dát /3/. Súčasná schopnosť fenotypovania genotypov plodín v teréne je obmedzená dostupnými platformami /4/ a schopnosť prispôbiť plodiny globálnej klimatickej zmene si vyžaduje zariadenia, ktoré zhodnotia stovky genotypov v reálnom prostredí /5/. V našej práci sme sa zamerali na aplikáciu hyperspektrálnej analýzy ako perspektívnej metódy fenotypovania, umožňujúcej rýchle a informačne cenné hodnotenie rôznych vlastností nadzemnej biomasy rastlín. Cieľom práce bolo vyhodnotiť spoľahlivosť hyperspektrálnych indexov na charakterizáciu rôznych listových znakov pšenice.

MATERIÁL A METÓDA

Merania a následné analýzy boli realizované na 100 genotypoch v rámci maloparcelových poľných experimentov v kolekcii pšenice (*Triticum* sp.) v rámci Génovej banky Slovenskej republiky pri SCPV-VÚRV Piešťany (Slovensko). Charakteristiky listov sa merali štandardnými metódami rastovej analýzy, obsahu asimilačných pigmentov /6/ spolu s meraním reflektancie listov. Pre hyperspektrálne merania sme využili prístroj HandHeld 2 (Analytical Spectral Devices Inc., USA), s následnou kalkuláciou dostupných parametrov spektrálnej reflektancie /7, 8/. Na nedeštrukčné stanovenie obsahu asimilačných pigmentov bol použitý chlorofylmeter SPAD 502 (Minolta, Japonsko) a deštrukčné stanovenie obsahu chlorofylov bolo realizované meraním absorpcie /9/ využitím UV/VIS, spektrofotometra Jenway 6405 (UK).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

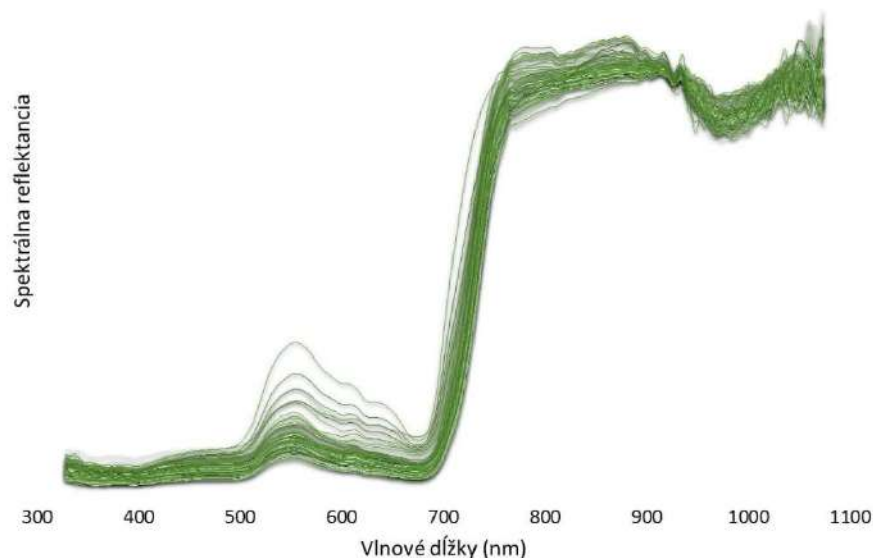
Rastliny genotypov pšenice z kolekcie Génovej banky pestované v rámci poľných pokusov prejavovali značnú variabilitu znakov listov, z čoho vyplýval aj výrazný efekt na optické vlastnosti listov, ktorý sa potvrdil aj v rámci meraní spektrálnej reflektancie a bol viditeľný aj variabilitou priebehu reflektančných kriviek vo viditeľnej a blízkej infračervenej oblasti svetelného spektra (obr. 1).

Sledované genotypy poskytli relatívne vysokú variabilitu vo všetkých sledovaných listových znakoch, ako boli obsahy chlorofylu, karotenoidov vyjadrené na jednotku listovej plochy a jednotku sušiny listov, špecifická hmotnosť listov (hrúbka listov) a veľkosť listov. Ako príklad uvádzame výsledky korelačných analýz medzi obsahom chlorofylov vyjadrených na jednotku listovej plochy a vybranou skupinou hyperspektrálnych parametrov (obr. 2).

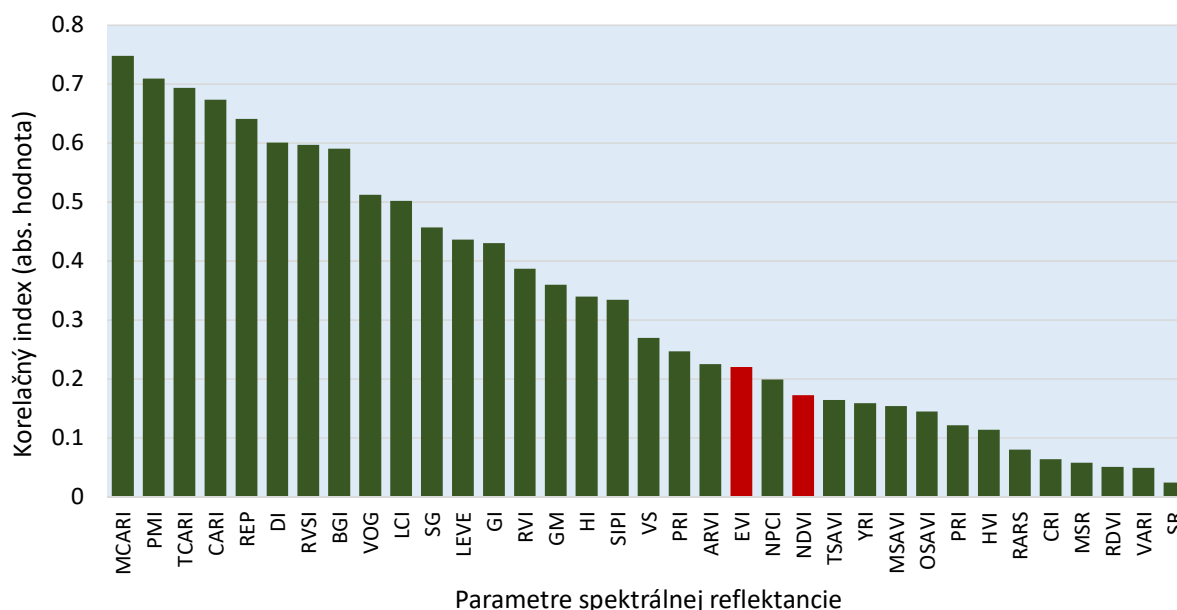
Výsledky ukázali, že mnohé parametre považované za indikátory obsahu chlorofylov v listoch, ako sú NDVI, EVI a ďalšie /8/ preukázali v našich experimentoch iba slabú koreláciu s nameranými hodnotami obsahu chlorofylu v listoch. Avšak, časť parametrov prejavila dobrú alebo aspoň uspokojivú koreláciu s obsahom chlorofylov. Ako najlepšie korelujúci s obsahom chlorofylov sme identifikovali parameter MCARI, čo zodpovedá aj výsledkom niektorých iných autorov pri rôznych plodinách /10,11/.

Podobné vzťahy sme identifikovali aj pre ostatné sledované listové znaky. Navyše, niektoré parametre boli špecifické, keď korelovali s jedným znakom, ale nie s inými. Tieto parametre tak môžu byť osobitne zaujímavé pre fenotypovanie, bude si to však vyžadovať verifikáciu a rozšírenie meraní do ďalších rastových fáz, vrátane meraní v podmienkach environmentálnych stresov.

Fenotypovanie využitím nedeštrukčnej metódy merania spektrálnej reflektancie vo viditeľnej oblasti slnečného spektra, tzv. VNIR hyperspektrálnej analýzy, je podstatne rýchlejšie ako tradičné merania, čo umožní charakterizovať viac rastlín pri zachytení viacerých fyziologických znakov. Naše výsledky potvrdili, že hyperspektrálne analýzy môžu slúžiť ako cenný a spoľahlivý nástroj pri hodnotení genetických zdrojov pšenice.



Obr. 1: Variabilita nameraných kriviek spektrálnej reflektancie pri jednotlivých hodnotených genotypoch pšenice.



Obr. 2: Hodnoty korelačných koeficientov (r) vzťahu medzi obsahom chlorofylov v listoch na jednotku listovej plochy a vypočítaných hodnôt vybraných parametrov odvodených z meraní spektrálnej reflektancie v rámci hyperspektrálnej analýzy. Červenou farbou sú vyznačené hodnoty najbežnejšie využívaných vegetačných indexov NDVI a EVI.

LITERATÚRA

- /1/ Christensen, J.H., Hewitson, B., Busuioc, A., Chen, A., Gao, X., Held, I., Jones, R., Kolli, R.K., Kwon, W.T., Laprise, R.: "Regional climate projections." Climate Change. The Physical Science Basis, Chapter 11. 2007: 847–940.
- /2/ Tilman, D., Balzer, C., Hill, J., Befort, B.L.: Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. Proc Natl Acad Sci USA, 108, 2011: 20260–20264

- /3/ Trachsel, S., Kaeppeler, S. M., Brown, K. M., Lynch, J. P.: Shovelomics: high throughput phenotyping of maize (*Zea mays* L.) root architecture in the field. *Plant and Soil*, 341, 2011: 75-87.
- /4/ Araus, J.L., Cairns, J.E.: Field high-throughput phenotyping: the new crop breeding frontier. *Trends Plant Sci*, 19. 2014: 52–61.
- /5/ Ainsworth, E.A., Beier, C., Calfapietra, C., Ceulemans, R., Durand-Tardif, M., Farquhar, G.D., Godbold, D.L., Hendrey, G.R., Hickler, T., Kaduk, J.: Next generation of elevated [CO₂] experiments with crops: a critical investment for feeding the future world. *Plant Cell Environ*, 31, 2008: 1317–1324.
- /6/ Brestič, M., Živčák, M., Kunderlíková, K., Sytar, O., Shao, H., Kalaji, H.M., Allakhverdiev, S.I.: Low PSI content limits the photoprotection of PSI and PSII in early growth stages of chlorophyll b-deficient wheat mutant lines. *Photosynthesis Research*, 125, 2015: 151-66.
- /7/ Ng, R., Levoy, M., Brédif, M., Duval, G., Horowitz, M., Hanrahan, P., Ng, R.: Light field photography with a hand-held plenoptic camera. *Computer Science Technical Report CSTR*, 2.11, 2005: 1-11.
- /8/ Thenkabail, A., Lyon, P. S., Huete, J. G. Hyperspectral remote sensing of vegetation. CRC Press. 2011: 782.
- /9/ Lichtenthaler, H.K.: Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. *Methods in enzymology*, 148, 1987:, 350 - 382.
- /10/ Daughtry, C. S. T., Walthall, C. L., Kim, M. S., De Colstoun, E. B., McMurtrey, J. E. Estimating corn leaf chlorophyll concentration from leaf and canopy reflectance. *Remote sensing of Environment*, 74, 2000 : 229-239.
- /11/ Wu, C., Niu, Z., Tang, Q., & Huang, W. Estimating chlorophyll content from hyperspectral vegetation indices: Modeling and validation. *Agricultural and forest meteorology*, 148, 2008: 1230-1241.

Pod'akovanie

Práca vznikla za finančnej podpory projektov VEGA- 1-0923-16, VEGA-1-0831-17 a APVV-15-0721.

VYLUHOVATELNOST PRVKŮ Z RŮZNÝCH DRUHŮ VERMIKOMPOSTŮ

COMPATIBILITY OF ELEMENTS OF DIFFERENT SPECIES OF VERMIC CONSTRUCTIONS

Markéta Drešlová

Department of Agro-Environmental Chemistry and Plant Nutrition, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, 165 21 Prague – Suchbát, Czech Republic, dreslova@af.czu.cz

Summary

The aim of this experiment was to evaluate the influence of mixing and aeration on the preparation of aqueous extracts from three types of vermicomposts (from horse manure, apple pomace and marc) to the content and extractability of sulfur and iron. Samples of extracts were collected during extraction at 1, 6, 12, 24 and 48 hours. The samples taken were measured by inductively coupled plasma emission spectrometry and leachability was calculated. The thesis also compared two different ways of preparing extract extraction by mechanical stirring without aeration. It has been found that aeration has a positive effect on higher concentration and extractability. Air has a positive effect on sulfur leaching only in the extract of apple moldings.

Key words: Horse manure; apple pomace; marc; Zn; Fe.

Souhrn

Cílem tohoto experimentu bylo vyhodnotit vliv míchání a provzdušňování při přípravě vodných extraktů ze tří typů vermikompostů (z koňského hnoje, jablečných výlisků a matoliny) na obsah a extrahovatelnost síry a železa. Vzorky extraktů byly odebrány během extrakce po 1, 6, 12, 24 a 48 hodinách. Odebrané vzorky byly změřeny indukčně vázanou plazmovou optickou emisní spektrometrií a byla vypočtena vyluhovatelnost. Práce také porovnávala dva různé způsoby přípravy extraktu - extrakci mechanickým mícháním bez a provzdušňování. Bylo zjištěno, že provzdušňování má pozitivní vliv na vyšší koncentraci a extrahovatelnost. Vzduch má pozitivní vliv na vyluhování síry pouze v výluhu z jablečných výlisků.

Klíčová slova: Koňský hnůj; jablečné výlisky; matolina; Zn; Fe.

ÚVOD

Vermikompostování je proces rozkladu využívající spolupráci žížal a mikroorganismů, přičemž žížaly zpracovávají organický materiál a zvyšují tím obsah N, P, K, Ca, Mg, a především stopových prvků, enzymů a vitaminů, které jsou potřebné pro růst rostlin /1/. Obsah živin ve vermikompostu je většinou mnohem vyšší než v tradičním zahradním kompostu /2/, jelikož organický odpad po průchodu střevem žížal rodu *Eisenia* se přemění organický materiál. Ten je bohatý na živiny, hormony a enzymy (proteázy, amylázy, lipázy, celulózy a chitinázy). Tyto látky jsou schopné chránit rostlinu proti škůdcům a chorobám /3, 4/. Průchod materiálu přes žížalí střeva převádí minerály do více rozpustných forem a tím je dělá více přístupné pro rostliny /5/. Vermikompostování ovšem primárně slouží k likvidaci organického odpadu, jelikož snižuje jeho objem a přeměňuje ho na hodnotné živiny /6/.

Vermikomposty se používají na přípravu vodných výluhů. Vodný výluh vzniká procesem máčení nebo loužení vermikompostu ve směsi s vodou po časově definované období /1/. Tímto způsobem se rozpustné živiny a rostlinám prospěšné látky obsažené ve vermikompostu transformují do kapalné formy, která je rostlinám lépe přístupná /7/.

Tento článek navazuje na publikaci z roku 2016, která se zabývala problematikou u fosforu a draslíku. Cílem tohoto článku bylo posouzení vlivu míchání a aerace při přípravě tří druhů vodných výluhů z vermikompostů na obsah a vyluhovatelnost Fe.

MATERIÁL A METODA

Pro vytvoření vermikompostů byly použity tři druhy biologicky rozložitelného odpadu (koňský hnůj, jablečné výlisky a matolina). Biologicky rozložitelný odpad byl vložen do vermikompostérů spolu se substrátem obsahující žížaly rodu *Eisenia* (na 1 l substrátu připadalo 200 jedinců). Nádoby byly plněny 10 litry substrátu. Z každého vermikompostu byly odebrány vzorky, ze kterých se následně zjistilo chemické složení a stanovilo pH, měrná vodivost a obsah spalitelných látek. Pomocí rentgen-fluorescenční spektrometrie se stanovily celkové obsahy vybraných živin (viz tab. 1).

Tab. 1: Vlastnosti jednotlivých vermikompostů

	sušina (%)	pH	vodivost (mS/cm)	pH	vodivost (mS/cm)	spalitelné látky (%)
hnůj	23,7	6,8	3,2	6,2	9,9	48,0
jablečné výlisky	19,0	8,1	1,2	7,2	3,2	77,0
matolina	24,1	7,8	3,8	7,4	7,6	77,0

Pro tvorbu vodných výluhů byly postupně použity samostatně tři druhy vermikompostů, přičemž navážka jednotlivých vermikompostů byla vždy 1 kilogram. Vermikompost byl následně vložen do perforovaného koše, který byl umístěn do demineralizované vody o objemu 9 litrů. Přístrojové sondy následně zaznamenávaly hodnoty pH, teplotu, měrnou vodivost a obsah rozpuštěného kyslíku, přičemž průtok vzduchu a teplota byla regulovatelná. Celý systém byl konstantně ohříván na 25 °C. Při přípravě výluhů se testovaly dva faktory – vyluhování s mechanickým mícháním bez aerace a míchání s aerací, přičemž magnetické míchadlo bylo nastaveno na 750 otáček/min. Vzorky výluhů byly odebírány během vyluhování po 1, 6, 12, 24 a 48 hodinách. Ve vzorcích byly stanoveny obsahy síry a železa pomocí optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem a následně byla vypočítána vyluhovatelnost.

Statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí programu STATISTICA 10.0 (jednofaktorová ANOVA).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Ve variantě s aerací byla nejvyšší hodnota koncentrace síry naměřena ve výluhu vermikompostu z matoliny (ve variantě míchání bylo 14,8 % a ve variantě aerace o 15,3 %). Naopak nejnižší koncentrace síry byla naměřena ve výluhu vermikompostu z jablečných výlisků, kde po 48 hodinách vyluhování u varianty míchání bylo dosaženo 0,45 % a u aerace byla hodnota více než dvojnásobná. Aerace měla tudíž vliv na koncentraci síry ve dvou ze tří výluhů z vermikompostů. Vyjimku tvořil výluh vermikompostu z hnoje, kde byla naměřena o

11 % menší koncentrace síry než ve variantě bez aerace. Více hodnot vychovatelnosti síry je uvedeno níže (viz tab 2).

Tab. 2: *Vyluhovatelnost síry (%) z jednotlivých vermikompostů do výluhu*

		Koňský hnůj	Jablečné výlisky	Matolina
Míchání	1	1,16 ^a	0,17 ^b	10,37 ^a
	6	2,42 ^b	0,24 ^a	12,32 ^b
	12	3,27 ^c	0,26 ^a	13,31 ^c
	24	3,93 ^d	0,33 ^c	13,82 ^d
	48	4,92 ^d	0,45 ^d	14,84 ^e
	F - test	9715	837,9	116E2
Aerace	1	2,22 ^a	0,26 ^a	11,74 ^b
	6	2,62 ^b	0,67 ^a	14,08 ^c
	12	3,15 ^c	0,74 ^a	15,36 ^a
	24	3,63 ^d	0,91 ^a	14,68 ^d
	48	4,40 ^e	1,06 ^a	15,33 ^a
	F - test	1051	2,195	105E2

* p – hladina významnosti

Železo mělo nejvyšší koncentraci ve výluhu z vermikompostu z matoliny. Ve variantě bez aerace byla hodnota vyluhovatelnosti na 1,21 % a naopak u aerace byla 0,71 % (jednalo se o celkově 32 % rozdíl). Ve výluhu vermikompostu z hnoje byla na konci vyluhování vyluhovatelnost v obou variantách totožná (tj. 0,44 %). U zbývajících výluhu (z jablečných výlisků) byl zaznamenán nejvyšší rozdíl. Ve variantě míchábní dosáhla vyluhovatelnost pouze 0,09 %, naopak u aerace byla hodnota 0,12 %. Výsledky vychovatelnosti železa jsou uvedeny v tabulce 3.

Tab. 3: *Vyluhovatelnost železa (%) z jednotlivých vermikompostů do výluhu***

		Koňský hnůj	Jablečné výlisky	Matolina
Míchání	1	0,05 ^a	0,01 ^a	0,54 ^a
	6	0,13 ^b	0,04 ^b	0,71 ^{ab}
	12	0,20 ^c	0,06 ^c	0,84 ^{ab}
	24	0,30 ^d	0,07 ^d	0,92 ^{bc}
	48	0,44 ^e	0,09 ^e	1,21 ^c
	F - test	1455	483,4	14,43
Aerace	1	0,05 ^a	0,04 ^c	0,38 ^c
	6	0,13 ^b	0,06 ^d	0,53 ^b
	12	0,20 ^c	0,11 ^a	0,62 ^{ab}
	24	0,13 ^d	0,12 ^{ab}	0,64 ^{ab}
	48	0,44 ^c	0,127 ^b	0,71 ^a
	F - test	436,1	217,1	43,83

** Uvedené hodnoty vychovatelnosti jsou velmi nízké. Tato situace nastala z důvodu vyššího pH (vyšší pH = nižší vyluhovatelnost). Viz autor /2/, který neuveden v úvodu příspěvku.

* p – hladina významnosti

Autoři potvrzují /8/, že aerace prvků během vyluhování má pozitivní vliv na lepší vyluhovatelnost živin ze substrátu. Pravděpodobně je to způsobeno tím, že provzdušením se docílí homogennějšího promíchání extraktu. Další autoři uvádějí /9/, že je se výluhy nechávají

vzdušnit a aerovat pouze 24 hodin, jelikož zvýšená koncentrace i vyluhovatelnost je po tomto časovém zanedbatelná.

ZÁVĚR

- 1) Všechny výluhy i varianty zvyšovaly koncentraci i vyluhovatelnost prvků ve vlivu na čase.
- 2) Aerace měla jednoznačně pozitivní vliv na vyluhovatelnost síry (u výluhů z jablečných výlisků a matoliny).
- 3) Nejvyšších hodnot dosahuje vyluhovatelnost obou prvků ve výluhu vermikompostu z matoliny (s i bez aerace).
- 4) Matolina vykazovala nejvyšší vyluhovatelnost ve 48. hodinách u obou prvků. Konkrétně se jednalo u síry o navýšení na 1,5 % (míchání) a 15,3 % (aerace). U železa v případě míchání bylo naměřeno 1,2 % tohoto prvku a u aerace 0,7 %.

LITERATURA

- /1/ Pandit, N. P., Maheshwari S. K.: Optimization of vermicomposting technique for sugarcane waste management by using *Eisenia fetida*. 2012
- /2/ Dickerson, G. W.: Vermicomposting /online/. New Mexico State University Cooperative Extension Service, College of Agriculture and Home Economics. www.aces.nmsu.edu. 2001. /cit. 2015-06-22/. Dostupné z <http://aces.nmsu.edu/pubs/_h/H164/>.
- /3/ Rostami, R.: Vermicomposting. In: Kumar, S. (ed.). Integrated Waste Management – Volume II. 2011: 131 - 142. ISBN: 978-953-307-447-4.
- /4/ Gajalakshmi, S., Abbasi, S. A.: Earthworms and vermicomposting. Indian Journal of Biotechnology. 3, 2004: 486 – 494.
- /5/ Garg, V. K., Gupta, R.: Vermicomposting of agro-industrial processing waste. In: Nigan, P. S., Pandey, A. (eds.). Biotechnology for agro-industrial residues utilisation. Springer Science+Business Media B.V., 2009: 431 – 456. DOI: 10.1007/978-1-4020-9942-7. ISBN: 978-1-4020-9941-0.
- /6/ Singh, R. P., Sing, P., Araujo, A. S. F., Ibrahim, M. H., Sulaiman, O.: Management of urban solid waste: Vermicomposting a sustainable option. Resources, Conservation and Recycling. 55, 2011: 719 – 729.
- /7/ Edwards, C. A., Arancon, N. Q., Sherman, R. (eds.): Vermiculture technology: earthworms, organic wastes, and environmental management. CRC Press. Boca Raton. 2011: 601 pp. ISBN: 978-1-4398-0987-7.
- /8/ Edwards, C. A., Arancon, N. Q., Greytak S.: Effects of vermicompost teas on plant growth and disease. BioCycle. 47 (5), 2006: 28 – 31.
- /9/ Edwards, C. A., Arancon, N. Q., Sherman, R. (eds.): Vermiculture technology: earthworms, organic wastes, and environmental management. CRC Press. Boca Raton. 2011: 601 pp. ISBN: 978-1-4398-0987-7.

Poděkování

Za finanční podporu získanou z finančních prostředků z grantu CIGA č. 2012023.

FUNKČNÁ DIVERZITA ALKALIZOVANÝCH A METALICKY KONTAMINOVANÝCH PŮD

FUNCTIONAL DIVERSITY OF ALKALIZED AND METALLIC CONTAMINATED SOILS

Juraj Fazekaš, Danica Fazekašová, Petra Huličová, Zuzana Boguská, Eva Michaeli
Prešovská univerzita v Prešove, Fakulta manažmentu, Katedra environmentálneho manažmentu,
Konštantínova 16, 08001 Prešov, juraj.fazekas@smail.unipo.sk

Summary

The major component of environmental pollution in Jelšava - Lubeník is magnesite powder. Flue dust particle strongly influenced the dynamic properties of soils, especially pH. The continuous magnesite crust covers part of the soil; vegetation cover is considerably eliminated and reduces landscaping and environmental aesthetic function. The Biolog Eco Plates method was used for ecotoxicological assessment of contaminated soils. The absorbance (AWCD) in the investigated samples was contaminated with Cr, Mn and Mg and with an alkaline soil reaction, it reached low values with a low to moderate diversity of functional groups of microorganisms related to it.

Key words: magnesite, soil reaction, Cr, Mn, Mg, Biolog Eco Plates

Súhrn

Dominantnou zložkou znečistenia prostredia v oblasti Jelšava – Lubeník je magnezitový prach. Úletové častice výrazne ovplyvnili dynamické vlastnosti pôd, hlavne pH. Časť pôd pokrýva súvislá magnezitová krusta, vegetačný kryt je značne eliminovaný a znížila sa krajinnotvorná a estetická funkcia prostredia. Pre ekotoxikologické hodnotenie kontaminovaných pôd bola použitá metóda Biolog Eco Plates. Zistilo sa, že absorbančia (AWCD) v skúmaných vzorkách kontaminovaných Cr, Mn a Mg a s alkalickou pôdnou reakciou dosahovala nízke hodnoty a tomu odpovedala nízka až stredná diverzita funkčných skupín mikroorganizmov.

Kľúčové slová: magnezit, pôdna reakcia, Cr, Mn, Mg, Biolog Eco Plates

ÚVOD

Biodiverzita pôdy je pravdepodobne najdôležitejšia na udržanie funkcie ekosystému v narušenom prostredí a môže byť merateľná priamo (ako druhová bohatosť), alebo nepriamo pomocou štandardizovaných postupov (za pomoci rôznych indexov). Funkčnosť pôdných procesov môže byť meraná pomocou stanovení aktivity pôdných enzýmov, mineralizácii živín, potenciálnej nitrifikácie, pôdnej respirácie, atď. /2/. Vysoká priestorová variabilita fyzikálnych, chemických a biologických vlastností spôsobuje komplikácie pri zisťovaní diverzity pôdných mikroorganizmov. Významný posun poznatkov ohľadom biodiverzity pôdných mikroorganizmov nastal zavedením novších metód, z ktorých sa v súčasnosti využíva metóda analýzy metabolického potenciálu systémom BIOLOG®, ktorých identifikácia sa vykonáva na úrovni funkčných skupín /6, 8/.

Cieľom práce je zhodnotenie úrovne funkčnej biodiverzity pôdných mikrobiologických spoločenstiev v alkalicky a metalicky zaťaženom regióne stredného Gemera, kde sa dlhodobo ťažil a spracovával magnezit.

MATERIÁL A METÓDA

Jelšava a Lubeník ležia na juhu strednej časti Slovenského rudohoria /15/. Geologicky patrí územie do centrálnych Západných Karpát. Územie je budované hlavne horninami paleozoika, mezozoika a vrchného pliocénu na ktorých sa vyvinuli pôdy typu kambizeme, rendziny a luvizeme /3/. Fluvizeme a ich rôzne subtypy sa vyvinuli v alúviu rieky Muráň /9/. Jelšava a Lubeník patria do teplého klimatického regiónu s 50 a viac letnými dňami. Ročné zrážky sú 600-800 mm /14/.

V problémovej agrárnej oblasti bolo monitorovaných sedem skúmaných lokalít, ktoré sa používajú ako trvalé trávne porasty a sú v imisnom poli magnezitového závodu. Vzorky pôdy sa odobrali z A horizontu z hĺbky 0,05 až 0,15 m. Študovali sme a hodnotili reakciu pôdy v 1N roztoku KCl, celkový obsah Cr, Mn a Mg bol stanovený röntgenovou fluorescenčnou spektrometriou /4/. V čerstvých pôdnych vzorkách sme určovali metabolické profily mikrobiálnych spoločenstiev použitím Biolog® Eco Plates /5/. Diverzitu funkčných skupín mikroorganizmov sme hodnotili pomocou Shannon indexu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Oblasť Jelšava – Lubeník, so špecifickými zásaditými imisiami, je jednou z najviac zdevastovaných oblastí Slovenska a s alarmujúcim stupňom poškodenia životného prostredia. Objavenie ložiska magnezitu a jeho spracovanie v okolí Lubeníku sa datuje od roku 1897. Spracovanie magnezitovej suroviny začalo v súčasných Slovenských magnezitových závodoch (SMZ) Jelšava v roku 1923 a v Lubeníku už v roku 1903. Od tej doby obidva závody prešli celou sústavou technologickej a objemovo-výrobnej prestavby. Výrobu magnezitových slinkov sprevádza enormná emisia prašných častíc MgO do ovzdušia, ako aj únik plyných zlúčenín, najmä SO₂ a NO_x. Emisia MgO prachu stúpala s objemom výroby. Od roku 1990 došlo k redukcii výroby, zvýšila sa technologická disciplína, znížil sa objem tuhých emisií cca o 1/3. Aj napriek tomu je imisný spad naďalej enormný a devastačný /1, 9/.

Dominantnou zložkou znečistenia prostredia v oblasti Jelšava – Lubeník je magnezitový prach patriaci k aerosolovým časticiam, pre ktoré je rozhodujúcim depozičným procesom gravitačná sedimentácia. Najviac voľného oxidu horečnatého je v najjemnejších prachových frakciách. Tieto častice sú vysoko aktívne a sú schopné chemicky reagovať s látkami v pôde, na povrchu rastlín a v rastlinných pletivách. Vzhľadom na nízke hodnoty rýchlostí vetra deponujú prachové častice na pomerne malom území /3, 7/. Úletové častice výrazne ovplyvnili dynamické vlastnosti pôd, hlavne pH. Časť pôd pokrýva súvislá magnezitová krusta, vegetačný kryt je značne eliminovaný a znížila sa krajinnotvorná a estetická funkcia prostredia. Výskumy ukázali, že skúmané miesta sú silne alkalické (pH 7,7 až 8,8) (Tab. 1). Mg úlety s významným podielom reaktívneho kaustického magnezitu sú v prírodnom prostredí agresívne, už v malom množstve pri styku s pôdou či rastlinnou vlhkosťou tvoria nasýtené roztoky s vysoko alkalickou pH hodnotou /1/. Obsahy chrómu v pôde na skúmanom území sa pohybovali v rozsahu 83 - 1180 mg.kg⁻¹ (Tab. 1). Mediánove obsahy chrómu v pôdach Slovenska dosahujú 85 mg.kg⁻¹ v A-horizonte /16/. Údaje, ktoré publikovali Šefčík /16/ naznačujú, že vysoké hladiny Cr (do 6096 mg.kg⁻¹) sú v A a C horizontoch pôd z Vonkajších Karpát.

Chrómu spolu s kobaltom a nikelom sú považované za kovy, ktoré pochádzajú z geogénnej záťaže /17/. Šesťmocný chróm (Cr⁺⁶) je klasifikovaný ako jeden z najvýznamnejších kontaminantov životného prostredia /12/. Ľahko rozpustný Cr⁶⁺ v pôdach je toxický pre rastliny a zvieratá. Preto je variabilita oxidačných stavov Cr v pôdach veľkým environmentálnym problémom /10/.

Horčík sa považuje za piatu hlavnú živinu vo výžive rastlín. Nachádza sa vo viacerých primárnych aj v sekundárnych mineráloch. Hodnoty obsahu prístupného horčíka sú v ornici poľnohospodárskych pôd Slovenska v rozpätí 200-400 mg.kg⁻¹, čo je vysoký obsah tohto

prvku v pôde /13/. Na skúmanom území sme zistili výraznú kontamináciu pôd horčíkom a jeho hodnoty sa pohybovali v rozsahu 12100 – 197000 mg.kg⁻¹, čo v priemere predstavuje 30 až 493 násobné prekročenie (Tab. 1).

Namerané obsahy mangánu vykazujú podobný priebeh a boli zistené obsahy v rozpätí 800 až 2300 mg.kg⁻¹ (Tab. 1). Priemerný obsah mangánu v pôdach Slovenskej republiky sa pohybuje v rozpätí od 0,85 do 112,90 mg.kg⁻¹, čo ukazuje na výraznú priestorovú heterogenitu tohto prvku, avšak prevláda stredná zásobenosť tohto prvku v pôdach. Kabata-Pendias a Pendias /11/ uvádzajú hodnotu 1500 mg.kg⁻¹, pri ktorej sa prejavujú symptómy toxicity mangánu. Na základe dosiahnutých výsledkov možno konštatovať, že obsahy Cr, Mn a Mg sú nad hladinou toxicity. Ich výrazne prekročenie poukazuje na kontaminovanosť, pri ktorej môžeme rátať so škodlivosťou a toxicitou.

Tab. 1: Výsledky sledovaných parametrov vyjadrené popisnou štatistikou v skúmaných oblastiach v Jelšave a Lubeníku (Slovensko).

Sledované parametre	Min.	Max.	Priemer	Smerodajná odchyľka
pH/KCl	7,66	8,76	8,41	0,41
AWCD	1,25	2,70	1,77	0,53
Shannon index H' diverzity pre ECO plates	3,00	3,40	3,26	0,14
Equitabilita J pre ECO plates	0,90	0,99	0,96	0,03
Cr [mg.kg ⁻¹]*	83,00	1180,00	453,43	473,87
Mn [mg.kg ⁻¹]	800,00	2300,00	1814,29	508,03
Mg [mg.kg ⁻¹]	12100,00	197000,00	76742,86	65952,30

AWCD - Averages Well Colour Development, * Limitná hodnota stanovená zákonom /20/ - 70 mg.kg⁻¹

Funkčnú diverzitu mikrobiálnych spoločenstiev sme hodnotili s použitím Biolog Eco Plates. Metóda Biolog je všeobecne známa pre svoju citlivosť a rýchlosť a bola použitá okrem iného pre ekotoxikologické hodnotenie kontaminovaných pôd (8, 18). Pre výpočet Shannon index diverzity sme použili absorbanciu pri danom AWCD (Averages Well Colour Development) v skúmaných vzorkách po 168 hodinách. Zistili sme, že absorbancia v skúmaných vzorkách kontaminovaných Cr, Mn a Mg dosahovala nízke hodnoty (1,25 – 2,25). Tomu odpovedala nízka až stredná (3,2) a stredná (3,4) diverzita funkčných skupín mikroorganizmov (Tab. 1). Naše zistenia boli v súlade s výsledkami Xie et al. /19/, ktorí zistili, že so zvyšujúcim sa obsahom kovov dochádza k výraznej inhibícii funkčnej aktivity pôdných mikroorganizmov. Na základe uvedeného môžeme konštatovať, že úletové častice voľného oxidu horečnatého (MgO) výrazne ovplyvnili pôdnu reakciu a diverzitu pôdy. Pôdny ekosystém je v narušenom prostredí málo stabilný a je narušená jeho funkčnosť.

LITERATÚRA

- /1/ Baluchová, B., Bačík, P., Fejdi, P., Čaplovičová, M.: Mineralogical research of the mineral dust fallout from the years 2006-2008 in the area of Jelšava (Slovak republic). *Mineralia Slovaca*, 43, 2011: 327-334.
- /2/ Bradford, M.A., Newington, J.E.: With the worms: soil biodiversity and ecosystem functioning. In *Biologist*, 49, 2002:127-130.
- /3/ Čaboun, V., Priwitzer, T.: Vplyv magnezitových imisií a prírodné ekosystémy. *Atmosferická depozice*, 2004.
- /4/ Fiala, K., Barančíkova, G., Brečkova, V., Burik, V., Houšková, B., Chomaničova, A., Kobza, J., Litavec, T., Makovníkova, L., Pechova, B., Varadiova, D.: Záväzné metódy rozborov pôd. Čiastkový monitorovací systém – pôda. Bratislava: VÚPOP, 142 s.

- /5/ Garland, J.L.: Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology. *FEMS Microbial Ecology* 24, 1996: 289-300.
- /6/ Gömöryová, E.: Diversity of soil microorganisms. Piate pôdoznalecké dni: Pôda – národné bohatstvo. Bratislava: VÚPOP, 2008: 155-160.
- /7/ Hancuľák J.: Vývoj spadovej prašnosti v oblasti závodu SMZ, a.s., Jelšava. *Acta Montanistica Slovaca*, 5 2000: 310-312.
- /8/ Hofman, J., Švihálek, J., Holoubek, I.: Evaluation of functional diversity of soil microbial communities – a case study. *Plant, Soil and Environment*, 50, 2004: 141-148.
- /9/ Hronec, O., Vilček, J., Tomáš, J., Adamišín, P., Huttmanová, E.: Kvalita zložiek životného prostredia v problémových oblastiach Slovenska. Brno: Mendelova univerzita v Brně. 2010:225 s.
- /10/ Kabata–Pendias, A.: Trace Elements in Soil and Plants. 4th edition. London: CRC Press, 2011. 505 p.
- /11/ Kabata–Pendias, A., Pendias, H.: Trace Elements in Soil and Plants. London: CRC Press, 2001. 413 p.
- /1/ Kafka, Z., Punčochářová, J.: Těžké kovy v přírodě a jejich toxicita. *Chemické listy*, 96, 2002: 611-617.
- /12/ Kobza, J., Barančíková, G., Dodok, R., Hrivňáková, K., Makovníková, J., Mališ, J., Pálka, B., Styk, J., Širáň, M.: Monitoring pôd SR. Bratislava: VÚPOP, 2009, 38 p.
- /13/ Lapin, M., Faško, P., Melo, M., Šťastný, P., Tomlain, J.: Klimatické oblasti. In: Atlas krajiny SR. Bratislava: MŽP SR, Banská Bystrica: SAŽP, 2002, s. 95.
- /14/ Mazúr, E., Lukniš, M.: Geomorfologické jednotky Slovenska. In: Atlas krajiny SR. Bratislava: MŽP SR, Banská Bystrica: SAŽP, 2002, s. 88.
- /15/ Šefčík, P.: Distribúcia rizikových prvkov v pôdach Slovenska. *Agriculture*, 52, 008: 57-62.
- /16/ 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 Environ.*, 55, 2009: 167–172.
- /17/ Tischer, S., Tannaberg, H., Guggenberger, G.: Microbial parameters of soils contaminated with heavy metals: Assesment for ecotoxicological monitoring. *Pol. J. Ecol.* 56, 2008: 471–479.
- /18/ Xie, X., Liao, M., Ma, A., Zhang, H.: Effect of contamination of single and combined cadmium and mercury on the soil microbial community structural diversity and functional diversity. *Chin. J. Geochem.* 30, 2011:366-374.
- /19/ Zákon č. 220/2004 Z. z. o ochrane a využívaní poľnohospodárskej pôdy.

Pod'akovanie

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory výskumného projektu VEGA 1/0127/16 a KEGA 011PU-4/2016.

FLÓRA A VEGETÁCIA NA ÚZEMIACH STARÝCH ENVIRONMENTÁLNYCH ZÁŤAŽÍ

FLORA AND VEGETATION IN THE AREAS OF OLD ENVIRONMENTAL BURDENS

Danica Fazekašová, Zuzana Boguská, Petra Huličová, Juraj Fazekaš
Prešovská univerzita v Prešove, Fakulta manažmentu, Katedra environmentálneho manažmentu,
Konštantínova 16, 08001 Prešov, danica.fazekasova@unipo.sk

Summary

The paper presents the results of phytosociological research aimed at determining the species composition of plant communities of different ecosystems in the environmentally encumbered and hygienically malfunctioning region of Central Spiš where mining activities have long been maintained. Sites with different ecosystems were explored: permanent grassland, landfills - heaps of waste material from the mines and the banks of the watercourse. During the field phytosociological research, we found minimal differences in species composition. In all the studied localities, predominantly species with a wider ecological valency prevailed, 103 plant species were recorded in 37 families in the examined sites.

Key words: loaded region, mining activity, ecosystem, phytosociological research, Cu, Hg

Súhrn

Práca prezentuje výsledky fytoocenologického výskumu zameraného na určenie druhového zloženia rastlinných spoločenstiev rôznych ekosystémov v environmentálne zaťaženom a hygienicky závadnom regióne stredného Spiša, kde dlhodobo pretrvávala banská činnosť. Skúmané boli lokality s odlišnými ekosystémami: trvalý trávny porast, skládky - haldy odpadového materiálu z bane a brehové porasty vodného toku. Počas terénneho fytoocenologického výskumu sme zistili minimálne rozdiely v druhovej skladbe. Na všetkých skúmaných lokalitách prevládali skôr druhy so širšou ekologickou valenciou, bolo zaznamenaných 103 druhov rastlín zaradených do 37 čeľadí.

Kľúčové slová: zaťažená oblasť, banská činnosť, ekosystém, fytoocenologický výskum, Cu, Hg

ÚVOD

Za jeden z najvýraznejších environmentálnych problémov súčasnosti môžeme považovať globálnu kontamináciu životného prostredia, pretože ovplyvňuje všetky zložky životného prostredia /3, 4/. Jedným z problémov v oblasti ochrany prírody a krajiny sú staré legálne či nelegálne skládky odpadov, ktoré predstavujú environmentálne záťaže pre krajinu. Sú potenciálnou hrozbou kontaminácie podzemných aj povrchových vôd, šírenia štipľavého a zápachajúceho dymu, prenosu ochorení, napr. parazitov, rastom a šírením synantrópnych a invázných druhov rastlín. Dlhodobé nepriaznivé zmeny životného prostredia nepriaznivo pôsobia na životaschopnosť rastlinných populácií. Ide hlavne o globálne zmeny súvisiace s otepľovaním planéty a ďalšie zmeny spôsobené činnosťou človeka, čo má následný vplyv na všetky zložky životného prostredia /8/. Rastlinstvo sa počas dlhodobého vývoja prispôbilo určitým ekologickým podmienkam. Kontaminácia prostredia výrazne mení rastlinstvo, ktoré sa stáva stresovým faktorom so silným selekčným účinkom. V environmentálne zaťažených oblastiach je znížená diverzita a pokryvnosť rastlinných spoločenstiev, ochudobňuje sa genofond pôvodných porastov. Citlivé druhy náhle miznú, nahrádzajú ich tolerantnejšie, často krát sú to buriny, ktoré nepatria do pôvodného

ekosystému. Dôsledkom toho sú výrazné kvalitatívne a kvantitatívne zmeny vegetácie /2, 9/. Environmentálne záťažé predstavujú pre vegetáciu výrazný stresový faktor, dôsledkom čoho je odumretie rastliny. Len malé percento z nich je schopné prispôbiť sa novým podmienkam. Adaptačný proces môže v organizme vyvolať rôzne morfológické, chemické alebo genetické zmeny.

Práca prezentuje výsledky fytoecenologického výskumu zameraného na určenie druhového zloženia rastlinných spoločenstiev rôznych ekosystémov v environmentálne zaťaženom a hygienicky závadnom regióne stredného Spiša, kde dlhodobo pretrvávala banská činnosť.

MATERIÁL A METÓDA

Terénny fytoecenologický výskum v záujmovom území stredného Spiša bol zameraný na určenie druhového zloženia vegetácie. Skúmané boli lokality s odlišnými ekosystémami: trvalý trávny porast, skládky - haldy odpadového materiálu z bane a brehové porasty vodného toku (Tab. 1). Vybrané lokality sú súčasťou environmentálne zaťaženej oblasti stredného Spiša. Na základe fytoecenologických zápisov bolo určené botanické zloženie skúmaných lokalít. Názvoslovie rastlinných taxónov je uvádzané podľa Marholda a Hindáka /7/.

Tab. 1: Označenie a lokalizácia výskumných lokalít v regióne stredného Spiša

Označenie výskumných lokalít	Názovy lokalít	GPS
1	halda v Poráčskej doline	48° 52' 45,2" N 20° 43' 36,8" E
2	brehové porasty Poráčského potoka	48° 52' 18,7" N 21° 44' 8,2" E
3	brehové porasty Poráčského potoka	48° 52' 43,0" N 20° 44' 55,3" E
4	brehové porasty Poráčského potoka	48° 52' 42,8" N 20° 45' 22,6" E
5	brehové porasty Poráčského potoka	48° 53' 0,2" N 20° 46' 36,4" E
6	brehové porasty Poráčského potoka	48° 52' 55,9" N 20° 48' 57,2" E
7	trvalý trávny porast v katastri Rudnian	48° 52' 48" N 20° 40' 55" E
8	odkalisko Slovinky	48° 53' 15,4" N 20° 52' 08,7" E
9	skládky Halňa	48° 55' 24,1" N 20° 53' 59,2" E
10	trvalý trávny porast v katastri Krompách	48° 55' 20,8" N 20° 53' 58,6" E

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vybrané lokality v oblasti stredného Spiša, kde prebiehal fytoecenologický výskum majú z hľadiska environmentálnej kvality narušené prostredie. Stanovištné podmienky s vysokými obsahmi ťažkých kovov v pôde podmieňujú existenciu rezistentných druhov. Na všetkých skúmaných lokalitách prevládali skôr druhy so širšou ekologickou valenciou. Počas terénneho fytoecenologického výskumu sme zistili minimálne rozdiely v druhovej skladbe.

Vegetácia odkaliska Slovinky je charakteristická nízkym zastúpením a početnosťou druhov. Pôda s obsahom kontaminantov selektuje sortiment vegetácie, ktorá tu rastie. Hrádzu odkaliska tvorí umelo vysadený krovinatý porast s prevahou *Betula pendula*, *Pinus sylvestris*. Zaznamenali sme tiež náletové dreviny *Corylus avellana*, *Larix decidua* so sprievodným druhmi v podraсте *Agrostis capillaris*, *Fragaria vesca*, *Tussilago farfara* a *Festuca rubra*. *Betula pendula* patrí v rámci strednej Európy medzi druhy, ktorým sa dobre darí pri osídľovaní miest kontaminovaných ťažkými kovmi, pretože je adaptovaná k širokému spektru podmienok antropogénnych stanovišť podobne aj *Salix caprea*, *Sambucus nigra* alebo *Pinus sylvestris* /11/. Druhy v blízkosti imisného poľa odkaliska prejavovali známky degradácie, išlo najmä o zakrpatené formy drevín, ktoré boli prevažne v kríkovej forme.

Rastlinný kryt lokality skládka Halňa tvoria prevažne druhy často osídľujúce ruderálne plochy a kontaminované územia. Zaznamenali sme tu druhy rastlín rezistentné voči ekologickým podmienkam stanovišť, ako *Solidago gigantea*, *Geranium pratense*, *Tussilago farfara*. Výrazne zastúpenie mal na tejto lokalite druh *Silene vulgaris*, ktorého zvýšený výskyt na kontaminovanom podloží zaznamenala v tejto oblasti aj Banášová a Lackovičová /1/.

Lokalita trvalého trávneho porastu v katastri Krompách predstavuje podľa zaradenia v Katalógu biotopov Slovenska /12/ mezofilné pasienky a spásané lúky. Botanické zloženie tu do istej miery selektuje poloha lokality v oblasti, kde dlhodobo pôsobili emisie z neďalekého závodu na spracovanie medi. Druhové zloženie a pokryvnosť sa na tejto lokalite v priebehu sledovaného obdobia výrazne nemenili. Zastúpené tu boli typické lúčne a pasienkové druhy *Achillea millefolium*, *Dactylis glomerata*, *Festuca rubra*, *Poa trivialis*, *Plantago major*.

Lokalita trvalého trávneho porastu v katastri Rudnian je zaradená podobne, ako predchádzajúca lokalita medzi mezofilné pasienky a spásané lúky /12/ s prevahou lúčnych druhov *Campanula patula*, *Festuca pratensis*, *Leucanthemum vulgare*, *Poa trivialis*, *Taraxacum officinale*. Prostredie je v tejto oblasti výrazne kontaminované ortuťou, preto najvyššiu pokryvnosť mali na tejto lokalite práve rezistentné druhy *Silene vulgaris*, *Geranium pratense*.

Haldu v Poráčskej doline tvorí navážka odpadu z ťažby a spracovania ortuťových rúd. Na halde sú viditeľné štádia postupujúcej sukcesie. Druhy, ako *Calamagrostis epigejos* alebo *Betula pendula* patria k najčastejším kolonizátorom antropogénnych substrátov /10/. Krovinaté formy na halde tvoria náletové dreviny *Betula pendula*, *Pinus sylvestris* a *Picea abies*. Najrozšírenejším druhom na tejto lokalite bol *Calamagrostis epigejos*.

Druhové zloženie lokalít brehové porasty Poráčského potoka tvoria spoločenstvá horských vodných tokov a bylinných porastov pozdĺž ich brehov /12/. Negatívny vplyv na rastlinstvo má na tejto lokalite kontaminovaný odpadový materiál z ťažby uložený v blízkosti Poráčského potoka. Druhové zloženie jednotlivých lokalít nebolo navzájom výrazne odlišné. Najpočetnejšie boli na lokalitách brehové porasty Poráčského potoka zastúpené druhy *Geranium sylvaticum*, *Mentha longifolia*, *Caltha palustris*, *Petasites hybridus*, *Maianthemum bifolium*, *Chelidonium majusa*, *Taraxacum officinale*.

ZÁVER

Oblasť stredného Spiša, kde prebiehal fytocenologický výskum, má z hľadiska environmentálnej kvality narušené prostredie. Pre vegetáciu sú zmeny ekologických podmienok spôsobené environmentálnym zaťažením silným stresovým faktorom. V rastlinných spoločenstvách skúmaných lokalít boli viditeľné niektoré morfológické zmeny, ako žltnutie ihličia a zakrpatené formy drevín *Betula pendula*, *Larix decidua* najviac na lokalite odlalisko Slovinky. Výrazne kontaminované lokality odkalisko Slovinky, skládka Halňa a halda v Poráčskej doline boli zastúpené rezistentnými druhmi *Agrostis capillaris*, *Silene vulgaris*, *Calamagrostis epigejos*, *Geranium pratense*. Na trvalých trávnych porastoch, ktorými boli mezofilné pasienky a spásané lúky prevládali typické lúčne druhy, ako

Campanula patula, *Festuca pratensis*, *Leucanthemum vulgare*, *Poa trivialis*, *Taraxacum officinale*, *Achillea millefolium*, *Dactylis glomerata*, *Festuca rubra*, *Poa trivialis*, *Plantago major*. Lokality brehových porastov Poráčskeho potoka tvorili spoločenstvá s prevahou druhov *Geranium sylvaticum*, *Mentha longifolia*, *Caltha palustris*, *Petasites hybridus*, *Mentha longifolia*. Na skúmaných lokalitách bolo zaznamenaných 103 druhov rastlín zaradených do 37 čeľadí.

LITERATÚRA

- /1/ Banášová, V., Lackovičová, A.: Degradácia travinných porastov v blízkosti huty na spracovanie medi v Krompachoch (Slovenské Rudohorie). Bull. Slov. Bot. Spoloč., 26, 2004:153 – 161.
- /2/ Banášová, V., Pišút, I., Holub, Z.: Kontaminácia pôd a vegetácie ortuťou a inými prvkami z exhalátov huty v Rudňanoch. Čistota ovzdušia, 23, 1993:267-271.
- /2/ Fazekašová, D., Barančíková, G., Torma, S., Ivanová, I., Manko, P.: Chemické a environmentálne aspekty zložiek životného prostredia a krajiny. Prešov: PU v Prešove Fakulta manažmentu, 2014, 257 s.
- /4/ Lackovičová, A., Banášová, V., Pišút, I.: Rastliny bioindikátory znečistenia životného prostredia. Bratislava: ÚMC MŠV SR, 1993. 65 s.
- /5/ Makovníková, J., Barančíková, G., Dlapa, P., Dercová, K.: Anorganické a organické kontaminanty v pôdnom prostredí. Chemické listy, 100, 2006: 424 – 432.
- /6/ Makovníková, J.: Distribúcia kadmia, olova, medi a zinku v pôde a jej hodnotenie so zreteľom na potenciály a bariéry kovov do rastlín. VÚPOP: Bratislava, 1997.
- /7/ Marhold, K., Hindák, Š.: Zoznam nižších a vyšších rastlín Slovenska. Veda: Bratislava, 1998.
- /8/ Nicolé, F., Johan, P., Vivat, D.A., Till-Bottraud, I., Ehrlén, J.: Interdependent effects of habitat quality and climate on population growth of an endangered plant. Journal of Ecology, 99, 2011:1211–1218.
- /9/ Otte, M. L., Haarsma, M. S., Broekman, R.A., Rozema, J.: Relation between heavy metal concentrations in salt marsh plants and soil. Environmental Pollution, 82, 1993:13 - 22.
- /10/ Prach, K., Basil, M., Konvalinková, P., Kovař, P., Novák, J., Pyšek, P., Řehouňková, P., Sádlo, J.: Sukcese vegetace na antropogenních stanovištích v ČR – přehled dominantních druhů a stádií. Příroda, 26, 2008: 5-26.
- /11/ Prach, K., Pyšek, P. Using spontaneous succession for restoration of human-disturbed habitats: experience from Central Europe. Using Ecology Engineerin, 17, 2001: 55-62.
- /12/ Stanová, V., Valachovič, M. (eds): Katalóg biotopov Slovenska. DAPHNE Inštitút aplikovanej ekológie pre Štátnu ochranu prírody SR, 2002, 225 s.

PodĎakovanie

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory výskumného projektu VEGA 1/0127/16 a KEGA 011PU-4/2016.

CADMIUM-INDUCED ROS PRODUCTION IN FOUR ARABIDOPSIS SPECIES DIFFERING IN HEAVY METAL TOLERANCE

VPLYV KADMIA NA TVORBU ROS U ŠTYROCH DRUHŮV ARABIDOPSIS ODLIŠUJÍCICH SA TOLERANCIOU ŤAŽKÝCH KOVOV

Roderik Fiala, Vladimír Repka, Ján Pavlovkin and Milada Čiamporová
Institute of Botany, Plant Science and Biodiversity Centre, Slovak Academy of Sciences, Dúbravská
cesta 9, 845 23, Bratislava, Slovakia, roderik.fiala@savba.sk

Summary

Roots of four *Arabidopsis* species differing in metal tolerance were exposed to cadmium (Cd) and the production of superoxide ($O_2^{\cdot-}$), hydrogen peroxide (H_2O_2) and nitric oxide ($NO^{\cdot-}$) as well as cell viability were analysed to compare how they cope with Cd-induced oxidative stress. The metal tolerant *A. halleri* and *arenosa* showed lower $O_2^{\cdot-}$ and H_2O_2 accumulation indicating their higher detoxification capacity, consistent with the rapid onset and slower depletion of $NO^{\cdot-}$, a supposed cellular antioxidant, compared to metal-sensitive *A. thaliana*, in which Cd induced higher $O_2^{\cdot-}$ and H_2O_2 accumulation accompanied with more oxidative damage and cell death.

Key words: abiotic cadmium, oxidative stress, reactive oxygen species, nitric oxide, viability, *Arabidopsis*

Súhrn

Korene štyroch druhov *Arabidopsis* odlišujúcich sa toleranciou ťažkých kovov sme vystavili pôsobeniu kadmia (Cd) a sledovali sme tvorbu superoxidu ($O_2^{\cdot-}$), peroxidu vodíka (H_2O_2) a oxidu dusnatého ($NO^{\cdot-}$), ako aj viabilitu buniek s cieľom porovnať ich reakciu na oxidačný stres. *A. halleri* a *arenosa* tolerujúce kovy akumulovali menej $O_2^{\cdot-}$ a H_2O_2 , čo poukazuje na ich lepšiu schopnosť detoxikácie a je v súlade s rýchlejšim nástupom a pomalším vyčerpaním $NO^{\cdot-}$ pôsobiaceho v bunke ako antioxidant v porovnaní s netolerantnou *A. thaliana*, v ktorých Cd viedol k väčšej akumulácii $O_2^{\cdot-}$ a H_2O_2 spojenej s väčším oxidačným poškodením buniek a smrťou.

Kľúčové slová: kadmium, oxidačný stres, reaktívne formy kyslíka, $NO^{\cdot-}$, viabilita, *Arabidopsis*

INTRODUCTION

Environmental concentration of cadmium (Cd) is increasing mainly due to anthropogenic activities /1/. As non-essential metal, Cd is toxic for plant cells even at low concentrations /2/. It can be rapidly taken up by roots and enter the food chain, resulting in toxicity both for plants /3/ and animals /4/. Exposure of plants to metals elicits production of superoxide ($O_2^{\cdot-}$), hydrogen peroxide (H_2O_2) or nitric oxide ($NO^{\cdot-}$) that participate in stress signalling but their accumulation can cause cellular damage /5, 6/. *Arabidopsis* species became model plants, also for metal tolerance studies. *Arabidopsis thaliana* (*At*) is metal-sensitive while tolerant *Arabidopsis halleri* (*Ah*) is a Cd hyperaccumulator /7/ and *Arabidopsis arenosa* (*Aa*) has a capacity to accumulate or exclude Cd /8/. To explore Cd tolerance in tested *Arabidopsis* species, the effect of Cd on the production of $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , and $NO^{\cdot-}$ as well as cell viability were analysed.

MATERIAL AND METHODS

Except *At* ecotype Columbia (*AtCol*), plants were grown from seeds originating from a natural non-metallicolous population Ratkovo (*AtR*), and metallicolous populations Terézia (*Aa*) and Krompachy (*Ah*). The seeds were surface sterilized with 5% NaClO for 5 min, washed 3-times in sterile distilled water, on which surface they were kept in glass chambers at 12/12 h light until 3 days after germination. Then water was exchanged daily during next 7-9 days by 0 (distilled water), 5, 50, and 100 μM CdCl₂ (pH 5.7). Cell viability, O₂⁻ and H₂O₂ production were monitored by propidium iodide, Superoxide detection kit and 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, respectively. Roots were stained, evaluated by confocal microscope and signal intensities quantified like described in Fiala et al. /9/. NO⁻ was detected by DAF-FM-DA (Life Technologies; stained in 10 μM dye for 30 min with 10 min washing). Control roots were treated for 1 h by 1 mM cPTIO (Life Technologies) or 5 mM SNAP (Life Technologies), both in 10 mM Tris (pH 7.4), prior to NO⁻ detection.

RESULTS AND DISCUSSION

Viability staining (Fig. 1) showed that Cd-treatment caused a concentration-dependent progression of cell death in all *Arabidopsis* species, though to a different extent: *Ah* was the most resistant to Cd, followed by *Aa*, *AtR* and the most affected *AtCol* with the dye localized in some nuclei and in cytoplasm indicating disturbed cell membrane integrity. The viability after 6 h and 24 h (not shown) looked like that of the control and after 48 h, respectively. Available data suggest that Cd, if not detoxified rapidly enough, may trigger a sequence of reactions leading finally to the cell death via disturbance of the redox control by inhibition of cellular antioxidant systems /3/.

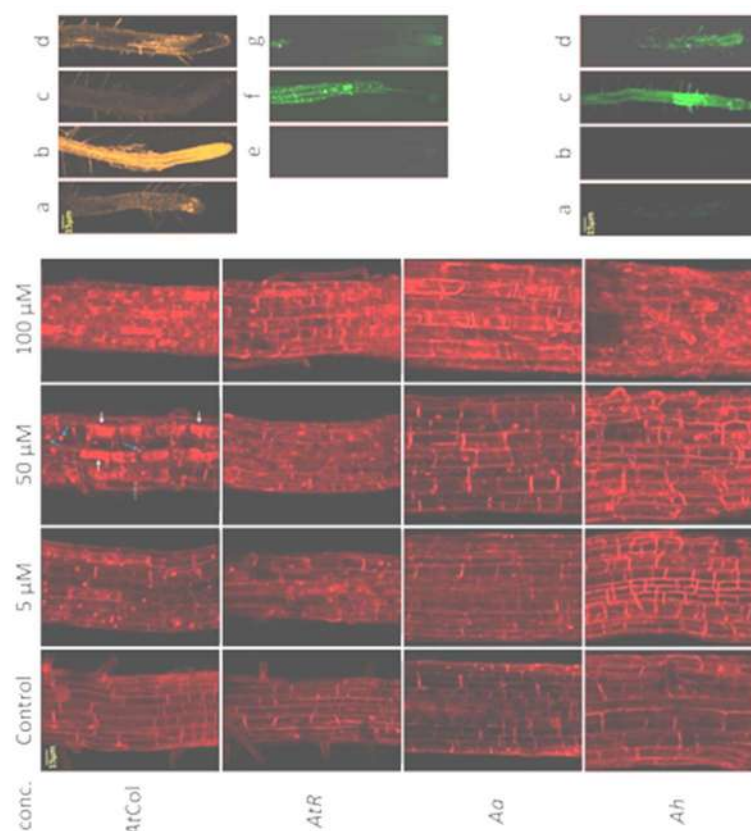


Figure 1: Root cell viability (48 h). Blue arrows point to nuclei and white to cells with condensed protoplasts, respectively.

The production of $O_2^{\cdot-}$ (Fig. 2a-d) increased with time of action and concentration of Cd (Fig. 3) while it was weak under control conditions. In *Ah* Cd induced lower $O_2^{\cdot-}$ production with a more moderate onset than in other compared species, consistently with the viability results. Cd treatment resulted in the decrease of root cell viability due to disturbed plasma membrane integrity accompanied by increased levels of $O_2^{\cdot-}$ and H_2O_2 in grapevine roots /9/.

Figure 2

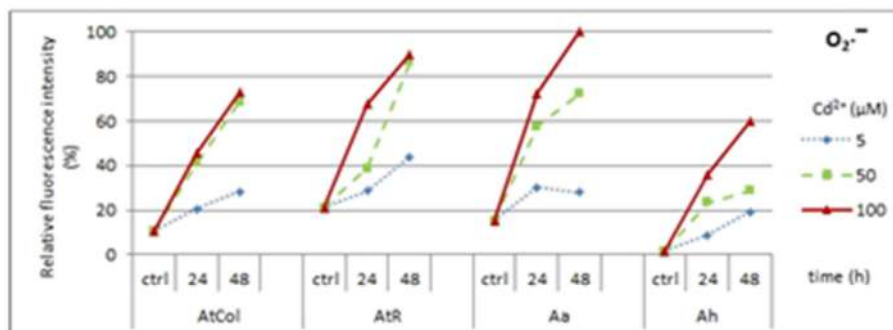


Figure 3

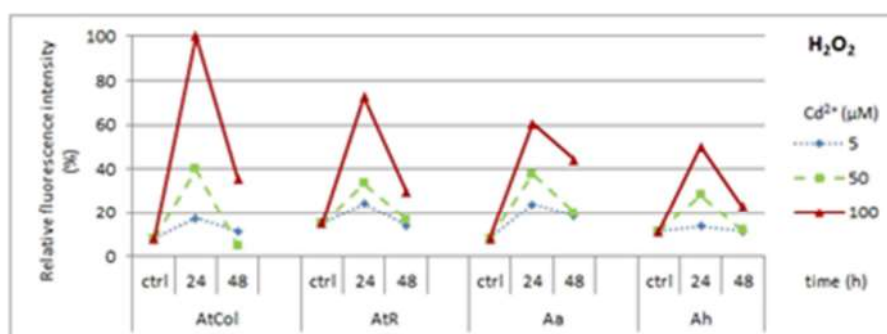


Figure 4

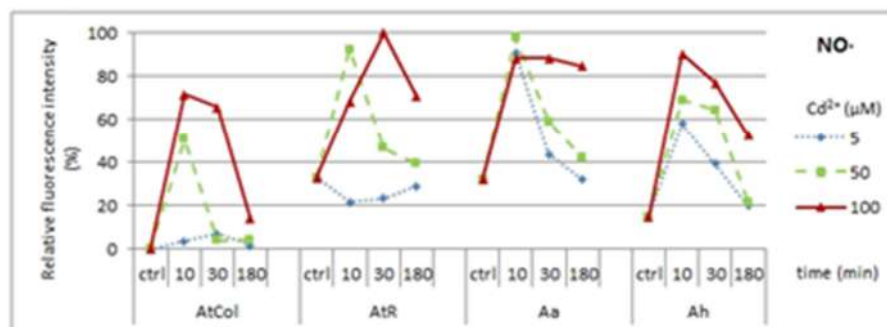


Fig. 2: Production of $O_2^{\cdot-}$ (a-d) and H_2O_2 (e-g): *AtR* – control (a) and treated by 50 μ M Cd for 48 h (b), *Ah* – control (c) and treated by 50 μ M Cd for 48 h (d), and *Aa* – control (e) and treated by 50 μ M Cd for 24 h (f) and 48 h (g).

Fig. 3. Production of $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 and $NO^{\cdot-}$. Ctrl = control conditions.

Fig. 4. Detection of $NO^{\cdot-}$ in *AtCol*. Roots in control conditions (a), in the presence of the $NO^{\cdot-}$ scavenger *cPTIO* (b) and the $NO^{\cdot-}$ donor *SNAP* (c), and treated by 100 μ M Cd for 30 min (d).

H_2O_2 accumulation, almost undetectable in control roots, increased with Cd concentration (like $O_2^{\cdot-}$), however root cells of all tested species accumulated considerably less H_2O_2 after 48 h than after 24 h (Fig. 2e-g and 3), with the values falling back near to those of the control in the case of 5 and 50 μ M Cd. The most sensitive to Cd was *AtCol*. Vice-versa, in *Ah* the Cd-caused increase in the H_2O_2 level was the most moderate among the species. These results are

in agreement with the suggestion that Cd-caused phytotoxicity is induced by H₂O₂ accumulation and subsequent oxidative stress and that lower H₂O₂ accumulation confers Cd-tolerance in Cd-resistant type of *At* /6/. Though most of authors /like 10/ state Cd-induced increase in H₂O₂ accumulation (together with increased O₂⁻ and decreased viability), suggested because of an imbalance of redox systems in cells challenged by Cd at concentrations exceeding the detoxification capacity, some evidence can be found about a subsequent decline of the H₂O₂ (and also associated enzymes and metabolites) content after various times of the Cd treatment /e.g. 11/. This is in line with our observed decline in H₂O₂ accumulation that could reflect H₂O₂ detoxification capacity differences among the tested species. However, further analysis (like cellular antioxidative system) is needed to confirm this hypothesis.

O₂⁻ accumulation and NO⁻ depletion by Cd stress supports the idea of antioxidative role of NO⁻ due to its ability to react with O₂⁻ /5/. NO⁻ is also considered as a signal molecule involved in triggering the defence responses of cells in Cd stress conditions /12/. The stronger Cd concentration the more prolonged NO⁻ production was observed (Fig. 3, 4). The production of NO⁻ reached its maximum after 10 min almost for all species and concentrations, followed by a decline near to the values the control, except 100 μM Cd-treated *AtR*, *Aa* and *Ah* with a later and slower decline, following later on (not shown). Altogether, Cd elicited higher NO⁻ production in *Aa* and *Ah* while in *AtCol* the depletion occurred faster. These results are in agreement with lower O₂⁻ and H₂O₂ accumulation in metal-tolerant *Ah* (and *Aa*) species and the antioxidant role of NO⁻, and along with the rapid NO⁻ production onset might contribute to the higher Cd tolerance of *Ah* and partly *Aa* compared to *At*.

REFERENCES

- /1/ He, Z.L., Yang, X.E., Stoffella, P.J.: Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 19, 2005: 125–140
- /2/ di Toppi, L.S., Gabbriellini, R.: Response to cadmium in higher plants. *Environ. Exp. Bot.*, 41, 2009: 105–130
- /3/ Lux, A., Martinka, M., Vaculík, M., White, P.J.: Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. *J. Exp. Bot.*, 62, 2001: 21–37
- /4/ Horiguchi, H., Aoshima, K., Oguma, R., Sasaki, S., Miyamoto, K., Hosoi, Y., Katoh, T., Kayama, F.: Latest status of cadmium accumulation and its effects on kidneys, bone, and erythropoiesis in inhabitants of the formerly cadmium-polluted Jinzu River Basin in Toyama, Japan, after restoration of rice paddies. *Intern. Arch. Occupat. Environ. Health*, 83, 2010: 953-970
- /5/ Rodríguez-Serrano, M., Romero-Puertas, M.C., Pazmiño, D.M., Testillano, P.S., Risueño, M.C., del Río, L.A., Sandalio, L.M.: Cellular Response of pea plants to cadmium toxicity: Cross talk between reactive oxygen species, nitric oxide, and calcium. *Plant Physiol.*, 150, 2009: 229–243
- /6/ Cho, U.H., Seo, N.H.: Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. *Plant Sci.*, 168, 2005: 113–120
- /7/ Weber, M., Trampczynska, A., Clemens, S.: Comparative transcriptome analysis of toxic metal responses in *Arabidopsis thaliana* and the Cd²⁺ - hypertolerant facultative metallophyte *Arabidopsis halleri*. *Plant Cell Environ.*, 29, 2006: 950–963
- /8/ Nadgórska-Socha, A., Ptasinski, B., Kita, A.: Heavy metal bioaccumulation and antioxidative responses in *Cardaminopsis arenosa* and *Plantago lanceolata* leaves from metalliferous and non-metalliferous sites: a field study. *Ecotoxicol.*, 22, 2013: 1422–1434
- /9/ Fiala, R., Repka, V., Čiamporová, M., Martinka, M., Pavlovkin, J.: Early cadmium-induced effects on reactive oxygen species production, cell viability and membrane electrical potential in grapevine roots. *Vitis*, 54, 2015: 175–182
- /10/ Singh, P., Shah, K.: Evidences for reduced metal-uptake and membrane injury upon application of nitric oxide donor in cadmium stressed rice seedlings. *Plant Physiol. Biochem.*, 83, 2014: 180-184
- /11/ Schützendübel, A., Schwanz, P., Teichmann, T., Gross, K., Langenfeld-Heyser, R., Godbold, D.L., Polle, A.: Cadmium induced changes in antioxidative systems, hydrogen peroxide content, and differentiation in Scots pine roots. *Plant Physiol.*, 127, 2001: 887–898

/12/ Besson-Bard, A., Gravot, A., Richaud, P., Auroy, P., Duc, C., Gaymard, F., Taconnat, L., Renou, J.P., Pugin, A., Wendehenne, D.: Nitric oxide contributes to cadmium toxicity in Arabidopsis by promoting cadmium accumulation in roots and by up-regulating genes related to iron uptake. *Plant Physiol.*, 149, 2009: 1302–1315

Acknowledgement

This research was supported by the grant 02/0003/17 of Slovak Grant Agency VEGA.

**AKUMULÁCIA (POLO)KOVOV PRASLIČKOU ROĽNOU
(*EQUISETUM ARVENSE* L.) RASTÚCOU V OBLASTI SKONČENEJ
ŤAŽOBNEJ ČINNOSTI – V DÚBRAVE**

**(SEMI)METAL ACCUMULATION BY FIELD HORSETAIL (*EQUISETUM ARVENSE*
L.) NATURALLY GROWING ON OLD MINING
SITES – IN DÚBRAVA**

Alexandra Filová¹, Marianna Molnárová¹, Ľubomír Jurkovič², Jana Ružičková¹, Matúš Peško¹, Agáta Fargašová¹

¹ Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra environmentálnej ekológie, Mlynská dolina B2, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, filova32@uniba.sk

² Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra geochémie, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava 4, Slovenská republika.

Summary

(Semi)metal concentrations decreased in the order: Sb > As > Pb > Ni > Mn in the soil samples D2, D3 and D4 from the deposit Dúbrava. This order: As > Sb > Pb > Ni > Mn was provided for the sampling site D1. In the soil samples, As, Pb and Sb concentrations were increased to excess. Root bioconcentration factor (BCF) for Pb, Mn and Sb was higher than 1, therefore the root concentrations of the (semi)metals were higher than one in the soils. Shoot concentrations of Pb and Mn were higher than one in the soils (BCF > 1) and horsetail may accumulate the metals to shoots in higher concentration than to roots (TI > 1).

Key words: antimony deposit Dúbrava, (semi)metals, Equisetum arvense L., metal bioaccumulation

Súhrn

V poradí Sb > As > Pb > Ni > Mn klesala koncentrácia (polo)kovov v pôdach odberových miest D2, D3 a D4 z ložiska Dúbrava. Poradie (polo)kovov pre odberové miesto D1 bolo takéto: As > Sb > Pb > Ni > Mn. V pôdnych vzorkách boli nadmieru zvýšené najmä koncentrácie As, Pb a Sb. Biokoncentračný faktor (BCF) koreňa pre Pb, Mn a Sb bol vyšší ako 1, a teda koreň obsahuje niekoľkonásobne vyššie koncentrácie týchto (polo)kovov ako sú v pôde. Koncentrácie Pb a Mn v nadzemných častiach boli vyššie ako v pôde (BCF > 1) a praslička ich môže akumulovať vo vyššej miere do nadzemných častí ako do koreňov (TI > 1).

Kľúčové slová: ložisko antimónu Dúbrava, (polo)kovy, Equisetum arvense L., bioakumulácia kovov

ÚVOD

Ložisko antimónu Dúbrava sa nachádza v severnej časti Nízkyh Tatier a ťažba rudy bola zastavená koncom 20. storočia /1/. Zóna ložiska predstavuje v súčasnosti environmentálnu záťaž /2, 3/. Zvýšené koncentrácie antimónu, ale aj iných kovov alebo metaloidov (polokovov), sa zistili v pôde a vo vode z výtokov štôlní alebo v miestnom potoku Paludžanka /2, 4/. Koncentrácie antimónu (Sb) a arzenu (As) v pôde ložiska Dúbrava sú bioprístupné pre príjem rastlinami /3/. Cieľom práce je rozšíriť poznatky o akumuláciu Sb, As

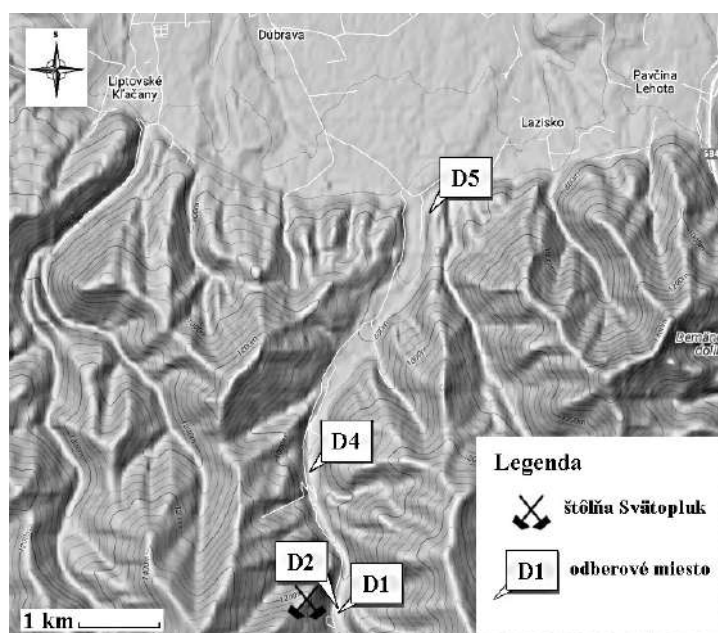
a kovových prvkov prasličkou roľnou (*Equisetum arvense* L.) rastúcej v zóne ložiska Dúbrava.

MATERIÁL A METÓDY

Zo štyroch odberových miest (D1, D2, D4, D5) ložiska Dúbrava sme pomocou Edelmanovho vrtáka (Eijkelkamp, Holandsko) z hĺbkovej úrovne 0 – 30 cm odobrali kumulatívnu vzorku – z plochy 1 m² sme odobrali 5 vzoriek pôdy – a uskladnili ju do tmavých plastových vriec. Z plochy každého odberového miesta sme zbierali aj vzorky prasličky roľnej (*E. arvense*), ktoré sme uskladnili do mikroténového vrečka a prepravovali v chlade. Vzorky pôdy z jednej plochy sme homogenizovali a pri laboratórnej teplote ich sušili do konštantnej hmotnosti. Vzorky rastlín sme sušili v sušiarňi pri teplote 50 °C. Vzorky sme zmineralizovali podľa postupu, ktorý uvádzajú v práci Molnárová a Fargašová /5/. Obsah kovov – As, Mn, Ni, Pb a Sb, – v zmineralizovaných vzorkách sme elektrochemicky stanovovali pomocou prístroja Ecaflow 150 GLP (Istran s.r.o., SR) /5/.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Odberové miesto D2 reprezentuje oblasť výtoku vody zo štôľne Svätopluk, zatiaľ čo odberové miesto D1 sa nachádzalo nad touto štôľňou a D4 spolu s D5 nižšie od štôľne (obr. 1).

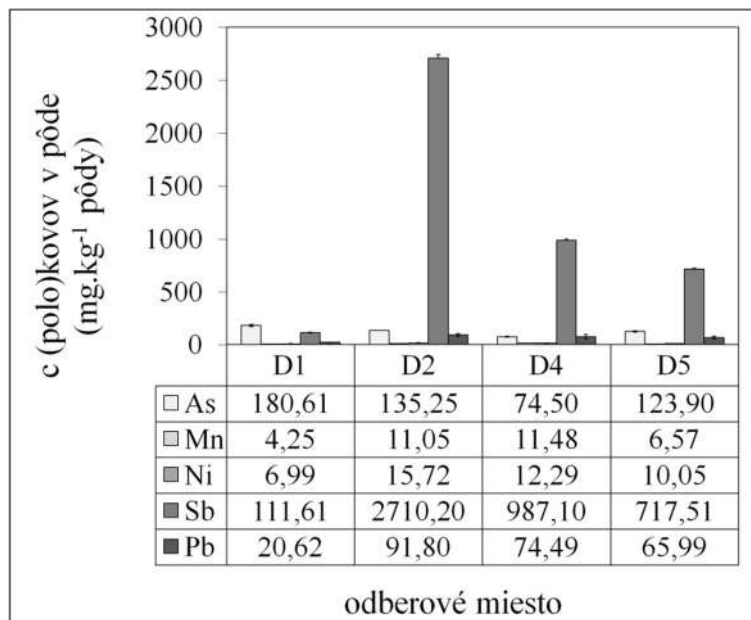


Obr. 1: Lokalizácia odberových miest v ložisku Dúbrava

Vzhľadom ku stanoveným limitom koncentrácií kovov v poľnohospodárskych pôdach /6/ bola koncentrácia As v pôdach ložiska Dúbrava zvýšená až 452-násobne (graf 1). Niekoľkonásobne boli zvýšené aj koncentrácie kovov ako sú olovo (206 – 918-krát) a nikel (5 – 11-krát) (graf 1). Pôdne limity pre koncentrácie antimónu (Sb) a mangánu (Mn) sa v zákone /6/ neuvádzajú, ale podľa inej literatúry /3,7/ bola úroveň Sb jednoznačne zvýšená a potenciálne toxická, oproti tomu koncentrácie Mn boli veľmi nízke. Pokiaľ ide o zvýšené hladiny Sb a As v pôdach ložiska Dúbrava boli publikované aj v iných prácach /2, 3, 4/. Polokovy Sb a As majú afinitu k Fe, Mn-oxihydroxidom a sú tak vo veľkej miere imobilizované a čiastočne nedostupné pre príjem miestnou flórou /2, 8/.

Vyššie koncentrácie niklu sme zistili iba v koreni prasličky (tab. 1), ktoré ale nepresiahli jeho koncentráciu v pôde – BCF < 1 (tab. 2), ale ako uvádza /9/ Ni môže prechádzať

a akumulovať sa aj v nadzemných častiach rastlín. Arzén (As) sa tiež hromadil najmä v koreni *E. arvense* (tab. 1), kde BCF < 1 (tab. 2). Nízka koncentrácia As (menej ako 5 mg.kg⁻¹) a Pb (<10 mg.kg⁻¹) v čajoch a koreninách /10/ je vyhovujúca, ale v nadzemných častiach *E. arvense* z D4 bol obsah As prekročený 2-krát a Pb z odberového miesta D4 prekročený približne 13-krát (tab.1) /10/. V porovnaní s tým a podľa tab. 2 praslička pomerne dobre akumuluje olovo (Pb) nie len koreňom, ale aj nadzemnou časťou (BCF > 1 a TI > 1).



Graf 1: Obsah (polo)kovov v pôde odoberanej z odberových miest ložiska Dúbrava

Tab.1: Bioakumulácia (polo)kovov *E. arvense* rastúcej v pôdach ložiska Dúbrava

odberové miesto	koncentrácia (polo)kovu ± SD (mg.kg ⁻¹ sušiny)							
	koreň				nadzemná časť			
	D1	D2	D4	D5	D1	D2	D4	D5
As	54,9 ± 2,0	87,8 ± 3,0	nd	2,5 ± 0,6	nd	nd	9,8 ± 2,0	nd
Mn	nd	nd	407,9 ± 3,6	440,9 ± 2,7	429,8 ± 10,7	400,1 ± 2,9	463,7 ± 3,7	452,1 ± 6,6
Ni	3,2 ± 0,0	3,5 ± 0,1	2,8 ± 0,0	3,3 ± 0,2	nd	nd	nd	nd
Pb	42,9 ± 1,3	57,5 ± 3,4	101,2 ± 20,8	nd	53,4 ± 13,5	29,5 ± 3,1	132,3 ± 51,5	nd
Sb	1303,8 ± 26,6	506,4 ± 5,6	74,5 ± 1,1	22,9 ± 1,2	10,1 ± 0,3	8,5 ± 0,1	15,2 ± 0,2	13,9 ± 1,3

nd - pod detekčným limitom

Koncentrácie Mn akumulované prasličkou prevyšujú koncentracie v pôde (tab. 2) a možná je aj vyššia akumulácia Mn do nadzemných častí ako do koreňa (TI > 1) (tab. 2). Akumulácia antimónu (Sb) bola v porovnaní s jeho priemernou akumuláciou v rastlinách (0,05 mg.kg⁻¹) /12/ zvýšená 700 v D5 a až 26000-násobne v D1 (tab. 1). Pre Sb bolo BCF < 1 a to vo všetkých prípadoch, s výnimkou BCF koreňa z odberového miesta D1. Arzén (As) a

antimón (Sb) môžu z koreňa ľahko prechádzať do nadzemných častí /3/, to sa ale v našom výskume nepreukázalo (tab. 2).

Tab. 2: Biokoncentračný faktor (BCF) a transportačný index (TI)

odberové miesto	BCF (koreň)				BCF (nadzemná časť)				TI			
	D1	D2	D4	D5	D1	D2	D4	D5	D1	D2	D4	D5
As	0,30	0,65	-	0,02	-	-	0,13	-	-	-	-	-
Mn	-	-	35,53	67,16	101,13	36,20	40,38	68,87	-	-	1,14	1,03
Ni	0,46	0,22	0,23	0,33	-	-	-	-	-	-	-	-
Pb	2,08	0,63	1,36	-	2,59	0,32	1,78	-	1,24	0,51	1,31	-
Sb	11,68	0,19	0,08	0,03	0,09	<0,01	0,02	0,02	0,01	0,02	0,20	0,61

BCF – c (polo)kovu v rastlinnej vzorke/ c (polo)kovu v pôde; $BCF > 1 \Rightarrow$ koncentrácia (polo)kovu bola vyššia v rastline ako v prostredí (pôde); TI – c (polo)kovu v nadzemnej časti/ c (polo)kovu v koreni; $TI > 1 \Rightarrow$ koncentrácia (polo)kovu bola vyššia v nadzemnej časti; znak „-“ hodnoty nebolo možné stanoviť (koncentrácie (polo)kovov boli pod detekčným limitom)

LITERATÚRA

- /1/ Ženišová, Z., Fláková, R., Jašová, I., Címanová, S.: Antimón a arzén vo vodách ovplyvnených banskou činnosťou vo vybraných oblastiach Slovenska. Podzemná voda, XV 1, 2009:100 – 117.
- /2/ Hiller, E., Lalinská, B., Chovan, M., Jurkovič, E., Klimko, T., Jankulár, M., Hovorič, R., Šottník, P., Fláková, R., Ženišová, Z., Ondrejková, I.: Arsenic and antimony contamination of waters, stream sediments and soils in the vicinity of abandoned antimony mines in the Western Carpathians, Slovakia. Applied Geochemistry, 27, 2012: 598 – 614.
- /3/ Vaculík, M., Jurkovič, E., Matejkovič, P., Molnárová, M., Lux, A.: Potential Risk of Arsenic and Antimony Accumulation by Medicinal Plants Naturally Growing on Old Mining Sites. Water, Air, and Soil Pollution, 224, 2013:1546 – 1546.
- /4/ Jankulár, M., Jurkovič, E., Klimko, T.: Distribúcia stopových prvkov v pôdach na opustených Sb ložiskách Dúbrava a Poproč. Acta geologica slovacica, 2 (1): 2010, 59 – 67.
- /5/ Molnárová, M., Fargašová, A.: Se(IV), Se(VI), Cu and Zn phytotoxicity in correlation to their accumulation in *Sinapis alba* L. seedlings. Plant Root 10, 2016: 11 – 20.
- /6/ Zbierka zákonov 220/1994 o ochrane a využívaní poľnohospodárskej pôdy a o zmene zákona č. 245/2003 Z. z. o integrovanej prevencii a kontrole znečisťovania životného prostredia a o zmene a doplnení niektorých zákonov
- /7/ Kabata-Pendias, A., Pendias, H.: Trace Elements in Soil and Plants. 3rd ed, CRC Press, Boca Raton. 2001: 331 pp.
- /8/ Vojteková, V., Poperníková, Z., Abusenaina, A. M. M: Antimón v rôznych zložkách životného prostredia. Chemické Listy, 108, 2014: 135 – 140.
- /9/ Siedlecka, A.: Some aspect of interactions between heavy metals and plant mineral nutrients. Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 64(3), 1995:265 – 272.
- /10/ POTRAVINOVÝ KÓDEX, druhá časť, hlava 10 – kontaminanty v potravinách. [dostupné online: http://www.svps.sk/legislativa/legislativa_kodex.asp, 7.6.2017]
- /11/ Taiz, L., Zeiger, E.: Plant Physiology. 3rd ed, Sinauer Associates Inc, Sunderland, 2002: 690 pp.
- /12/ Reimann, C., Matschullat, J., Birke, M., Salminen, R.: Antimony in the environment: Lessons from geochemical mapping. Applied Geochemistry, 25, 2010: 175 – 198.

Pod'akovanie

Práca vznikla za podpory grantov VEGA 1/0098/14, KEGA 029UK-4/2016 a UK/35/2017.

BETA-1,3-GLUKANÁZY A CHITINÁZY V SOMATICKÉ EMBRYOGENEZI SMRKU ZTEPILÉHO (*PICEA ABIES*)

*BETA-1,3-GLUCANASES AND CHITINASES IN SOMATIC EMBRYOS OF NORWAY SPRUCE (*PICEA ABIES*)*

Lucie Fischerová¹, Zuzana Gregorová², Lenka Gemperlová¹, Jana Moravčíková², Kateřina Raková¹, Ildiko Matušiková³

¹ Ústav experimentální botaniky AVČR, v.v.i., Rozvojová 263, 165 02 Praha 6 – Lysolaje, Česká republika, e-mail: fischerova@ueb.cas.cz

² Ústav genetiky a biotechnologií rostlin, Centrum biologie rostlin a biodiverzity SAV, P.O.Box 39 A, Akademická 2, 950 07 Nitra, Slovenská republika

³ Katedra Ekochémie a radioekologie, Fakulta přírodních vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave, nám. J. Herdu 2, 917 01 Trnava, Slovenská republika

Summary

During the course of spruce somatic embryo development there were significant changes in β -1,3-glucanases and chitinases activities. Distinct stages of embryo development were characterized by different activities of β -1,3-glucanases, and distinct isoform activities in chitinases, respectively. The drought stress applied in the beginning of desiccation led to increased activities of both followed enzymes in the end of desiccation. The increase of both β -1,3-glucanase and chitinase activities was therefore directly related to drought stress.

Key words: Norway spruce, Picea abies, somatic embryogenesis, β -1,3-glucanases, chitinases, desiccation, water stress

Souhrn

V průběhu vývoje somatických embryí smrku ztepilého docházelo k výrazným změnám aktivit β -1,3-glukanáz i chitináz. Jednotlivá stádia byla charakterizována různou hladinou aktivity glukanáz, v případě chitináz i změnou aktivit jednotlivých izoform. Působení stresu sucha v počátku desikace vedlo k výraznému zvýšení aktivit izoform u obou sledovaných enzymů na konci desikace. Zvýšení aktivit glukanáz i chitináz tedy mělo přímou souvislost se stresem sucha.

Klíčová slova: smrk ztepilý, Picea abies, somatická embryogeneze, β -1,3-glukanázy, chitinázy, desikace, stres sucha

ÚVOD

V průběhu somatické embryogeneze vznikají embrya ze somatických buněk. Jednotlivé fáze somatické embryogeneze odpovídají fázím vývoje embrya zygotického, přechod mezi jednotlivými fázemi je řízen dodáváním různých rostlinných regulátorů do kultivačního média /1/. Pro úspěšné vyklíčení somatického embrya je nezbytná fáze desikace, ve které dochází k biochemickým změnám v již plně vyvinutém embryu. Ovlivnění podmínek desikace pak vede k výrazným změnám na biochemické úrovni /např. 2/. β -1,3-glukanázy a chitinázy jsou enzymy, které byly původně spojovány s odpovědí rostlin na biotický stres, v současné době je již dobře známo, že se účastní i reakcí na stres abiotický. U smrku ztepilého Fossdal et al. /3/ prokázali shodnou expresi genů v reakci na biotický stres a sucho. Na působení chladu smrk ztepilý reagoval zvýšením hladin některých izoform chitináz, ve stejném materiálu byly detekovány i β -1,3-glukanázy /4/. Ve své práci jsme se proto zaměřili na sledování

aktivit β -1,3-glukanáz a chitináz v průběhu vývoje somatických embryí smrku ztepilého a v reakci somatických embryí na stres sucha.

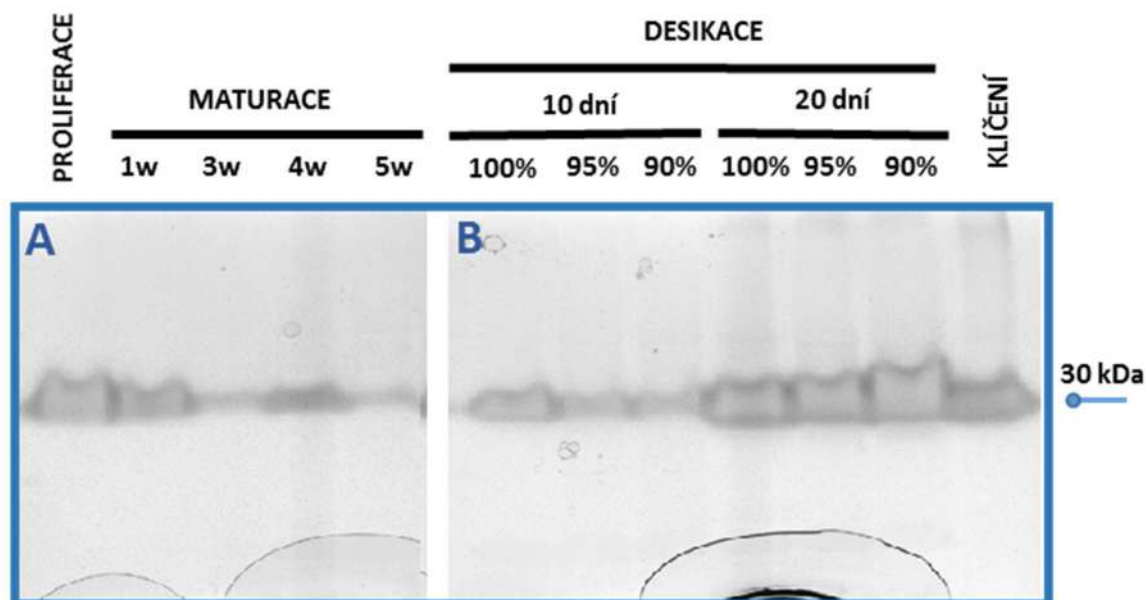
MATERIÁL A METODA

Embryogenní kultura byla pěstována na GD médiu /5/ zpevněném 0.75% agarem, pH 5.8, doplněném o 5 μ M 2,4-D, 2 μ M kinetin, 2 μ M BAP a 30 g/l sacharózy. Maturace probíhala na nezpevněném médiu, kde byly auxiny a cytokininy nahrazeny 20 μ M ABA. Plně vyvinutá embrya byla desikována při třech různých variantách vzdušné vlhkosti – 100 %, 95 % a 90 %. Změny vlhkosti bylo dosaženo umístěním embryí do prostředí s vodní párou a do prostředí s nasycenými roztoky různých solí a to v první půli desikace (10 dní). Následně byla embrya navracena do 100% vzdušné vlhkosti, kde zůstala až do konce desikace (20 dní). Klíčení probíhalo na médiu bez růstových regulátorů. Aktivitu β -1,3-glukanáz a chitináz jsme detekovali v gelu po renaturaci proteinů separovaných v SDS-PAGE s inkorporovaným laminarinem (glukanázy) nebo glykol-chitinem (chitinázy) jako substrátem /6/.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Po separaci v SDS-PAGE gelu byly detekovány celkem tři frakce s β -1,3-glukanázovou aktivitou (obr. 1), přičemž jedna z nich byla majoritní (30kDa), další dvě na hranici detekovatelnosti (na obr. 1 nejsou patrné). Hlavní frakce glukanáz byla v somatických embryích vysoce aktivní na počátku procesu (proliferace), v průběhu zrání (maturace – znázorněny týdny) její aktivita klesala, následná desikace byla charakterizována její opětovně zvýšenou aktivitou.

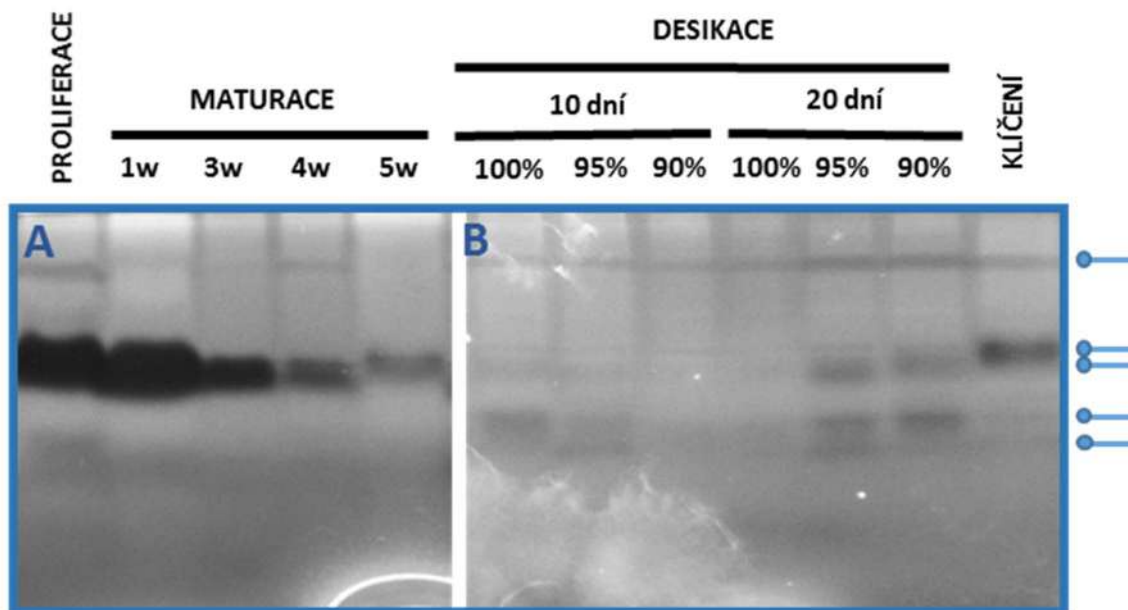
Působení stresu sucha (95% a 90% vzdušná vlhkost; obr. 1 B) v průběhu desikace somatických embryí výrazně snížilo aktivitu majoritní formy glukanázy (10 dní desikace), která se zvýšila v reakci na zpětné umístění kultury do prostředí se 100% vzdušnou vlhkostí (20 dní desikace). Klíčení bylo charakterizováno relativně vysokou hladinou této izofomy glukanázy.



Obr. 1: Aktivita β -1,3-glukanáz sledovaná v průběhu somatické embryogeneze smrku ztepilého. 1w, 3w, 4w a 5w označuje týdny maturace, procenta označují vzdušnou vlhkost v prvních 10 dnech desikace.

V somatických embryích se při dané rezoluci vyskytovalo 5-7 izoform chitináz, jejichž aktivita se měnila v průběhu vývoje embryí (obr. 2). Vývojové fáze embryí byly

charakterizovány typickým zastoupením jednotlivých izoforem. Proliferace a začátek maturace byly charakterizovány vysokou hladinou majoritních glukonáz, jejich aktivita s dalším vývojem embryí klesala (obr. 2A). Desikace aktivitu chitináz snížila (obr. 2B), vyšší hladiny byly pozorovány pouze v embryích vystavených stresu sucha a to na konci desikace. Klíčení opět aktivitu chitináz zvýšilo.



Obr. 2: Aktivita chitináz sledovaná v průběhu somatické embryogeneze smrku ztepilého. 1w, 3w, 4w a 5w označuje týdny maturace, procenta označují vzdušnou vlhkost v prvních 10 dnech desikace. Jednotlivé izoformy chitináz označeny vpravo.

LITERATURA

- /1/ Vestman, D., Larsson, E., Uddenberg, D., Cairney, J., Clapham, D., E., von Arnold, S.: Important processes during differentiation and early development of somatic embryos of Norway spruce as revealed by changes in global gene expression. *Tree Genet. Genomes*, 7, 2011: 347–362
- /2/ Eliášová, K., Vondráková, Z., Malbeck, J., Trávníčková, A., Pešek, B., Vágner, M., Cvikrová, M.: Histological and biochemical response of Norway spruce somatic embryos to UV-B irradiation. *Trees*, 2017. DOI 10.1007/s00468-017-1547-1
- /3/ Fossdal, C., Nagy, N., Johnsen, R., Dalen, L.: Local and systemic stress responses in Norway spruce: Similarities in gene expression between a compatible pathogen interaction and drought stress. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 70, 2017: 161–173
- /4/ Dalen, L., Johnsen, Ø., Lönneborg, A., Yaish, M.: Freezing tolerance in Norway spruce, the potential role of pathogenesis-related proteins. *Acta Physiol Plant*, 37, 2015:1717
- /5/ Gupta, P., Durzan, D.: Somatic polyembryogenesis from calus of mature sugar pine embryos. *Bio-technol.*, 4, 1986: 643–645
- /6/ Žur, I., Gołębiewska, G., Dubas, G. E., Golemic, A., Matušiková, I., Libantová, J., Moravčíková, J.: β -1,3-glucanase and chitinase activities in winter triticales during cold hardening and subsequent infection by *Microdochium nivale*. In *Versita*, 68 (2), 2013: 241-248

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory mobilityního projektu SAV-AVČR-15-06 Odpověď somatických embryí smrku ztepilého na abiotické stresy.

FYTOCENOLOGICKÝ VÝSKUM VYBRANÝCH LOKALÍT V PODMIENKACH NEPRAVIDELNÝCH ZÁPLAV

PHYTOCENOLOGICAL RESEARCH OF SELECTED LOCALITIES IN CONDITION OF IRREGULARLY FLOODING

Petra Huličová, Danica Fazekašová, Juraj Fazekaš, Zuzana Boguská
Prešovská univerzita v Prešove, Katedra environmentálneho manažmentu, Konštantínova 16, 080 01
Prešov, petra.hulicova@unipo.sk

Summary

Species diversity is an important feature of communities and indicates the total number of species of the biota. Mapping of vegetation in the dry polder Beša on selected localities arable land, permanent grassland and marginal parts of the scrubs was carried. The aim of this research was to identify the diversity and equitability of selected communities based on field research. The Shannon Index was used to determine and compare values of the species diversity of the individual localities, and we used the equivalability index to determine the equitability. The highest diversity was observed in the marginal parts of the scrubs, which was also the most balanced community of all monitored.

Key words: diversity, equitability, vegetation

Súhrn

Druhová pestrosť je významnou charakteristikou spoločenstiev a udáva celkový počet druhov danej biocenózy. Mapovanie vegetácie v oblasti suchého poldra Beša bolo realizované na vybraných stanovištiach ktorými boli orná pôda (OP), trvalý trávny porast (TTP) a okrajové časti krovín. Cieľom tohto výskumu bolo zistiť rozmanitosť a vyrovnanosť vybraných spoločenstiev, ktoré boli založené na terénnom prieskume. Pre určenie a porovnanie hodnôt druhovej diverzity jednotlivých lokalít bol použitý Shannonov index a pre zistenie vyrovnanosti sme použili index ekvitability. Podľa výsledkov Shannon H' indexu sa diverzita vegetácie na skúmaných lokalitách líši mierne. Najvyššiu diverzitu sme zaznamenali v okrajových častiach krovín, ktorá bola zároveň aj najvyrovnanejším spoločenstvom zo všetkých sledovaných.

Kľúčové slová: diverzita, ekvitabilita, vegetácia

ÚVOD

Základnou podmienkou života rastliny je stanovište, kde môže zakoreniť. Pôda je pre väčšinu rastlín miestom, ktorá poskytuje oporu ich koreňom, čerpajú z nej vodu, živiny, ktoré sú pre ňu esenciálnymi zdrojmi. Na zmenu rastlinných populácií majú vplyv aj krátkodobé výkyvy jednotlivých faktorov životného prostredia zapríčinené environmentálnymi zásahmi. Trvalé trávne porasty chránia pôdu pred eróziou, redukovujú vyplavovanie nitrátov, zmierňujú povodňové škody a preto sú kľúčovým faktorom pre stabilizáciu biodiverzity /7/. Hodnoty diverzity rastlinných spoločenstiev majú veľký význam pri tvorbe ekologických hypotéz, ktoré úzko súvisia s antropickými aktivitami na porastoch, diverzitou konzumentov rastlín, produkciou fytomasy, stability ekosystémov, rezistencie voči narušovaniu, vnútorných konkurenčných interakcií a pod. /6/.

MATERIÁL A METÓDY

Polder Beša je suchá nádrž, ktorá bola vybudovaná v juhovýchodnej časti Východoslovenskej nížiny (VSN) pri obci Beša. Zo severu a západu polder ohraničuje ľavobrežná hrádza Laborca. Južnú hranicu tvorí pravobrežná hrádza Latorice. Z východu je polder ohraničený z časti východnou hrádzou a z časti hrádzou okolo obce Beša, ktorá na sever od obce prechádza vo vyvýšenej honi, ktoré tvoria prirodzenú hranicu až po severnú hrázu. Polder Beša je druhým najväčším suchým poldrom v strednej Európe. Z hľadiska fyto geografického členenia Slovenska patrí skúmané územie do oblasti panónskej flóry (Pannonicum), obvodu európskej xerotermej flóry (Eupannonicum) /2/.

Mapovanie vegetácie v oblasti suchého poldra Beša bolo realizované na vybraných stanovištiach ktorými boli orná pôda (OP), trvalý trávny porast (TTP) a okrajové časti krovín. Diverzita druhových populácií bola určená na základe semikvantitatívnej /1/ sedemčlennej kombinovanej stupnice. Nomenklatúra rastlinných taxónov je uvedená podľa /5/. Fytcenologické zápisy boli robené na ploche 16 m². Pre určenie a porovnanie hodnôt druhej diverzity jednotlivých lokalít bol použitý Shannonov index, ktorý citlivo reaguje na rôzne charakteristiky rastlinných spoločenstiev, najmä na počet a koeficient významnosti všetkých druhov, teda verne zobrazuje druhové bohatstvo. Výsledky boli hodnotené na základe škály: 1. mimoriadne nízka (< 0,5), 2. veľmi nízka (0,5-1), 3. polonízka (1-1,7), 4. nízka (1,7-2,5), 5. nízka až stredná (2,5-3,3), 6. Stredná (3,3-4), 7. polovysoká (4-5), 8. vysoká (5-7), 9. veľmi vysoká (7-10) a 10. mimoriadne vysoká (>10).

Následne bola z výsledkov hodnôt Shannon H' indexu zistená ekvitalita podľa indexu Pielouovej: $e = H' / \log 2s$, ktorá vyjadruje vyrovnanosť rozdelenia druhov spoločenstva, teda logaritmické hodnoty diverzity (H') sa delia logaritmickým počtom druhov (log S). Čím sa hodnoty blížia viac k 1 tým je spoločenstvo vyrovnanjšie /3/. Výsledky boli spracované použitím programu PAST.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Najviac druhov sme zaznamenali v okrajových častiach poldra, kde sa nachádzali prevažne krovinaté porasty vegetácie so zastúpením drevín *Quercus pubescens*, *Sambucus nigra*, *Prunus spinosa* a v bylinnom podrate s druhmi ako napr. *Anemone nemorosa*, *Vicia cracca*, *Trifolium pratense*, alebo tiež zákonom chránený druh *Iris variegata* /8/. Rozlohou najväčšiu časť poldra zaberajú trvalé trávne porasty. Prevažne sú to bezodtokové vlhké aluviálne lúky s výraznou dominanciou zástupcou *Poaceae: Alopecurus pratensis*, *Poa compressa*, *Festuca pratensis*. Jednou z možných príčin ochudobňovania pôvodných lúčnych porastov a znižovania taxonomickej diverzity je pustnutie pozemkov v suchom poldri Beša, ktoré súvisí s obmedzovaním poľnohospodárskej činnosti /4/. Na ornej pôde boli zaznamenané typické sprievodné druhy poľnohospodárskych kultúr *Elytrigia repens*, *Equisetum arvense*, *Plantago lanceolata*. Podrobné druhové zloženie skúmaných lokalít sú uvedené v tabuľke 1.

Diverzita druhových populácií vegetačného krytu vybraných lokalít poldra Beša je podľa empirickej škály na hodnotenie výsledkov Shannonovho H' indexu (Graf 1) v rozmedzí hodnôt (0,6 až 2,8), čo predstavuje veľmi nízku až nízku a strednú diverzitu. Najvyrovnanjšie rozdelenie druhov spoločenstiev (Graf 2) sme zaznamenali v okrajových častiach krovín.

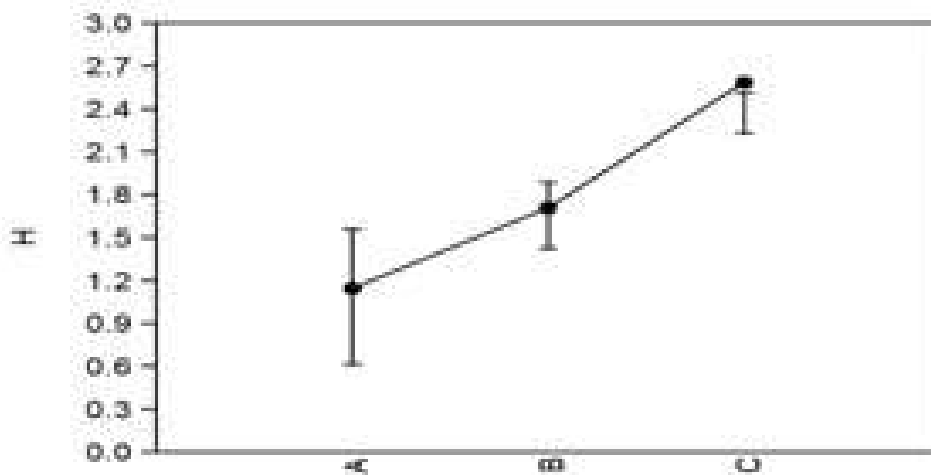
Významným faktorom, ktorý v tejto oblasti môže ovplyvňovať druhovú diverzitu je nepravidelné zaplavovanie. Druhová rozmanitosť a vyrovnanosť rozdelenia druhov v spoločenstve bola najvyššia v okrajových častiach tvorených rozptýlenou krovinnou a stromovou vegetáciou so zastúpením *Populus nigra*, *Quercus pubescens*, *Robinia pseudoacacia*, *Sambucus nigra*, *Viburnum opulus* a v bylinnom podrate aj s výskytom zákonom chráneného druhu *Iris variegata*. Na trvalých trávnych porastoch výrazne prevládala

typický druh spoločenstiev aluviálnych lúk *Alopecurus pratensis*. Najnižšie zastúpenie druhov bolo na ornej pôde, prevládali *Equisetum arvense*, *Elytrigia repens*, ktoré sú charakteristické pre takýto typ stanovišťa. Podľa výsledkov Shannon H' indexu sa diverzita vegetácie na skúmaných lokalitách líši mierne, na všetkých lokalitách je podľa empirickej škály zhodne veľmi nízka až nízka a stredná. Výsledky výskumu potvrdili dôležitosť systematického monitorovania druhového zloženia, ktoré je významným indikátorom biodiverzity krajiny.

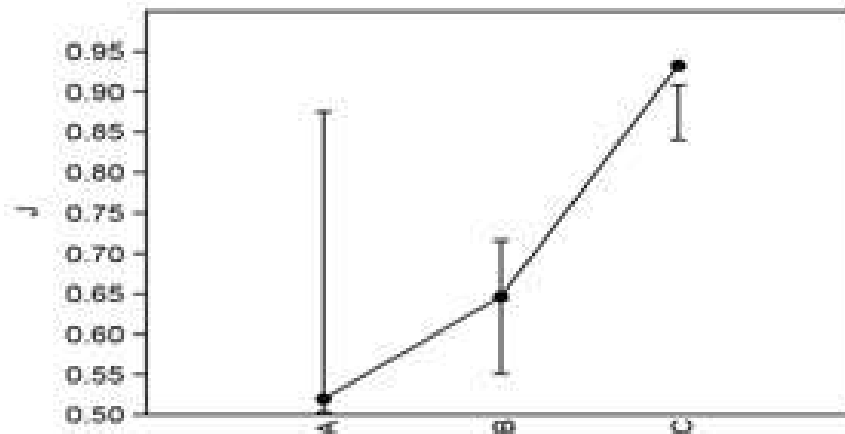
Tab. 1: Fytocenologické zápisy vybraných lokalít poldra Beša

Lokalita	Počet druhov	Druhy
orná pôda	9	E1: <i>Equisetum arvense</i> 2, <i>Elytrigia repens</i> 1, <i>Cirsium arvense</i> +, <i>Taraxacum officinale</i> r, <i>Plantago lanceolata</i> +, <i>Trifolium hybridum</i> r, <i>Anthemis arvensis</i> r, <i>Atriplex patula</i> +, <i>Capsella bursa pastoris</i> r,
trvalý trávny porast	13	E1: <i>Alopecurus pratensis</i> 4, <i>Poa compressa</i> 2, <i>Festuca pratensis</i> 1, <i>Vicia cracca</i> +, <i>Trifolium pratense</i> 2, <i>Taraxacum officinale</i> 2, <i>Galium boreale</i> 1, <i>Lolium perenne</i> +, <i>Leucanthemum vulgare</i> +, <i>Veronica chamaedrys</i> +, <i>Dactylis glomerata</i> 1, <i>Lychnis flos-cuculi</i> 1, <i>Ranunculus acris</i> 1, <i>Myosotis caespitosa</i> +,
kroviny	16	E3: <i>Populus nigra</i> 1, <i>Quercus pubescens</i> 1, <i>Robinia pseudoacacia</i> +, E2: <i>Sambucus nigra</i> +, <i>Viburnum opulus</i> +, <i>Prunus spinosa</i> +, E1: <i>Symphytum officinale</i> +, <i>Taraxacum officinale</i> +, <i>Vicia cracca</i> +, <i>Iris variegata</i> +, <i>Anemone nemorosa</i> 1, <i>Alopecurus pratensis</i> +, <i>Trifolium pratense</i> 1, <i>Rubus</i> ssp. 1, <i>Aristolochia clematitis</i> 1, <i>Cirsium arvense</i> +,

5 – pokryvnosť 75 – 100%, 4 – pokryvnosť 50 – 75%, 3 – pokryvnosť 25 – 50%, 2 – pokryvnosť 5 – 25%, 1 – pokryvnosť pod 5%, + – pokryvnosť menej ako 1%, r – ojedinele, jeden alebo viac exemplárov



Graf 1: Hodnoty Shannonovho H' indexu na sledovanom území (a - orná pôda, b- trvalý trávny porast, c- kroviny).



Graf 2: Hodnoty Ekvitability na sledovanom území (a - orná pôda, b- trvalý trávny porast, c- kroviny).

LITERATÚRA

- /1/ Braun-Blanquet, J.: Pflanzensozologie. Grundzüge der Vegetationskunde. Aufl. Springer Verlag. Wien. 3 865 pp.
- /2/ Futák, J.: Fytogeografické členenie Slovenska. In: Bertová, L. (ed.), Flóra Slovenska IV/1, Veda, Bratislava, 1984: 418 – 420.
- /3/ Jurko, A.: Ekologické a socioekonomické hodnotenie vegetácie. Bratislava: Príroda, 1990: 195 s. ISBN 80-07-00391-6.
- /4/ Kotorová, D., Mati, R., Kováč, L., Šoltysová, B.: Možnosti mimoprodukčného využívania poldra Beša. In: Folia oecologica 3, 51, 2010: 74-88.
- /5/ Marhold, K., Hindák, Š.: Zoznam nižších a vyšších rastlín Slovenska, Bratislava: Veda, 1998: 687 s. ISBN 80-224-0526-4.
- /6/ Marada, P.: Possibilities of biodiversity assessment on a farm. Department of Agrosystems and Bioclimatology, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, Brno, 2011: 1-11.
- /7/ Stypiňski, P., Hejduk, S., Svobodová, M., Hakl, J., Rataj, D.: Development, current state and changes in grassland in the past year. In Cagaš B et al. Alternative functions of grasslands, EGF, 2010: 1 - 10.
- /8/ Vyhláška č. 579/2008 Ministerstva životného prostredia Slovenskej republiky ktorou sa mení vyhláška Ministerstva životného prostredia Slovenskej republiky č. 24/2003 Z. z., ktorou sa vykonáva zákon č. 543/2002 Z. z. o ochrane prírody a krajiny v znení neskorších predpisov.

Pod'akovanie

Uvedená práca bola podporovaná VEGA 1/0127/16 and KEGA 011PU-4/2016.

EXPRESSE GENŮ PRO DEHYDRINY A INTENZITA TRANSPIRACE KUKUŘICE ZA STRESU SUCHEM

THE EXPRESSION OF DEHYDRIN GENES AND THE INTENSITY OF TRANSPIRATION IN DROUGHT-STRESSED MAIZE PLANTS

Jana Klimešová, Ludmila Holková, Tomáš Středa

Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství, Zemědělská 1, 613 00 Brno, jana.klimesova@mendelu.cz

Summary

The stress reaction of maize plants was evaluated in relation to drought stress intensity and to growth stages by assessing the transpiration intensity (sap flow values) and the expression of two dehydrin genes, *DHN1* and *DHN2*. The maize plants were grown under four different watering conditions: well-watered (control), mild stress, moderate stress and high stress. A significant correlation between the average diurnal values of sap flow and the soil moisture appeared only for the moderate stress condition ($R = 0.528$) and for the high stress condition ($R = 0.395$). Significant increases in the expression of *DHN1* and *DHN2* ($DHN1 = 10^5$ -fold and $DHN2 = 10^3$ -fold) were observed primarily for the high stress condition compared to the control. A relatively close relationship between the levels of expression of both genes and the values of the sap flow was observed during the initial stage of the stress ($R = -0.895$; $R = -0.893$).

Key words: Drought stress, sap flow, dehydrin, DHN1, DHN2

Souhrn

Vliv stresu suchem na rostliny kukuřice seté (*Zea mays*, L.) byl hodnocen prostřednictvím měření intenzity transpirace (hodnoty toku xylémové šťávy – sap flow) a exprese genů pro dehydriny, *DHN1* a *DHN2*. Rostliny byly pěstovány ve 4 vláhových variantách: optimálně zavlažovaná (kontrola), mírný stres, střední stres a silný stres. Statisticky průkazný vztah vlhkosti půdy a průměrných denních hodnot sap flow byl zaznamenán pouze ve variantě střední stres ($R = 0.528$) a silný stres suchem ($R = 0.395$). Expresse genu *DHN1* se statisticky průkazně zvýšila 10^5 -krát a expresse genu *DHN2* 10^3 -krát v podmínkách silného stresu suchem v porovnání s kontrolou. Těsný negativní vztah mezi úrovní exprese obou genů a hodnotami sap flow byl pozorován v počáteční fázi působení stresu suchem ($R = -0.895$; $R = -0.893$).

Klíčová slova: Stres suchem, sap flow, dehydrin, DHN1, DHN2

ÚVOD

Nedostatek vody je jedním z nejzávažněji působících abiotických stresorů celosvětově. Zvyšování výnosů za stresu suchem tak patří k hlavním cílům šlechtění /3/. Závažnost účinků sucha se zvětšuje s prodlužováním doby jeho působení během vegetačního období a s jeho výskytem v kritických fázích vývoje rostlin /6/. Kritické období pro kukuřici je především fáze kvetení a časná fáze zralosti /4/. Změny v transpiraci, a tedy tok xylémové šťávy (sap flow), lze považovat za indikátor působení stresu na rostlinu. Většina autorů uvádí nestresující hodnoty využitelné vodní kapacity půdy (VVK) v rozsahu 45 – 75 % dle rostlinného druhu a vývojové fáze, /8/ uvádí pro ječmen hodnotu 65 % VVK. Hranice citlivosti transpirace kukuřice na dostupnost vody v půdě může být ovlivněna i genotypem /5/. V souvislosti s ochrannými mechanismy na buněčné úrovni jsou studovány funkce bílkovin - dehydrinů.

Dehydriny jsou často spojovány s tolerancí vůči suchu /7/. Expres dehydrinových genů může sloužit jako indikátor intenzity stresu a odezvy rostlin na tyto stresové podmínky /11/. Ukazuje se, že čím jsou genotypy odolnější, tím je během stresu vyšší exprese těchto genů a je zaznamenáván její dřívější nástup. Cílem práce bylo stanovit intenzitu stresové reakce rostlin kukuřice seté (*Zea mays* L.) s využitím fyzikálních a molekulárních metod a vyhodnotit vztah mezi změnami transpiračního toku a expresí dehydrinových genů s ohledem na růstovou fázi a intenzitu stresu suchem.

MATERIÁL A METODA

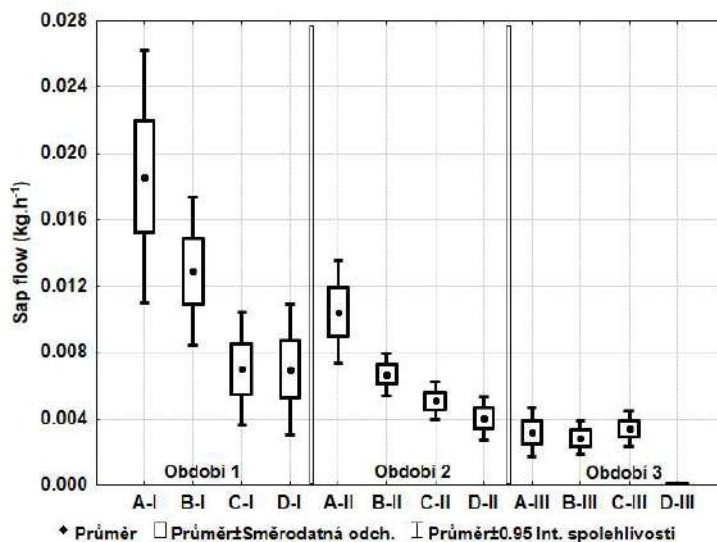
V pokusu byly využity rostliny linie kukuřice seté (*Zea mays* L.), linie 2087 (šlechtitelský materiál firmy CEZEA Čejč), která se vyznačovala významnou tolerancí k suchu (ústní sdělení šlechtitele). Nádobový pokus byl založen v přírodních podmínkách s omezeným přístupem srážek. Ve čtyřech variantách byl na základě pedologického rozboru půdy a kontinuálního měření objemové vlhkosti půdy (%) automatickými elektromagnetickými čidly VIRRIB (Amet Velké Bílovice) udržován od fáze BBCH 40 rozdílný závlahový režim: ve variantě D, tj. na úrovni objemové vlhkosti půdy 23 %, silný stres (15 % využitelné vodní kapacity půdy - VVK); ve variantě C, středně silný stres (25 % VVK); ve variantě B, mírný stres (50 % VVK), ve variantě A, kontrola (90 % VVK). Do každé nádoby o objemu 200 dm³ a rozměrech 73×54×51 cm bylo vyseto 6 rostlin. Transpirace byla monitorována ve fázi BBCH 50–89 pomocí kontinuálního měření toku xylémové šťávy (sap flow). Měřicí systém EMS 62 (EMS Brno, CZ) využívá metody „stem heat balance“ /10/. Rostlinná biomasa pro hodnocení exprese vybraných genů byla odebrána ve třech termínech a to 7.8. (2 týdny stresu suchem, BBCH 63), 14.8. (3 týdny stresu suchem, BBCH 67) a 28.8. (5 týdnů stresu suchem, BBCH 75). Metodika přípravy vzorků rostlinné biomasy pro hodnocení exprese vybraných genů *DHN1* a *DHN2* je detailně popsána v práci /9/. Uváděny jsou hodnoty genové exprese normalizované pomocí exprese genu pro ubiquitin a relativní vzhledem k hodnotě vnitřního kalibrátoru (NRE), což byla hodnota exprese v prvním odběru u kontrolní varianty.

VÝSLEDKY A DISKUSE

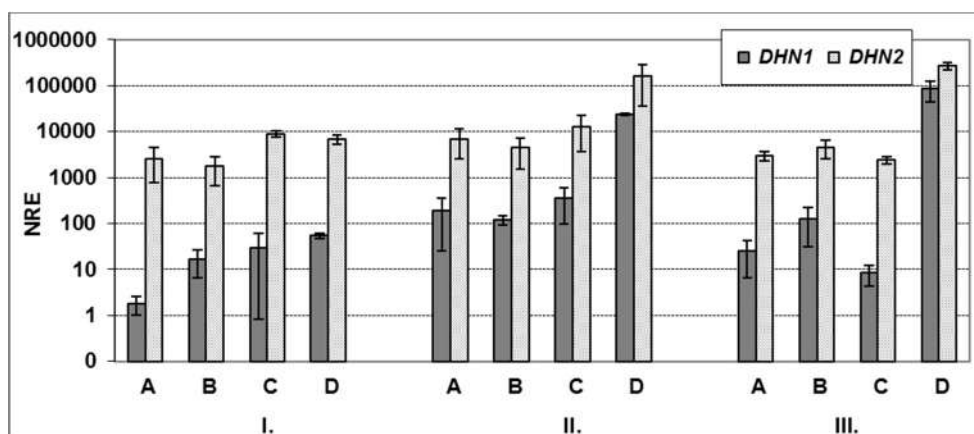
Vegetace kukuřice byla rozdělena do třech období, dle projevu změn v transpiraci a fenologické fáze rostlin (27.7.–7.8. BBCH 53–63; 8.8.–24.8. BBCH 63–73; 25.8.–14.9. BBCH 73–89). Intenzita sucha, vyjádřena objemovou vlhkostí půdy, statisticky vysoce průkazně souvisela s úrovní transpirace rostlin pouze ve dvou nejvíce stresovaných variantách C ($R=0,395^{**}$; $n=48$) a D ($R=0,528^{**}$; $n=48$). Vliv úrovně vlhkosti půdy na transpiraci u kukuřice popisují shodně /12/. Transpirace rostlin v denní i sezónní periodě se s klesajícím množstvím vody v půdě snižovala v závislosti na evapotranspiračních podmínkách prostředí. Změny v intenzitě transpirace byly detekovány už při poklesu VVK na úroveň cca 75 %. Byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly v transpiraci dle vláhvých režimů a fenologické fáze rostlin. Ve fázi kvetení (období 1) vytranspirovala optimálně zavlažovaná rostlina (var. A) průměrně 18,61 g vody za hodinu. Transpirace rostlin ve variantě B se snížila o 30 % (12,90 g.h⁻¹), ve variantě C a D o 60 % (7,00 g.h⁻¹ a 6,98 g.h⁻¹). V průběhu období 2 a 3, tedy ve fázi zrání, se rozdíly mezi rostlinami snižovaly a v závěru vegetační doby nebyly rozdíly v transpiraci rostlin dle vláhvých variant statisticky průkazné (Graf 1).

Expres obou sledovaných dehydrinových genů *DHN1* a *DHN2* byla detekována i u rostlin rostoucích v optimálních vláhvých podmínkách (Graf 2). Je patrné, že v listových pletivech rostlin dochází k vyšší expresi genu *DHN2*. Podobné rozdíly v expresi obou genů (*DHN1* a *DHN2*) pozorovali /2/ při hodnocení exprese genů v průběhu dozrávání obilky. Vliv různé intenzity a délky stresu na expresi obou genů byl zaznamenán v jednotlivých odběrech u stresovaných variant. Již v prvním odběru (2 týdny stresu suchem) bylo pozorováno zvýšení

expresu genu *DHN1*. Ve druhém odběru (3 týdny stresu suchem) došlo ve všech variantách k nárůstu exprese genu *DHN1* oproti prvnímu odběru řádově 100×, u rostlin v nejvíce stresované variantě D bylo zaznamenáno velice výrazné zvýšení exprese tohoto genu řádově 10 000× oproti hodnotám exprese rostlin z kontrolní varianty v prvním odběru. Podobné poměry byly pozorovány i při hodnocení NRE genu *DHN2*. Zvýšení relativní exprese až o několik řádů oproti kontrole nebylo dosud zaznamenáno. V práci /1/ bylo zjištěno maximálně 30–60násobné zvýšení syntézy proteinu DHN1 po 6 dnech mírného stresu u mladých rostlin kukuřice. Z našich výsledků vyplývá, že v listových pletivech kukuřice dochází za silných stresových podmínek k intenzivní syntéze dehydrinů i ve fázi kvetení a zrání zrna.



Graf 1: Průměrné denní hodnoty transpirace (kg.h⁻¹) rostlin kukuřice (n=2) ve čtyřech vláhových variantách (A: kontrola, 90 % VVK, B: 50 % VVK, C: 25 % VVK, D: 15 % VVK) ve třech obdobích vegetace (I, II a III).



Graf 2: Normalizovaná relativní exprese (NRE) genů *DHN1* a *DHN2* v listech rostlin kukuřice vystavených čtyřem úrovním stresu suchem (A: 90 % VVK; B: 50 % VVK; C: 25 % VVK; D: 15 % VVK) hodnocena ve třech termínech (I: 2 týdny stresu suchem, BBCH 63; II: 3 týdny stresu suchem, BBCH 67; III: 5 týdnů stresu suchem, BBCH 75). Logaritmované hodnoty NRE jsou průměrem tří nezávislých vzorků měřených ve dvou opakováních ± SD.

Závislost exprese genů a intenzity transpirace byla vyhodnocena dle fenologické fáze rostlin tj. termínu odběru (Tab. 1). Vysoké záporné hodnoty korelačních koeficientů indikují nepřímou závislost mezi oběma procesy. Nejvyšších hodnot bylo dosaženo v období kvetení

(1. odběr)($R=-0.895/-0.833$). Vzájemné porovnání stresových reakcí rostlin na fyziologické a molekulární úrovni ukázalo, že zejména v počátečních fázích stresu by mohly být hodnoty NRE dehydrinových genů citlivějším ukazatelem stresové reakce v porovnání s parametry fyziologickými.

Tab. 1: Vztah NRE genů *DHN1* a *DHN2* a průměrných denních hodnot sap flow v závislosti na intenzitě stresu suchem a vegetační fázi rostlin kukuřice ($n=4$).

Termín odběru	BBCH fáze	Délka trvání stresu (týdny)	Období	Sap flow/ NRE <i>DHN1</i>	Sap flow/ NRE <i>DHN2</i>
7. srpen	63	2	1	-0.895	-0.833
14. srpen	67	3	2	-0.628	-0.650
28. srpen	75	5	3	-0.647	-0.647

LITERATURA

- /1/ Benešová M., Holá D., Fischer L., Jedelský P.L., Hnilička F., Wilhelmová N., Rothová O., Kočová M., Procházková D., Honnerová J., Fridrichová L., Hnilíčková H.: The Physiology and Proteomics of Drought Tolerance in Maize: Early Stomatal Closure as a Cause of Lower Tolerance to Short-Term Dehydration? PLoS ONE 7(6): e38017., 2012: doi:10.1371/journal.pone.0038017
- /2/ Capelle, V., Remoué, C., Moreau, L., Reyss, A., Mahé, A., Massonneau, A., Falque, M., Charcosset, A., Thévenot, C., Rogowsky, P., Coursol, S., Prioul, J.L.: QTLs and candidate genes for desiccation and abscisic acid content in maize kernels. BMC Plant Biology 10, 2010: doi:10.1186/1471-2229-10-2
- /3/ Cattivelli, L., Rizza F., Badeck F.-W., Mazzucotelli E., Mastrangelo A. M., Francia E., Mare C, Toudelli A., Stanca A. M.: Drought tolerance improvement in crop plants: an integrated view from breeding to genomics. Field Crops Research, 105, 2008: 1–14.
- /4/ Doorenbos, J., Kassam, A.H.: Yield response to water. FAO Irrigation and drainage paper No. 33. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 1979
- /5/ Gholipour, M., Sinclair, T.R., Raza, M.A.S., Löffler, C., Cooper, M., Messina, C.D.: Maizer hybrid variability for transpiration decrease with progressive soil drying. Journal of Agronomy and Crop Science 199, 2013: 23–29
- /6/ Grzesiak, M.T., Waligórski, P., Janowiak, F., Marcińska, I., Hura, K., Szczyrek, P., Głab, T.: The relations between drought susceptibility index based on grain yield (DSIGY) and key physiological seedling traits in maize and triticale genotypes. Acta Physiologiae Plantarum, 35, 2013:549–565
- /7/ Guo, P., Baum, M., Grando, S., Ceccarelli, S., Bai, G., Li, R., Korff, M., Varshney, R.K., Graner, A., Valkoun, J.: Differentially expressed genes between drought-tolerant and drought-sensitive barley genotypes in response to drought stress during the reproductive stage. Journal of Experimental Botany, 60, 2009: 3531–3544
- /8/ Jamieson, P.D., Francis, G.S., Wilson, D. R., Martin, R.J.: Effects of water deficits on evapotranspiration from barley. Agricultural and Forest Meteorology 76, 1995:41–58
- /9/ Klimešová, J., Holková, L., Středa, T.: The expression of dehydrin genes and the intensity of transpiration in drought-stressed maize plants. Cereal Research Communications, 2017: DOI: 10.1556/0806.45.2017.017
- /10/ Kučera, J., Čermák, J., Penka, M.: Improved thermal method of continual recording the transpiration flow rate dynamics. Biologia Plantarum, 19, 1977:413–420
- /11/ Tommasini L., Svensson J.T., Rodriguez E.M., Wahid A., Malatrasi M., Kato K., Wanamaker S., Resnik J., Close T.J. (2008): Dehydrin gene expression provides an indicator of low temperature and drought stress: transcriptome-based analysis of Barley (*Hordeum vulgare* L.). Functional & Integrative Genomics, 8, 2008: 387–405
- /12/ Wu Y., Huang M., Warrington D.N.: Responses of different physiological indices for maize (*Zea mays*) to soil water availability. Pedosphere, 21, 2011: 639–649

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory projektu Nové linie pšenice pro efektivnější využití vstupů a s vyšší odolností ke stresům (QJ1510098) Národní agentury pro zemědělský výzkum (NAZV).

ANALÝZA OBRAZU AKO NÁSTROJ FENOTYPOVANIA KOREŇOV SÓJE

IMAGE ANALYSIS AS A TOOL FOR PHENOTYPING SOYBEAN ROOTS

Patricia Kušniarová, Marek Kovár, Katarína Olšovská, Marián Brestič
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FAPZ, Katedra fyziológie rastlín, Trieda A. Hlinku 2,
949 76 Nitra, Slovenská republika, xkusniarova@is.uniag.sk

Summary

Modern methods of phenotyping enable better characterization of the root system architecture under the influence of various environmental factors, such as drought. The experiment was focused on the progressive dehydration of four soybean genotypes from China. At the end of the experiment, the roots were washed out of containers, dried, and subsequently evaluated by RGB imaging analysis using PlantScreen™ phenotyping platform. Our findings lead to the conclusion that gradual dehydration resulted in a significant reduction in the projected area of the roots and to a more intense growth of roots to lengths than to thickness. Finally, using Image-J software we semi-automatically calculated the number of nodules, and we found a close correlation between automatic and manual counting.

Key words: soybean, drought, root architecture, phenotyping

Súhrn

Moderné metódy fenotypovania umožňujú lepšie charakterizovať architektúru koreňového systému za pôsobenia rôznych environmentálnych faktorov, ako je sucho. Experiment bol zameraný na postupnú dehydratáciu štyroch genotypoch sóje fazuľovej čínskeho pôvodu. Na konci experimentu boli korene vymyté z nádob, usušené a následne hodnotené pomocou RGB zobrazovania v PlantScreen™ fenotypovacej platformy. Naše zistenia vedú k záverom, že postupná dehydratácia viedla k výraznej redukcii absorpčnej plochy koreňov a k intenzívnejšiemu rastu koreňov do dĺžky ako do hrúbky. Pomocou programu Image-J systém sme počítali vytvorené noduly, a zistili sme tesnú koreláciu medzi automatickým a manuálnym počítaním.

Kľúčové slová: sója, sucho, koreňová architektúra, fenotypovanie

ÚVOD

Sója [*Glycine max (L.) Merrill*] je jednou z najdôležitejších strukovín. Je cenným zdrojom bielkovín pre ľudskú stravu, je zložkou krmív pre hospodárske zvieratá, a taktiež sa používa v priemysle v oblasti produkcie biopalív /1/. Vplyv globálnych klimatických zmien na rastlinnú výrobu sa v poslednom desaťročí objavil ako hlavná výskumná priorita /2/. Sucho je považované za limitujúci faktor produktivity plodín /3/. Rastliny sóje sú citlivé na sucho kvôli pomerne vysokej spotrebe vody /4/. Korene sú prvými orgánmi, ktoré vnímajú a reagujú na sucho. Distribúcia koreňov, najmä tých, ktoré môžu preniknúť hlbšie do pôdy, zohráva dôležitú úlohu pri určovaní schopnosti rastlín zachytiť dôležité zdroje, ako sú voda, ale aj minerálne látky. Na základe toho má koreňová architektúra významný vplyv na rast a úrodu plodín /5/. Autori /6/ vo svojich poľných pokusoch so sójou potvrdil, že korene hrajú dôležitú úlohu v prežití počas obdobia environmentálneho stresu. V súčasnosti je ťažké študovať rast a architektúru koreňového systému, a to najmä v poľných podmienkach. Klasické prístupy analýzy znakov v poľných podmienkach, ako je metóda výkopov a analýza pôdnych jadier, sú

časovo náročné, ale stále akceptované ako štandardné techniky /6,7,8/. Do popredia sa dostávajú moderné a nedeštrukčné prístupy hodnotenia architektúry koreňového systému, využívajúce pokroky v automatizácii a podporovanej počítačovej analýzy, založené na princípoch RGB, CT, MRI alebo PET zobrazení /9-13/. Cieľom práce bolo zhodnotiť vplyv postupnej dehydratácie na rast a architektúru koreňov, ako aj počet vytvorených nodulov pomocou RGB zobrazovania a automatického a semi-automatického systému analýzy obrazu.

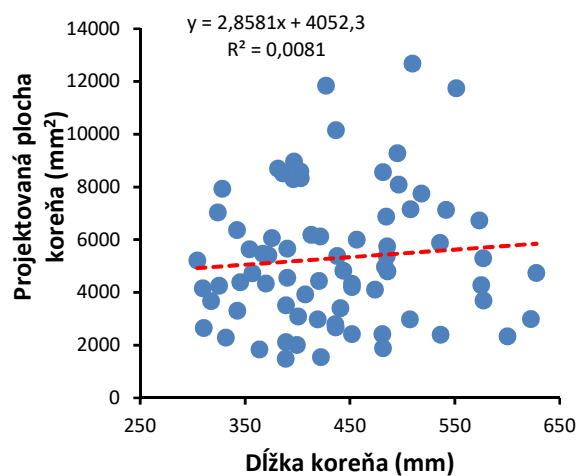
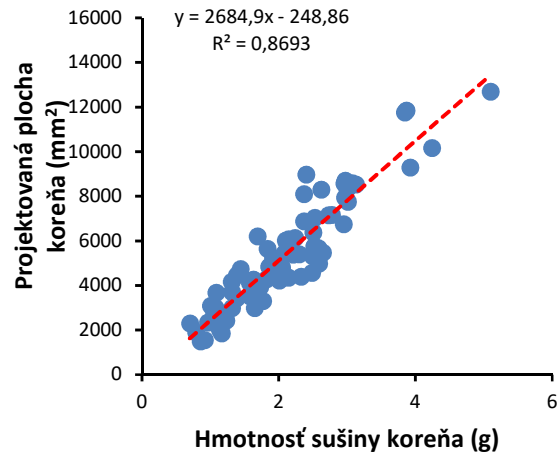
MATERIÁL A METÓDA

Štyri genotypy sóje fazuľovej [*Glycine max* (L.) Merrill] (SA-029, SA-046, SA-072, SA-217; všetky pôvodom z Číny) boli pestované v nádobovom vegetačnom experimente v roku 2016. Inokulované semená prípravkom Nitrazon (Farma Žiro, s.r.o., Nehvizdy, Česká republika) boli vysiate do nádob o objeme 15 litrov naplnené pôdnym substrátom. V rastovom období 19. BBCH /14/ sme experimentálne navodili postupnú dehydratáciu prerušením zalievania substrátu. Stupeň narastajúceho vodného stresu sme kvantifikovali stanovením relatívneho obsahu vody (RWC) v dospelom, plne vyvinutom liste gravimetrickou metódou. Trvanie postupnej dehydratácie bolo pri všetkých genotypoch rovnaké 9 dní. Na konci vegetačného obdobia sme z nádob extrahovali koreňový systém rastlín vyplavovacou metódou a izolovanú koreňovú sústavu nechali prirodzene vysušiť. Koreňový systém bol umiestnený na modrej podložke a fenotypovaný automatickou RGB zobrazovacou jednotkou PlantScreen™ (PSI, Drásov, Česká republika). Systém zaznamenával RGB projekciu v rozlíšení 2560×1920 pixelov a plocha koreňového systému bola automaticky analyzovaná softvérom PlantScreen Data Analyzer (PSI, Drásov, Česká republika). Dĺžka koreňového systému a počet vytvorených nodulov bol hodnotený zo získaných RGB snímok v .png formáte semiautomaticky softvérom ImageJ verzia 1.46r (<http://imagej.nih.gov/ij>) po binarizácii a skeletonizácii obrazu. Hmotnosť sušiny koreňov bola zvážená analytickými váhami ALS 220-4N (Kern & Sohn GmbH, Balingen, Nemecko). Štatistická analýza experimentálnych údajov bola uskutočnená pomocou softvéru Statistics verzia 10 (StatSoft Inc., Tulsa, Oklahoma, USA).

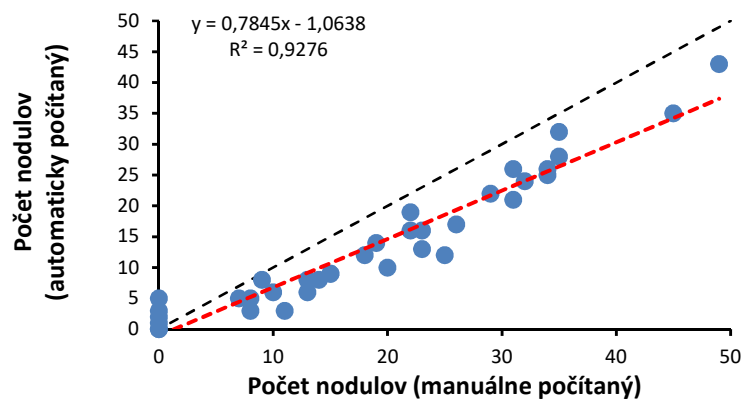
VÝSLEDKY A DISKUSIA

V experimente boli rastliny sóje fazuľovej vystavené vodnému stresu (WS). Koreňový systém rastlín je komplexná trojrozmerná (3D) štruktúra /9/. Rozvoj moderných metód fenotypovania koreňov umožňuje spoznávať dynamiku utvárania štruktúr koreňového systému za pôsobenia rôznych enviromentálnych faktorov /10,11/. Sucho ovplyvňuje rast a architektúru koreňov. Typickou reakciou rastlín na pokles obsahu vody v pôde je nárast absorpčnej plochy koreňového systému a akcelerácia rastu laterálnych koreňov /12/. Tieto morfológické znaky v podmienkach klesajúcej pôdnej vlhkosti podporujú lepšiu extrakciu vody a minerálov. Úroveň vodného stresu bola sledovaná podľa poklesu relatívneho obsahu vody (RWC) v zrelých listoch. Sucho viedlo k výraznému poklesu RWC u genotypov SA-029 a SA-072 (31,5%). V našom experimente sme zaznamenali signifikantné rozdiely medzi genotypmi vo vytváraní podzemnej biomasy v podmienkach dobrej hydratácie (obr.1A), dehydratácia spôsobila výraznú redukciu absorpčnej plochy koreňov. Zistili sme, že postupná dehydratácia viedla k intenzívnejšiemu rastu koreňov do dĺžky bez porušenia ich geometrie (obr.1B). Toto zistenie vedie k záveru, že rast bol orientovaný do dĺžky a nie do hrúbky. Autori /13/ vo svojej práci pozorovali podobné zmeny v dynamike rastu koreňov sóje v podmienkach sucha.

Vytváranie 2D obrazu vypeparovaného koreňového systému umožňuje využitie aj pre automatické alebo semi-automatické hodnotenie počtu vytváraných nodulov. Využitím programu Image-J, systém po skeletonizácii obrazu počítal kvázi-kruhové objekty na koreňoch /15/, prislúchajúce nodulom.



Obr. 1: A) Vzťah medzi projektovanou plochou koreňa (mm^2) a hmotnosťou sušiny (g); B) vzťah medzi projektovanou plochou koreňa (mm^2) a dĺžkou koreňa (mm). Bod reprezentoval individuálnu koreňovú analýzu. Rovnica pre (A): $y = 2684,9x - 248,86$; $R^2 = 0,87$; $p < 0,0001$, rovnica pre (B): $y = 2,8581x + 4052,3$; $R^2 = 0,01$; $p = 0,444$.



Obr. 2: Vzťah medzi automaticky a manuálne kalkulovaným počtom nodulov. Bod reprezentoval individuálnu koreňovú analýzu. Rovnica: $y = 0,6739x + 2,0193$; $R^2 = 0,91$; $p < 0,0001$, čierna prerušovaná čiara predstavuje pomer 1:1.

Zistili sme tesnú koreláciu medzi automaticky a manuálne kalkulovaným počtom nodulov s $r_p=0.95$ (obr.2). Podobne vysoké korelačné koeficienty tohoto vzťahu boli zistené v prácach /15,16/. Tento prístup však analyzuje 2D obraz z jedného pohľadu a zistili sme, že noduly ktoré sú vytvárané na odvrátenej strane koreňa na 2D snímky nie je systém schopný detekovať a tak dochádza k podhodnoteniu automaticky hodnotených počtov nodulov. Dalším potenciálnou chybou môže byť optimálne nastavenie trasovania a skeletonizácie obrazu, čím sa môžu do hodnotenia napočítať aj objekty, ktoré reálne nodulmi nie sú, ako sme zaznamenali u genotypu SA-217, ktorý sa vyznačuje dlhými a tenkými koreňmi.

LITERATÚRA

- /1/ Hartman, G.L., West, E.D., Herman, T.K.: Crop that feed the World 2. Soybean-worldwide production, use, and constraints caused by pathogens and pests. *Food Security*, 3, 2011: 5-17
- /2/ Shanker, A.K., Maheswari, M., Yadav, S.K., Desai, S., Bhanu, D., Attal, N.B. Drought stress responses in crops. *Funct Integr Genomics*, 14, 2014: 11-22
- /3/ Brestič, M., Živčák, M.: PSII fluorescence techniques for measurement of drought and high temperature stress signal in plants: protocols and applications. In: Rout G.R and Das, A.B (Eds.) *Molecular Stress Physiology in Plants*. Springer, 2013: 87-131
- /4/ Yang, F., Wang, X.C., Liao, D.P., Lu, F.Z. et al.: Yield responses to different planting geometries in maize-soybean relay strip intercropping systems. *Agronomy Journal*, 107, 2015: 296-304
- /5/ Fenta, B.A., Beebe, S.E., Kunert, K.J., Burrige, J.D., Barlow, K.M., Lynch, J.P., Foyer, C. H.: Field phenotyping of soybean roots for drought stress tolerance. *Agronomy*, 4, 2014: 418-435
- /6/ Hoogenboom, G., Huck, M.G., Peterson, C.M.: Root growth rate of soybean as affected by drought stress. *Agronomy Journal*, 79, 1986: 607-614
- /7/ Nielsen, K.L., Lynch, J.P., Weiss, H.N.: Fractal geometry of bean root systems: Correlations between spatial and fractal dimension. *American Journal of Botany*, 84, 1997: 26-33
- /8/ Trachsel, S., Kaeppler, S.M., Brown, K.M., Lynch, J.P.: Shovelomics: high throughput phenotyping of maize root architecture in the field. *Plant Soil*, 341, 2011: 75-87
- /9/ Linch, J.: Root architecture and plant productivity. *Plant Physiology*, 109, 1995: 7-13
- /10/ Comas, L. H.; Becker, S. R.; Cruz, V. M. V.; Byrne, P. F.; Dierig, D. A.: Root traits contributing to plant productivity under drought. *Frontiers in Plant Science*, 4, 2013: 442
- /11/ Postma, J. A., Schurr, U., Fiorani, F.: Dynamic root growth and architecture responses to limiting nutrient availability: linking physiological models and experimentation. *Biotechnology Advances*, 32, 2014: 53-65
- /12/ Osmont, K. S., Sibout, R., Hardtke, C. S.: Hidden branches: developments in root system architecture. *Annual Review of Plant Biology*, 58, 2007: 93-113
- /13/ Makbul, S., Saruhan Güler, N., Durmuş, N., Güven, S.: Changes in anatomical and physiological parameters of soybean under drought stress. *Turkish Journal of Botany*, 35, 2011: 369-377
- /14/ Munger, P., Bleiholder, H., Hack, H., Hess, M., Strauss, R., van den Boom, T., Weber, E.: Phenological growth stages of the soybean plant (*Glycine max* (L.) MERR.) - Codification and Description according to the General BBCH Scale-with Figures. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 179, 1997: 209-217
- /15/ Barbedo, J. G. A.: Method for automatic counting root nodules using digital images. 12th International Conference on Computation Science and its Application. 2012, 159-161
- /16/ Lira, M. de A., Smith, D.L.: Use of a standard TWAIN scanner and software for nodule number determination on different legume species. *Soil Biology and Biochemistry*, 32, 2000: 1463-1467

Pod'akovanie

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory projektov APVV-15-0721 a VEGA-16-003-00.

VLIV OŠETŘENÍ OSIVA NA KLÍČIVOST A VZCHÁZIVOST JESTŘABINY VÝCHODNÍ (*GALEGA ORIENTALIS* LAMB.)

*THE EFFECT OF SEED TREATMENT ON GERMINATION AND EMERGENCE OF FODDER GALEGA (*GALEGA ORIENTALIS*)*

Jaroslav Lang

Zemědělský výzkum, spol. s r.o., Troubsko, Zahradní 1, 664 41 Troubsko, lang@vupt.cz

Summary

The effect of seed scarification and cold treatment on laboratory germination and field emergence was studied in fodder galega (*Galega orientalis*). Concerning the laboratory germination it was found, that cold treatment of 7 °C lasting 7 days and seed scarification resulted in faster germination. Both treatments did not influence the number of germinating seeds. Cold treatment effected faster field emergence, but did not increased the number of emerging plants. Scarification treatment slowed down the field emergence and did not have effect on the number of emerged plants.

Key words: Galega orientalis, Germination, Emergence

Souhrn

V pokusu byl sledován vliv ošetření osiva skarifikací a chladem u jestřabiny východní na laboratorní klíčivost a polní vzcházivost. U laboratorní klíčivosti bylo zjištěno, že ošetření chladem 7 °C po dobu 7 dní a ošetření skarifikací způsobilo rychlejší klíčivost. Ošetření nemělo vliv na množství vyklíčených semen. U polní vzcházivosti bylo zjištěno, že ošetření chladem způsobilo rychlejší vzcházivost, ale nedošlo k navýšení počtu vzešlých rostlin. Ošetření skarifikací zpomalilo vzcházivost a nemělo vliv na počet vzešlých rostlin.

Klíčová slova: jestřabina východní, klíčivost, vzcházivost

ÚVOD

Jestřabina východní (*Galega orientalis* Lamb., *Fabaceae*) je vytrvalá rostlina pocházející z Kavkazu, kde se hojně využívá jako pícnina s podobným využitím jako u nás jetel (*Trifolium* sp.), nebo vojtěška (*Medicago* sp.). V Evropě je známá spíš jestřabina lékařská (*Galega officinalis* L.), která v České republice roztroušeně zdomácněla. Jestřabina lékařská se nedoporučuje ke zkrmování pro svůj relativně vysoký obsah alkaloidů galeginu, hydroxygaleginu a vasicinu (syn. peganin), které mají neurotoxické účinky a dalších antinutričních látek ze skupiny saponinů, které podporují vstřebávání alkaloidů a glykosidů a inhibují trávení a využití potravy /3/. Dobytek se jí při pastvě často vyhýbá, ale např. u ovcí jsou známy případy otrav končící uhynutím. Jestřabina východní neobsahuje zmíněné antinutriční látky vůbec, nebo pouze ve stopách. Jeví se jako perspektivní pícninou, zejména pro svoji nenáročnost na půdní vláhu a vytrvalost na stanovišti. Je odolná vůči suchu, přísuškům, holomrazům a pozdním jarním mrazíkům a snáší půdy horší kvality. Právě nedostatek vody ve vegetaci a pozdní jarní mrazíky způsobují problém při intenzivní výrobě píce a často jsou limitními faktory způsobující nedostatek objemného krmiva pro skot.

Pro kvalitní založení porostu jestřabiny je základem kvalitní klíčivé osivo. Semena jestřabiny východní jsou charakteristická tvrdým osemením, což způsobuje sníženou klíčivost semene. Dormance osiva se v takovýchto případech snižuje buď mechanicky - skarifikací, termálně, anebo chemicky. Ze závěrů pokusů provedených v Číně /4/ vyplývá, že k přerušení

dormance je dobré louhovat semena jestřabiny východní v kyselině sírové po dobu 5 minut, nebo máčet osivo ve vodě při teplotě 50 °C. Nejlepších výsledků ale bylo dosaženo mechanickou skarifikací, u které autoři zároveň uvádějí, že je rychlá a čistá.

Experiment je zaměřen na vhodné metody ošetření osiva jestřabiny východní odrůda Lena, které by snižovaly počet dormantních semen a zvyšovaly jejich klíčivost a vzcházivost. Laboratorní klíčivost většinou probíhá za standardních podmínek, je hygienická a dobře kontrolovatelná. Polní vzcházivost je výsledkem interakce mezi kvalitou semen a kvalitou podmínek prostředí, z nichž nejzákladnější jsou podmínky teplotní a vláhové, vzdušný režim půdy, podmínky mikrobiální a příprava půdy /1/. Kvalita testů klíčivosti a vzcházivosti se proto může lišit v počtu vyklíčených, resp. vzešlých semen.

MATERIÁL A METODA

Na jaře 2017 byly založeny laboratorní testy klíčivosti a nádobové testy vzcházivosti osiva u jestřabiny východní (*Galega orientalis* Lamb.) odrůda Lena. Pro srovnání bylo do testu klíčivosti zařazeno i neošetřené osivo jedné z nejpoužívanějších píceň - vojtěšky seté (*Medicago sativa* L.) odrůda Pálava. Testy byly založeny ve variantách: 1) neošetřené osivo – kontrola, 2) skarifikované osivo, jehož osetí bylo narušeno brusným papírem o zrnitosti 360 zrn.cm⁻² v počtu dvaceti tahů standardním tlakem v ručním drhlíku o velikosti spodní pevné strany 300x80 mm a svrchní pohyblivé strany 200x70 mm a počtu semen 300 ks. 3) chladem ošetřené osivo, které bylo vystaveno po dobu 7 dní konstantní teplotě 7 °C. Testy klíčivosti probíhaly podle metodiky ÚKZÚZ /2/ ve tmě, v klíčící skříni, při konstantní teplotě 18 °C na Petriho miskách a na zvlhčovaném filtračním papíru v počtu 2 krát 100 semen po dobu 17 dní. Hodnoceny byly tři kategorie: 1) vyklíčená semena, 2) tvrdá a svěží semena 3) mrtvá semena. Vyjádření počtu semen v kategoriích je v procentech. Při testech vzcházivosti byla semena vyseta do substrátu TS 1 (výrobce Pasič) a umístěna ve skleníku při průměrné teplotě 16 °C po dobu 17 dní v počtu 2 krát 100 semen. Hodnocena byla vzejitá semena, vyjádřeno také v procentech. Statistické hodnocení bylo provedeno metodou analýzy variance (ANOVA P>0.05) s následným hodnocením Tukeyovým testem.

VÝSLEDKY A DISKUSE

U zkoušek klíčivosti byl zaznamenán vliv u variant skarifikace a ošetření chladem během prvních tří dnů na rychlost klíčení semen jestřabiny, z toho v prvním dni vyklíčilo průkazně více semen u osiva skarifikovaného (graf 1). U varianty bez ošetření došlo k většinovému vyklíčení po čtyřech dnech. K ovlivnění ošetřením tedy došlo u semen, které by během testu vyklíčily, ale později, protože ze statistického hodnocení vyplývá, že u ošetřených variant se nezvýšil celkový počet vyklíčených semen (tab. 1). Při zkouškách klíčivosti mělo tedy ošetření vliv na rychlost klíčení, nikoliv na klíčivost. V případě mechanického snižování dormance by mohla být účinná silnější skarifikace, ovšem s ohledem na možné poničení jiných semen. U vojtěšky seté došlo k nejvyššímu počtu vyklíčených semen v prvním dni.

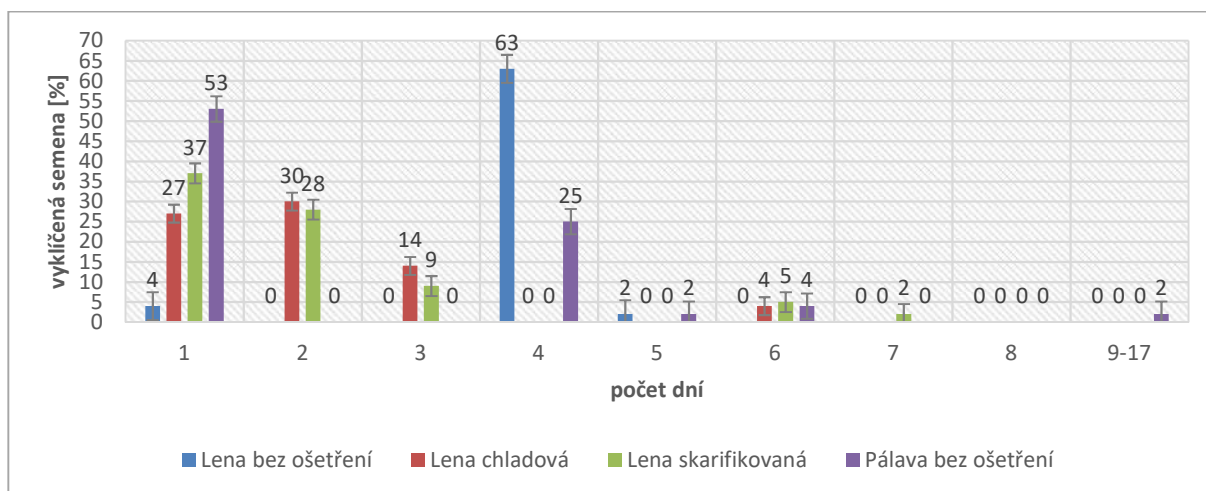
U zkoušek polní vzcházivosti docházelo k prvnímu vzcházení čtvrtý den po založení pokusu. Pomalejší vzcházení je dáno vlivem rozdílných podmínek kultivace (kolísavá teplota ve skleníku, půda) a hodnocením pozdější fenofáze.

Z grafu 2 vyplývá, že ve čtvrtém dni došlo ke vzcházení u neošetřené a skarifikované varianty v počtu jednotek kusů. V pátém dni byla zaznamenána významná aktivita vzcházení u varianty chladové, přičemž od pátého do sedmého dne vzešlo 53 % semen. To je více, než u variant bez ošetření a skarifikované, u kterých vzešlo od čtvrtého do sedmého dne 42, resp. 27 % rostlin. Skarifikace výrazně zpomalila vzcházení během prvních šesti dní. Počet celkem vzešlých semen se v ošetřených variantách statisticky průkazně nelišil od varianty neošetřené. Vliv ošetření na celkový počet vzešlých semen, podobně jako u zkoušek klíčivosti, nebyl

statisticky průkazný u žádného z ošetření (tab. 2). Statistickým porovnáním laboratorní klíčivosti a polní vzházivosti nebyl zjištěn rozdíl v počtu vyklíčených semen/vzešlých rostlin.

Tab. 1: Podíl vyklíčených, tvrdých a neklíčivých semen v laboratorních testech klíčivosti u variant jestrabiny východní a vojtěšky seté

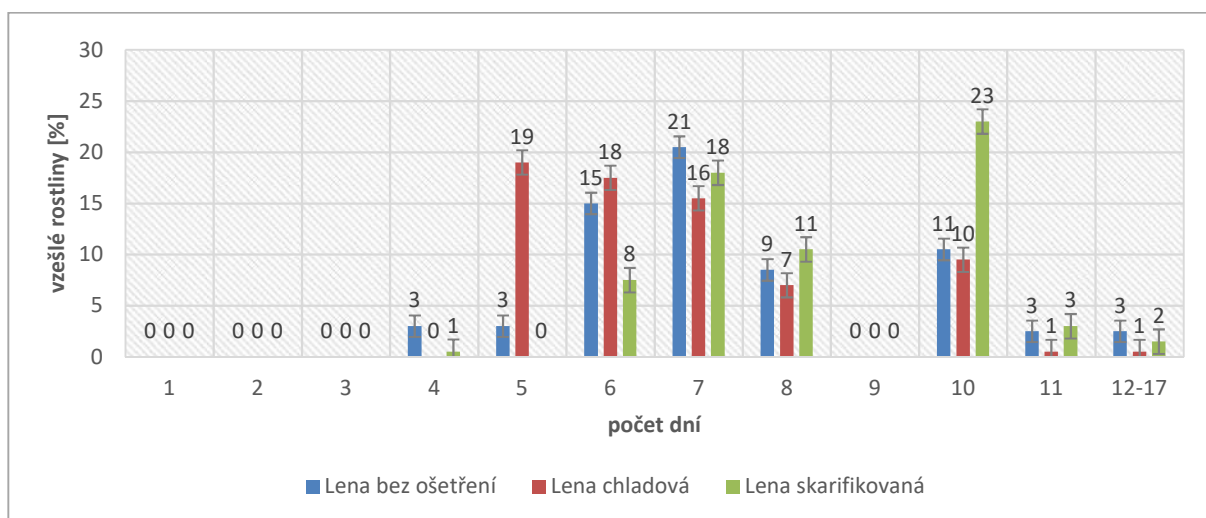
odrůda	ošetření	celkem vyklíčených	celkem tvrdých	celkem neklíčivých
Lena	bez ošetření	69 ^a	29	2
Lena	skarifikovaná	79 ^a	19	2
Lena	chladová	75 ^a	24	1
Pálava	bez ošetření	86 ^a	8	6



Graf 1: Laboratorní klíčivost u variant jestrabiny východní odrůda Lena a u vojtěšky seté odrůda Pálava

Tab. 2: Vzešlé rostliny u polních testů vzházivosti a variant jestrabiny východní seté

odrůda	ošetření	celkem vzešlých
Lena	bez ošetření	66 ^a
Lena	skarifikovaná	65 ^a
Lena	chladová	70 ^a



Graf 2: Polní vzházivost u jestrabiny východní odrůda Lena

ZÁVĚR

U jeřábiny východní je potřeba počítat s vyšším zastoupením tvrdých semen než například u vojtěšky seté. Při dodržení základních agrotechnických podmínek (optimální půdní teplota, půdní vláh a kvalitně připravená půda) je procentuální vzházivost semen v souladu s klíčivostí provedenou v laboratorních podmínkách a výsledky z testů klíčivosti se mohou použít při výpočtu výsevu při zakládání porostů, aniž by se snížilo procento vzešlých semen vlivem odlišnosti prostředí. Pro rychlejší a vyrovnanější vzházení porostu jeřábiny je možné doporučit chladové ošetření osiva, které ale většinou prakticky probíhá při skladování osiva přes zimní období. Vliv skarifikace pro lepší vzházivost nebyl prokázán. Je možné, že by mohla být účinnější silnější skarifikace. Je potřeba dbát na to, aby při úpravě nedošlo k poškození ostatních semen.

Podle metodiky ÚKZÚZ, není při zkouškách klíčivosti, na rozdíl od jiných jetelovin, u osiva druhu *Galega orientalis*, potřeba speciálních ošetření pro snížení dormance. Na základě našich výsledků je zřejmé, že ani odrůda Lena nevykazuje zvláštní potřeby úpravy semen při zkouškách klíčivosti.

LITERATURA

Použité literární zdroje jsou k dispozici u autora článku.

Poděkování

Výsledek byl získán za částečné institucionální podpory na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace.

DOPADY SCÉNÁŘE KLIMATICKÉ ZMĚNY NA LESY ČR

IMPACTS OF THE CLIMATE CHANGE SCENARIO ON THE CZECH FORESTS

Jaromír Macků

Ústav pro hospodářskou úpravu lesů Brandýs nad Labem, pobočka Brno, Vrázova 1, 616 00 Brno,
macku.jaromir@uhul.cz

Summary

The aim of the contribution is to elaborate the scenario of climate change HadGEM variant RCP 85 for the period 2021-2040, 2041-2060 and 2081-2100 and its impact on forest stands. The climatic characteristics are evaluated at the level of the zonal forest vegetation zone (FVZ). This ecosystem unit of forest site typology combines the characteristics of climatic regionalization in relation to the extension of the original tree species. Changes in climatic characteristics at different periods are linked to the vitality of forest tree species occurring in FVZ. Based on this paradigm the forest management strategy can be applied in the sense of the precautionary principle. Successful implementation of these measures requires a change in decision-making practices in forest management, taking comprehensive account of changing natural conditions and environmental limits of silviculture.

Key words: scenario of climate change, zonal forest vegetation zone, precautionary principle

Souhrn

Cílem příspěvku je zpracování scénáře klimatické změny HadGEM varianta RCP 85 pro období let 2021-2040, 2041-2060 a 2081-2100 a jeho dopadu na lesní porosty. Klimatické charakteristiky jsou vyhodnoceny na úroveň zonálních lesních vegetačních stupňů (LVS). Tato ekosystémová jednotka lesnické typologie spojuje charakteristiky klimatické regionalizace v návaznosti na rozšíření původních dřevin. Změny klimatických charakteristik v jednotlivých obdobích mají návaznost na vitalitu lesních dřevin vyskytujících se v LVS podle jejich ekologických limitů. Na základě tohoto paradigmatu lze uplatnit strategii opatření hospodaření v lesích ve smyslu principu předběžné opatrnosti. Úspěšná realizace těchto opatření vyžaduje změnu způsobů rozhodování v lesním hospodaření, komplexně zohledňující měnící se přírodní podmínky a environmentální limity pěstování lesa.

Klíčová slova: scénář klimatické změny, lesní vegetační stupeň, princip předběžné opatrnosti

ÚVOD

Současný stav klimatu je odrazem dlouhodobého geohistorického vývoje a od 18. století i odrazem vlivu ekonomické aktivity člověka, při které dochází k urychlování přirozené změny obsahu CO₂ v ovzduší. Rostou i koncentrace dalších radiačně aktivních plynů, zejména metanu a oxidu dusného, závažná je otázka ozonu. Uvedený vývoj změn klimatu má v podmínkách mírného pásma řadu negativních dopadů na lesy. Současně ovlivňuje jak procesy v půdě, tak fyziologii stromů a v konečném důsledku spolu s imisním působením či v součinnosti s dalšími stresory vyvolává značné oslabení rezistence dřevin, jež může vést ke snížení ekologické stability porostů a celých současných lesních ekosystémů.

Potenciál reakce lesních porostů na klimatickou změnu je tedy podmíněn ekologickými limity lesních dřevin, vlastnostmi půdy a klimatickými podmínkami, především stresovými faktory. Rozhodující je ekologická stabilita lesního ekosystému, tj. schopnost vyrovnat se, se změnou environmentálních podmínek. Podstatou myšlenkou je zdůraznění neoddelitelné

vazby jednotek potenciální přirozené vegetace s charakteristikami klimatu /3, 6/. Klasifikace klimatu v lesních ekosystémech je charakterizována vegetační stupňovitostí – lesními vegetačními stupni (LVS). LVS jsou dále podmíněny charakterem mezoklimatu (topoklimatu) za spolupůsobení některých vlastností ekotopu. Jde tedy o celý komplex podmínek ovlivňujících výsledný poměr klimaxových dřevin.

MATERIÁL A METODA

Pod pojmem klimatická změna se rozumí změna klimatu v kombinaci s neustále se měnící environmentální zátěží našeho životního prostředí – zvyšující či klesající mírou fyzikálního, chemického či biologického znečištění. Především jsou to neustále stoupající koncentrace skleníkových plynů, zejména CO₂, různých forem dusíku a metanu uvolňujícího se z permafrostu.

Zdrojovým materiálem pro vymezení klimatických charakteristik LVS byly podklady ČHMÚ ve spolupráci s Centrem výzkumu globální změny AV ČR. Odvozená klimatická data byla zpracována pro zonální LVS /4/ v rámci Přírodních lesních oblastí (PLO). Pracovníky brněnské pobočky ČHMÚ byly počítány prostorové průměry základních klimatických charakteristik (průměrná denní teplota, denní úhrn srážek) pro období A (1961 - 1990) a pro období B 1991 - 2009 pro zonální LVS, vyskytující se v jednotlivých PLO /5/. Z využitím těchto podkladů byly zpracovány analýzy řídicích LVS pro jednotlivé PLO a navrženy varianty Klimaticko-vegetačních segmentů (KVS) /1,2/. Normální varianta předpokládá vyrovnaný průběh průměrné teploty a srážek, varianta xerická představuje nízké teploty a omezené srážky, varianta ombrická pak je ve prospěch srážek.

Modely, které byly použity pro výpočet budoucích podmínek, byly vybrány kombinací objektivních a subjektivních kritérií ze souboru 40 vhodných GCM (climate-impacts.eu), reprezentujících scénář HadGEM s variantami tzv. RCP (Representative Concentration Pathways), kdy se zvýší radiační působení o 4,5 W·m⁻² (RCP 45) a zvýšení radiačního působení o 8,5 W·m⁻² (RCP 85) /8/. Klimatická data scénáře klimatické změny (KZ) HadGEM s variantami RCP 45 a RCP 85 byla zpracována pro období B = 1981–2010, C = 2021–2040, D = 2041–2060 a E = 2081–2100.

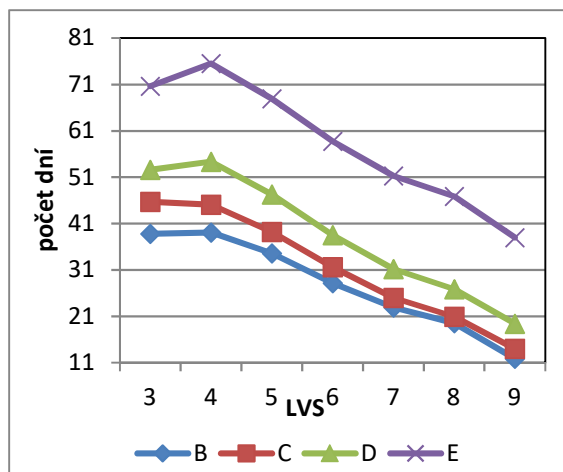
Klimatická data byla vyhodnocena v parametrech zonálních LVS dle PLO ve struktuře roční průměrné teploty, průměrný roční úhrn srážek. Za vegetační sezónu V5A to byly stresové faktory D10 – součet počtu dnů za veg. období, kdy byl denní úhrn srážek < 1 mm a T30 – součet tropických dnů (maximální teplota > 30 °C. Pro Transformaci LVS v jednotlivých obdobích je rozhodující průběh stresových faktorů D10 a T30.

VÝSLEDKY A DISKUSE

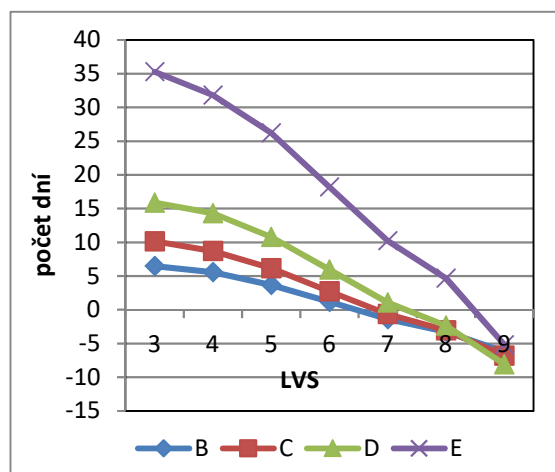
Prvním krokem bylo odvození klimatických charakteristik lesních vegetačních stupňů /1,2/. Pro PLO a v nich zastoupené zonální LVS byla zpracována predikce (na základě předchozího zpracování regresních analýz) průběhu ročních srážek a průměrných teplot. Průsečík těchto hodnot prezentuje řídicí LVS v dané PLO. Vymezení řídicích LVS v PLO je kritériem pro odvození klimatických variant. Na základě zpracovaných analýz řídicích LVS pro jednotlivé PLO byly zpracovány varianty KVS.

Z analýzy příkladů průběhu stresových faktorů v jednotlivých obdobích lze predikovat dopad na zastoupení pseudozonálních LVS. Tímto termínem jsou označovány případy následků kombinace vlivu člověka a klimatu na vegetaci /7/. Podobně je tomu u označení paraklimaxu /6/. Stávající LVS jsou transformovány na pseudozonální LVS s klimatickými charakteristikami odpovídající jednotlivým období modelového scénáře.

Na příkladu varianty RCP85 je dokumentován průběh stresových faktorů pro KVS 6 ombrický:

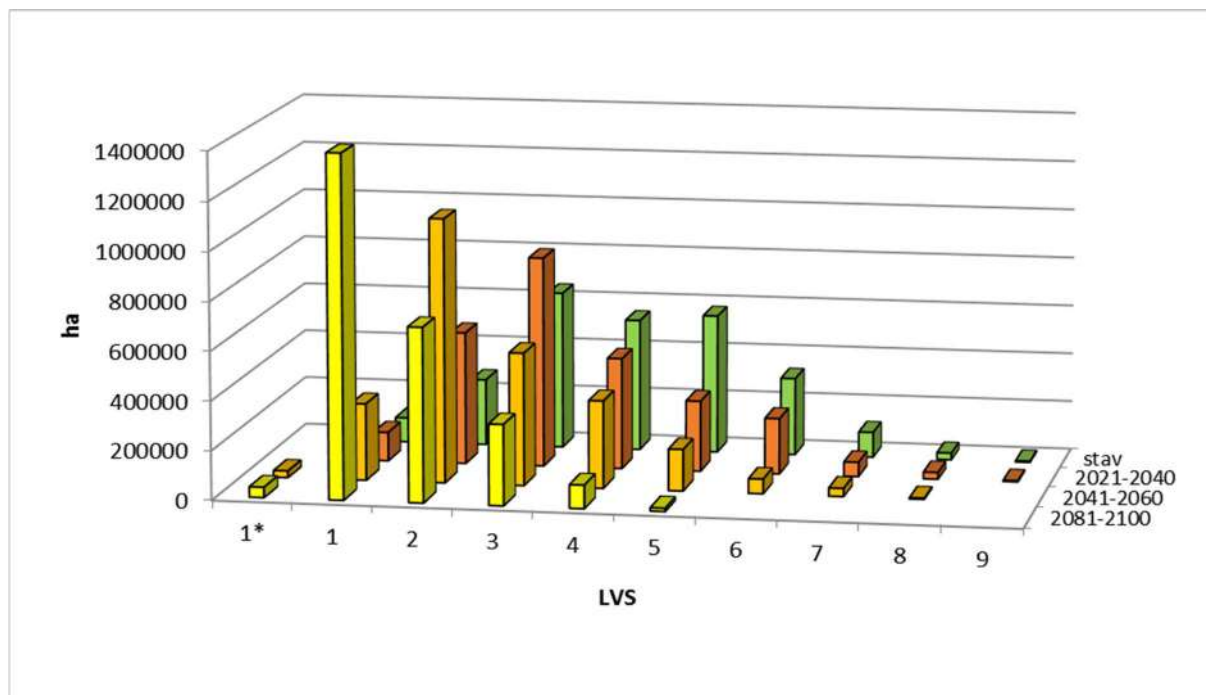


Graf 1: Průběh stresového faktoru D10 dle období B, C, D E



Graf 2: Průběh stresového faktoru T30 dle období B, C, D E

V zastoupení LVS dle scénáře HadGEM varianty RCP 85 dochází k výrazným změnám environmentálních podmínek, které mohou výrazně ovlivnit setrvání či existenci lesa vůbec.



Graf 3: Zastoupení LVS dle období B, C, D, E. Legenda LVS 1* představuje anomálii LVS 1 v xerickém KVS.

Podle výsledků relativně „pesimistického“ regionálního klimatického modelu MOHC-HADGEM2-ES- emisní varianty RCP 85 je v jednotlivých obdobích zastoupení pseudozonálních LVS následující:

- období 2021-2040 jsou změny v zastoupení LVS nepodstatné
- období 2041-2060 dochází k vytvoření xerické anomálie 1* LVS, navýšení plochy 1LVS o 8%, 2 LVS o 31%, k úbytku zastoupení 4-7 LVS o 50% a absenci 8-9 LVS.
- období 2081-2000 se zastoupení xerické anomálie 1*LVS ustaluje na 2% plochy, 1 LVS na 54% plochy a 2 LVS na 27%. Tj. na 83% plochy lesů budou klimatické podmínky pro 1-2 LVS včetně xerické anomálie 1* LVS. Zastoupení 3 LVS tvoří 13%, 4 LVS 4% a 5 LVS pouhé 1% plochy.

Modelové scénáře možného vývoje klimatu v dalších desetiletích jsou závislé na emisních scénářích, a tedy na environmentálních podmínkách. Při překročení ekologických limitů lesních dřevin narůstá jejich ohrožení houbovými patogeny a hmyzími kalamitami. Právě tento typ ohrožení představuje vysoký stupeň nejistoty pro úspěšné řešení adaptačních opatření v lesích.

Riziko zranitelnosti lesního ekosystému, coby původně klimaxového společenstva, ovlivněného klimatickou změnou je značné. Především je tu zrádnost setrvačnosti zdánlivě neprojevující se žádnou nebo málo přesvědčivou reakcí. O to brutálnější může být rychlý kolaps celého systému. Konečný impuls může být vyvolán zcela nevinným spouštěcím mechanismem na principu mávnutí „motýlího křídla“. Výsledek poškození může ale rychle vést ke strukturálním změnám s náhradou plevelných druhů dřevin (bříza, jíva). Začít cestou uplatněním adaptačních opatření ve smyslu pojetí „principu předběžné opatrnosti“ je naprosto prioritní už z podstaty lesního ekosystému, neboť se jedná o běh na dlouhou trať.

LITERATURA

- /1/ Macků, J.: Climatic characteristics of forest vegetation zones of the Czech republic, *Journal of Landscape Ecology*, 7 (3), 2014: 39-48
- /2/ Macků, J.: Klimatické charakteristiky lesních vegetačních stupňů v lesnicko-typologickém klasifikačním systému lesů ČR, ÚHÚL Brandýs nad Labem, 2015: pp. 74. ISBN: 978-80-90599-6-7.,
- /3/ Moravec J.: Reconstructed natural versus potential natural vegetation in vegetation mapping: a discussion of concept. *Applied Vegetation Science*, 1, 1998: 173-176.
- /4/ Pojar J., Klinka K., Meidinger D.V.: Biogeoclimatic ecosystem classification in British Columbia. *Forest Ecology and Management*, 22, 1987: 119-154.
- /5/ Štěpánek, P., Zahradníček, P., Skalák, P.: Data quality control and homogenization of air temperature and precipitation series in the area of the Czech Republic in the period 1961–2007. *Advances in Science and Research*, 3, 2009: 23–26.
- /6/ Tüxen, R.: Die heutige potentielle natürliche Vegetation als Gegenstand der Vegetationskartierung. *Angewandte Pflanzensoziologie*, 13, 1956: 5–55.
- /7/ Zlatník, A.: Lesnická fytoecologie. Praha, SZN Praha: 1976: 455 s.
- /8/ www.klimatickazmena.cz

Poděkování

Uvedená práce vznikla za spolupráce ÚHÚL Brandýs nad Labem, Centrumu výzkumu globální změny AV ČR a ČHMÚ pobočky Brno.

METODIKA KONTROLY KVALITY MĚŘENÝCH HODNOT DOPADAJÍCÍHO SLUNEČNÍHO ZÁŘENÍ

THE METHOD FOR QUALITY CHECK OF MEASURED INCIDENT SOLAR RADIATION DATA

Marie Opálková¹, Martin Navrátil¹, Michal Burda², Vladimír Špunda¹

¹ Ostravská univerzita, Přírodovědecká fakulta, Katedra fyziky, Chittussiho 10, 710 00 Slezská Ostrava; opalkovamarie@seznam.cz, Martin.Navratil@osu.cz, Vladimir.Spunda@osu.cz

² Ostravská univerzita, Ústav pro výzkum a aplikace fuzzy modelování, CE IT4Innovations, 30. dubna 22, 701 03 Moravská Ostrava a Přívoz; Michal.Burda@osu.cz

Summary

Our research is focused on the measurement of selected spectral regions (UVB, UVA, PAR and its sections 510–700 and 600–700 nm) of incident solar radiation at two locations in the urban environment of Ostrava. For the purposes of further analyses, it is necessary to put the measured data through a quality check to remove incorrect data. For the quality check, it was defined that the measured values at the Earth's surface have to belong to the interval $(0.03 \cdot E_0, E_0)$, where E_0 is the value of irradiance of the particular spectral region at the certain moment at the top of the atmosphere. For each measuring station, ca. 130,000 records were created between 07/2014 and 12/2016 and ca. 97.56% of the checked values passed this quality check (except for UVB, where 54% of the checked data successfully passed). The data which passed the quality check can be used for next analyses.

Key words: Ostrava, photosynthetically active radiation (PAR), ultraviolet radiation (UV)

Souhrn

V našem výzkumu se věnujeme měření vybraných spektrálních oblastí (UVB, UVA, FAR a jeho částí 510–700 nm a 600–700 nm) dopadajícího slunečního záření na dvou lokalitách v městském prostředí Ostravy. Za účelem následných analýz je nejprve nutné naměřená data podrobit kontrole kvality pro případné odstranění dat zatížených chybou. Pro kontrolu kvality bylo stanoveno, že naměřené hodnoty u povrchu Země musí náležet do intervalu $(0,03 \cdot E_0, E_0)$, kdy E_0 je hodnota ozáření vybrané spektrální oblasti v daném okamžiku na horní hranici atmosféry. Pro každou měřicí stanici bylo za období 07/2014 – 12/2016 vytvořeno ca. 130 000 záznamů a kontrolou kvality dat prošlo v průměru 97,56 % kontrolovaných dat u většiny měřených složek, pouze u složky UVB prošlo kontrolou kvality pouze 54 % kontrolovaných dat. Takto zkontrolovaná data mohou být využita pro následující analýzy.

Klíčová slova: Ostrava, fotosynteticky aktivní záření (FAR), ultrafialové záření (UV)

ÚVOD

Dopadající sluneční záření, zejména v ultrafialové (UVB & UVA, 280–380 nm) a viditelné (400–700 nm) oblasti, je zásadní faktor ovlivňující fotosyntézu rostlin. Přestože jsou rostliny schopny se adaptovat na měnící se podmínky prostředí, nedostatek, či naopak nadbytek slunečního záření je stresový faktor /4, 5/. Jelikož rostliny využívají pro různé procesy záření různých vlnových délek, mohou změny ve spektrálním složení záření a jeho intenzitě ovlivnit procesy spojené s fotosyntézou a fyziologií rostlin obecně.

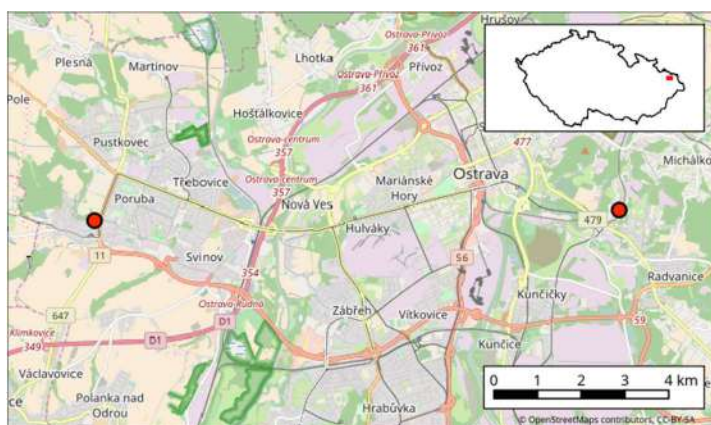
Sluneční záření je při průchodu atmosférou ovlivňováno absorpcí a rozptylem na přítomných částicích /7/. Charakter oblačnosti a smogových epizod v průmyslovém městském

prostředí způsobuje, v porovnání s oblastmi s nižším znečištěním ovzduší, změny v radiačním režimu, které ovlivňují fotosyntetickou aktivitu a snižují odolnost rostlin proti dalším abiotickým stresům /1/. Nicméně nejsou dostupné studie, které by se zabývaly dlouhodobým měřením spektrálních složek slunečního záření v městských oblastech. Jelikož Ostrava patří k průmyslovým regionům s nejvyšší mírou znečištění ovzduší v ČR /2/, má charakteristika změn radiačního režimu v závislosti na různých faktorech význam zejména proto, že vegetace zajišťuje řadu ekologických služeb, které jsou v městském prostředí velmi prospěšné /6/, a pro jejich zachování je potřeba poznat faktory, které mohou rostliny negativně ovlivňovat.

Při měření dopadajícího slunečního záření je nutno počítat s možností systematických chyb /8/, proto je nutné věnovat pozornost kontrole kvality dat. Cílem tohoto článku je popsat metodický přístup ke kontrole kvality dat u dlouhodobě měřených hodnot dopadajícího slunečního záření v několika spektrálních oblastech (UVB, UVA, fotosynteticky aktivní záření a jeho podsložky s intervaly vlnových délek 510–700 a 600–700 nm, a také celkové energie dopadajícího slunečního záření).

MATERIÁL A METODIKA

Pro měření hodnot dopadajícího slunečního záření jsou využívány celkem tři měřicí stanice. Dvě (S1, S2) jsou umístěny na Botanické zahradě Ostravské univerzity (49°49,64873' N, 18°19,56197' E) a jedna (S3) je umístěna v areálu Českého hydrometeorologického ústavu (ČHMÚ) v Ostravě-Porubě (49°49,51940' N, 18°9,56505' E; Obr. 1).



Obr. 1: Poloha lokalit s měřicími stanicemi na území města Ostravy. Značka vlevo – areál ČHMÚ; značka vpravo – Botanická zahrada Ostravské univerzity.

Každá stanice obsahuje senzory pro měření UVB (280–315 nm; $W m^{-2}$) a UVA záření (315–380 nm; $W m^{-2}$; Skye, Velká Británie). Další senzory měří celkovou energii záření, tzv. global (400–1100 nm; $W m^{-2}$), fotosynteticky aktivní záření (FAR, 400–700 nm; $\mu mol m^{-2} s^{-1}$) a jeho podsložky v intervalech 510–700 a 600–700 nm ($\mu mol m^{-2} s^{-1}$; EMS Brno, Česká republika). Data jsou měřena po celý den každou minutu, přičemž je ukládán desetiminutový průměr. Všechny senzory jsou pravidelně kontrolovány a čištěny (jednou za měsíc v zimním období, jednou za dva měsíce po zbytek roku).

Pro další analýzy jsou používána pouze data měřená v době, kdy solární elevační úhel dosáhl hodnoty větší nebo rovno 8° . Tato hodnota byla určena nulovým modelem na základě poklesu počáteční variability v datech. V okolí měřicích stanic, zejména na Botanické zahradě, se vyskytují keře a nižší stromy, které v určité denní a roční době zastiňují senzory. Proto byly na základě horizontu v okolí měřicích stanic vypočítány kombinace solárních elevačních a azimutových úhlů, pro které jsou, nebo nejsou senzory v zástínu. Kontrola kvality byla provedena pouze u nezastíněných dat, pro něž byl solární elevační úhel větší nebo roven 8° .

V prvním kroku kontroly kvality byla získána data pro celkovou energii dopadajícího slunečního záření (250-4000 nm, Wh m^{-2} ; označení Global-E) na horní hranici atmosféry pro každou minutu studovaného období (zdroj: <http://www.soda-pro.com/web-services/radiation/cams-radiation-service>). Po převodu jednotek byly vypočítány desetiminutové průměry, a to tak, aby vypočítané a měřené hodnoty bylo možné srovnávat, zejména z hlediska zachování shodnosti časových údajů (data na stanicích jsou měřena v CET, stažená data jsou v UTC). Druhým krokem bylo určení procentuální části vybraných spektrálních složek na horní hranici atmosféry vzhledem k celkové energii záření (Global-E), a to s využitím radiačního modelu vytvořeného v programu libRadTran. Na základě tohoto určení byly vytvořeny převodní koeficienty, a to tak, že procentuální část z extraterestriální celkové energie dopadajícího záření (sloupec „% z Global-E“ v Tab. 1) byla vydělena číslem 100; v případě spektrálních intervalů měřených v jednotkách $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ byla tato hodnota navíc vynásobena převodním koeficientem (sloupec „Převodní koeficient $\text{W m}^{-2} - \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ “ v Tab. 1), který byl vypočítán jako podíl množství dopadající energie na horní hranici atmosféry v $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a ve W m^{-2} (druhý a třetí sloupec v Tab. 1). Finální převodní koeficienty umožňují vypočítat hodnotu ozáření vybraných spektrálních složek slunečního záření na horní hranici atmosféry z hodnot celkové energie dopadajícího záření. Na základě publikace /3/ bylo stanoveno, že hodnoty ozáření měřené u zemského povrchu musí náležet do intervalu $(0,03 \cdot E_0, E_0)$ s tím, že E_0 je vypočítaná hodnota ozáření pro daný spektrální interval v danou dobu na horní hranici atmosféry.

Tab. 1: Ozáření vybraných spektrálních oblastí na horní hranici atmosféry, jejich procentuální zastoupení vůči celkové energii dopadajícího záření a finální převodní koeficienty použité při výpočtech.

	W m^{-2}	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	% z Global-E (W m^{-2})	Převodní koeficient $\text{W m}^{-2} - \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Finální převodní koeficient
Global-E 250-4000 nm	1354,824	-	100		
Global 400-1100 nm	908,205	-	67,035		0,6703
UVB 280-315 nm	20,386	-	1,505		0,0150
UVA 315-380 nm	65,355	-	4,824		0,0482
400-700 nm	534,311	2432,153	39,438	4,5519	1,7952
510-700 nm	327,785	1644,228	24,194	5,0162	1,2136
600-700 nm	160,760	870,742	11,866	5,4164	0,6427

VÝSLEDKY A DISKUSE

Kontrolou kvality prošla data měřená v období od července 2014 do prosince 2016. V tomto období bylo vytvořeno celkem 131 148 záznamů pro stanici S1 (Botanická zahrada), 131 558 záznamů pro stanici S2 (Botanická zahrada) a 130 812 záznamů pro stanici S3 (areál ČHMÚ). Počet záznamů tvořil 99,61 % (stanice S1), 99,99 % (stanice S2) a 99,89 % (stanice S3) maximálního počtu možných záznamů v tomto období. Chybějící údaje jsou následkem chybného záznamu dat. Počet záznamů, pro které byl solární elevační úhel větší nebo roven 8° , byl 42,08 % (S1), 42,02 % (S2) a 41,91 % (S3) z celkového počtu záznamů.

Kontrolou kvality dat, tj. zjištěním, jestli měřené hodnoty náležejí do intervalu $(0,03 \cdot E_0, E_0)$ prošlo v průměru 97,56 % měřených dat (Tab. 2). U složky global byla většina dat, která neprošla kontrolou kvality, větších než hodnota E_0 , pro ostatní složky kromě UVB byla u stanic S1 a S2 většina dat, která neprošla kontrolou kvality, menších než $0,03 \cdot E_0$ pro stanice S1 a S2, ale větších než E_0 pro stanici S3. Hodnoty ozáření pro složku UVB prošly

kontrolou kvality dat pouze z 54 %, velké množství těchto dat vykazovalo příliš nízké hodnoty, které nenáležely do určeného intervalu.

Tab. 2: Procentuální průchodnost kontrolou kvality dat pro jednotlivé spektrální složky měřeného dopadajícího slunečního záření.

	S1	S2	S3
global	97,82 %	96,95 %	92,73 %
FAR	98,76 %	98,96 %	97,52 %
510-700 nm	98,54 %	98,83 %	97,30 %
600-700 nm	98,23 %	98,70 %	97,32 %
UVA	97,61 %	97,54 %	96,61 %
UVB	50,90 %	56,06 %	55,29 %

Data s takto vysokým časovým rozlišením poskytují dobrý nástroj pro další analýzy radiačního prostředí na území průmyslového města, přičemž porozumění radiačnímu režimu je zásadní ve vztahu k vegetaci a jejím ekosystémovým službám v městském prostředí. V nejbližší době jsou plánovány analýzy vybraných spektrálních poměrů (např. UVB/PAR, UVA/PAR) a změn jejich hodnot v závislosti na počasí a znečištění ovzduší.

LITERATURA

- /1/ Jacovides, C. P., Timbrios, F., Asimakopoulos, D. N., Steven, M. D.: Urban aerosol and clear skies spektra for global and diffuse photosynthetically active radiation. – *Agricultural and Forest Meteorology*, 87, 1997: 91–104.
- /2/ Jančík, P. et al.: Atlas ostravského ovzduší. Ostrava: VŠB-TUO Ostrava, 2013.
- /3/ Korany, M., Boraiy, M., Eissa, Y. et al.: A database of multi-year (2004-2010) quality-assured surface solar hourly irradiation measurements for the Egyptian territory. *Earth System Science Data*, 8, 2016: 105-113.
- /4/ Lambers, H., Chapin, III F. S., Pons, T. L.: *Plant Physiological Ecology*. Springer, 2008.
- /5/ Reddy, A. R., Raghavendra, A. S.: Photooxidative stress. in Madhava Rao K. V., Raghavendra A. S. & Reddy K. J. (eds.): *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance*. Springer, 2006.
- /6/ Säumel, I., Weber, F., Kowarik, I.: Toward livable and healthy urban streets: Roadside vegetation provides ecosystem services where people live and move. *Environmental Science & Policy*, 62, 2016: 24-33.
- /7/ Thuillier, G., Hersé, M., Labs, D. et al.: The solar spectral irradiance from 200 to 2400 nm as measured by the SOLSPEC spectrometer from the ATLAS and EURECA missions. *Solar Physics*, 214, 2003: 1-22.
- /8/ Younes, S., Claywell, R., Muneer, T.: Quality control of solar radiation data, present status and proposed new approaches. *Energy*, 30, 2005: 1533-1549.

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory programu COST (projekt LD14005), Ostravské univerzity (projekt SGS05/ÚVAFM/2017) a Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy v rámci účelové podpory programu „Národní program udržitelnosti I“ (projekt LO1208 „TEWEP“).

VLIV POLYAROMATICKÝCH POLUTANTŮ NA RŮST ENERGETICKÝCH PLODIN

INFLUENCE OF PAH POLLUTION ON ENERGY PLANTS GROWTH

Šárka Petrová, Alexandra Solodovnikova, Jan Rezek, Petr Soudek, Tomáš Vaněk
Laboratoř rostlinných biotechnologií, Ústav experimentální botaniky AV ČR, v.v.i., Rozvojová 263,
165 02 Praha, petrova@ueb.cas.cz

Summary

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) represent a significant problem, both from the environmental point of view and from the perspective of their entry into the food chain. The aim of this work was to determine the content of the 16 most important PAH in the soil from brownfield (Poldi Kladno) and in the biomass of poplars that were grown on this soil. The average C10-C40 concentration in soil was nearly 13 g/kg, which is more than the maximum allowable concentration. Both types of poplars grown on contaminated soil diluted 1: 1 in the greenhouse showed resistance to compounds toxicities and their ability to accumulate PAHs from soil was evident. However, in non-diluted soil the AF-8 poplars did not survive and, therefore, a more suitable species for the locality is the J-105 poplar.

Key words: polyaromatic hydrocarbons, phytoremediation, Populus sp.

Souhrn

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU) představují významný problém, a to jak z hlediska životního prostředí, tak i z hlediska jejich vstupu do potravinového řetězce. Cílem této práce bylo stanovit obsah 16 nejvýznamnějších PAU v půdě se starou ekologickou zátěží (Poldi Kladno) a v biomase topolů, které byly na této půdě pěstovány. V půdních vzorcích byly detekovány všechny sledované látky. Průměrná koncentrace C10-C40 v půdě byla téměř 13 g/kg, což je více než maximální přípustná koncentrace. Oba druhy topolů pěstovaných na kontaminované půdě ředěné pískem 1:1 ve skleníku ukázaly odolnost vůči toxicitě sloučenin a jejich schopnost akumulace PAU z půdy byla zřejmá. V neředěné půdě však topoly AF-8 uhynuli a tudíž vhodnějším druhem pro danou lokalitu se jeví topol J-105.

Klíčová slova: polyaromatické uhlovodíky, fytoremediace, Populus sp.

ÚVOD

K znečištění ŽP polyaromatickými uhlovodíky dochází především v průběhu nedokonalého spalování, těžby a zpracování uhlí. Většina sloučenin vstupuje do ŽP přes atmosféru, sedimenty a půdu, která funguje jako konečný rezervoár chemických látek. Tyto sloučeniny mají mutagenní a karcinogenní vlastnosti, proto jejich přítomnost v životním prostředí není žádoucí.

V České republice existuje mnoho lokalit se starým ekologickým zatížením, a proto existuje velká potřeba levnějších a účinnějších metod sanace. Jednou z takových lokalit je Poldi Kladno (cca 500 ha). Historie této oblasti pochází z poloviny 19. století, kdy zde byla postavena městská koksovna. Do provozu vstoupila v roce 1944 a poté se rozšířila. Pokles výroby koksu v 80. letech měl za následek ukončení výroby v roce 1988. Ekologická zátěž je zde způsobena především zpracováním vedlejších produktů koksu, zejména dehtů nebo olejů.

Jednou z možností, jak odstranit PAU z této kontaminované oblasti, je využití metod fytoremediace. Cílem této práce bylo zjistit, zda lze na kontaminované půdě pěstovat rostliny,

kteří budou schopny akumulovat PAU obsažené v půdě. Nejprve byl stanoven obsah nejvýznamnějších PAU v půdě a poté i v biomase rostlin, které byly na půdě pěstovány.

MATERIÁL A METODA

Zemina odebraná z lokality se starou ekologickou zátěží (Poldi Kladno 50.1513956N 14.1221556E) byla vysušena na vzduchu a proseta sítím 4 mm. Byly odebrány tři reprezentativní vzorky pro stanovení půdních charakteristik a obsahu polutantů. Poté byla zemina rozdělena na dvě části. Jedna část byla smíchána s pískem v poměrech 1:1, druhá část byla ponechána neředěná. Kontrolní rostliny byly pěstovány v zahradním substrátu smíchaném s pískem v poměru 1:1. Všechny varianty substrátů byly umístěny do květníků o průměru 23 cm spolu s jedním řízkem topolu J-105 (*Populus nigra* L. x *P. maximowiczii* Henry „Maxvier“) nebo AF-8 (*Populus x generosa* Henry) (Rudolf Nachtman, Česká republika). Květníky byly umístěny venku v areálu AV ČR Lysolaje v roce 2016.

Extrakce a analýza PAU

Extrakce PAU z půdy a rostlinných vzorků byla založena na metodě QuEChERS. Všechny vzorky byly zmrazeny, lyofilizovány a homogenizovány rozetřením ve třetí misce s kapalným dusíkem. Před samotnou extrakcí byly vzorky rehydratovány definovaným množstvím destilované vody a poté byly PAU extrahovány přidáním 400 mg MgSO₄, 100 mg NaCl a 1 ml EtOAc s obsahem vnitřního standardu (acenaften-D8 a fluoranten-D10) o koncentraci 1000 pg.μl/l. Po extrakci bylo přečištěno 0,5 ml supernatantu 150 mg MgSO₄ a 150 mg PSA Superclean™. Takto připravené extrakty byly před analýzou uchovávány v lednici.

Vzorky byly analyzovány na plynovém chromatografu s hmotnostně spektrometrickým detektorem Agilent 7890 vybavený dvoustupňovým teplotním modulátorem (LECO) mezi primární a sekundární kolonou, systém LECO Pegasus 4D s Time-of-Flight hmotnostním spektrometrem (TOFMS) spolu s víceúčelovým samplerem Gerstel MPS, teplotně programovatelným CIS4 inletem byly použity na GCxGC-TOFMS analýzy. Chromatografická separace byla prováděna na Restek Siltek Deactivated Guard Column (1,919 m × 0,25 mm I. D.), nepolární primární koloně SGE Analytical Science BPX5 (5% phenyl polysilphenylene-siloxane, 26,035 m × 0,25 mm I. D. × 0,25 μm film), modulace na primární koloně SGE Analytical Science BPX5 (0,1 m × 0,25 mm I. D. × 0,5 μm film), mírně polární sekundární koloně SGE Analytical Science BPX50 (50% phenyl polysilphenylene-siloxane, 1,624 m × 0,1 mm I. D. × 0,1 μm film), v transferline SGE Analytical Science BPX50 (0,21 m × 0,1 mm I. D. × 0,1 μm film). Teplotní program plynového chromatografu byl následující: počáteční teplota primární kolony 35 °C, trvání 2 min, teplotní rampa 5 °C/min, konečná teplota 320 °C, trvání 5 min. Sekundární kolona pracovala 10 °C nad teplotou primární kolony. Nosným plynem bylo helium při konstantním průtoku 1 ml/min během celé analýzy. Počáteční teplota CIS4 inletu byla -20 °C a koncová 250 °C (teplotní rampa 10 °C/s, čas držení 10 min). ChromaTOF software (Leco) byl použit na sběr a procesování dat.

VÝSLEDKY A DISKUSE

V půdě bylo detekováno všech 16 zvolených sloučenin PAU, z nichž 7 překročilo limitní hodnoty (tabulka 1). Nejvyšší překročení bylo u BaA, a to až 1678krát (srovnáno s přípustnými hodnotami podle vyhlášky MŽP č. 13/1994 Sb).

U topolů byla změřena koncentrace PAU ve větvích a listech. Ve stromcích rostoucích na půdě s 50% koncentrací PAU bylo akumulováno ve vzorcích listů topolu AF-8 sedm sloučenin PAU, u J-105 pouze dvě (Phe, Pyr). Ve větvích rostlin u obou odrůd byly detekovány tři látky – Phe, Pyr a Acy (u J-105) nebo Nap (u AF-8). Nejvyšší koncentrace

půdy (100 %) byla pro topoly AF-8 letální. Stromky J-105 rostoucích v 100% neředěné půdě akumulovaly v listech Flt, Phe, Pyr, Nap; a 10 látek ve větvích (tabulka 2). Koncentrace sloučenin byla ve větvích J-105 vyšší než v listech, což ukazuje na cílený transport látek.

Tabulka 1. Koncentrace PAU v Poldi půdě; maximální přípustné limity škodlivých látek v zemědělské půdě, průmyslových oblastech a ostatních půdách vztahených na sušinu /21/ /22/.

	Poldi půda c [mg/kg]	Limity c [mg/kg]		
		Zemědělská půda	Ostatní půdy	Průmyslové oblasti
Ace	32,34 ± 3,62	—	3400	33000
Acy	57,20 ± 4,64	—	—	—
Ant	109,1 ± 2,67	0,01	17000	170000
BaA	339,4 ± 30,41	1	0,15	2,1
BaP	352,5 ± 28,58	0,1	0,015	0,21
BbF	188,3 ± 21,64	—	0,15	2,1
BkF	359,3 ± 8,54	—	1,5	21
BghiP	119,9 ± 45,04	—	—	—
DBahA	110,9 ± 10,65	—	0,015	0,21
Flt	706,5 ± 47,78	0,1	2300	22000
Flu	53,40 ± 1,03	—	2300	22000
Chr	365,1 ± 9,23	0,01	15	210
IcdP	138,5 ± 7,98	—	0,15	2,1
Nap	16,56 ± 0,58	0,1	3,6	18
Phe	169,1 ± 11,86	0,1	—	—
Pyr	610,6 ± 69,52	—	1700	17000

Dosavadní výsledky ukazují, že organická kontaminace na lokalitě je vysoká. Průměrná koncentrace C10-C40 v půdě byla téměř 13 g/kg, což je více než maximální přípustná koncentrace. Oba druhy topolů pěstovaných na kontaminované půdě ředěné pískem 1:1 ve skleníku ukázaly odolnost vůči toxicitě sloučenin a jejich schopnost akumulace PAU z půdy byla zřejmá. V neředěné půdě však topoly AF-8 uhynuli a tudíž vhodnějším druhem pro danou lokalitu se jeví topol J-105. Je však třeba více studií, aby bylo možné rozhodnout, zda jsou tyto topoly použitelné pro fytoremediace přímo na sanované lokalitě.

Tabulka 2. Koncentrace PAU ve výhoncích topolů pěstovaných na kontaminované půdě smíchané s pískem v poměru 0; 50; 100%; n.d. — pod detekčním limitem; l. — list; v. — větev.

[%] Poldi	0				50				100			
	AF-8		J-105		AF-8		J-105		AF-8		J-105	
	listy	větve	listy	větve	listy	větve	listy	větve	listy	větve	listy	větve
Ace	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	n.d.	n.d.
Acy	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	23,2	n.d.	n.d.	14,7	-	-	n.d.	175,8
Ant	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	n.d.	n.d.
BaA	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	55,0	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	n.d.	456,5
BaP	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	n.d.	639,8
BbF	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	58,9	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	n.d.	551,6
BghiP	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	n.d.	424,5
BkF	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	40,4	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	n.d.	716,1
Chr	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	78,0	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	n.d.	574,5
DahA	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	n.d.	n.d.
Flt	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	130,2	1047
Flu	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	n.d.	58,97
IcdP	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	n.d.	413,3
Nap	300,8	94,67	n.d.	n.d.	137,5	161,9	n.d.	n.d.	-	-	26,55	n.d.
Phe	173,2	n.d.	97,05	n.d.	n.d.	85,13	68,07	131,6	-	-	181,0	n.d.
Pyr	n.d.	n.d.	22,82	n.d.	122,9	24,25	74,42	40,33	-	-	100,5	n.d.

LITERATURA

- /1/ Vyhláška MŽP č. 13/1994 Sb., kterou se upravují některé podrobnosti ochrany zemědělského půdního fondu, ve znění pozdějších předpisů; příloha 2.
 /2/ Metodický pokyn MŽP, indikátory znečištění 2013, příloha 1. Přehled hodnot indikátorů znečištění zemin, půdního vzduchu a podzemní vody (průmyslové, ostatní).

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory výzkumného záměru projektu LD14106.

EXTRÉMNÍ A RIZIKOVÉ METEOROLOGICKÉ JEVY A JEJICH DOPADY NA ZEMĚDĚLSKOU PRODUKCI V PODMÍNKÁCH KLIMATICKÉ ZMĚNY

EXTREME AND ADVERSE WEATHER EVENTS AND THEIR IMPACT ON AGRICULTURAL PRODUCTION UNDER CLIMATE CHANGE

Vera Potopová, Luboš Tůrkott

Česká zemědělská univerzita v Praze, FAPPZ, KAB Kamýčká 129, 165 21 Praha 6 – Suchbátka,
potop@af.czu.cz

Summary

The changing yield patterns of vegetable crops and the responses of their production to climate change impacts have been studied less than other plants. This paper summarizes the main results of the habilitation thesis concerning to the impacts of the adverse weather events on vegetable crops production under climate change conditions using various regional climatic models, regression models and dynamic growth model. The study area comprises all traditional vegetable-growing districts in the Czech Republic.

Key words: yield, vegetables, drought-heat stress, tomato, crop growth model

Souhrn

Problematika vlivu meteorologických extrémů na produkci polních zelenin není v současné době dostatečně řešena a její studie prakticky chybí. Tento příspěvek shrnuje část výsledků habilitační práce o dopadu předpokládaného vývoje klimatu na produkci zelenin ve vybraných zelinářských oblastech ČR. Dále se zabývá rizikovými meteorologickými faktory v průběhu širšího vegetačního období zelenin a jejich vlivem na vulnerabilitu produkce v podmínkách měnícího se klimatu, a to využitím různých regionálních klimatických modelů, regresních modelů a tzv. dynamického růstového modelu. Zároveň popisuje měnící se vzájemné vztahy mezi výnosem teplomilných zelenin a projevy klimatických změn, včetně určení perspektivy pěstování těchto zelenin pro současné a budoucí klima v Polabí.

Klíčová slova: výnos, zelenina, sucho-teplotní stres, rajčata, růstový model

ÚVOD

Jeden z dopadů extrémních meteorologických jevů na zemědělství v podmínkách klimatické změny je snížení výnosů v nejproduktivnějších oblastech. Výsledky analýz dopadů pozorovaných změn klimatu na výnosy čtyř hlavních plodin ukazují, že klimatické trendy negativně ovlivnily výnosy v řadě regionů světa, a to celkem u 79 % regionů pěstujících pšenici, 70 % regionů pěstujících kukuřici, 67 % regionů pěstujících sóju a 53 % regionů pěstujících rýži. V rámci globální průměrné roční produkce plodin bylo ovlivněno variabilitou klimatu 41 % (0,8 t/ha/rok) kukuřice, 32 % (0,1 t/ha/rok) rýže, 36 % (0,3 t/ha/rok) pšenice a 43 % (0,5 t/ha/rok) sóji /10/. Globální ztráta výnosů hlavních plodin činila 7 % u pšenice, 10 % u kukuřice, 11 % u sóji a 7 % u rýže. To pak vedlo k nepoměrnému navyšování cen těchto komodit o 28 %, 40 %, 44 % a 35 %. Předpokládá se, že propady v produkci plodin způsobené klimatickou změnou budou do roku 2020 dvojnásobné a do roku 2070 trojnásobné ve srovnání se současnými propady výnosů jednou až třikrát za dekádu. Výnosy zemědělských plodin v Evropě vzrostly o 24 – 39 %, avšak v posledních dekáдах je

v některých oblastech patrný pokles růstu nebo stagnace výnosů a to i přes pokrok v oblasti šlechtění. V posledních 20 letech v jihovýchodní Evropě výrazně narůstá riziko v intenzitě a četnosti abiotických faktorů s negativním dopadem na pěstování cukrové řepy, slunečnice a kukuřice /7/. Po roce 1990 je v Moldávii patrná stagnace výnosů u všech významných plodin. Navíc ekonomické studie změn klimatu a jeho vlivu na růst a výnos významných zemědělských plodin v průběhu posledních dvou desetiletí naznačují, že ekonomické ztráty při pěstování převyšují čistý zisk. Stagnující výnosy obilovin v zemích jihovýchodní Evropy jsou přičítány nižším výnosům způsobených vyšší četností sucha, tepelnému stresu, krátkému období plnění zrna a snižování schopnosti krajiny a půdy zadržovat vodu. Stejně tak zde ale může sehrát důležitou roli i změna v managementu. Téměř ve všech zemích jihovýchodní Evropy, klesají výnosy zemědělských plodin také v důsledku snížení úrovně N-hnojení po roce 1990, což bylo způsobeno změnou v systémech hospodaření, majetkoprávních vztahů k půdě a ekonomickou krizí /9/. Zvláště rizikovými oblastmi pro pěstování kukuřice a slunečnice se staly stepi na jihu Moldávie a poklesl produkční potenciál kukuřičné i řepařské výrobní oblasti. Od roku 1990 je pěstování kukuřice, cukrové řepy a slunečnice rentabilní pouze při použití závlah. Zavlažování je obtížné z důvodu vysokého stupně mineralizace a nutnosti čerpání vody z větších hloubek (v důsledku snížení úrovně podzemních vod), díky čemuž je zavlažování ekonomicky náročné. Ačkoliv výnosy všech plodin zaznamenávají v ČR vzrůstající trendy, došlo k výraznému nárůstu meziroční variability výnosů. Na základě hodnocení stability výnosů ozimých a jarní obilovin pro okresy střední Čech, bylo dokázáno, že oproti minulosti klimatická variabilita ovlivňuje proměnlivost výnosů v současných podmínkách více. U ječmene jarního, ovsa a pšenice jarní převyšují ročníky s nízkým výnosem nad roky s vysokým výnosem /8/. Negativní dopad vysokých teplot v období duben až červen dokládá na příkladu výnosů z jihovýchodní části ČR /13/. Na území ČR vedl nárůst průměrné teploty vzduchu za květen až červen o 1°C k poklesu výnosů až o 11 % (1961-2007) u pšenice ozimé a 10 % u ječmene.

Shrnutí očekávaných změn výnosů způsobených změnou klimatu v průběhu 21. století pro různé emisní scénáře v tropické i mírné oblasti (kombinovaně pro příklady “s“ a “bez“ adaptačních opatření) indikují negativní dopady s větší pravděpodobností po roce 2030. Cca 10 % projekcí do roku 2050 předpokládá vyšší výnosy o více než 10 % a cca 10 % projekcí udává ztráty výnosů o více než 25 %. Po roce 2050 pak riziko vážnějších dopadů narůstá a to v závislosti na úrovni oteplování a adaptačních opatření /4/. Výnosy kukuřice a pšenice začnou v tropických oblastech klesat při lokálním nárůstu teploty o 2°C. Negativní dopady na produkci všech plodin při překročení nárůstu teploty o 3 °C bez adaptačních opatření v kombinaci se zvýšenou poptávkou po potravinách budou znamenat riziko potravinové bezpečnosti v globálním i regionálním měřítku. Nárůst globální teploty o 4 °C způsobí vyšší frekvenci extrémně nepříznivých let pro pěstování plodin v evropských zemědělských oblastech. Na základě globálních simulací je předpokládán nárůst variačního koeficientu (Cv) v 64 % případů o více než 5 % a pokles o více než 5 % v 29 % případů /10/. Nárůst Cv může být způsoben poklesem výnosů či nárůstem směrodatné odchylky nebo kombinací obou. K nejvyšším ztrátám na výnosech bude docházet v jižní Evropě do roku 2080 (až 25 % ztráty). Ve střední Evropě a západní Evropě mohou očekávané vlny horka v období kvetení způsobit ztráty na výnosech pšenice. V severní Evropě se očekávají pozitivní změny ve výnosech způsobené též rozšiřováním klimaticky vhodných oblastí pro pěstování plodin /1/. Predikovaná zvyšující se koncentrace CO₂ předpokládá, pro ČR do roku 2050, nárůst průměrných výnosů až o 1,5 t/ha u j. ječmene a 2,0 t/ha u oz. pšenice /2/. Pokud by nebyl započítán přímý vliv CO₂, došlo by pravděpodobně k poklesu průměrných výnosů pšenice oz. na většině orné půdy (více než o jednu tunu na hektar). Medián změn výnosů dle scénáře s kontinuálním nárůstem CO₂ (RCP8.5) pro období 2070-2099 /11/ v porovnání s referenčním obdobím 1981-2010 se započtením přímého vlivu CO₂ udává, že u kukuřice a pšenice může

dojít, v případě oblastí nízkých zeměpisných šířek, ke snížení výnosů (5-45 %) a ke zvýšení výnosů (10-35 %) v případě vyšších zeměpisných šířek. V rozvojových zemích do roku 2080 poklesne zemědělská produktivita o 10-15 % z jednotkové plochy (při zahrnutí přímého i nepřímého vlivu vyšší koncentrace CO₂). V oblastech vyšších z. š. (Kanada, Rusko, severní Evropa, Jižní Amerika) může změna klimatu zvýšení výnosů, prodloužení vegetační sezóny a rozšíření rozlohy orné půdy (limitem však může být kvalita půdy). Při seskupení výsledků dle modelů “s“ a “bez“ dusíkatého hnojení, je výrazně více negativních případů bez dusíkatého hnojení. Modely simulující využití dusíkatého hnojení mohou zachytit zvýšení dynamiky růstu plodin a vyšší účinky CO₂ na výnos. Studie ukazují nižší vliv CO₂ na zvýšení výnosu při omezeném dusíkatém hnojení /11/.

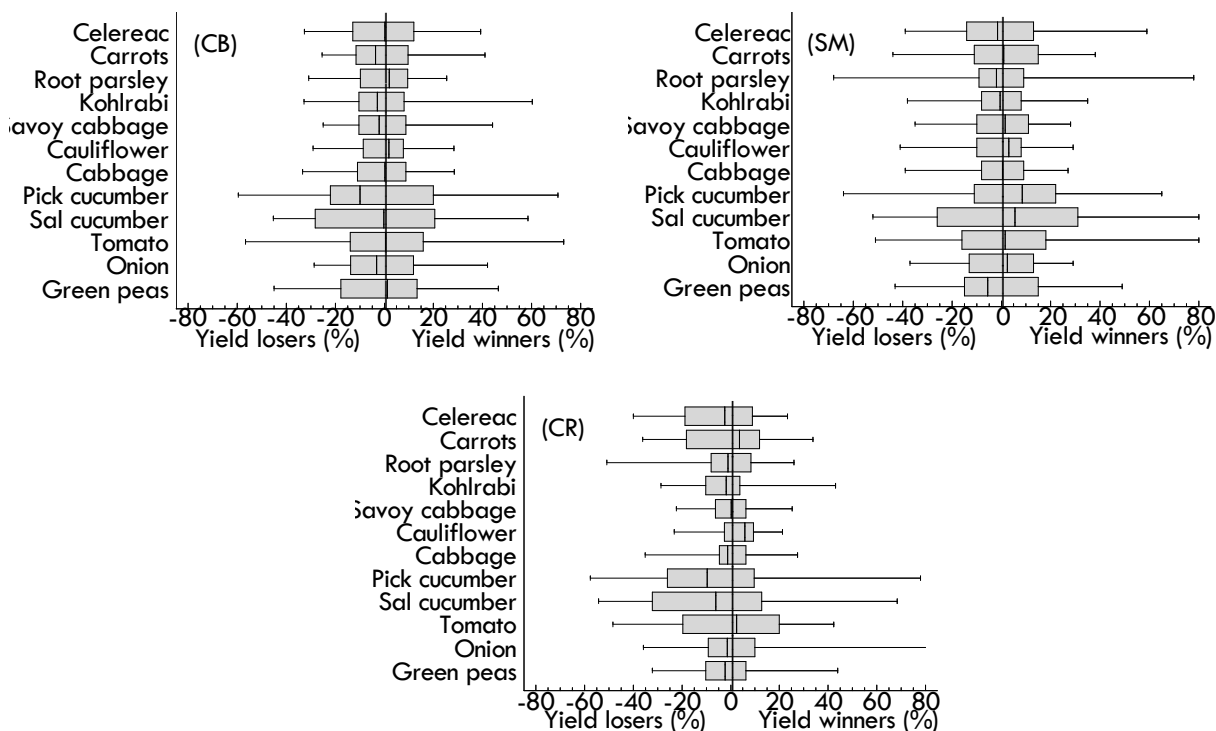
MATERIÁL A METODIKA

S ohledem na skutečnost, že byl důraz při řešení jednoho z cílů habilitační práce položen na rizikové meteorologické faktory a jejich kumulaci v průběhu širšího vegetačního období zelenin a následnou vulnerabilitu produkce, byla integrována aplikace různých regionálních klimatických modelů, regresních modelů a tzv. dynamického růstového modelu /5/. Zkušenosti s využitím růstových modelů u významných zemědělských plodin v ČR (obiloviny, řepka) má pracoviště Mendelovy univerzity v Brně /3/. Katedra agroekologie a biometeorologie České zemědělské univerzity v Praze se zabývá především možnostmi využití růstového modelu CROPGRO v DSSAT pro modelování výnosových parametrů rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum* L.) v podmínkách měnícího se klimatu v mikroregionu středního Polabí /6/. Úloha růstových modelů aplikovaných na produkci zelenin v ČR má však trochu jinou úlohu. Jde zde především o odhad stability výnosů a možnost rozšíření, v našem případě teplomilných zelenin, do nových areálů jejich rentabilního pěstování. Byla simulována změna výnosů jako funkce lokální teplotní změny. Metody použité v habilitační práci, pro analýzu dopadů rizikových meteorologických jevů na růst a kvalitu výnosů všech komerčně pěstovaných zelenin v ČR, byly ověřeny na rozsáhlém území produkčních oblastí v jednotlivých výškových pásmech. Tyto regiony mají vysokou hustotu sítě klimatologických stanic a výnosových řad na úrovni podniků, obcí, krajů, a za celé území v širokém časovém rozpětí. Tato studie prezentuje výsledky multikriteriální analýzy dopadů trendů klimatických charakteristik (průměrná teplota vzduchu [T_{prům}], průměrná maximální a minimální teplota vzduchu [T_{max}] a [T_{min}], průměrná denní amplituda teploty vzduchu [DTR] a průměrná suma srážek) a tendenci rizikových meteorologických jevů (jarní a podzimní mrazy, nadbytek srážek, bezsrážkové dny, sucho a počet dnů v suché periodě, tropické dny, horké vlny a počet dnů v horké vlně) na variabilitu výnosů 12 druhů zelenin v zelinářských oblastech ČR. Aby bylo možné posoudit různé aspekty vodního a tepelného stresu, bylo integrováno 6 indikátorů v denním kroku a 4 měsíční indexy sucha /5/. Tímto byly určeny: dominantní typ nepříznivé situace v citlivých fázích růstu a riziková období v souvislosti se ztrátou výnosu. Tato metoda popisuje odezvy závisle proměnné (výnosu) vzhledem ke změnám více nezávislé proměnných (tzv. nepříznivé situace a klimatické trendy).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Medián výsledků použitých modelů ukazuje u výnosu zelenin vyšší citlivost na změnu teploty oproti úhrnu srážek, avšak v případě extrémních teplotních a srážkových situací je citlivost vůči jednotlivým faktorům variabilní. Vliv změny srážek na výnos teplomilných zelenin se ale zvyšuje v případě nárůstu teploty vzduchu. Jedním ze závěrů je poukázání na nárůst jak minimální tak i maximální teploty vzduchu ve vegetačním období v zelinářských oblastech mezi lety 1989 a 2014. K výraznému zvýšení došlo převážně u teplotního minima, což má v konečném důsledku vliv na zmenšení denní amplitudy teploty vzduchu. V globálním měřítku je míra nárůstu minimální denní teploty dvojnásobná v porovnání s

nárůstem maximální teploty vzduchu. Rostoucí trendy T_{min} , T_{max} a klesající tendence DTR v Polabí a okresech jižní Moravy měly pozitivní efekt na plodovou zeleninu (medián výnosu stoupl více než o 10,0 % na 1°C), avšak v nejteplejších oblastech negativně ovlivňují stabilitu produkce pro Českou republiku historicky tradičních druhů kořenové zeleniny. Oteplující trend během vegetačního období plodové zeleniny v Polabí vedl v krátkodobém horizontu (1989-2014) k nárůstu výnosu více než o 13,7 %, zatímco za období širšího rozpětí (1961-2014) pouze o 5 %. Rostoucím trendem T_{min} a klesající tendencí DTR můžeme vysvětlit mírný růst výnosu košťálovin po roce 1989. Rostoucí trend T_{min} , T_{max} a klesající tendence DTR měly pozitivní vliv na výnos zelí o $2,5 \text{ \%} \cdot ^{\circ}\text{C}^{-1}$, $2,8 \text{ \%} \cdot ^{\circ}\text{C}^{-1}$ a $2,2 \text{ \%} \cdot ^{\circ}\text{C}^{-1}$. Dále byl určen dominantní typ nepříznivé situace, kterou je pro produkci rajčat a okurek výskyt stresu z vysokých teplot v citlivých fázích růstu. Změny T_{min} a DTR měly za následek snížení rizika poškození rostlin mrazem. Košťálovin jsou v ČR často zavlažovány, ale jak ukazují výsledky, zavlažování pouze zmírní následky sucha; tedy krátkodobá extrémní proměnlivost srážek do značné míry stále ovlivňuje produkci těchto plodin ve sledovaných okresech. Současně rostl, v kritických fázích růstu košťálovin, podíl dnů bez srážek a zvyšovala se intenzita srážek ve srážkových epizodách. Variabilitu výnosů cibulovin je v krátkodobém horizontu možné vysvětlit proměnlivostí extrémní teploty a srážek (sucho-teplotní stres), což je odrazem nejčastěji bezzávlahových technologií pěstování cibule v ČR. Výsledky využitých modelů dále ukazují na pokles výnosů kořenové zeleniny v důsledku nárůstu vodního a teplotního stresu a změn T_{min} . Při pěstování luštěnin je v důsledku jejich krátké vegetační doby riziko vzniku četných stresů nejnižší, avšak sucha i přesto zůstávají dominantním stresovým faktorem.



Graf. 1: Rozsahy nárůstů a poklesů v produkci zelenin v regionu středních Čech (CB), jižní Moravy (SM) a v České republice (CR) za období 1961 - 2014.

Dynamický model CROPGRO-Tomato umožní lépe porozumět souvislostem týkajících se extrémních teplot a mechanismu jejich účinku, a také pomůže objasnit interakce mezi prahovými teplotami a koncentrací CO_2 a prahovými teplotami a vláhovými poměry (sucho, vlhko). Jsou zde hodnoceny lokálně specifické podmínky v Polabí z hlediska tzv. potenciálního výnosu rajčat a jejich rozdílu vzhledem k průměrným reálným výnosům na

úrovni farem. Byly simulovány očekávané průměrné úrovně výnosů, změna variability výnosů a změna termínu výsadby dvou tyčkových hybridních odrůd (Thomas F1 a Palava F1) se zohledněním vlivu změny zvýšené koncentrace CO₂ a bez započítání přímého vlivu CO₂ na dvou lokalitách (Mochov - zelinářská oblast a Praha Suchdol - okrajová zelinářská oblast). Z modelové simulace je patrné, že v oblasti typické pro zelinářství odpovídá medián simulovaných výnosů bez přímého vlivu CO₂ při probírkové sklizni mediánu dat pokusných. Při porovnávání výsledků simulace se zvýšením CO₂ s daty z polního pokusu byly největší rozdíly zaznamenány v obdobích s kombinovaným stresem (teplo a sucho). V takových situacích model nadhodnocoval výsledek v porovnání s polním pokusem. To znamená, že v obdobích s teplotními a srážkovými anomáliemi a nárůstem koncentrace CO₂ model odhaduje vyšší plodnost rajčat. Tento pozitivní efekt převyšuje negativní působení zvýšené teploty vzduchu a variability srážek (při aplikaci závlah). Dále sklizňová zralost plodů rajčat nastává o 10-15 dní dříve na obou lokalitách. To je způsobeno vyšší průměrnou teplotou vzduchu, vyššími průměry teplotních extrémů a vyššími úhrny srážek. Avšak simulujeme-li navýšení pro rajčata optimální teploty vzduchu, dochází při teplotách nad 29,0 °C k redukci násady plodů až na 10 % v porovnání s růstem rostlin při teplotě 25,0 °C.

V závěru je možné konstatovat, že budoucí proměny v oblasti Polabí, ilustrované výstupy různých regionálních klimatických modelů, regresních modelů a tzv. dynamického růstového modelu, povedou k vytvoření vhodných podmínek pro efektivní pěstování teplomilných zelenin, a to za současnými hranicemi jejich rentabilního pěstování. Pozitivním výsledkem je, že při pěstování tradičních zelenin (košťálovin, cibulovin a luštěnin) v zelinářských oblastech ČR převyšují ročníky s čistým ziskem nad roky s ekonomickou ztrátou (graf 1). Na rozdíl od obilovin, je efekt probíhající klimatické změny při pěstování zelenin častěji pozitivní. Zvýhodněny jsou teplomilné druhy a odrůdy, které mohou z této změny do jisté míry profitovat. Modely a scénáře budoucího klimatu předpokládají prodloužení délky vegetačního období, avšak vážnou hrozbou, která eliminuje pozitivní efekt dřívějšího nástupu vegetačního období, zůstává výskyt jarních mrazů. Počet dnů s minimální teplotou pod bodem mrazu na jaře bude ubývat i v budoucnosti, ale překvapivě riziko pozdních mrazů paradoxně stoupne. Riziko škod jarními mrazy se bude významně zvyšovat díky postupnému oteplování a zkracování zimní sezóny. Prodlužováním vegetační sezóny bude docházet k časnějšímu nástupu vegetace, než tomu bylo v minulosti. Na jedné straně toto umožní efektivní využití zimní vláhy a porosty budou mít šanci uniknout jarnímu suchu, na straně druhé budou porosty ve vegetaci vystaveny riziku (zvláště vinice, ovocné dřeviny) jarních mrazíků. Z pohledu produkce polních zelenin zůstávají pozdní jarní mrazy rizikovým faktorem, avšak míra rizika klesá (10 %). Tyto pozitivní zprávy je přesto nutné vnímat v perspektivě dalších jevů, jako pravděpodobnost výskytu extrémních meteorologických událostí (především sucha), které mohou nepříznivě ovlivnit ekonomiku pěstování zelenin. Studie /12/ současně upozorňuje na nárůst variability faktorů prostředí a možnost výskytu i více negativních situací v jednom vegetačním období u obilovin. Podle /3/ s využitím růstového modelu HERMES bude v případě naplnění sušších scénářů změny klimatu velmi komplikované udržet v nejteplejších oblastech České republiky současnou úroveň průměrných výnosů pro ječmen jarní, pšenici ozimou, kukuřici na siláž a řepku ozimou.

LITERATURA

- /1/ Bindí, M., Olesen, J.E.: The responses of agriculture in Europe to climate change. *Regional Environmental Change*, 11(Suppl. 1), 2011: S151-S158.
- /2/ Eitzinger, J., Trnka, M., Semerádová, D., Thaler, S., Svobodová, E., Hlavinka, P., Šiška, B., Takáč, J., Malatinská, L., Nováková, M., Dubrovský, M., Žalud, Z.: Regional climate change impacts on agricultural crop production in Central and Eastern Europe – hotspots, regional differences and common trends. *Journal of Agricultural Science*, 151,2013: 787–812.

- /3/ Hlavinka, P., Kersebaum, K.C., Dubrovský, M., Fischer, M., Pohanková, E., Balek, J., Žalud, Z., Trnka, M.: Water balance, drought stress and yields for rainfed field crop rotations under present and future conditions in the Czech Republic. *Climate Research*. 65, 2015: 175-192.
- /4/ Porter, J.R., Xie, L., Challinor, A.J., Cochrane, K., Howden, M.S., Iqbal, M.M., Lobell, D.B., Travasso, M.I. (2014): Food security and food production systems, in: Field, C.B., Barros, V.R., Dokken, D.J., Mach, K.J., Mastrandrea, M.D., Bilir, T.E., Chatterjee, M., Ebi, K.L., Estrada, Y.O., Genova, R.C., Girma, B., Kissel, E.S., Levy, A.N., MacCracken, S., Mastrandrea, P.R., White, L.L. (Eds.), *Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Working Group II Contribution to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA
- /5/ Potopová, V.: Extrémní a rizikové meteorologické jevy a jejich dopady na zemědělskou produkci v podmínkách klimatické změny. Habilitační práce. Česká zemědělská univerzita v Praze. 2017: 1-72.
- /6/ Potopová, V., Türkott, L., Hiřmanová, D.: Využití modelu CROPGRO-Tomato pro simulaci růstových parametrů rajčete jedlého v polních podmínkách Polabí. In: Rožnovský, J., Litschmann, T. (eds): *Mrazy a jejich dopady Hrubá Voda* 26. –27. 4. 2017, ISBN 978-80-87577-69-1.
- /7/ Potopová, V., Boroneat, C., Boincean, B., Soukup, J.: Impact of agricultural drought on main crop yields in the Republic of Moldova. *Int J Climatol*. 36 (4), 2016: 2063-2082.
- /8/ Potopová, V., Štěpánek, P., Možný, M., Türkott, L., Soukup, J.: Performance of the standardized precipitation evapotranspiration index at various lags for agricultural drought risk assessment in the Czech Republic. *Agric. For. Meteorol.* 202, 2015: 26–38.
- /9/ Potopová, V.: Evolution of drought severity and its impact on corn in the Republic of Moldova. *Theor Appl Climatol*, 105 (3-4), 2011: 469-483.
- /10/ Ray, D.K., Gerber, J.S., MacDonald, G.K., West, P.C.: Climate variation explains a third of global crop yield variability. *Nature communication*. 2014: 1-9.
- /11/ Rosenzweig, C., Elliott, J., Deryng, D., Ruane, A.C., Müller, C., Arneth, A., Boote, K.J., Folberth, C., Glotter, M., Khabarov, N., Neumann, K., Piontek, F., Pugh, T.A., Schmid, E., Stehfest, E., Yang, H., Jones, J.W., 2014. Assessing agricultural risks of climate change in the 21st century in a global gridded crop model intercomparison. *Proc. Natl Acad. Sci.* 111, 3268–3273.
- /12/ Trnka, M., Rötter, R.P., Ruiz-Ramos, M., Kersebaum, K.C., Olesen, J.E., Žalud, Z., Semenov, M.A.: Adverse weather conditions for European wheat production will become more frequent with climate change. *Nature Climate Change*, 4, 2014: 637–643.
- /13/ Trnka, M., Brázdil, R., Olesen, J.E., Zahradníček, P., Kocmánková, E., Dobrovolný, P., Štěpánek, P., Možný, M., Bartošová, L., Hlavinka, P., Semerádová, D., Eitzinger, J., Valášek, H., Havlíček, M., Horáková, V., Žalud, Z.: Could the changes in regional crop yields be a pointer of climatic change? – *Agr. Forest Meteorol.*, 166, 2012: 62–71.

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory výzkumného záměru MSM 6046070901.

FLOOD AND DROUGHT RISK MANAGEMENT AT THE CATCHMENT LEVEL: A CASE STUDY IN THE REPUBLIC OF MOLDOVA

MANAGEMENT RIZIK SUCHA A ZÁPLAV NA ÚROVNI POVODÍ: PŘÍPADOVÁ STUDIE V MOLDÁVII

Vera Potopová¹, Valeriu Cazac², Boris Boincean³

¹ Department of Agroecology and Biometeorology/Czech University of Life Sciences Prague, Czech Republic, potop@af.czu.cz

² Hydrology Department/State Hydrometeorologic Service, Republic of Moldova

³ Research Institute of Field Crops "Selectia", Republic of Moldova

Summary

The main objective of this study was to identify extreme hydrological drought and floods using discharges and water level datasets in the Prut River catchment. Both phenomena have been quantified. Our study integrated hydrological and climatological networks operated by State Hydrometeorological Service in the Republic of Moldova. The Prut River catchment is highly regulated basin, and severe droughts and floods as experienced in recent decade cannot be seen as purely natural hazards. The gauging stations in the lower sector of the Prut recorded the highest discharges/water levels and the lowest precipitation because of excess water coming from upstream. The floods that greatly affected agriculture were occurred in 1996, 1998, 1999, 2002, 2005, 2006, 2008 and 2010. The severe hydrological droughts were occurred in 1994, 2000, 2007, 2011-2012 and 2015.

Key words: drought, floods, discharges, water level, Prut River Basin

Souhrn

Príspevek vznikl v rámci mezinárodního projektu IMDROFLOOD, který řeší různá opatření ke zlepšení zmírnění dopadu sucha a záplav na úrovni povodí. Všechny tyto postupy jsou prováděny v různých povodích Evropy (Moldávie, Rumunsko, Španělsko, Portugalsko a Estonsko) a Jižní Afriky (Jihoafrická republika), která zahrnuje kontrastní podmínky životního prostředí. Běžící projekt využívá aktuálně dostupných informačních zdrojů (meteorologické, hydrologické a dálkový průzkum Země) pro získávání nových a důležitých informací pro zvládání rizik povodní a sucha. V této práci jsou kombinována meteorologická a vodoměrná sledování povodí Prutu. Extrémní a rozsáhlá sucha byla pozorována v letech 1994, 2000, 2007, 2011-2012 a 2015 a velké povodně pak v letech 1996, 1998, 1999, 2002, 2005, 2006, 2008 a 2010, a to jak v Moldávii, tak i v Rumunsku.

Klíčová slova: sucho, povodně, průtok, hladina vody, řeka Prut

INTRODUCTION

A universal definition of drought must take into account the water supply in the soil, the actual need for water, and its management. Floods occur as a river response to very intense precipitation events in a short period of time or following sustained rainfalls over longer periods. Both phenomena are difficult to quantify and analyse. In the last decades, a series of severe and extensive droughts (2007 and 2012) and floods (2008 and 2010) have recorded over the Republic of Moldova (RM), resulting in tremendous economic losses /1/. The trans-boundary Prut River Basin (PRB) is one of the most drought vulnerable areas in the RM,

Romania and Ukraine due to high water exploitation. Drought and flood episodes are highly common within its territory, even during the same year, and the balance between water supply and demand is very fragile. This paper focuses on the Moldavian portion of Prut River's catchment in the framework of the project IMDROFLOOD (<http://imdroflood.csic.es>; <http://imdroflood.meteoromania.ro>). This project includes different tools to improve the monitoring and early warning of droughts and floods at the catchment level (over Europe and South Africa) by integrating observations from satellites, radar and meteorological/hydrological stations, and results from modelling. In this paper, we therefore aim to give an overview related to statistical analyses of temporal evolution of the discharge (Q) and water level (H) in the PRB.

MATERIALS A METHODS

The Prut River's catchment is shared by Moldova, Romania and Ukraine (Fig. 1a), and it is a trans-border river with 952.9 km in length, the first 211 km of the river is on Ukrainian territory, 31 km represents border between Romania and Ukraine, and the remaining 711 km represent a natural border between Romania and Moldova (71.9% of its total length). The catchment measures 27,500 km², of which 8226 km² (28%) lies in the RM (Fig. 1b). The mean annual temperature in the Prut catchment is 9.2°C, and the mean annual precipitation ranges from 524 to 636 mm. Precipitations decrease from North to South and the spatial distribution of precipitations is significantly affected by the terrain. The mean annual discharge increases towards downstream. Discharges in the downstream reaches of the Prut are controlled by the Stanca-Costesti reservoir. The reservoir was constructed with a mitigation level of 550 millionm³, allowing the mitigation of a 1% probability flood from 2940 to 700 m³s⁻¹ /2/. After construction of the Stanca-Costesti reservoir, floods on the Moldovian parts of the Prut diminished considerably (from 3350 to 1910 m³s⁻¹). Arable land occupies 54.7% of the Prut catchment, while forests occupy 10.7%, perennial cultures occupy another 16%, and the water surface occupies only 2.5%.

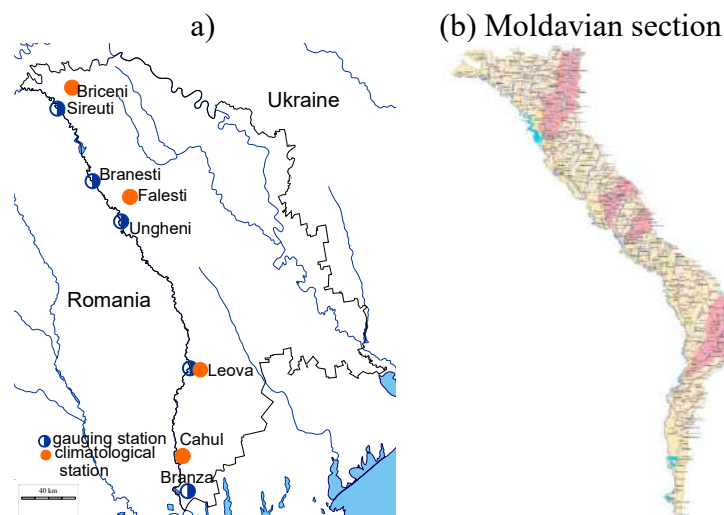


Fig. 1: Distribution of the main climatological and hydrological stations in the Prut River's catchment.

Our study integrated hydrological and climatological observational networks such as five hydrological gauges (Sireuti, Braneste, Ungheni, Leova and Brinza) and four climatological stations (Briceni, Falesti, Leova and Cahul), which cover the Prut River Basin key area of the RM (Fig. 1). Lack of available data is generally a problem in water management, but especially in drought and flood management. Hydrological observational records are not long enough in the Prut River, some variables are not monitored at all, or observations are influenced by human activities. Only 5 gauges on the Prut River in Moldova provide continuous hydrological

observation data, but for different periods and variables. Sirauti gauge has a relatively natural flow in the upstream sector of Prut River, and it is not modified by reservoir. Whereas the gauges of Braneste, Ungheni, Leova and Brinza represent flow modified by operation of Costesti-Stinca Hydropower reservoir (controls the downstream discharge and water level). Much older discharge data before the construction of the Costesti-Stinca reservoir is available from Leova station (1956-1979). To overcome these problems, hydrological models can be used to extend data series, fill gaps, and naturalize disturbed time series (Fig. 2). Monthly data of precipitation, discharges and water level over a 29-year period have been used.

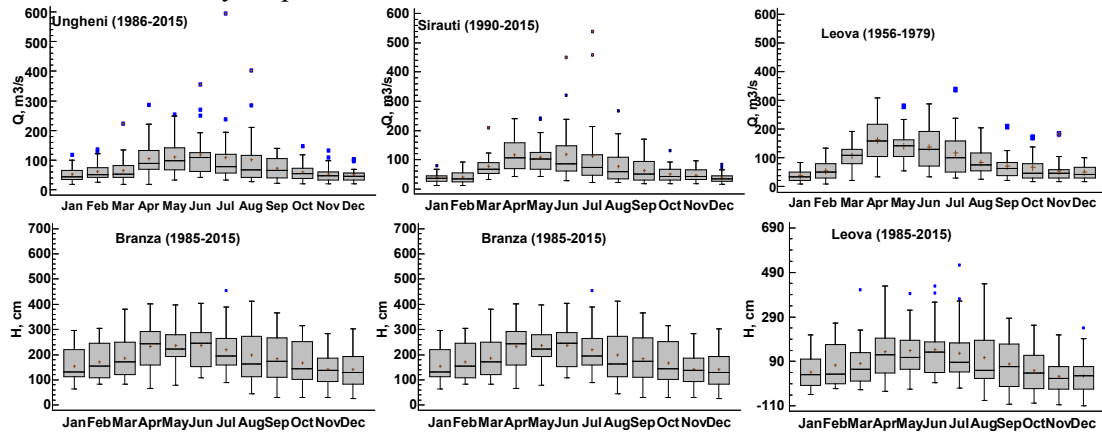


Fig. 2: Boxplots of the monthly mean discharges (Q , $m^3 s^{-1}$) and water level (H , cm) of the main gauging stations.

RESULTS AND DISCUSSION

The multiannual cycle of the monthly discharge, water level, maximum and minimum air temperatures, precipitation totals and average daily solar radiation in PRB are shown in Fig. 3.

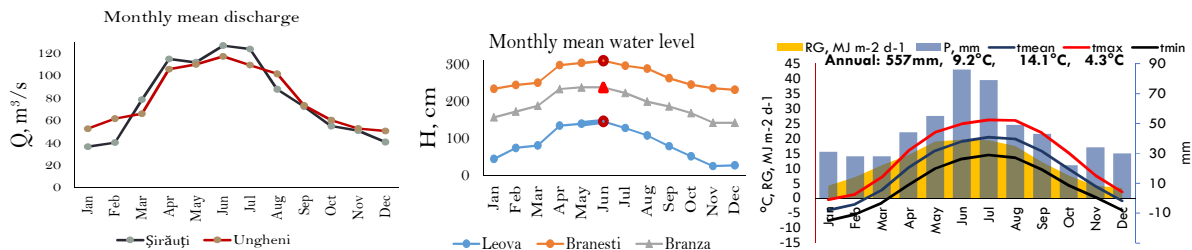


Fig. 3: The multiannual cycle of the monthly discharge, water level, and spatially-averaged mean, maximum, and minimum air temperature means, precipitation totals and average daily solar radiation for the period 1986-2015 in the Prut River catchment.

The highest average Q is registered in June and is equal to $117\text{--}127\text{ m}^3\text{s}^{-1}$, and the minimal flow, under $60\text{ m}^3\text{s}^{-1}$, is registered during winter months. The gauging stations in the lower sector of the Prut recorded high discharges because of excess water coming from upstream and the middle sectors of the Prut. Hydrological excess and deficit availability of water for the entire study period can be found in Tab. 1. The historical evolution of Q after and before the construction of reservoir are summarized in Fig. 3. The floods that generated significant damages are occurred in 1998, 2005, 2006, 2008 and 2010. The severe hydrological drought are occurred in 1983-1984, 1994, 2000, 2011-2012 and 2014-2015. The flash floods in June ($450\text{ m}^3\text{s}^{-1}$) and July ($539\text{ m}^3\text{s}^{-1}$) of 2010 were generated by extremely heavy rains. Cumulative heavy rains from June-July of 2010 caused water levels to exceed the flood danger level. It was one of the longest flood waves, similar to the one of 2008 in the PRB. According to study of [2], at the Ungheni gauging station, floods were recorded throughout the entire month of July. The maximum Q was $673\text{ m}^3\text{s}^{-1}$ on 8 July 2010 (Romania). Flooding continued until 5 August 2010. The flood danger level was exceeded during the 12-day period from 6 to 17 July 2010. The maximum water level

was 661 cm /2/, while in Moldavian section was 699cm on 9 July 2010. The maximum water level was 1164 cm on 28 July 2008 at Siraut gauging station. In the lower course of the river Prut in the extreme dry months volume of the river flow and water level were below the ecological flow (less than $25 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$), which affecting the hydrological regime and ecological state of the floodplain lakes.

Tab. 1: The top years with the highest and lowest observed monthly flow

Flow, m^3s^{-1}	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec
Min	11.4	13.2	32.9	43.8	42.5	27.7	21.9	23.5	17.7	16.9	17.6	14.7
year	1993	2003	1991	1996	2000	2000	2012	2012	2012	2012	2011	2012
			210.	241.	242.	450.	539.	268.	170.	132.		
Max	80.1	91.1	0	0	0	0	0	0	0	0	96.8	73.3
year	2011	2002	1999	2006	1998	2010	2010	2005	1996	2008	1998	1996

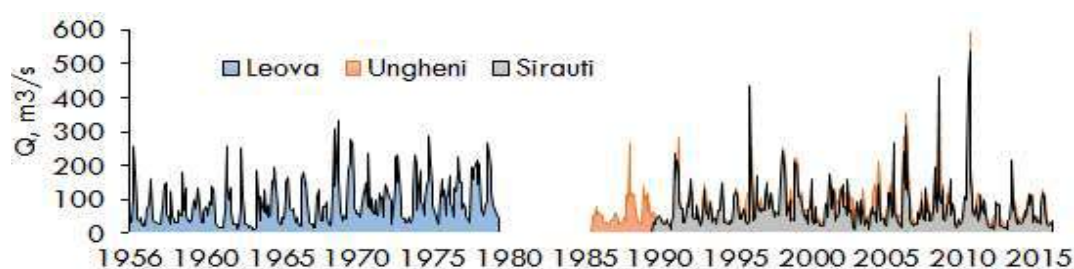


Fig. 3: Temporal evolution of the mean monthly Q in the PRB.

The extremely low flow during April-May (Sirauti, less than 60% below normal) occurred during the following years: 1990, 1991, 1994, and 1996 (38.4 %), 2001, 2004, and 2007 (36.7 %), 2009 (55.0 %), and 2013 (May-59.7%). Conversely, hydrological excess occurred during the following years: 1991 (214 %), 1996 (145 %), 1998 (218 %), 1999 (182 %), 2006 (215 %), 2008 (174 %), 2010 (173 %) and 2013 (April-189%). The extremely low flow during summer occurred during the following years: 1990, 1993, 1996, and 2000 (24.7%), 2004 (27.7%), 2008, 2011 (47.5%). Conversely, hydrological excess occurred during the following years: 1992 (145%), 1998 (213%), 2001 (161%), 2006 and 2008 (285-434%), 2010 (354-508%). The autumn flood type rarely occurs on the middle course of Prut. We can summarize that the heavy rains fallen in the upstream sector of Prut (in Ukraine), and/or local long-lasting precipitation in the middle course of Prut initiated a series of flash floods which cause inundation of large areas from upstream to downstream sectors of the Prut. Summer floods of 2008 and 2010 were the most extreme flood waves in the history of hydrology records on the PRB.

REFERENCES

- /1/ Potopová, V., Cazac, V., Boincean B.: A preliminary assessment of hydroclimatic drought indicators in the trans-boundary Prut River Basin: A case study in the Republic of Moldova. In: *International congress on water: Floods and Drought*. 27-28 Oct 2016, Ourense, Spain.
- /2/ Romanescu, G., Stoleriu, C.C.: Exceptional floods in the Prut basin, Romania, in the context of heavy rains in the summer of 2010. *Nat. Hazards Earth Syst. Sci.*, 2017: 381–396.

Acknowledgements

This paper presents the research undertaken within the project IMDROFLOOD–WaterWorks2014 Improving Drought and Flood Early Warning, Forecasting and Mitigation using real-time hydroclimatic indicators (N. 16.820.5107.01).

VLHKOSTNÍ POMĚRY PROSTŘEDÍ A JEJICH VLIV NA VÝNOS PŠENICE OZIMÉ

THE MOISTURE ENVIRONMENTAL CONDITIONS AND THEIR EFFECT ON THE YIELD OF WINTER WHEAT

Petra Procházková¹, Adéla Svejková², Filip Chuchma³

¹ Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství, Zemědělská 1, 613 00 Brno, petra.prochazkova@mendelu.cz

² Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Ústav aplikované a krajinné ekologie, Zemědělská 1, 613 00 Brno, xsvejkov@node.mendelu.cz

³ Český hydrometeorologický ústav, Oddělení meteorologie a klimatologie, Kroftova 43, 616 67 Brno, filip.chuchma@chmi.cz

Summary

Wheat grain yields and values of the effective drought index (EDI) in the critical period in terms of yield formation of winter wheat in the Czech Republic were evaluated for the period 1971–2015. The EDI was calculated for four different experimental stations. The EDI is based on the calculation of effective precipitation using only daily precipitation. At these stations were determined dry years: 1974, 1976, 1993, 2012, and humid years: 1987, 1996, 2006, 2010. The historical yield range from the experimental stations for the wheat was correlated with the values of the EDI across the stations for each decade (ten days). The statistically significant correlations ($\alpha = 0.01$, $\alpha = 0.05$) between the wheat yield and the value of the EDI were found in 1., 2., 3., 10. and 11. decade of vegetation.

Key words: wheat, yield, drought, the effective drought index

Souhrn

Výnosy pšenice seté a hodnoty indexu intenzity sucha (EDI) v kritickém období z hlediska tvorby výnosu pšenice ozimé v České republice byly vyhodnoceny za období 1971–2015. Index EDI byl vypočítán pro čtyři rozdílné pokusné stanice. Výpočet indexu EDI je založen na metodě efektivní srážky, která využívá pouze denní srážková data. Na těchto stanicích byly stanoveny suché roky: 1974, 1976, 1993, 2012, a vlhké roky: 1987, 1996, 2006, 2010. Historické výnosové řady pšenice z pokusných stanic byly korelovány s hodnotami indexu EDI napříč stanicemi pro jednotlivé dekády (deset dní). Byly zjištěny statisticky průkazné korelace ($\alpha = 0,01$; $\alpha = 0,05$) mezi výnosem pšenice a hodnotou indexu EDI v 1., 2., 3., 10. a 11. dekádě vegetace.

Klíčová slova: pšenice, výnos, sucho, index intenzity sucha

ÚVOD

Ve scénářích důsledků změny klimatu se předpokládá častější výskyt povodní, ale také delší periody s intenzivnějším projevem sucha /1/. Sucho, které náleží mezi abiotické stresové faktory, můžeme chápat jako pozvolna nastupující přírodní nebezpečí, které se projevuje ve všech klimatických zónách /2/. Sucho je definováno jako jev, který se vyznačuje pomalým vznikem i vývojem, který trvá měsíce. Avšak někdy se může vyskytovat v průběhu celé sezóny, roků a dokonce i dekád. Určení začátku a konce sucha je velice obtížné a vyžaduje aplikování celé řady meteorologických, ale také hydrologických proměnných. Účinky působení sucha mají kumulativní charakter, intenzita sucha se stupňuje s každým dalším

dnem. Dopady sucha mohou přetrvat i několik let poté, co je opět dosaženo normálních srážkových poměrů /3/.

Nedostatek vody patří celosvětově mezi nejvýznamnější stresové faktory v rostlinné produkci, který může mít významný dopad nejen na objem ale i na kvalitu produkce. Dopad jednotlivých epizod sucha je kromě samotné délky a intenzity meteorologického sucha ovlivněn i obdobím výskytu. Každá epizoda sucha je z tohoto důvodu unikátní nejen svým průběhem, ale i následky /4/.

MATERIÁL A METODA

Cílem bylo kvantifikovat vazbu mezi hodnotou EDI a výnosem zrna pšenice. Pro popis vazby byla vybrána jako modelová plodina pšenice setá (*Triticum aestivum* L.), její ozimá forma (pšenice ozimá). Byla zjištěna závislost indexu EDI (effective drought index) a výnosu zrna pšenice na 4 pokusných stanicích Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského (ÚKZÚZ), a to za období 1971–2015.

Pokusné stanice se nacházejí v odlišných výrobních oblastech v nadmořské výšce od 171 do 505 m n. m. s průměrnou roční teplotou od 7,4 do 9,6 °C a ročními srážkovými úhrny od 461 do 616 mm (Tab. 1).

Tab. 1: Základní charakteristika pokusných stanic ÚKZÚZ

Stanice	Výrobní oblast	Nadmořská výška (m)	Dlouhodobá průměrná teplota (°C)	Dlouhodobý průměrný úhrn srážek (mm)	Půdní druh a typ
Brno–Chrlice	ŘVO	190	9,0	451	FMm – h
Jaroměřice n. Rokyt.	OVO	425	8,0	471	HMm – jh
Lednice	KVO	171	9,6	461	ČMm – h
Lípa	BVO	505	7,5	594	KMg – ph

Legenda: ŘVO – řepařská výrobní oblast, OVO – obilnářská výrobní oblast, KVO – kukuřičná výrobní oblast, BVO – bramborářská výrobní oblast, ČMm – černozem typická, FMm – fluvizem typická, HMm – hnědozem typická, KMg – kambizem pseudoglejová, h – hlinitá, jh – jílovitohlinitá, ph – písčitohlinitá.

U sledovaných stanic byla použita jednotná agrotechnika (předplodina, hnojení) a odrůdová skladba byla v daném roce v rámci pokusů ÚKZÚZ totožná. Hodnoceny byly pouze výnosy po dobré předplodině (nejčastěji luskoviny) z pěstitelského systému na úrovni optimální intenzity hnojení a ochrany rostlin dle metodiky ÚKZÚZ pro vedení staničních pokusů.

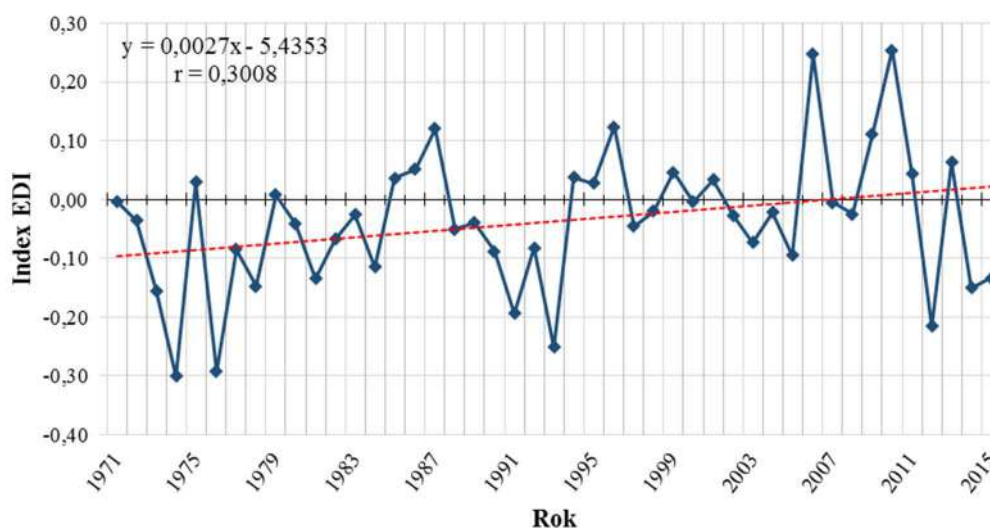
Pro kvantifikaci sucha byl z řady různých charakteristik zvolen index EDI, jehož výsledkem je bezrozměrné číslo. Tento index sucha byl vypočítán na základě metody efektivní srážky, která využívá srážková data u dané pokusné stanice v denním kroku za posledních 365 dní. Index EDI byl navržen pro detekci počátku a konce suchých epizod, který zároveň umožňuje objektivní srovnání mezi různými místy nezávisle na jejich klimatických poměrech. Výhodou metody efekty srážky je její nenáročnost na vstupní údaje a precizní vymezení suchých období, které je umožněno použitím denních srážkových úhrnů u dané lokality /5/.

Výnosové řady pokusných stanic byly porovnávány s dekádními hodnotami indexu EDI od 61. do 180. dne roku za sledované období 1971–2015. Těsnost vztahu byla vyjádřena prostřednictvím korelačního koeficientu.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Prostřednictvím metody efektivní srážky byl vypočten index EDI v jednotlivých dekádách sledovaných let na každé pokusné stanici. Pomocí indexu EDI byly vyhodnoceny všechny roky napříč pokusnými stanicemi. Mezi velmi srážkově nepříznivé patřily roky 1974, 1976, 1993 a 2012, průměrná roční hodnota indexu EDI za všechny dekády dosahovala méně než 0,2. Nejvyšší hodnoty indexu EDI (nad 0,1) byly dosahovány v letech 1987, 1996, 2006 a 2010, kdy tyto roky byly srážkově nejprůzračnější.

Graf 1 znázorňuje průběh průměrných ročních hodnot indexu EDI všech sledovaných stanic ÚKZÚZ, který vykazuje při korelačním koeficientu $r = 0,3008$ statistickou průkaznost ($n = 45$) na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Na základě dosažených nízkých průměrných dekádních (desetidenních) hodnot indexu EDI u všech testovacích stanic byl rok 2012 velmi srážkově podprůměrným, kdy byla zjištěna nejnižší hodnota -0,538 v dekádě od 71. do 80. dne. V tomto roce se potýkala celá jižní Morava i střední Čechy s velmi nízkými hodnotami zásoby půdní vláhy, kde průměrná hodnota využitelné vodní kapacity (VVK) nepřesáhla 50 % /6/. Pro obilniny je výnosově a kvalitativně nestresující hodnotou 55 % VVK pro všechny fáze růstu, kromě počátku kvetení (45 %) a zrání /7/.



Graf 1: Průběh průměrných ročních hodnot indexu EDI napříč stanicemi za období 1971–2015

Na základě průměrné roční hodnoty indexu EDI za všechny dekády (od 61. do 180. dne) napříč stanicemi ÚKZÚZ byly rozděleny ročníky do dvou kategorií: suché roky ($EDI < 0$) a humidní roky ($EDI > 0$). U každé kategorie ročníků byly dekádní hodnoty indexu EDI korelovány s ročními výnosy zrna u jednotlivých pokusných stanic (Tab. 2). Vztah byl vymezen prostřednictvím korelačního koeficientu. Statisticky průkazný ($\alpha = 0,05$), případně vysoce průkazný ($\alpha = 0,01$) byl zjištěn v 1., 2., 3., 10. a 11. dekádě vegetačního období. Vysoce průkazný vztah ($\alpha = 0,01$, $n = 27$) v suchých letech byl zjištěn na stanicích Lednice a Jaroměřice nad Rokytnou ve 2. a 3. dekádě vegetace (71.–90. den) a v humidních letech ($\alpha = 0,01$, $n = 18$) na stanici Lípa ve 3. dekádě vegetace (81.–90. den). Statistický průkazný vztah byl zjištěn na všech stanicích v určitých fázích vegetace (1., 3., 10. a 11. dekáda).

Statisticky průkazných závislostí bylo převážně dosaženo v měsíci březen (1.–3. dekáda) ve fázi odnožování, která rozhoduje o počtu nasazených klasů a založení sekundárních kořenů /8/ a v měsíci červen (10.–11. dekáda), ve kterém probíhá citlivá fáze kvetení. Z hlediska negativního dopadu sucha na výnos pšenice je nejdůležitější období od dubna do června, kdy probíhají k suchu nejcitlivější fáze vývoje a tvorby výnosu pšenice /9/.

Tab. 2 Vztah mezi indexem EDI a výnosem pšenice u vybraných stanic za období 1971–2015

Dekáda (deset dní)	LED		JAR		CHR		LIP	
	Suché	Humidní	Suché	Humidní	Suché	Humidní	Suché	Humidní
61–70	0,254	0,063	0,260	-0,005	* 0,436	0,053	* 0,399	-0,282
71–80	0,189	-0,269	** 0,487	0,357	0,284	0,025	0,370	0,037
81–90	** 0,586	0,105	* 0,389	-0,298	* 0,393	-0,024	0,239	** -0,654
91–100	0,147	-0,148	-0,012	-0,112	-0,168	-0,413	0,047	-0,217
101–110	0,080	-0,239	0,099	-0,014	0,060	0,068	-0,054	0,012
111–120	0,057	0,001	-0,098	-0,038	-0,020	-0,254	-0,253	-0,109
121–130	0,272	-0,221	0,101	-0,111	-0,027	0,177	-0,016	-0,021
131–140	0,250	0,048	-0,074	0,300	-0,096	0,291	-0,209	-0,338
141–150	0,100	0,134	0,021	0,056	0,022	-0,089	-0,010	-0,116
151–160	0,122	0,037	* 0,423	-0,455	0,365	-0,184	0,244	-0,114
161–170	0,019	* -0,560	0,069	-0,200	0,046	* -0,492	0,001	-0,369
171–180	0,181	0,450	0,081	0,175	-0,034	0,042	0,103	-0,411

Legenda: ** statisticky vysoce průkazný vztah, * statisticky průkazný vztah, LED – Lednice, JAR – Jaroměřice nad Rokytnou, CHR – Brno–Chrlice, LIP – Lípa.

LITERATURA

- /1/ IPCC: Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2013.
- /2/ Hayes, M., Svoboda, M., Wall, N., Widhalm, M.: The Lincoln declaration on drought indices: universal meteorological drought index recommended. *American Meteorological Society*, 92, 2011: 485–488.
- /3/ Blinky, P.: Klimatologické hodnocení sucha a suchých období na území ČR v letech 1876–2003. In *Extrémny počasí a podnebí*. Brno, Česká republika, 11. března. Brno: Česká bioklimatologická společnost, 2004.
- /4/ Brázdil, L. R., Kirchner, K.: Vybrané přírodní extrémy a jejich dopady na Moravě a ve Slezsku. 1. vyd., Brno: Masarykova univerzita, 2007.
- /5/ Byun, H. R., Wilhite, D. A.: Objective Quantification of Drought Severity and Duration. *Journal of Climate*, 12, 1999: 2747–2756.
- /6/ Mužíková, B., Středa, T., Krmelová, P., Dvořáčková, O.: Výnosy ječmene setého v klimatických podmínkách České republiky. *Kvasný průmysl*, 59, 2013: 352–357.
- /7/ Doorenbos, J., Pruitt, W. O.: Guidelines for predicting crop water requirements. Rome: Food and Agriculture Organization, 1984.
- /8/ Haberle, J., Trčková, M., Růžek, P.: Příčiny nepříznivého působení sucha a dalších abiotických faktorů na příjem a využití živin obilninami a možnosti jeho omezení. *Metodika pro praxi*. Praha: VÚRV, 2008.
- /9/ Hlavinka, P., Trnka, M., Semerádová, D., Dubrovský, M., Žalud, Z., Možný, M.: Effect of drought on yield variability of key crops in Czech Republic. *Agricultural and Forest Meteorology*, 149, 2009: 431–442.

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory výzkumného projektu IGA IP_18/2016.

ODOZVA VYBRANÝCH POPULÁCIÍ JEDLE NA AKTUÁLNE PODMIENKY PROSTREDIA POČAS VEGETAČNEJ SEZÓNY 2016

RESPONSE OF SELECTED FIR POPULATIONS TO ACTUAL ENVIRONMENTAL CONDITION DURING PEAK OF GROWING SEASON 2016

Eva Pšidová, Jana Kučerová, Kristína Slugeňová, Marek Ježík, Ľubica Ditmarová
Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied vo Zvolene, Štúrova 2, 960 53 Zvolen, SR,
psidova@savzv.sk

Summary

Fir (*Abies alba* Mill.) is the second most important coniferous tree, from the point of view of economic importance. Because of that provenance research was aimed to fir populations as well. The aim of this study is to provide information about differences in ability of selected fir populations adapt to current environmental conditions based on physiological observations. CO₂ assimilation rate (P_n), stomatal conductance (g_s), accumulation of proline and state of assimilation pigments were recorded. We observed some differences in reaction of studied individuals represented selected population of fir. Although at a minimum, we found better adaptation in population from the higher altitude conditions and higher annual precipitations.

Key words: fir, population, physiological traits, adaptation, environmental conditions

Súhrn

Jedľa biela (*Abies alba* Mill.) je druhou hospodársky najvýznamnejšou ihličnatou drevinou hneď po smreku. Z tohto dôvodu bol provenienčný výskum zameraný na populácie jedle. Cieľom tejto štúdie je poskytnúť informácie o rozdieloch v schopnosti vybraných populácií jedle prispôsobiť sa aktuálnym podmienkam prostredia na základe fyziologických pozorovaní. Zaznamenávali sme rýchlosť fotosyntézy (P_n), prieduchovú vodivosť (g_s), akumuláciu prolínu a obsah asimilačných pigmentov. Pozorovali sme rozdiely v reakciách študovaných populácií. Aj keď v minimálnej miere zaznamenali sme lepšiu schopnosť adaptácie u populácie z vyššej nadmorskej výšky a vyšším priemerným úhrnom zrážok.

Kľúčové slová: jedľa, populácia, fyziologické znaky, adaptácia, podmienky prostredia

ÚVOD

Medzi hospodársky najvýznamnejšie ihličnaté dreviny v európskom meradle patria smrek (*Picea abies* [L.] Karst.) a hneď za ním jedľa (*Abies alba* Mill.). Štúdium adaptačných potenciálov týchto drevín naberá na význame nie len v kontexte prebiehajúcich zmien klímy, ale tiež v kontexte významu horských lesov. Jedľa biela nie je považovaná za drevinu ohrozenú, ale je potrebné venovať pozornosť značnému ústupu tejto dreviny, ktorý bol v posledných rokoch zaznamenaný nie len z dôvodu dopadov klimatických zmien ale najmä nedostatočnej genetickej variabilite /9/. Predmetom nášho experimentu bolo sledovanie schopnosti adaptácie populácií jedle rozdielneho pôvodu (prirodzený areál rozšírenia jedle) na dané podmienky prostredia. V nasledujúcej práci sme sa zamerali na prezentáciu výsledkov vybraných fyziologických pozorovaní (fotosyntéza, asimilačné pigmenty a prolín) počas vrcholu vegetačnej sezóny 2016.

MATERIÁL A METÓDA

V priebehu vegetačnej sezóny 2016 prebiehal ekofyziologický výskum jedle bielej (*Abies alba* Mill.) na provenienčnej ploche Hertník (SK-H) v okrese Bardejov – východné Slovensko. Provenienčná plocha SK-H (NLC Zvolen) bola založená v roku 2005 pod záštitou Medzinárodného zväzu lesníckych výskumných organizácií IUFRO – kedy pri zakladaní plochy boli použité 5 ročné sadenice. Rastlinným materiálom v našom experimente boli jedince jedle vo veku 16 rokov a celý experiment bol zriadený za účelom sledovania adaptačnej reakcie jedle. Pre našu štúdiu sme vytipovali z celkového počtu 17 populácií 5 populácií kontrastných z hľadiska ich pôvodu: nadmorská výška a priemerný ročný úhrn zrážok (Tab. 1).

Počas celej vegetačnej sezóny 2016 boli na ploche zaznamenávané základné klimatické charakteristiky. Teplotu vzduchu [$^{\circ}\text{C}$], relatívnu vlhkosť vzduchu [%], celkovú snečnú radiáciu [$\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$] sme merali vo výške 2 m s použitím 2 senzorov Minikin RTHi (EMS Brno, CZ). Výsledné hodnoty predstavujú priemer z oboch senzorov. Zrážkové úhrny [mm] boli merané prostredníctvom MetOne 370 (Oregon, USA). Merania vodného potenciálu pôdy prebiehali v hĺbkach 15, 30 a 50 cm a taktiež na 2 bodoch pri meteo senzoroch (kontinuálne do -1.1 MPa, s použitím sadrových bločkov (Delmhorst Inc., USA) a dátovej zbernice MicroLog SP3 (EMS Brno, CZ)). Celkove bolo použitých 36 bločkov (12 v každej hĺbke).

Hlavné fyziologické znaky ako rýchlosť fotosyntézy (P_n) a prieduchovú vodivosť (g_s) sme zaznamenávali pomocou otvoreného gazometrického systému Li-6400XT (Li-Cor, USA), pričom ihlice boli vystavené koncentrácii CO_2 $390 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$, PAR $1200 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ a teplota vzduchu v komore bola 22°C .

Tab. 1 Geografické charakteristiky populácií jedle bielej (*Abies alba* Mill.)

Označenie	Štát	Názov proveniencie	Geografické charakteristiky			Klimatické charakteristiky	
			Zem. dĺžka	Zem. šírka	Nadm. výška (m n.m.)	Priemerná ročná teplota ($^{\circ}\text{C}$)	Priemerný ročný úhrn zrážok (mm)
SK-H	Slovensko	Hertník výskumná plocha	21°16'	49°13'	390	9,54	652,70
AT	Rakúsko	Koetschach Valley	13°11'	47°06'	1300	6,83	949,70
SK02	Slovensko	Bardejov	21°10'	49°14'	900	9,54	652,70
PL21	Poľsko	Berest-1	20°33'	49°33'	690	9,17	722,40
SK01	Slovensko	Staré Hory	19°06'	48°50'	500	8,92	708,40
PL41	Poľsko	Kadlubiska	22°19'	50°21'	250	8,04	779,00

* klimatické charakteristiky za obdobie rokov 1950- 2000 získané z databázy www.worldclim.org s rozlíšením 30 arc-s

Rovnako ako pre stanovenie koncentrácie prolínu tak aj pre stanovenie koncentrácie asimilačných pigmentov boli odobraté vzorky zo 6 stromov pre každú populáciu, pričom pre každý strom bolo analyzovaných 5 vzoriek. Vzorky odoberané pre analýzu obsahu a akumuláciu prolínu boli následne spracované spektrofotometricky podľa Batesa [1]. Koncentrácie chlorofylov *a*, *b* a karotenoidov (xantofyly a karotény) boli stanovené spektrofotometricky, tj. meraním absorbancie zmesi pigmentov pri rôznych vlnových dĺžkach,

volených tak, aby zodpovedali absorpčným maximám jednotlivých zložiek. Analýzy prebehli prostredníctvom UV VIS spektrofotometra Cintra 6.5 GBS Austrália. Na výpočet koncentrácie fotosyntetických pigmentov boli použité upravené vzťahy podľa Lichtenthalera /7/. Koncentrácie chlorofylu a , b , $a+b$ a karotenoidov ($x+c$) sú udávané na hmotnostnú jednotku sušiny ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$). Výsledky sme štatisticky vyhodnotili jednofaktorovou analýzou variancie – faktor populácia (ANOVA) v kombinácii s post-hoc Tukey testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Jedľa biela (*Abies alba* Mill.) je charakteristická svojou náročnosťou na pôdnu a vzdušnú vlhkosť. Jednoznačné definovanie optima pre jej rozšírenie z pohľadu nadmorskej výšky je z tohto dôvodu náročné a vhodnou podmienkou pre vymedzenie optima je prístupnosť vody – vymedzenie ročným úhrnom zrážok. Jedľa biela je najrozšírenejšou práve v 5. (jedľovo-bukovom) lvs, s požiadavkou ročného úhrnu zrážok v rozmedzí od 900 do 1050 mm pri výškovom rozpätí od 500 m n.m. až do nadmorskej výšky 1000 m n.m.. Náročnosť jedle bielej je rozoberaná vo viacerých prácach, ktoré diskutujú aj posun areálu jedle bielej vplyvom častejších období sucha nie len v podmienkach Slovenska ale aj v Európe /2,3,4,6,9/.

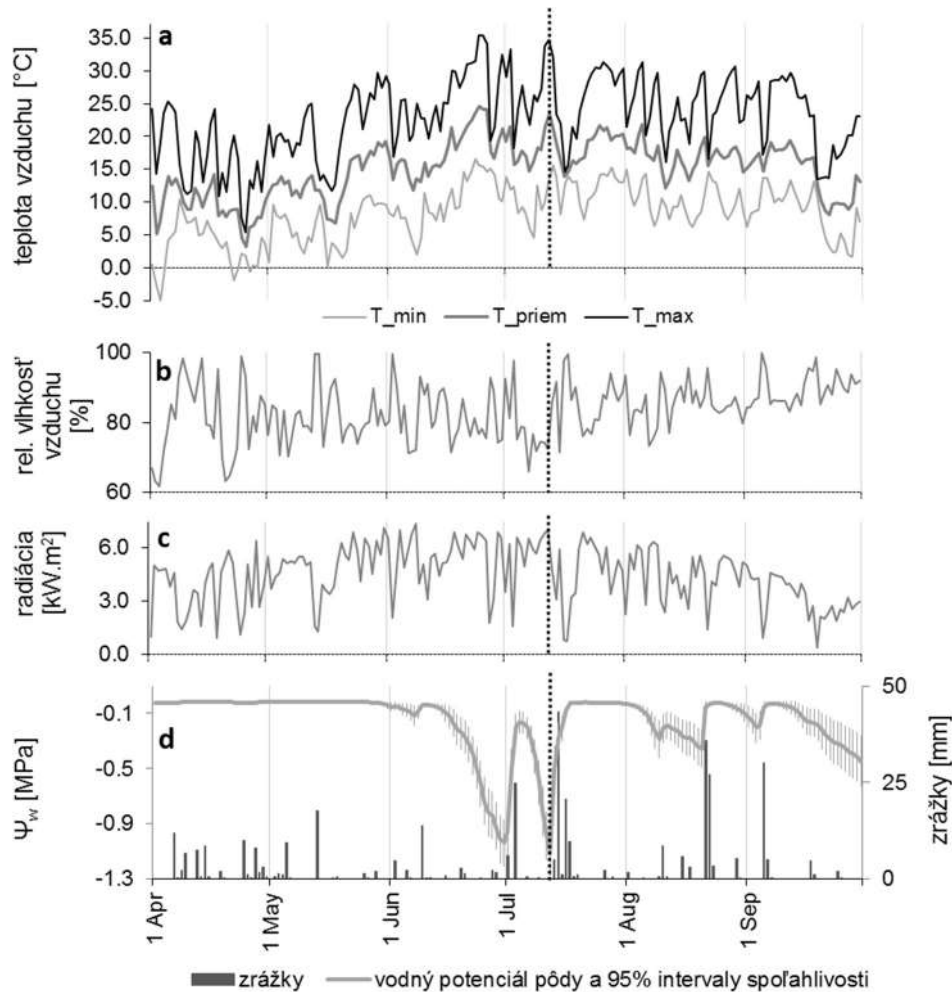
Na základe dizajnu experimentu sme predpokladali, že práve júlové meranie zachytí teplé počasie predchádzajúce vrcholu vegetačnej sezóny. Ako dokumentuje graf 1 fyziologické merania počas vrcholu vegetačnej sezóny skutočne zaznamenali stav jedincov jedle po vlne horúčav. Relatívna vlhkosť vzduchu náhle klesla a signifikantne sa znížil vodný potenciál pôdy v danom termíne (12.7. 2016) na kritickú hodnotu $-1,12$ MPa.

Na základe zaznamenaných meteorologických dát zo sezóny 2016 pre vyhodnotenie vrcholu vegetačnej sezóny (12.7. 2016) sme z dôvodu konštatovania dehydratácie pôdy, zvýšenej teploty a zníženej vzdušnej vlhkosti očakávali rozdielnu reakciu na úrovni fyziologických meraní. Zaznamenané hodnoty P_n sú nízke (Graf 2), ale významné rozdiely medzi populáciami sme nepozorovali. Podobne je tomu i pri hodnotách g_s , kde taktiež pre konkrétny termín nemožno uvažovať o markantných diferenciách medzi populáciami (Graf 3).

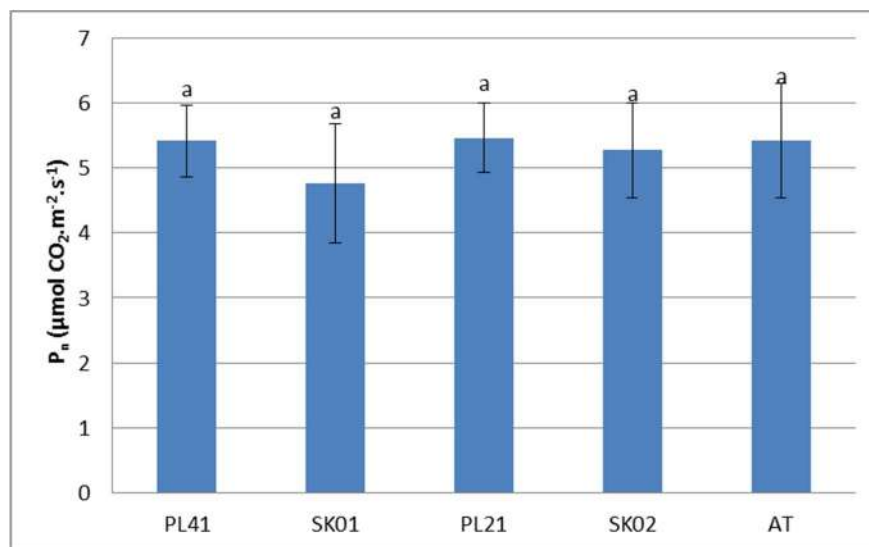
V rámci sledovania koncentrácie asimilačných pigmentov rovnako ako u koncentrácie prolínu boli zaznamenané medzi-provenienčné rozdiely. Provenienca AT pochádzajúca z oblasti s najvyšším úhrnom zrážok sa vyznačovala najvyšším obsahom chlorofylu a , b aj karotenoidov (Graf 4), čo korešponduje aj s pozorovaním Peguero-Pina /8/. Naopak u proveniencie PL21 pochádzajúcej z klimaticky suchšej oblasti v porovnaní s experimentálnou plochou boli hodnoty najnižšie, čo môže poukazovať na sťažené prispôsobenie sa tejto proveniencie podmienkam sledovanej plochy.

Akumulácia prolínu v dôsledku stresu sa u viacerých rastlinných druhov spája s toleranciou voči stresu. Je preukázané, že všeobecne väčšia koncentrácia prolínu sa vyskytuje u stres tolerantných druhov ako u druhov citlivých na stres. Ku zvýšenej akumulácii prolínu dochádza aj pri dehydratácii /5/. Merania uskutočnené vo vrchole vegetačnej sezóny poukazujú na štatisticky významné rozdiely medzi sledovanými provenienciami (Graf. 5). Provenienca AT pochádzajúca z klimaticky vlhšej oblasti sa vyznačovala najvyššími hodnotami koncentrácie voľného prolínu, čo môže poukazovať na prispôsobenie sa suchším podmienkam provenienčnej plochy Hertník. Naopak najnižšie hodnoty boli zaznamenané u proveniencie PL21, pochádzajúcej z klimatickej oblasti s ročným úhrnom zrážok 722,40 mm, čo môže byť spôsobené tým, že u tejto proveniencie sa vytvoril suchotolerantný ekotyp.

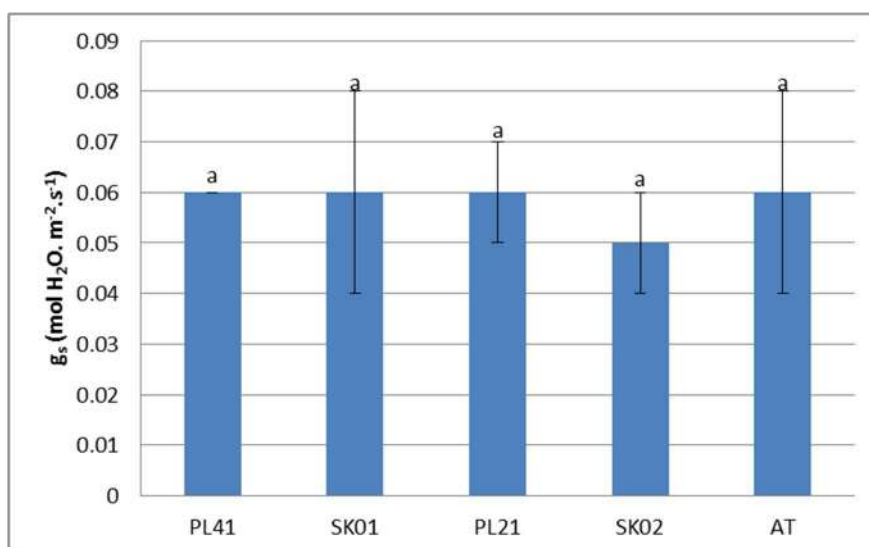
Následná komplexnejšia štúdia aj predchádzajúcich fyziologických meraní v sezóne umožní doplniť poznatky o trende zmien fyziologických parametrov a závislosť od aktuálnych podmienok prostredia. Až po tejto analýze bude možné predpokladať aj adaptačné schopnosti jednotlivých populácií jedle na podmienky provenienčnej plochy Hertník.



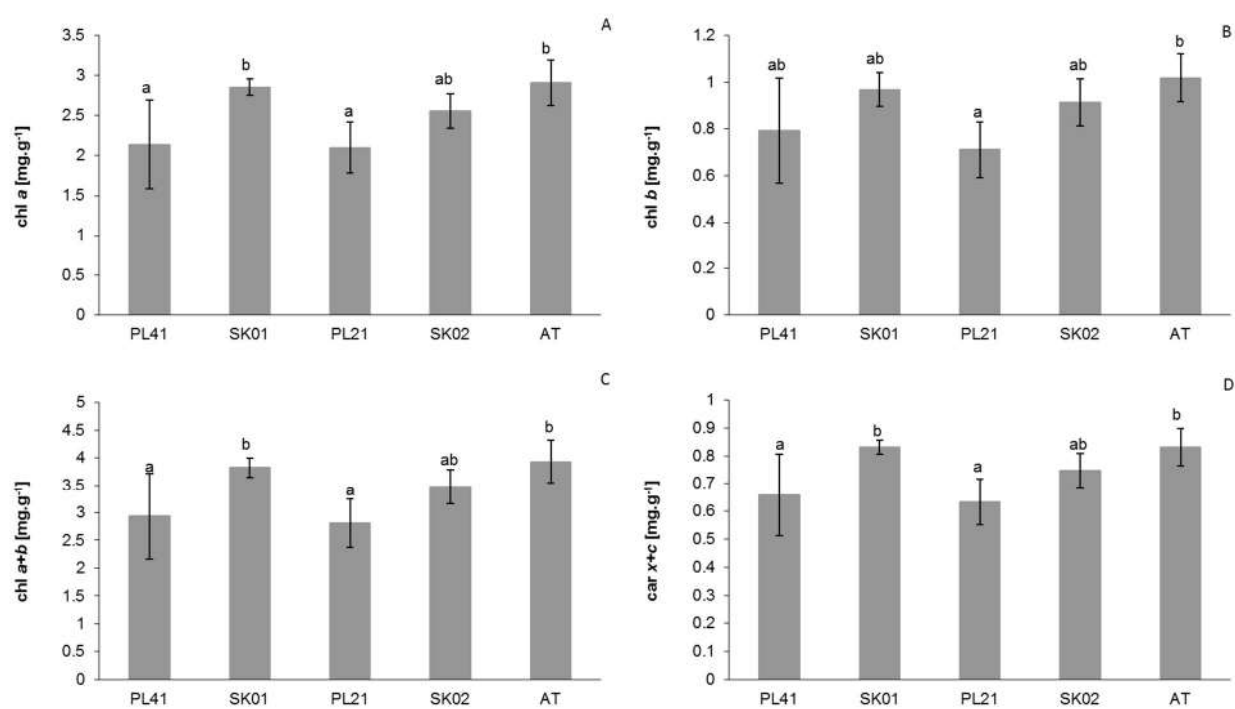
Graf 1: Sezónna dynamika denných hodnôt minimálnej, maximálnej a priemernej teploty vzduchu (a), relatívnej vlhkosti vzduchu (b), slnečnej radiácie (c), vodného potenciálu pôdy a úhrnov zrážok (d). Čierna vertikálna bodkovaná čiara označuje 12. júl 2016



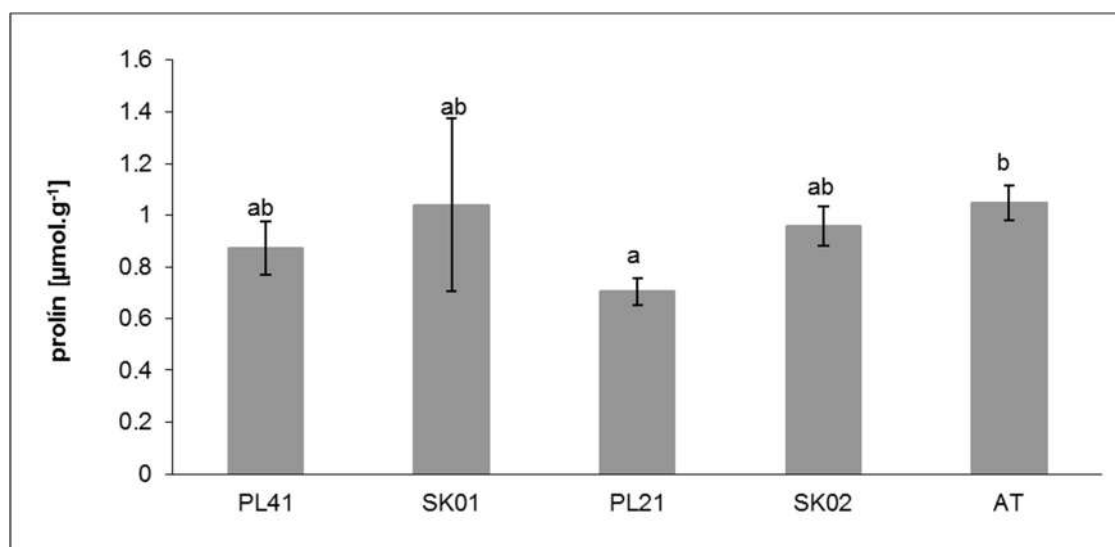
Graf 2: Hodnoty P_n u proveniencií jedle bielej počas vrcholu vegetačnej sezóny 2016 (12.7. 2016), (chybové úsečky znázorňujú smerodajnú odchýlku, odlišné písmená indikujú štatistickú významnosť rozdielov (p < 0,05 Tukey test))



Graf 3: Hodnoty g_s u proveniencií jedle bielej počas vrcholu vegetačnej sezóny 2016 (12.7. 2016), (chybové úsečky znázorňujú smerodajnú odchýlku, odlišné písmená indikujú štatistickú významnosť rozdielov ($p < 0,05$ Tukey test))



Graf 4: Obsah chlorofylu a (A), chlorofylu b (B), chlorofylu a+b (C) a karotenoidov (Car x+c) (D) v ihliciach sadeníc jedle bielej počas vrcholu vegetačnej sezóny 2016 (12.7. 2016), (chybové úsečky znázorňujú strednú chybu, odlišné písmená indikujú štatistickú významnosť rozdielov ($p < 0,05$) Tukey test)



Graf 5: Koncentrácia voľného prolínu v ihliciach sadeníc jedle bielej očas vrcholu vegetačnej sezóny 2016 (12.7. 2016), (chybové úsečky znázorňujú strednú chybu, odlišné písmená indikujú štatistickú významnosť rozdielov ($p < 0,05$) Tukey test)

LITERATÚRA

- /1/ Bates, L. S., Waldren, R. P., Teare, I. D.: Rapid determination of free proline for water-stress studies. In *Plant and Soil*, 39, 1973: 205-207.
- /2/ Ficko, A., Poljanec, A., Boncina, A.: Do changes in spatial distribution, structure and abundance of silver fir (*Abies alba* Mill.) indicate its decline? *Forest Ecology and Management*, 261, 2011: 844-854. Doi:10.1016/j.foreco.2010.12.014.
- /3/ Gazol, A., Camarero, J.J., Gutiérrez, E., Popa, I., Andreu-Hayles, L., Motta, R., Nola, P., Ribas, M., Sangüesa-Barreda, G., Urbinati, C., Carrer, M.: Distinct effect of climate warming on populations of silver fir (*Abies alba* Mill.) across Europe. *Journal of Biogeography*, 2015: 1-12. Doi:10.1111/jbi.12512.
- /4/ Hlásny, T., Mátyás, C., Seidl, R., Kulla, L., Merganičová, K., Trombík, J., Dobor, L., Barcza, Z., Konôpka, B.: Climate change increases the drought risk in Central European forests: what are the options for adaptation? *Lesn. Cas. For. J.*, 60, 2014: 5-18.
- /5/ Hsu, S.Y., Hsu, Y.T., Kao, C.H.: The effect of polyethylene glycol on proline accumulation in rice leaves. In *Plant Physiology*, 2000 (122), 2003: 747-756.
- /6/ Kobal, M., Grčman, H., Zupan, M., Levanič, T., Simončič, P., Kadunc, A., Hladnik, D.: Influence of soil properties on silver fir (*Abies alba* Mill.) growth in the Dinaric Mountains. *Forest Ecology and Management*, 337, 2015: 77-87. Doi:10.1016/j.foreco.2014.10.017.
- /7/ Lichtenthaler, H. K.: Chlorophylls and carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. *Methods in enzymology* 148, 1987: 350-382.
- /8/ Peguero-Pina, J.J., Camarero, J.J., Abadía, A., Martín, E., González-Cascón, R., Morales, F., Gil-Pelgrín, E.: Physiological performance of silver-fir (*Abies alba* Mill.) populations under contrasting climates near the south-western distribution limit of the species. *Flora*, 202, 2007: 226-236. Doi:10.1016/j.flora.2006.06.004.
- /9/ Sarvaš, M., Bruchánik, R., Hoffmann, J., Chválová, K., Ježovič, V.: Základné charakteristiky lesných drevín - ekologické nároky, morfológia, lesné semenárstvo a škôlkárstvo, obhospodarovanie génových základní. Zvolen: NLC, 2010: 82 s. ISBN: 978-80-8093-112-4.

Podakovanie

Uvedená práca vznikla za finanční podpory projektov: APVV-0135-12, APVV-0480-12 a VEGA 2/0034/14.

FENOLOGICKÉ PROJEVY PŠENICE OZIMÉ V MINULOSTI A SOUČASNOSTI

PHENOLOGICAL MANIFESTATIONS OF WINTER WHEAT IN THE PAST AND PRESENT

Eva Stehnová¹, Hana Středová¹, Lenka Hájková²

¹ Mendelova univerzita v Brně, ústav aplikované a krajinné ekologie, Zemědělská 1, 613 00, Brno – Černá Pole, eva.stehnova@mendelu.cz

² Český hydrometeorologický ústav, pobočka Ústí nad Labem, Kočkovská 18/2699, 400 11, Ústí nad Labem, hajkova@chmi.cz

Summary

The aim of the paper is monitoring changes of onset of phenological phases and agro-technical measures on a long-term scale in relation to possible abiotic stresses. Wheat as a winter crop can be negatively affected by some climatic factors: frost, drought and high temperatures. The analysis was carried out for phenological data of the Czech Hydrometeorological Institute for the period 1931–2012. Phenological data for individual years (1992–2012) show great variability in the onset of observed phenological phases and agro-technical measures. The average values for the three long-term periods 1931–1960, 1961–1991 and 1991–2012 were evaluated. The prolongation of the growing season occurs by 5 days in period 1991–2012 compared to years 1931–1960. Shorten the interval between phenological phases emergence and heading is occurs in average (from 254 days; on 237 days). This could mean the earlier beginning of the growing season and the earlier onset of heading.

Key words: phenological phases, length of vegetation period, beginning and end of flowering, winter wheat

Souhrn

Cílem příspěvku je sledování změn nástupu fenologických fází a agrotechnických opatření v dlouhodobém měřítku ve vztahu k možným abiotickým stresům. Pšenice jako ozimá plodina může být rámci svého růstu negativně ovlivněna některými klimatickými faktory: holomrazem, suchem a vysokými teplotami. Analýza byla provedena pro fenologická data Českého hydrometeorologického ústavu pro období 1931–2012. Fenologická data pro jednotlivé roky (1992–2012) vykazují velkou variabilitu v nástupu sledovaných fenologických fází a agrotechnických operacích. Dále byly vyhodnoceny průměrné hodnoty pro tři dlouhodobá období 1931–1960, 1961–1991 a 1991–2012. Při porovnání roků 1931–1960 a 1991–2012 dochází k prodlužování vegetačního období, a to o 5 dnů. Dále dochází v průměru ke zkracování intervalu mezi fenologickými fázemi vzházení a metání z 254 dnů na 237 dnů. Toto by mohlo znamenat dřívější počátek vegetačního období, a tím způsobený dřívější nástup metání.

Klíčová slova: fenologické fáze, délka vegetačního období, počátek a konec kvetení, pšenice ozimá

ÚVOD

Fenologie je věda o časovém průběhu významných periodicky se opakujících životních projevů rostlin a živočichů. Nástup jednotlivých fenologických fází je závislý především na komplexu vnějších podmínek prostředí, a to zejména na klimatu a počasí /12/. Nástupem fenologické fáze se rozumí datum (kalendářní den v roce), kdy byla na rostlině zaznamenána daná fenofáze, která je popsána v Návodu pro činnost fenologických stanic. Fenofáze je zevní, dobře rozpoznatelný, zpravidla každoročně se opakující projev vývinu orgánu rostliny (např. vzcházení, kvetení, metání, zrání atd.) /8/.

Mnoho studií uvádí, že fenologická pozorování jsou jedním z nejdůležitějších a nejsilnějších indikátorů změny klimatu /5,1,18/. V souvislosti se změnou klimatu dochází k prodloužení vegetačního období (VO). Bylo prokázáno, že za poslední dvacetiletí došlo k prodloužení vegetačního období, a to o 15 až 25 dnů /13/. Šiška a Takáč /14/ ve své práci uvádějí, že může dojít k prodloužení VO až o 21 dnů, a to do roku 2020. Tento fakt sebou nese i zvýšené riziko výskytu vegetačních mrazů /13/. Prodloužení VO je způsobeno většinou dřívějším nástupem vegetace a v menší míře opožděným stárnutím rostlin /4/. Začátek vegetačního období je ovlivněn teplotami v zimě a na jaře /17/. Vyšší teploty v těchto obdobích „nastartují“ vegetaci, které poté nečekaným vpádem studeného vzduchu může být poškozena mrazy. Velmi nebezpečný v zimním období je i výskyt holomrazů, který může způsobit poškození kořenového systému rostlin. Toto poškození může mít za následek celkové ohrožení plodiny při přezimování /19/. Dalšími stresory klimatické povahy mohou být i vysoké teploty a sucho. Nejvíce ohrožené suchem a vysokými teplotami jsou ze zemědělských plodin především obilniny. Nejkritičtější jsou především fáze kvetení, nalévání zrna a odnožování /6/. Rostlina je v některých vývojových fázích schopna tolerovat pouze malé teplotní změny. Jestliže, jsou teplotní limity překročeny, může mít tento fakt vliv na redukci výnosu /10/. S přihlédnutím na vývoj klimatu v posledních letech je výskyt abnormálních hodnot teplot vzduchu zásadním faktorem při vývoji rostlin. Vztah mezi růstem, vývojem, výnosem plodin a počasím je obecně známou skutečností /11/.

MATERIÁL A METODA

V příspěvku byla analyzována fenologická data Českého hydrometeorologického ústavu (ČHMÚ) pro pšenici ozimou (*Triticum aestivum*). Tato plodina byla vybrána především z toho důvodu, že se jedná o nejčastěji zastoupenou ozimou plodinu v České republice (ČR). Byla provedena detailní analýza pro období 1992–2012. V tomto období byly analyzovány *fenologické fáze* a agrotechnické operace: *setí (ST)*, *vzcházení (VZ)*, *odnožování (OD)*, *počátek prodloužení listových pochev (PP)*, *první kolénko (PN)*, *druhé kolénko (DN)*, *naduření pochvy posledního listu (NP)*, *metání (ME)*, *počátek kvetení (PK)*, *konec kvetení (KK)*, *mléčná zralost (ZM)*, *žlutá zralost (ZZ)*, *plná zralost (ZP)* a *sklizeň (SK)*. Popis těchto fenologických fází je uveden v Metodickém předpisu ČHMÚ č. 2 – Návod pro činnost fenologických stanic - polní plodiny /16/. Dále byl v práci brán důraz na zjištění délky vegetačního období (VO). Délka je chápána jako počet dní mezi ST–SK. Dále byly zjištěny průměrné hodnoty nástupu vybraných fenologických fází pro dlouhodobé období (1931–1960, 1961–1990 a 1991–2012).

Pro analýzu byla vybrána fenologická stanice Kostelní Myslová, která se nachází v nadmořské výšce 569 m (š. 49°09'; d. 15°26'). Atlas podnebí Česka /15/ uvádí, že průměrná teplota vzduchu se na této stanici pohybuje v rozmezí od 7 °C do 8 °C. Průměrný úhrn srážek je v této lokalitě v intervalu od 500 do 550 mm. Tato stanice byla vybrána především z důvodu dlouhodobých nepřerušovaných fenologických řad.

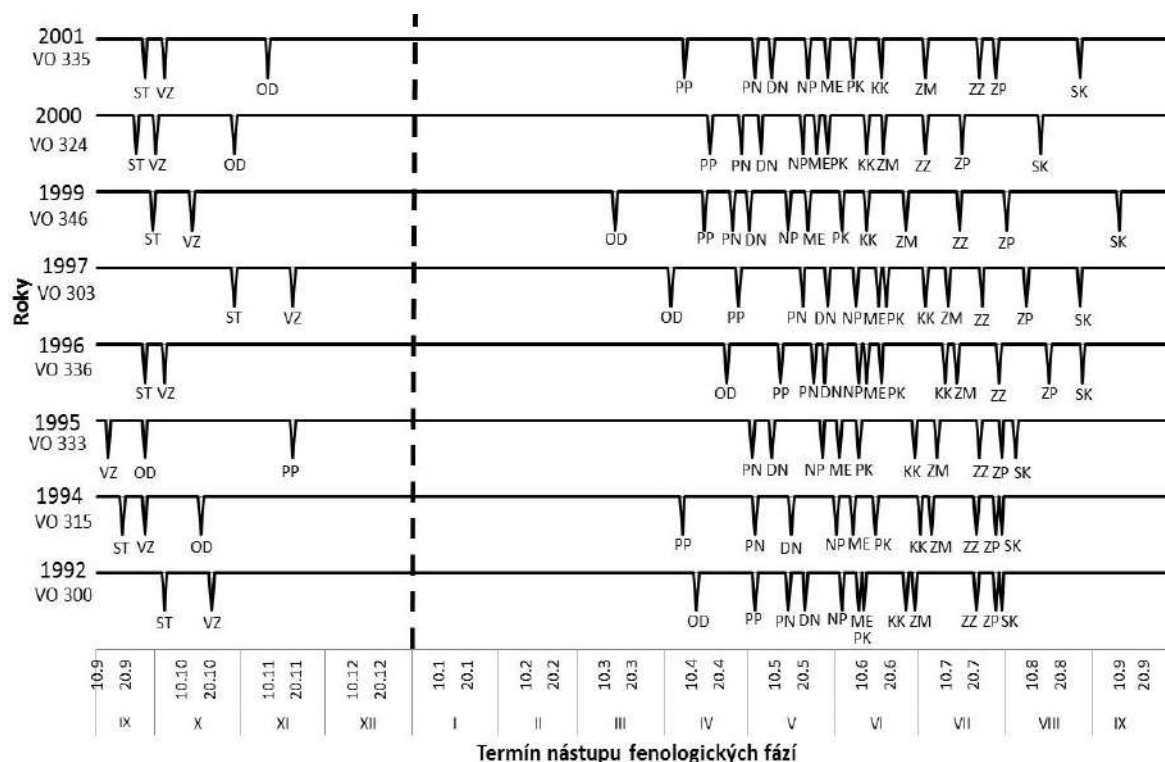
Fenologické údaje pro období 1931–1960 byly získány z publikace Agroklimatické podmínky ČSSR /7/. Tato publikace poskytuje podrobné zhodnocení klimatických podmínek

České krajiny pro období 1931–1960. Data pro období 1961–2012 byla získána z přímých fenologických pozorování.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Na základě grafů 1 a 2 je možné konstatovat, že jednotlivé analyzované roky vykazují velkou variabilitu v nástupu sledovaných fenologických fází a agrotechnických operací.

V období 1992–2001 byla zjištěna délka VO v rozmezí od 300 do 346 dnů. V druhém analyzovaném období se délka VO pohybovala mezi 305 dny až 347 dny. U některých let (2004, 2009) bohužel nešla zjistit délka VO, jelikož pozorovatelem nebyl zaznamenán údaj termín výsevu pšenice.



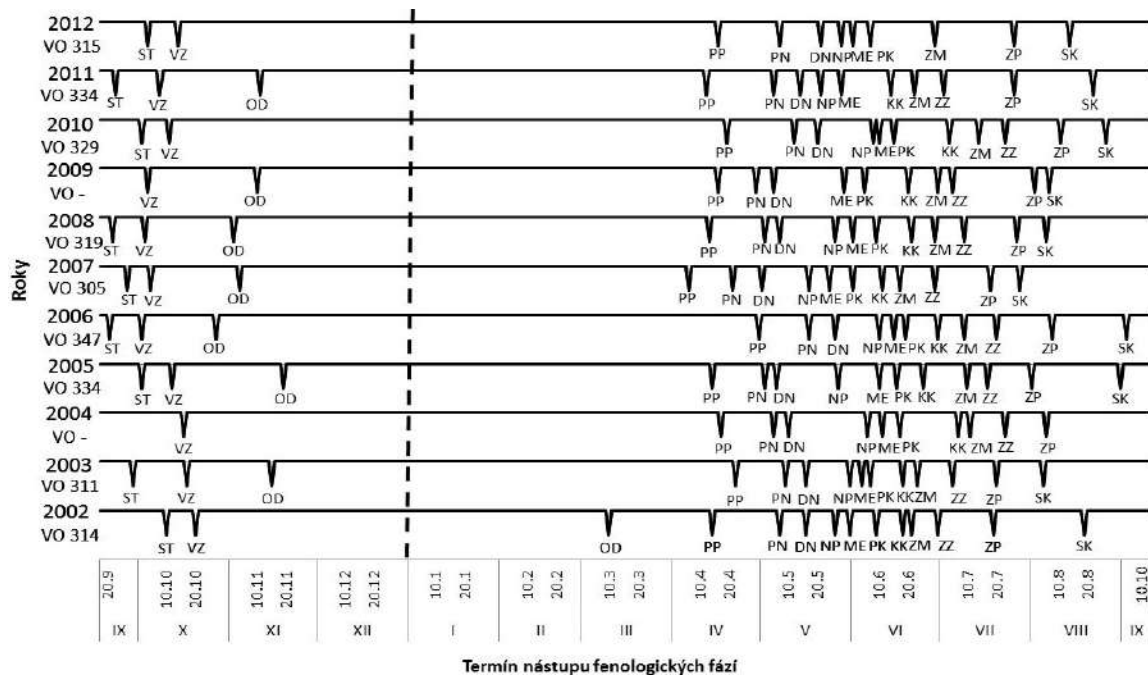
Graf 1: Nástup fenologických fází pšenice ozimé v období 1992–2001 (zkratky viz Materiál a Metodika).

V období 2002–2012 v sedmi analyzovaných letech dochází k odnožování pšenice ve stejný rok, kdy byla seta. V předchozím analyzovaném období není tento trend tak výrazný. Nejdříve byla pšenice ozimá seta v roce 1995, a to 248. den v roce (6.9.). Nejpozději byla pšenice seta 301. den v roce (29.10.).

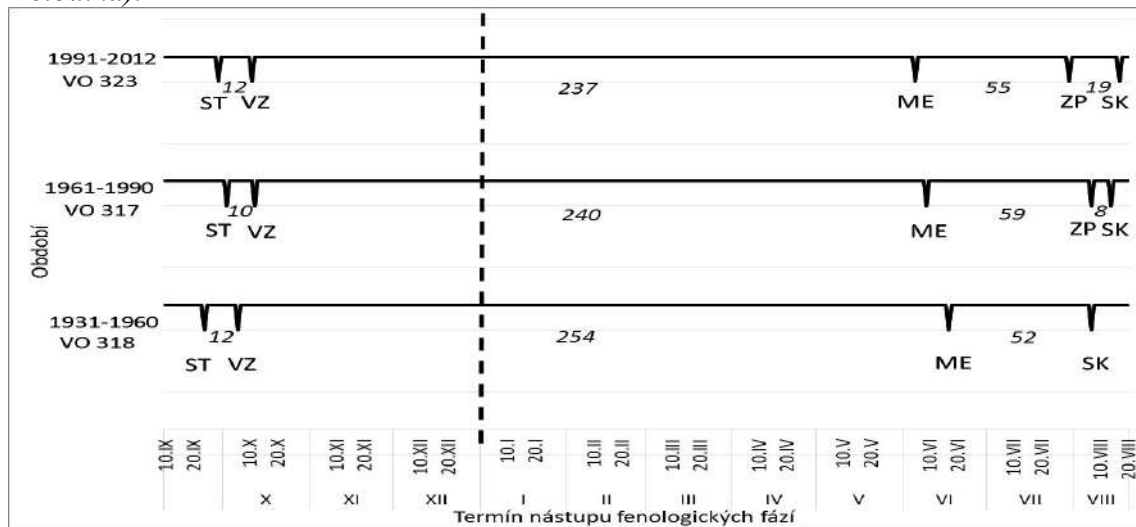
Mezi nejdůležitější fenologické fáze patří kvetení pšenice ať už z pohledu výnosu zrna, anebo jeho kvality. Na stanici Kostelní Myslová byl zaznamenán PK v období od 149. (29.5.) do 170. (19.6.) dne v roce. Fenofáze KK byla zaznamenána v období od 162. (11.6.) do 191. (9.7.) dne v roce. Průměrná délka kvetení v období 1992–2001 byla 12 dnů a v období 2002–2012 byla 13 dnů.

Graf 3 ukazuje průměrné hodnoty pro tři dlouhodobá období. Nejdelší průměrná délka VO byla zjištěna v období 1991–2012, a to 323 dní. V letech 1931–1960 a 1961–1991 byl rozdíl mezi průměrnými délkami VO pouze 1 den. Při porovnání těchto tří období je zřejmé, že dochází k prodlužování VO, a to o 5 dnů při porovnání roků 1931–1960 a 1991–2012. V průměru byla nejdříve pšenice ozimá seta v letech 1931–1960, a to 24. září a nejpozději byla seta v období 1961–1990 a to 2. října. Dále dochází ke zkracování intervalu mezi fenologickými fázemi VZ a ME z 254 dnů na 237 dnů. Tento fakt by mohl znamenat dřívější

počátek vegetačního období a dřívější nástup ME. V období 1991–2012 došlo ke zkrácení intervalu i mezi fenofázemi ME a ZP, a to o 4 dny. Naopak interval mezi fenofázemi ZP a SK byl v tomto období prodloužen, a to o 11 dnů.



Graf 2: Nástup fenologických fází pšenice ozimé v období 2002–2012 (zkratky viz Materiál a Metodika).



Graf 3: Průměrné hodnoty nástupu vybraných fenologických fází.

Porost pšenice ozimé může být zásadně ovlivněn třemi stresory klimatické povahy, a to suchem, vysokými teplotami a mrazíky /9, 2, 3/. Citlivost plodiny k suchu a vysokým teplotám se mění v průběhu vývoje plodiny. Nejcitlivějším obdobím pro obilniny jsou především fáze kvetení, odnožování a nalévání zrna. Při stresu v těchto obdobích vývoje rostliny může dojít k ovlivnění výnosotvorných prvků a kvalitativních znaků /6/. Scénářová data vývoje klimatu pro ČR neukazují výrazné snížení celkových srážek, ale v budoucnu bude docházet ke zvyšování teploty vzduchu a s tím souvisí i zvýšená intenzita výparu /6/. Toto značí, že v budoucnu bude nedostatek vody, a proto se dá očekávat, že zemědělské plodiny budou čím dál častěji vystaveny těmto stresům.

LITERATURA

- /1/ Estrella, N., Menzel, A.: Response of leaf colouring in four deciduous tree species to climate and weather in Germany. *Climate Research*, 32(3), 2006: 253–267.
- /2/ Ferris, R., Ellis, R.H., Wheeler, T.R., Hadley, P.: Effect of high temperature stress at anthesis on grain yield and biomass of field-grown crops of wheat. *Annals of Botany*, 82, 1998: 631–639.
- /3/ Fuller, M.P., Fuller, A.M., Kaniouras, S., Christophers, J., Fredericks, T.: The freezing characteristics of wheat at ear emergence. *European Journal of Agronomy*, 26, 2007: 435–441.
- /4/ Gill, A.L., Gallinat, A.S., Sanders-Demott, R., Rigden, A.J., Short Gianatti, D.J., Mantooth, J.A., Templer, P.H.: Changes in autumn senescence in northern hemisphere deciduous trees: a meta-analysis of autumn phenology studies. *Annals of Botany*, 116(6), 2015: 875–888.
- /5/ Gordo, O., Sanz, J.J.: Phenology and climate change: a long-term study in a Mediterranean. *Oecologia*, 146(3), 2005: 484–495.
- /6/ Haberle, J., Trčková M., Růžek, P.: Příčiny nepříznivého působení sucha a dalších abiotických faktorů na příjem a využití živin obilninami a možnosti jeho omezení – metodika pro praxi. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2008.
- /7/ Kurpelová, M., Coufal, L., Čulík, J.: Agroklimatické podmínky ČSSR. Bratislava: Hydrometeorologický ústav, 1975.
- /8/ Metodický předpis č. 2. Návod pro činnost fenologických stanic (Polní plodiny). Praha: Český hydrometeorologický ústav, 2009.
- /9/ Moral del, L.F.G., Rharrabti, Y., Villages, D., Royo, C.: Evaluation of grain yield and its components in durum wheat under Mediterranean conditions: an ontogenic approach. *Agronomy Journal*, 95, 2003: 266–274.
- /10/ Porter, J.R.: Rising temperature are likely to reduce crop yields. *Nature*, 436, 2005: 174.
- /11/ Rožnovský, J., Šiška, B., Salaš, P.: Proč „Mrazy a jejich dopad.“ In: Mrazy a jejich dopady, Hrubá Voda 26.–27.4.2017. Praha: Český hydrometeorologický ústav, 2017. ISBN 978-80-87577-69-1.
- /12/ Sobišek, B.: Meteorologických slovník výkladový terminologický. Praha: Academia, 1993. ISBN 80-85368-45-5.
- /13/ Středa, T., Středová, H., Rožnovský J.: Podmínky pro přezimování polních plodin v kontextu vývoje klimatu. In: Rostliny v podmínkách měnícího se klimatu, Lednice 20.-21.10.2011. Úroda (vědecká příloha), 2011: 582–589. ISSN 0139–6013.
- /14/ Šiška, B., Takáč, J.: Klimatická změna a polnohospodárstvo Slovenskej republiky: dosledky, adaptačné opatreni a možné riešenia. Bratislava: Slovenská bioklimatologická spoločnosť, 2008.
- /15/ Tolasz, R.: Atlas podnebí Česka. Praha: Český hydrometeorologický ústav, 2007. ISBN 978-80-86690-26-1.
- /16/ Valter, J.: Metodický předpis č. 2 – Návod pro činnost fenologických stanic. Polní plodiny. Praha: Český hydrometeorologický ústav, 1982.
- /17/ Wang, X., Gao, Q., Wang, Ch., Yu, M.: Spatiotemporal patterns of vegetation phenology change and relationships with climate in the two transects of East China. *Global Ecology and Conservation*, 10, 2017: 206–219.
- /18/ Wu, C., Hou, X., Peng, D., Gonsamo, A., Xu, S.: Land surface phenology of China's temperate ecosystems over 1999–2013: spatial-temporal patterns, interaction effects, covariation with climate and implications for productivity. *Agricultural and Forest Meteorology*, 216, 2016: 177–187.
- /19/ Zahradníček, P., Rožnovský, J., Brzezina, J., Štěpánek, P., Farda, A., Chuchma, F., Potopova, V.: Mrazové indexy v chladném půlroce na území České republiky. In: Mrazy a jejich dopady, Hrubá Voda 26.–27.4.2017. Praha: Český hydrometeorologický ústav, 2017. ISBN 978-80-87577-69-1.

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory projektu QJ1530181 „Stanovení aktuálních hodnot ochranného účinku vegetace za účelem kvantifikace a zefektivnění protierozní ochrany zemědělské půdy v České republice.“

FYZIOLOGICKÉ PARAMETRY SMRKU ZTEPILÉHO NAPADENÉHO KLOUBNATKOU SMRKOVOU (*GEMMAMYCES PICEAE*)

PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF NORWAY SPRUCE WITH BUD BLIGHT DISEASE

Ivana Tomášková, Vítězslava Pešková, Tereza Vlniešková
Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta lesnická a dřevařská, Kamýcká 129, 165 21, Praha 6 –
Suchbátka, tomaskova@fld.czu.cz, peskovav@fld.czu.cz, vlnieskova@fld.czu.cz

Summary

The purpose of this research was to examine the rate of CO₂ assimilation and water status of Norway spruce with *Gemmamyces* bud blight such. Physiological measurements were made in 2016 on selected individuals of Norway spruce with a different disease infection rate (0 – healthy tree, 4 – heavy infestation). Norway spruce with *Gemmamyces* bud blight shows a lower rate of CO₂ assimilation and apparent quantum efficiency. Unclear trend in water potential with the increasing disease infection rate requests more measurement to confirm the negative influence of the disease on the stomata function.

Key words: Norway spruce, assimilation rate, stomatal conductance, water potential

Souhrn

Cílem výzkumu bylo hodnocení světelné křivky a vodního potenciálu letorostů vybraných jedinců smrku ztepilého (*Picea abies*) napadených kloubnatkou smrkovou (*Gemmamyces piceae*). Fyziologická měření probíhala v průběhu roku 2016 na vybraných jedincích smrku ztepilého s různým stupněm poškození (0- zdravý strom, 4 – silně poškozený). Smrky ztepilé napadené kloubnatkou smrkovou vykazovaly nižší rychlost asimilace CO₂ a kvantový výtěžek fotosyntézy. Nejednoznačný trend ve vodním potenciálu u stromů se zvyšující se mírou napadení kloubnatkou bude vyžadovat více měření pro potvrzení negativního vlivu na činnost průduchů.

Klíčové slova: smrk, rychlost asimilace, stomatální vodivost, vodní potenciál

ÚVOD

Kloubnatka smrková (*Gemmamyces piceae*) je významným houbovým patogenem v Evropě rostoucích jehličnatých dřevin. V posledních letech se – zejména v Krušných horách - setkáváme stále častěji s nálezy plodnic kloubnatky smrkové na pupenech smrku ztepilého /1/. Podle literárních pramenů zabývajících se biotickým stresem a především houbovým onemocněním /2, 3/ vyplývá, že rychlost asimilace, tedy spotřeba CO₂ za účelem tvorby organických látek je značně omezena. Cílem studie je hodnocení výměny plynů a s nimi spojených procesů, které vztah mezi stupněm napadení a fyziologickými parametry částečně odkrývají.

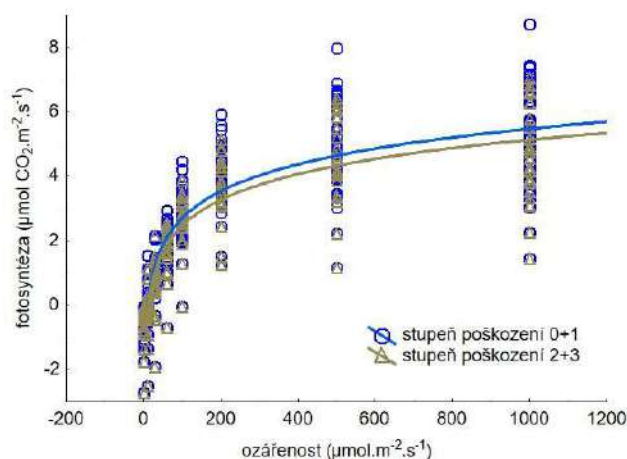
MATERIÁL A METODA

Fyziologická měření probíhala v průběhu srpna a září 2016 na vybraných jedincích smrku ztepilého s různým stupněm poškození – stromy s poškozením 0 jsou bez známek přítomnosti kloubnatky, 4 představuje silně poškozený, již částečně defoliováný strom. Na

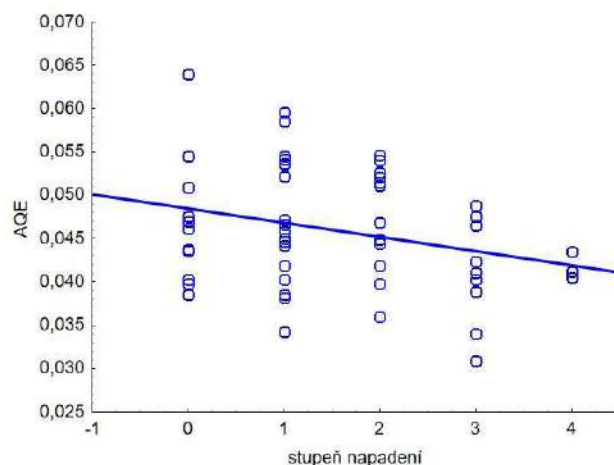
celkem 53 stromech se prostřednictvím gazometrické metody (LI-COR Biosciences, Lincoln, Nebraska, USA) zjišťovala tzv. světelná křivka fotosyntézy, která vyjadřuje závislost mezi množstvím asimilovaného CO_2 a fotosynteticky aktivním zářením. Vedle fotosyntetických parametrů se na zájmových stromech zjišťoval vodní potenciál letorostů (Pump-Up Pressure Chamber, PMSInstrument, AL, USA), který souvisí s vodním stresem. Pro vlastní hodnocení byla využita ANOVA pro zhodnocení statisticky významných rozdílů ve fyziologických parametrech napadených a nenapadených stromů.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Porovnáním fotosyntetických parametrů stromů s různým stupněm poškození bylo zjištěno, že smrky s vyšším stupněm napadení dosahují nižších hodnot maximální rychlosti asimilace a nižších hodnot kvantového výtěžku (obr. 1).



Obr. 1: Světelná křivka fotosyntézy pro nepoškozené nebo mírně poškozené smrky kloubnatkou (modrá barva symbolů) a silně napadené smrky (poškození 2 a 3) – zeleno-hnědá barva.



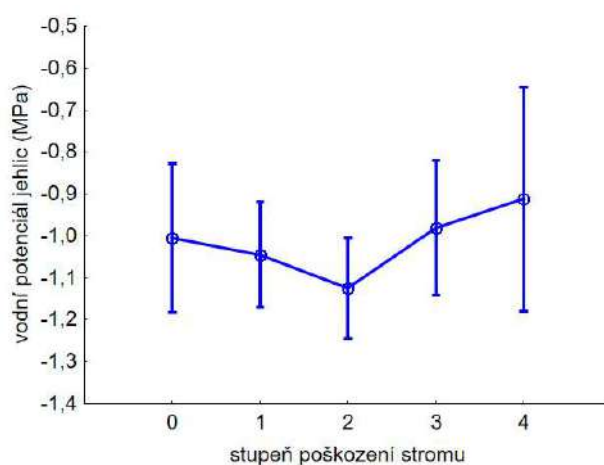
Obr. 2: Kvantový výtěžek fotosyntézy (AQE), tedy účinnost fotosyntézy pro jednotlivé stupně napadení kloubnatkou.

Maximální rychlost fotosyntézy dosahovala u nenapadených smrků $6,1 \pm 1,8 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, u napadených pak $5,9 \pm 1,5 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Kvantový výtěžek AEQ (AEQ – apparent quantum yield), který představuje efektivitu, s jakou je světlo konvertováno do fixovaného uhlíku odhalil, že účinnost fotosyntézy se snižuje se zvyšujícím se stupni napadení kloubnatkou (obr. 2). Obvyklá

hodnota AEQ se pohybuje kolem 0,06 molů CO₂ na mol kvanta fotonů v běžných podmínkách CO₂.

V případě světelného kompenzačního bodu (LCP - light compensation point) převažovala asimilace až při ozáření $10,4 \pm 9,8 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ poškozených stromů, zatímco u nepoškozených stromů to bylo zhruba $8,1 \pm 7,0 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Ze získaných hodnot i přes uvedená omezení vyplývá, že napadené smrky potřebují vyšší hodnoty ozáření, aby přešly z fáze spotřeby organických látek dýcháním do produktivní fáze jejich vytváření v rámci fotosyntézy.

Naměřené hodnoty vodní potenciálu letorostů odhalily střední silný vodní stres (Obr. 3) s nejednoznačným trendem v závislosti na stupni poškození. Během měření se ale vodní potenciál nikdy nepřiblížil k hranici -3 MPa, která představuje u lesních dřevin kritický nedostatek vody a vysoké riziko embolie. Pro jednoznačné stanovisko, jakým způsobem ovlivňuje houba vodní potenciál dřeviny, budou potřeba další měření.



Obr. 3. Vodní potenciál jehlic v závislosti na stupni poškození stromu kloubnatkou smrkovou. Kruh označuje průměr hodnot a chybové úsečky 95% interval spolehlivosti.

Podle některých autorů [3] je pokles rychlosti fotosyntézy a stomatální vodivosti zapříčiněn vodním stresem, přestože omezení stomatální vodivosti pravděpodobně není hlavním důvodem snížené rychlosti fotosyntézy. Nižší tvorba cukru posléze vede ke změně metabolických poruch, které se projevují sníženou odolností vůči dalším negativním faktorům (sucho, hmyzí škůdci) a sníženým růstem.

LITERATURA

- /1/ Černý, K., Pešková, V., Soukup, F., Havrdová, L., Strnadová, V., Zahradník, D., Hrabětová, M.: Gemmamyces bud blight of Picea pungens: a sudden disease outbreak in Central Europe. Plant Pathology, 65, 2016: 1267–1278.
- /2/ Petit, A.-N., Vaillant, N., Boulay, M., Clément, C., Fontaine, F.: Alteration of Photosynthesis in Grapevines Affected by Esca. Phytopathology, 96 (10), 2006: 1060–1066.
- /3/ Santos, S. A. P., Santos, C., Silva, S., Pinto, G., Torres, L. M., Nogueira, A. J. A.: The effect of sooty mold on fluorescence and gas exchange properties of olive tree. Turkish Journal of Biology, 37 (5), 2013: 620–628.

Poděkování

Podpořeno z projektu "EXTEMIT - K" s reg. č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/15_003/0000433 financovaného z OP VVV a z Grantové služby LČR v rámci projektu Vliv faktorů prostředí na napadení smrku ztepilého kloubnatkou smrkovou a návrh praktických postupů omezujících její šíření, číslo projektu 68 s dobou řešení 2016-2020.

TEPLOTA VZDUCHU JAKO LIMITUJÍCÍ FAKTOR PŘI POLNÍM PĚSTOVÁNÍ RAJČETE JEDLÉHO V PODMÍNKÁCH STŘEDNÍCH ČECH

AIR TEMPERATURE AS A LIMITING FACTOR IN FIELD CULTIVATION OF TOMATO IN THE CLIMATIC CONDITIONS OF CENTRAL BOHEMIA

Luboš Tůrkott, Dita Hírmanová, Vera Potopová

Česká zemědělská univerzita v Praze, FAPPZ, katedra agroekologie a biometeorologie, Kamýčká 129, 165 21 Praha 6 – Suchbátka, turkott@af.czu.cz

Summary

In this study, the effects of agrometeorological factors on growth, development and yield of tomato was analysed. The experimental field crops of Thomas F1 tomato hybrid were planted in the middle Elbe lowland and northwestern outskirts of Prague. Temperature anomalies in the tomato growing season of 2016 caused a slowdown in the relative growth rate of dry matter. High temperature stress and large amount of global radiation have resulted necrosis in the fruit tissue of tomato.

Key words: Solanum lycopersicum L., temperature extremes, growth analysis

Souhrn

Rajče jedlé patří mezi teplomilnou zeleninu, jejíž pěstování je na území ČR možné pouze v nejteplejších oblastech. Pokusné rostliny rajčat odrůdy Thomas F1 byly vysázeny ve středním Polabí a v okrajové části Prahy. Byl sledován vliv agrometeorologických faktorů na růstové charakteristiky. Teplotní anomálie ve vegetačním období rajčat v roce 2016 způsobily zpomalení relativní rychlosti růstu sušiny. Vysoká teplota vzduchu a velká suma globálního záření měly za následek fyziologické nekrózy pletiva plodů rajčat.

Klíčová slova: rajče jedlé, teplotní extrémy, růstová analýza

ÚVOD

Rajče jedlé (*Solanum lycopersicum* L.) je v ČR dlouhodobě nejvíce konzumovaná zelenina. Jeho roční spotřeba od roku 2005 převyšuje 10 kg/osobu s maximální hodnotou 12,5 kg/osobu v roce 2007. Sklizňová plocha rajčat se v ČR pohybuje pod 500 ha a má klesající trend. Zelinářská oblast středního Polabí je svým klimatem vhodná pro pěstování teplomilných zelenin. Rentabilita výroby je však závislá na mnoha faktorech, mezi které patří i průběh počasí ve vegetačním období zelenin. Jak uvádí /9/ dochází v Polabí k prodlužování délky vegetačních období a to zejména jeho časným nástupem a obdobné trendy předpovídají i klimatické modely do budoucnosti. Rajče jedlé patří mezi teplomilnou zeleninu s vysokými nároky na podmínky prostředí. Teplotními nároky rajčat se zabývá řada autorů. Dle /1/ je hraniční teplota pro růst listů, květenství a kvetení rajčat 7,0 °C a teplotní optimum 22,0 °C, pro vývoj plodů a zrání pak 5,7 °C a 26,0 °C. Proces fotosyntézy je u rostlin rajčat limitován teplotním minimem 6,0 – 8,0 °C /3/. Optimální teplotu pro fotosyntézu 20 - 30 °C při 350 ppm CO₂ udává /4/. Rajče patří mezi rostliny s pozitivní termoperiodicitou. Jedná se o citlivost rostlin v různých fázích vývoje na střídání teplot během dne a noci. Později však byla v práci /2/ popsána schopnost rostlin rajčat integrovat teploty. Bylo prokázáno, že rostliny vykazují obdobné fyziologické procesy při teplotním režimu 20/24 °C (noc/den) jako při

stálé teplotě 22,0 °C. Klíčení semen rajčat probíhá již při 9,0 °C, avšak optimum pro tento proces je 22,0 – 25,0 °C. Optimální teplota pro vegetativní růst je dle /1/ 22 - 26 °C a na počátku vegetativního růstu 25,0 °C jak uvádí /10/. Probíhající klimatická změna přináší větší variabilitu klimatického systému, což se projeví zvýšením výskytu rizikových meteorologických jevů ve vegetačním období. Hlavním rizikovým faktorem při pěstování zelenin jsou a budou jarní mrazy, vlny veder a sucho. Časný výsev (výsadba) rajčat nese riziko poškození rostlin mrazem. Poslední jarní mrazy se v Polabí vyskytují s pravděpodobností 1x za 5 let 5. května, 1x za 10 let 12. května a 1x za 25 let 20. května /8/. Vysoké teploty způsobují u rajčat poruchy tvorby květů, opad poupát, zhoršují opylení a poškozují již vytvořené plody. Teploty nad 30,0 °C způsobují poškození růstu, při teplotě nad 35,0 °C se přestává tvořit červené barvivo plodů, lykopen /6/. Dlouhodobé zvýšení teploty na 29,0 °C redukovalo v pokusech /7/ násadu plodů na 10 % v porovnání s rostlinami rostoucími při teplotě 25,0 °C.

MATERIÁL A METODA

V lokalitě středního Polabí (Mochov) a okrajové části Prahy (Suchdol) byl v letech 2014, 2015 a 2016 založen polní pokus s rostlinami rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum* L.). Byla použita tyčková odrůda typu LSL se sníženou tvorbou etylenu Thomas F1. Hustota prostu byla 2,0 rostlin.m⁻², výška rostlin byla redukována na 2 m. Rostliny byly zavlažovány a byla aplikována klasická agrotechnická opatření. V průběhu vegetace byly v pravidelných časových intervalech odebírány rostliny ke stanovení listové plochy a obsahu sušiny jednotlivých orgánů. Následně byly vypočítány základní růstově analytické charakteristiky LAI (pokryvnost listoví), LAR (poměrná olistěnost) a RGRw (relativní rychlost růstu sušiny). V porostu, a mimo prost byly sledovány hlavní agrometeorologické parametry. V práci jsou publikovány výsledky pokusného roku 2016.

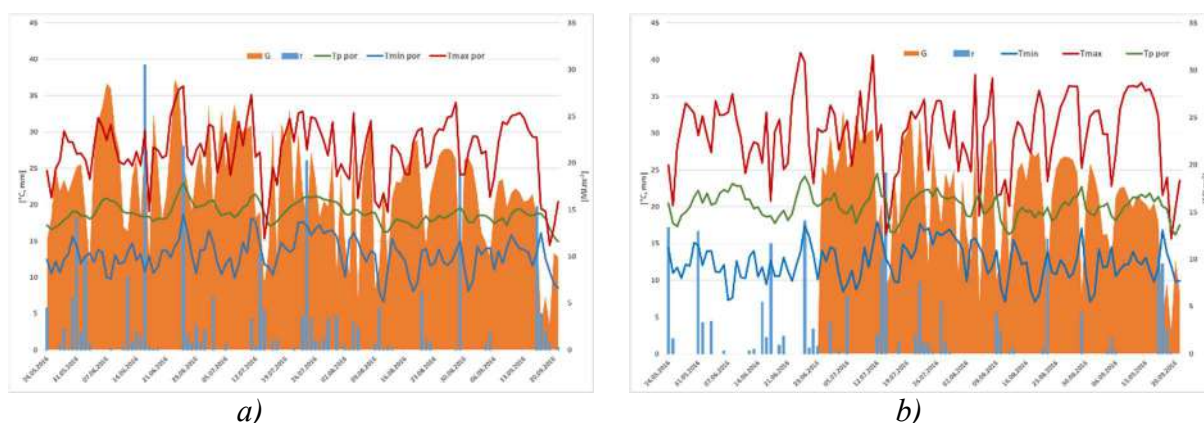
VÝSLEDKY A DISKUSE

Na obou pokusných lokalitách se vegetační období rajčat v roce 2016 vyznačovalo vysokými teplotami spojenými s vlnami veder. Na lokalitě Mochov dosáhla denní maximální teplota vzduchu v porostu rajčat v 67 případech hodnoty 30,0 °C a vyšší a ve 104 případech 25,0 °C a vyšší.



Obr. 1 a), b), c): Poškození plodů pokusných rostlin rajčat

Na lokalitě Suchdol byl počet dnů s denní maximální teplotou v porostu rajčat $\geq 30,0$ °C a $\geq 25,0$ °C nižší (38 resp. 97 dní). Průměrná denní teplota půdy byla na obou lokalitách značně vyrovnaná. Na pokusném pozemku v Mochově se pohybovala v intervalu 16,2 – 24,5 °C a na lokalitě Suchdol 14,6 – 23,0 °C. V průběhu vegetačního období rajčat došlo na obou pokusných lokalitách k poklesu denní minimální teploty vzduchu v porostu rajčat pod hodnotu 10,0 °C. V roce 2016 bylo ve vegetačním období rajčat na lokalitě Mochov 25 dnů s $T_{\min} \leq 10,0$ °C. Nejvíce těchto dnů se vyskytlo ve druhé polovině srpna. Nejnižší teplota v porostu 6,1 °C pak byla naměřena 18. a 31. srpna. Na lokalitě Suchdol byl počet dnů s $T_{\min} \leq 10,0$ °C 12 a nejnižší teplota 6,6 °C byla naměřena 11. srpna (Obr. 2). Teplotní extrémy na lokalitě Mochov (nízká denní minimální a vysoká denní maximální teplota vzduchu) způsobily v druhé polovině měsíce srpna u rostlin rajčete jedlého zpomalení relativní rychlosti růstu listové plochy, stonků i generativních orgánů (RGRw). Ke stejným závěrům došel i /5/, kdy rostliny rajčat pěstované při teplotě 12,0 °C měly průkazně nižší RGRw v porovnání s rostlinami pěstovanými při 18,0 °C. Zpomalení tvorby sušiny v důsledku teplotních extrémů (26,0 °C a 14,0 °C) a rozdíly v její distribuci mezi jednotlivými orgány popisuje /1/. Na obou pokusných lokalitách (Mochov i Suchdol) došlo v obdobích s teplotními anomáliemi ke zpomalení tvorby sušiny převážně u listů. U lokality Mochov, s výraznějšími teplotními extrémy, bylo zpomalení tvorby sušiny patrné i u generativních orgánů. Vysoká teplota vzduchu způsobila poškození nejstarších listů a snížení hodnoty LAI. Tato redukce již byla nevratná. Na lokalitě Praha Suchdol nebyly teplotní extrémy tak výrazné a nejnižší rychlost růstu byla zaznamenána v poslední třetině měsíce července (Tab. 1 a 2).



Obr. 2: Agrometeorologické parametry ve vegetačním období rajčat a) lokalita Praha Suchdol, b) lokalita Mochov (G – globální záření, r – srážky, Tmin a Tmax – denní minimální a maximální teplota vzduchu v porostu, Tp – průměrná denní teplota půdy v porostu)

Tab. 1: Růstová analýza pokusných rostlin rajčat odrůdy Thomas F1 na lokalitě Mochov

Mochov Thomas F1 2016	Suchá biomasa (g)				List. plocha (m ²)	LAI m ² /m ²	LAR (m ² ·g ⁻¹)	RGRW (g·g ⁻¹ ·den ⁻¹)		
	L	S	G	Σ				L	S	G
23.05.2016	4,56	2,9	0,01	7,46	0,111	0,2615	0,0243	0,0823	0,0480	0,2295
17.06.2016	35,66	9,64	3,1	48,40	0,361	0,8493	0,0101	0,0413	0,0327	0,0297
30.06.2016	61	14,74	4,56	80,30	0,453	1,0673	0,0074	0,0130	0,0635	0,1861
13.07.2016	72,22	33,66	51,24	157,12	0,643	1,5150	0,0089	0,0419	0,0187	0,0754
26.07.2016	124,45	42,91	136,62	303,98	0,812	1,9136	0,0065	-0,0106	0,0137	0,0214
11.08.2016	104,97	53,42	192,29	350,68	0,807	1,9007	0,0077	0,0087	0,0217	0,0019
22.08.2016	115,57	67,82	196,37	379,76	0,785	1,8485	0,0068	0,0099	-0,0023	-0,0011
30.08.2016	125,07	66,58	194,68	386,33	0,780	1,8369	0,0062	0,0002	0,0259	0,0109
13.09.2016	125,41	95,71	226,93	448,05	0,725	1,7092	0,0058			

Vysvětlivky: L - list, S - stonek, G – generativní orgány

V obdobích s vysokou sumou globálního záření (bezoblačné dny) a vysokou teplotou vzduchu docházelo k fyziologickému poškození pletiv plodů rajčat (Obr. 1b). Na osluněných stranách plodů se vytvářely nekrotické skvrny a plody byly zcela znehodnoceny. Vysoké teploty měly také za následek snížený příjem vápníku rostlinami, což se projevilo tvorbou nekrotických skvrn na špičkách plodů (Obr. 1c). K praskání plodů docházelo převážně na lokalitě Praha Suchdol, kde bylo nerovnoměrné rozložení srážek a horké vlny byly doprovázeny silnými dešti (Obr. 2a a 1a).

Tab. 2: Růstová analýza pokusných rostlin rajčat odrůdy Thomas F1 na lokalitě Suchdol

Suchdol Thomas F1 2016	Suchá biomasa (g)				List. plocha (m ²)	LAI m ² /m ²	LAR (m ² .g ⁻¹)	RGRW (g.g ⁻¹ .den ⁻¹)		
	L	S	G	Σ				L	S	G
18.05.2016	3,56	1,87	0,01	5,43	0,079	0,1352	0,0221	0,0583	0,0455	0,1441
13.06.2016	17,17	6,39	0,49	24,05	0,181	0,3124	0,0106	0,0681	0,0585	0,1761
29.06.2016	51,07	16,28	8,2	75,55	0,434	0,7477	0,0085	0,0240	0,0375	0,1050
21.07.2016	86,57	37,14	82,6	206,31	0,583	1,0037	0,0067	0,0010	0,0049	0,0523
04.08.2016	87,75	39,78	171,68	299,21	0,818	1,4084	0,0093	0,0187	0,0309	0,0116
18.08.2016	114,08	61,29	202,02	377,39	0,774	1,3324	0,0068	0,0272	0,0137	0,0051
07.09.2016	196,36	80,67	223,831	500,86	1,044	1,7972	0,0053			

Vysvětlivky: L - list, S - stonek, G – generativní orgány

ZÁVĚR

Teplotní poměry středního Polabí a severozápadního okraje Prahy jsou vhodné pro polní pěstování rajčete jedlého. V obdobích s teplotními anomáliemi (horké vlny + vysoká suma globálního záření, nízké teploty) dochází ke zpomalení růstu rostlin. Vysoké teploty způsobují fyziologické nekrózy na plodech rajčat a zhoršují příjem vápníku rostlinami, což se projeví nekrotickými skvrnami na špičkách plodů. Nerovnoměrná distribuce srážek a vysoké úhrny srážek v obdobích horkých vln mají za následek praskání a znehodnocení plodů. Do oblastí s vysokou variabilitou denních teplotních extrémů, srážek a slunečního svitu je nutné vybírat odrůdy odolné ke změnám povětrnostních podmínek.

LITERATURA

- /1/ Adams, S. R., Cockshull, K. E., Cave, C. R. J.: Effect of temperature on the growth and development of tomato fruits. *Ann. Bot.*, 88, 2001: 869-877.
- /2/ De Koning, A. N. M.: Long term temperature integration of tomato. Growth and development under alternating temperature regimes. *Scientia Horticulturae*, 45, 1990: 117-127.
- /3/ Duchowski, P., Brazaityte, A.: Tomato photosynthesis monitoring in investigations on tolerance to low temperatures. *Acta Hort.*, 562, 2001: 335-339.
- /4/ Heuvelink, E., Dorais, M.: Crop growth and yield. *Crop Production Science in Horticulture*, 13, 2005: p.85.
- /5/ Hoek, I. H., Ten Cate, C. H. H., Keijzer, C. J., Schel, J. H., Dons, H. J.: Development of the fifth leaf is indicative for whole plant performance at low temperature in tomato. *Annals of botany*, 72 (4), 1993: 367-374.
- /6/ Malý, I. a kol.: *Polní zelinářství*. Praha, Agrospoj, 1998: 163–165.
- /7/ Peet, M. M., Sato, S., Gardner, R. G.: Comparing heat stress effects on male-fertile and male-sterile tomatoes. *Plant, cell & environment*, 21 (2), 1998: 225-231.
- /8/ Potop, V., Türkott, L., Zahradníček, P., Štěpánek, P.: Časová variabilita pozdních jarních a časných podzimních mrazů v Polabí. *Meteorologické zprávy*, 66 (5), 2013: 135-142.
- /9/ Potopová, V., Zahradníček, P., Türkott, L., Štěpánek, P., Soukup, J.: The effects of climate change on variability of the growing seasons in the Elbe River Lowland, Czech Republic. *Advances in Meteorology*, 2015.
- /10/ Van Ploeg, D., Heuvelink, E.: Influence of sub-optimal temperature on tomato growth and yield: a review. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 80 (6), 2005: 652-659.

Poděkování

Tento příspěvek vznikl v rámci programu Institucionální podpora dlouhodobého koncepčního rozvoje výzkumné organizace pod záštitou MŠMT ČR.

BORIEVKA OBYČAJNÁ V AGROLESNÍCKÝCH SYSTÉMOCH***JUNIPER IN AGROFORESTRY SYSTEMS***

Vladimíra Vargová, Ľubica Jančová

Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva, Mládežnícka 36, 974 21 Banská Bystrica, vargova@vutphp.sk

Summary

The research objective was to assess botanical and soil characteristics, yield and feed quality at grassland site infested with high proportion of juniper (*Juniperus communis* L.). There was site monitored near Banská Bystrica; called Horné Lazy at the foot of the Panský diel hill. The botanical composition of sward was determined using the projective dominance method by Maloch /4/ and the grassland quality (EGQ) was evaluated according to Novák /6/. The monitoring results showed valuable until less valuable grassland with the prevalence proportion of juniper (EGQ 58.63 - 61.38). A higher content of crude protein, potassium, calcium, magnesium in DM were in the spring. The phosphorus content was very low. The soil was characterized by a neutral soil reaction, a high content of humus and nitrogen (N), a low content of phosphorus (P) and an appropriate content of potassium (K).

Key words: grassland, Juniperus communis L., juniper, evaluation of grassland quality, botanical composition, soil reaction

Súhrn

Cieľom výskumu bolo posúdiť botanické a pôdne charakteristiky, produkciu a kvalitu trávneho porastu na lokalite hromadného s výskytu borievky (*Juniperus communis* L.). V blízkosti Banskej Bystrice bola monitorovaná lokalita Horné Lazy pod Panským dielom. Botanické zloženie trávneho porastu sme stanovili pomocou metódy projektívnej dominancie podľa Malocha /4/ a kvalitu trávneho porastu (EGQ) podľa Nováka /6/. Výsledky monitorovania ukázali hodnotný až menej hodnotný trávny porast s prevahou výskytu borievky (EGQ 58.63 - 61.38). Vyššia koncentrácia dusíkatých látok, draslíka, vápnika, horčíka v sušine bola v jarnom období. Koncentrácia fosforu bola veľmi nízka. Pôda bola charakterizovaná neutrálnou pôdnou reakciou, vysokým obsahom humusu a dusíka (N), nízkym obsahom fosforu (P) a príslušným obsahom draslíka (K).

Kľúčové slová: trávny porast, Juniperus communis L., borievka, bonitácia trávneho porastu, botanika, pôdna reakcia

ÚVOD

Agrolesnícky systém možno zjednodušene definovať ako systém šetrného obhospodarovania pôdy, ktorý v sebe kombinuje pestovanie drevín spolu s poľnohospodárskou produkciou na tej istej ploche. V kombinácií s chovom hospodárskych zvierat predstavujú agrolesnícke systémy porasty drevín na pasienkoch, v okolí fariem, košiarov, kde slúžia ako ochrana zvierat pred slnkom, vetrom a snehom. Okrem welfare, možno zelenú hmotu z trávnych porastov využiť ako krmivo pre zvieratá /2/. Týmto systémom využívania môžeme znížiť pustnutie krajiny, ktorý vznikol v dôsledku opúšťania a neobhospodarovania trávnych porastov. Ďalším negatívom zarastania krajiny sú klesajú výmery ekosystémov kde sa vyskytujú porasty borievky obyčajnej (*Juniperus communis* L.). Borievka obyčajná je ihličnatý vřdzyzelený ker s tvrdými, pichľavými, zelenomodrými

ihlicami v trojpočetných praslenoch. Je to dvojdomá rastlina, ktorá produkuje plody len na samičích jedincoch raz za dva až tri roky. Na jednom kríku sa môžu vyskytnúť menšie zelené bobuľky a dozrievajúce väčšie modré bobuľky s voskovým nádychom. Plody borievky, ktoré sú nevyhnutné pre výrobu destilátov, likérov, sirupov a iných produktov, sa v súčasnosti zabezpečujú výlučne dovozom z Albánska a Macedónska. Dovážajú sa prevažne plody borievky červenoplodej (*Juniperus oxycedrus* L.), ktoré obsahujú väčšie množstvo cukru, ale na druhej strane majú menej aromatických látok v porovnaní s plodmi borievky obyčajnej. Okrem toho sa borievka obyčajná využíva aj v kozmetickom, potravinárskom a farmaceutickom priemysle. Jej domáca produkcia je minimálna, aj keď máme na Slovensku dostatok vhodných pôdnoklimatických podmienok na jej intenzívne pestovanie. Cieľom tohto príspevku je zhodnotenie floristického zloženia, produkcie, kvality trávneho porastu a pôdných podmienok vybranej lokality hromadného výskytu borievok (*Juniperus communis* L.).

MATERIÁL A METÓDA

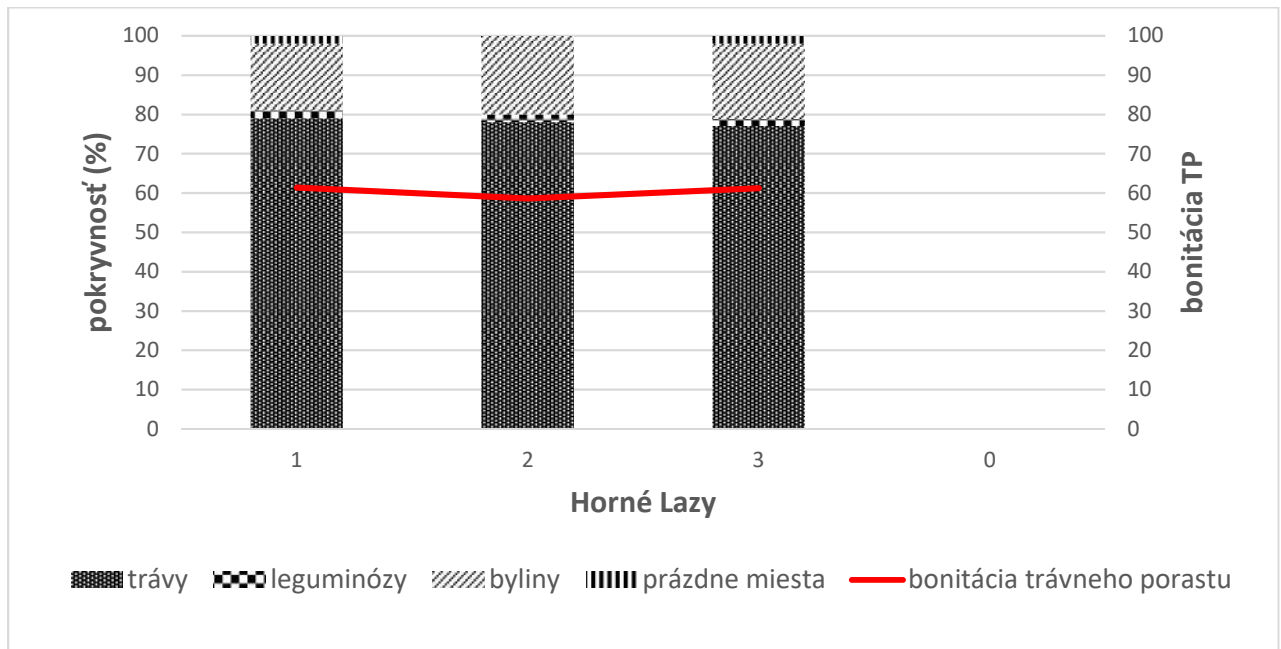
Monitoring trávneho porastu s výskytom borievok sme realizovali v rokoch 2015 a 2016 na lokalite pri Banskej Bystrici pod Pánskym dielom, tzv. Horné Lazy. Analyzovali sme floristické zloženie pomocou redukovanej projektívnej dominancie podľa Malocha /4/. Z fytocenologických zápisov sme určili bonitáciu trávneho porastu E_{GQ} (E_{GQ} – Evaluation of grassland quality) podľa Nováka /6/, ktorá sa vypočítala pomocou krmnej hodnoty (FV – Forage value) jednotlivých druhov a ich percentuálneho podielu v trávnom poraste. Určili sme produkciu sušiny. Vo vzorkách fytomasy sme laboratórne stanovili obsah dusíkatých látok, P, K, Ca, Mg a Na. Pôdne vzorky sme odoberali v jesennom období (október) z hĺbky 0 - 150 mm. Z odobratých pôdných vzoriek sme zisťovali pH v KCl, C_{ox} , N, P, K a Mg. Sledovaná lokalita hromadného výskytu borievok sa nachádzala v nadmorskej výške 656 m n. m. Z klimatického hľadiska danú lokalitu môžeme zaradiť do mierne teplej agroklmatickej oblasti, agroklmatického okrsku M7 – mierne teplého silne vlhkého vrchovinového s dlhodobým ročným úhrnom zrážok 795 mm a priemernou ročnou teplotou vzduchu 8,1 °C.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

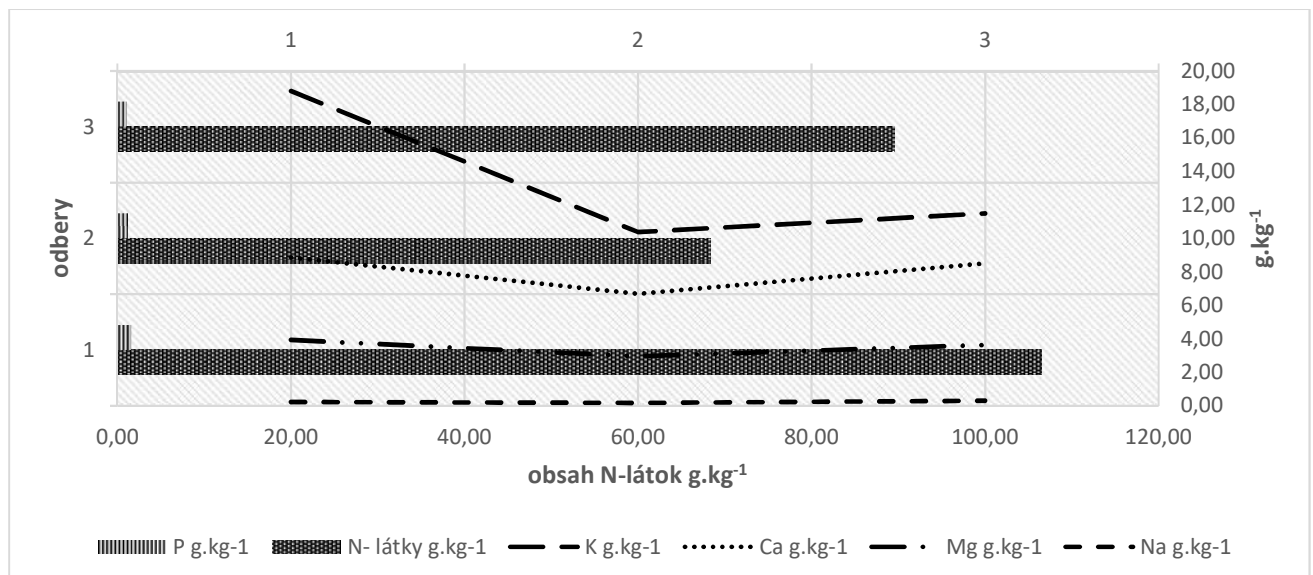
Fytocenologický zápis trávnych porastov sme realizovali na jar. Trávny porast na lokalite Horné Lazy bol využívaný mladým dobytkom z neďalekej farmy. V trávnom poraste dominovali trávy 77 – 79 %, byliny 17 – 20 % a leguminózy boli zastúpené len 2 % (graf 1). Z trávnych druhov v poraste prevládali *Bromus erectus* L., *Arrhenatherum elatius* L., *Trisetum flavescens* (L.) P. Beauv. a *Briza media* L. Leguminózy boli zastúpené *Anthyllis vulneraria* L., *Lotus corniculatus* L., *Medicago falcata* L., *Trifolium montanum* L. V poraste dominovali byliny *Agrimonia eupatoria* L., *Salvia pratensis* L., *Thymus puegioides* L. a *Plantago media* L. Pri hodnotení trávneho porastu pomocou bonitácie, bol porast hodnotný až menejhodnotný s hodnotami E_{GQ} od 58,63 do 61,38. Tieto hodnoty odpovedajú nižšiemu zastúpeniu vysokohodnotných druhov tráv s vysokou krmnou hodnotou /8/. Kvalitu trávneho porastu tvorili hodnotné druhy ako *Festuca rubra* L. a *Trisetum flavescens* (L.) P. Beauv. *Festuca rubra* L. patrí medzi trávne druhy menej náročné na dusík /1/. Druhy z čeľade *Fabaceae* majú vysokú kvalitu /7/. V poraste boli prítomné vysokohodnotné druhy *Lotus corniculatus* L., *Trifolium pratense* L. a hodnotné druhy *Anthyllis vulneraria* L., *Medicago falcata* L. a *Trifolium montanum* L. Spoločenstvo trávneho porastu obsahovalo väčšinou bezcenné až menej hodnotné druhy bylín, výnimku tvorili hodnotné druhy *Achillea millefolium* L., *Taraxacum officinale* Web. a *Tragopogon orientalis* L.

Produkcia trávneho porastu v lokalite hromadného výskytu borievok bola od 1,84 t.ha⁻¹ do 2,93 t.ha⁻¹. Na miestach, kde sa častejšie pásol mladý dobytok bola vyššia. Najvyšší obsah dusíkatých látok bol v prvom jarnom odbere 106,46 g.kg⁻¹. V lete sa jeho obsah znížil a

ku koncu vegetácie zase stúpol, na hodnotu $89,63 \text{ g.kg}^{-1}$. Z hľadiska výživy zvierat sú tieto koncentrácie pre zvieratá nepostačujúce. Dôležité je sledovanie obsahu minerálnych prvkov z hľadiska výživy zvierat, ale aj z ekosystémového hľadiska. Najvyššia koncentrácia draslíka, vápnika, horčíka a fosforu v sušine trávneho porastu bola v prvom odbere. Neplatilo to pri obsahu sodíka, ktorý bol najvyšší až v treťom odbere ($0,31 \text{ g.kg}^{-1}$). Obsah draslíka bol od $18,81$ do $11,49 \text{ g.kg}^{-1}$, vápnika od $8,86$ do $8,52 \text{ g.kg}^{-1}$ a horčíka od $3,94$ do $3,64 \text{ g.kg}^{-1}$. Ich obsahy sú vhodné pre priamu výživu polygastrických zvierat. Neplatí to pri koncentrácií fosforu v sušine fytomasy, ktorá bola veľmi nízka, od $1,57$ do $1,08 \text{ g.kg}^{-1}$.



Graf 1.: Floristické zloženie a bonitácia trávneho porastu



Graf 2.: Obsah organických látok a minerálnych prvkov v sušine fytomasy

Pôdna reakcia na sledovanej lokalite bola neutrálna, od $6,93$ – $7,13$, s vysokým obsahom humusu ($48,30$ – $53,10 \text{ g.kg}^{-1} \text{ CO}_x$) a dusíka ($8,61$ – $10,60 \text{ g.kg}^{-1}$). Zásoba prijateľného fosforu v pôde bola nízka. Obsah draslíka v pôde bol vyhovujúci až dobrý. Jeho

najväčšia zásoba (179,06 mg.kg⁻¹) sa zistila na treťom stanovišti. Veľmi vysoký obsah prijateľného horčička bol na všetkých troch miestach odberu (1189,76 – 1287,02 mg.kg⁻¹). Naše pôdy sú dobre zásobené horčikom čo potvrdzujú aj naše zistenia /3/. Vysoký obsah humusu, prijateľného dusíka, draslíka a horčička v pôde súvisí s pasením zvierat, čím sa zvyšujú zásoby živín v pôde. Dostupnosť živín v pôde sa môže meniť aj vplyvom zrážok, teploty, pôdneho typu a pôdnej reakcie /5/.

ZÁVER

Skúmaná lokalita Horné Lazy, s prevahou výskytu borievky obyčajnej (*Juniperus communis* L.), mala kvalitný trávny porast, ktorý sa využíval mladým dobytkom. Na základe bonitácie trávneho porastu, môžeme ohodnotiť trávny porast ako hodnotný až menejhodnotný, s produkciou od 1,84 – 2,93 t.ha⁻¹. Hodnoty koncentrácie draslíka, vápnika a horčička v sušine fytomasy boli postačujúce pre krm zvierat, ale s nižším obsahom dusíkatých látok. Obsah fosforu bol veľmi nízky počas celého roka. Najvyššie obsahy organických látok a minerálnych prvkov v sušine (dusíkatých látok, draslíka, vápnika, horčička a fosforu) boli v jarnom období. Pôdna reakcia sa zistila neutrálna, s veľmi vysokým až vysokým obsahom humusu a dusíka, nízkym obsahom fosforu, vyhovujúcim obsahom draslíka a veľmi vysokým obsahom horčička. Pestovanie borievok na produkciu plodov spolu s využívaním trávneho porastu hospodárskymi zvieratami (Silvopasture) je dobrým príkladom agrolesníctva, o ktorom sa v poslednom období čoraz viac diskutuje. Pri tom môžu agropodnikatelia tieto plody zbierať a predávať ich liehovarníckemu alebo farmaceutickému priemyslu čím si významne diverzifikujú svoju produkciu o ďalší príjem.

LITERATÚRA

- /1/ Jančovič, J., Vozár, L., Bačová, S.: Vplyv rôznej prátotechniky na botanické zmeny trávneho porastu v dlhodobom pokuse. In *Acta fytotechnica et zootechnica*, roč. 11, 2008, č. 3, s. 62 – 64.
- /2/ Hrebík, M., Jankovič, J. : Agrolesníctvo a jeho potenciál pre skvalitnenie agrárnej produkcie a rozvoj slovesného vidieka. In *Agromagazín*, roč. IXX., 2017, č. 1, s.36 – 37.
- /3/ Kobza, J.et al.: Aktuálny stav a vývoj obsahu fosforu, draslíka a horčička v poľnohospodárskych pôdach Slovenska. In *Agrochémia* 50 (1): 3-8.
- /4/ Maloch, M.: *Krmovinárstvo*. II. diel. Bratislava : SPN, 1953. 616 s.
- /5/ Maathuis, F.: Physiological function of mineral macronutrients. In *Current Opinion in Plant Biology* 12 (3), 2009: 250-258.
- /6/ Novák, J.: Evaluation of grassland quality. In *Ekológia (Bratislava)*, vol. 23, 2004, no. 2, pp. 127 -143.
- /7/ Novák, J., Obtulovič, P.: Kvalita trávnych porastov Centrálnych Západných Karpát ovplyvnená extenzifikáciou a globálnym oteplením. In *Produkčné, ekologické a krajinné funkcie trávnych ekosystémov a krmných plodín*. Nitra : SPU, Banská Bystrica : VÚTPHP, s. 12-20
- /8/ Novák, J. 08: *Pasienky, lúky a trávniky*. Prievidza : Patria I. spol. s r. o. , 2008, 708 s.

Pod'akovanie

Príspevok bol spracovaný vďaka podpore projektu APVV-14-0843 „Výskum možností pestovania borievky (*Juniperus communis* L.) na produkciu plodov“.

PŘÍPRAVA TRANSGENNÍCH ROSTLIN ODOLNÝCH VŮČI STRESU

PREPARATION OF TRANSGENIC PLANTS RESISTANT TO STRESS

Jitka Viktorová, Kateřina Řehořová, Tomáš Macek

Ústav biochemie a mikrobiologie, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT, Praha;
rehorova@vscht.cz

Summary

The aim of this work is the plant recombinant production of osmotin protein followed by study of its impact on abiotic stress. The gene coding for osmotin (*OSM*) was amplified using PCR with tobacco (*Nicotiana tabacum*) genomic DNA serving as a template. The osmotin gene fused with oligonucleotide encoding histidine tag (*His-OSM*) was inserted into the pGreen0029 vector under the control of constitutive Cauliflower Mosaic Virus promoter. Transgenic plants transformed by *His-OSM* were prepared by agrobacterial co-cultivation method. The higher osmotic tolerance of transgenic plants was demonstrated by seeds germination as well by chlorophyll content, both in presence of NaCl. Thus, transgenic plants with higher production of osmotin protein could be a useful model for osmotin application in preparation of transgenic crops with improved tolerance to abiotic stress.

Key words: osmotin, recombinant production, salinity, tobacco, Nicotiana tabacum

Souhrn

Tato práce je zaměřena na rekombinantní produkci rostlinného proteinu osmotinu a následně na studium jeho úlohy při abiotickém stresu. Gen kódující osmotin (*OSM*) byl amplifikován pomocí PCR s využitím genomové DNA tabáku virginského (*Nicotiana tabacum*) jako templátu. Gen *OSM* ve fúzi s oligonukleotidem kódujícím histidinovou kotvu (*His-OSM*) byl vložen do vektoru pGreen0029 pod kontrolu konstitutivního promotoru viru květákové mozaiky. Metodou agrobakteriální kokultivace byly připraveny transgenní rostliny nesoucí gen *His-OSM*. Sledováním klíčivosti semen a obsahu chlorofylu v přítomnosti NaCl byla prokázána zvýšená tolerance transgenních rostlin k osmotickému stresu. Rostliny tabáku se zvýšenou produkcí osmotinu se tak mohou stát užitečným modelem pro uplatnění genu *OSM* při přípravě zemědělských plodin se zvýšenou tolerancí abiotickému stresu.

Klíčová slova: osmotin, rekombinantní produkce, zasolení, tabák, Nicotiana tabacum

ÚVOD

Osmotin je řazen do 5. třídy „pathogenesis-related“ proteinů a svou strukturou je podobný thaumatinu. Poprvé byl popsán a izolován z tabákových listů v roce 1987 /9/, později byl nalezen u mnoha druhů jednoděložných i dvouděložných rostlin a byla prokázána velká řada jeho funkcí. Významnou roli hraje zejména během zasolení /5/, chladu /3/ a při nedostatku vody /4/. Je součástí imunitního systému rostliny a byla prokázána jeho antifungální aktivita /1/, což by mohlo přispět k jeho potenciální aplikaci v potravinářském průmyslu. Další oblastí využití by mohl být farmaceutický průmysl, protože receptor pro osmotin vykazuje homologii s receptorem pro adiponektin /7/ a mohl by být použit jako doplněk při léčbě obezity, aterosklerosy nebo insulinové resistenci /2/.

I přes mnohé potencionální využití a nespočet citací, nebylo přesně popsáno, jaký dopad má nadprodukce osmotinu během vysokých koncentrací zasolení, jestli zvyšuje možnou toxicitu rostliny nebo zda dochází k jeho post-transkripční modifikaci. Cílem této práce bylo

připravit transgenní rostliny tabáku, které by nesly gen osmotinu pod kontrolou konstitutivního promotoru a dále podrobit tyto rostliny osmotickému stresu a sledovat rozdíly mezi transgenními a netransgenními liniemi.

MATERIÁL A METÓDA

Osmotinový gen byl amplifikován včetně signálních sekvencí /11/ a pomocí restričních enzymů *EcoRI* a *XhoI* a T4 DNA ligasy vložen do vektoru pET-22b. Po namnožení plasmidu v *E. coli* DH5 α byl vektor izolován a použit pro další amplifikaci genu pro osmotin. Získaný amplikon byl fúzován s histidinovou kotvou a spolu s CaMV 35S promotorem vložen do rostlinného binárního vektoru pGreen0029. Získaný plasmid pGreen0029 a pomocný plazmid pSoup byly elektroporovány do *A. tumefaciens* C58C1.

Transientní exprese v listech tabáku byla provedena dle /6/ a míra exprese byla detekovaná po 48 hodinách na úrovni mRNA a proteinu. Přítomnost proteinu označeného histidinovou kotvou byla ověřena pomocí SDS-PAGE s následnou imunochemickou detekcí s použitím myší anti-His protilátky a sekundární kozí anti-mouse protilátky.

Trvalá transformace listových disků tabáku byla uskutečněna dle /8/ a selekce regenerantů probíhala na médiích s kanamycinem (100 mg l⁻¹).

Klíčivost semen T1 generace byla stanovena na MS médiu obsahujícím různé koncentrace NaCl (0 – 400mM). Celkem bylo vyseto 50 transgenních a netransgenních semen a po 2 týdenním intervalu byly spočítány životaschopné semenáče. Míra rezistence ke stresu byla měřena prostřednictvím obsahu chlorofylu listových disků, které byly vystaveny různým koncentracím soli po dobu 2 týdnů. Následně byl chlorofyl extrahován a spektrofotometricky stanoven dle (Tang et al., 2005) /10/.

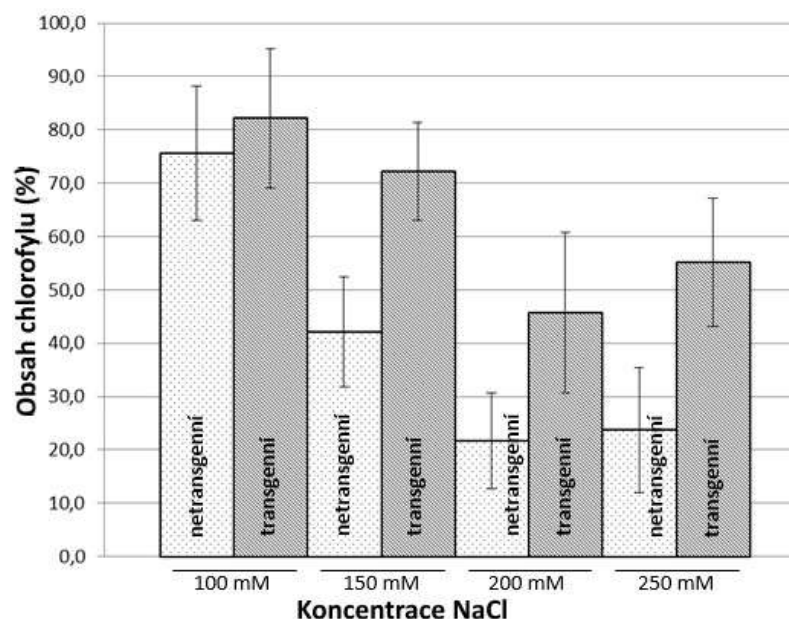
VÝSLEDKY A DISKUSE

Gen osmotinu byl amplifikován z DNA tabáku, a to včetně C- a N- terminální domény. Transgen byl exprimován pod kontrolou silného konstitutivního promotoru viru kvěťákové mozaiky (CaMV 35S). Funkčnost připraveného vektoru byla v rostlinném systému potvrzena transienční expresí osmotinové mRNA a proteinu. Tabák byl transformován infiltrací buněk agrobacteria do adaxiální strany listu za využití stříkačky. Úspěšnost transienční exprese byla stanovena po 2 dnech. Byly použité specifické primery pro detekci transgenu tak, aby došlo k amplifikaci pouze transgenního osmotinu. Trvale transformované rostliny byly získány agrobakteriální kokultivací 134 listových fragmentů, z nichž bylo získáno 131 regenerantů a u 13 % byla potvrzena přítomnost transgenu na úrovni DNA.

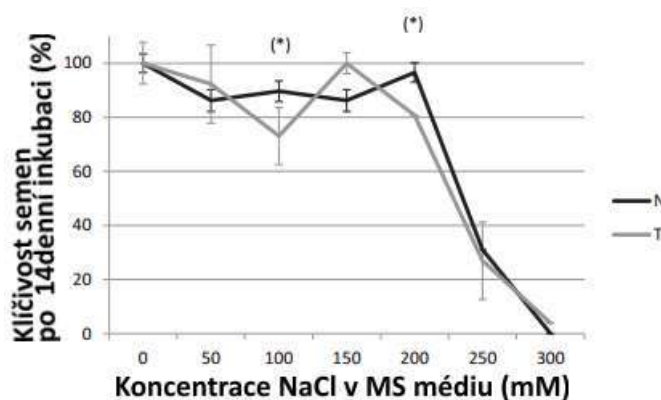
Pro pozorování vlivu vysoké koncentrace osmotinu na rostliny byly použity rostliny parentální a první filiální generace. Pro hodnocení obsahu chlorofylu byly vybrány jednokopiové transgenní linie produkující osmotin 5 \pm 2 násobně. Transgenní rostlinné disky obsahovaly až o 30 % více chlorofylu než rostliny netransgení (obr. 1).

V rámci druhé části pokusu byly testovány jednokopiové transgenní linie produkující osmotin 78 \pm 5 násobně. Semena rostlin byla vyseta na MS médium obsahující různé koncentrace NaCl. Klíčivost semen byla negativně ovlivněna zvyšující se salinitou u transgenních i netransgenních linií, na koncentraci 300 mM NaCl však byly schopné vyklíčit pouze transgenní rostliny (Obr. 2).

Naše pilotní experimenty ukazují, že rostliny nadprodukcující osmotin se dokáží lépe vyrovnat s osmotickým stresem, ačkoliv procento klíčících rostlin na zasolené půdě neznají velké rozdíly mezi transgenními a netransgenními liniemi. Dalším postupem by mělo být zvolení a vyhodnocení vhodných biochemických a molekulárních markerů, které by tyto výsledky potvrdily.



Obrázek 1: Obsah chlorofylu listových disků tabáku po expozici osmotickému stresu u transgenních linií (nadprodukující protein osmotin) v porovnání s linií netransgenní. Znáznorněny jsou průměry a směrodatné odchylky.



Obrázek 2: Klíčivost transgenních (T) a netransgenních (N) semen tabáku na MS médiu obsahující různé koncentrace soli. Znáznorněny jsou průměry, směrodatné odchylky a (*) zvýrazňuje data signifikantně odlišné dle výsledků jednocestné ANOVA ($p < 0.05$).

LITERATURA

- 1/ Abad, L., D'Urzo, M., Liu, D.: Antifungal activity of tobacco osmotin has specificity and involves plasma membrane permeabilization. *Plant Sci.* 118, 1996: 11–23.
- 2/ Ali, T., Yoon, G. H., Shah, S. A., Lee, H. Y., Kim, M. O.: Osmotin attenuates amyloid beta-induced memory impairment, tau phosphorylation and neurodegeneration in the mouse hippocampus. *Sci. Rep.* 5, 2015: 11708.
- 3/ D'Angeli, S., and Altamura, M. M.: Osmotin induces cold protection in olive trees by affecting programmed cell death and cytoskeleton organization. *Planta* 225, 2007: 1147–1163.
- 4/ Das, M., Chauhan, H., Chhibbar, A., Rizwanul Haq, Q.M., Khurana, P.: High-efficiency transformation and selective tolerance against biotic and abiotic stress in mulberry, *Morus indica* cv. K2, by constitutive and inducible expression of tobacco osmotin. *Transgenic Res.* 20, 2011: 231–246.
- 5/ Goel, D., Singh, A.K., Yadav, V., Babbar, S.B., Bansal, K.C.: Overexpression of osmotin gene confers tolerance to salt and drought stresses in transgenic tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Protoplasma* 245, 2010: 133–141.

- /6/ Kapila, J., De Rycke, R., Van Montagu, M., and Angenon, G.: An Agrobacterium-mediated transient gene expression system for intact leaves. *Plant Sci.*, *122*, 1997: 101–108.
- /7/ Narasimhan, M.L., Coca, M.A., Jin, J., Yamauchi, T., Ito, Y., Kadowaki, T., Kim, K.K., Pardo, J.M., Damsz, B., Hasegawa, P.M., et al.: Osmotin is a homolog of mammalian adiponectin and controls apoptosis in yeast through a homolog of mammalian adiponectin receptor. *Mol. Cell*, *17*, 2005: 171–180.
- /8/ Novakova, M., Mackova, M., Antosova, Z., Viktorova, J., Szekeres, M., Demnerova, K., and Macek, T.: Cloning the bacterial bphC gene into *Nicotiana tabacum* to improve the efficiency of phytoremediation of polychlorinated biphenyls. *Bioeng. Bugs*, *1*, 2010: 419–423.
- /9/ Singh, N.K., Bracker, C.A., Hasegawa, P.M., Handa, A.K., Buckel, S., Hermodson, M.A., Pfankoch, E., Regnier, F.E., and Bressan, R.A.: Characterization of Osmotin. *Plant Physiol.*, *85*, 1987: 529–536.
- /10/ Tang, D., Qian, H., Zhao, L., Huang, D., Tang, K.: Transgenic tobacco plants expressing BoRS1 gene from *Brassica oleracea* var. *acephala* show enhanced tolerance to water stress. *J. Biosci.*, *30*, 2005: 647–655.
- /11/ Viktorova, J., Rehorova, K., Musilova, L., Suman, J., Lovecka, P., and Macek, T.: New findings in potential applications of tobacco osmotin. *Protein Expr. Purif.*, *129*, 2017: 84–93.

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory GAČR 15-22276S.

VLIV ARSENU NA OBSAH VOLNÝCH AMINOKYSELIN V BIOMASE *PTERIS CRETICA*

EFFECT OF ARSENIC ON FREE AMINO ACIDS CONTENT IN BIOMASS OF PTERIS CRETICA

Veronika Zemanová¹, Milan Pavlík¹, Daniela Pavlíková²

¹ Ústav experimentální botaniky AV ČR, v. v. i., Izotopová laboratoř, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4 - Krč, veronika.zemanova@biomed.cas.cz

² Česká zemědělská univerzita v Praze, FAPPZ, Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin, Kamýcká 129, 165 21 Praha - Suchdol

Summary

In the pot experiment with fern *Pteris cretica* (L.) var. *Albo-lineata* were studied the changes of free amino acids (AA) under As chronic stress. Arsenic was applied in dose 20 and 100 mg As/kg of soil and plants were harvested after 80 and 160 days of vegetation. Accumulation of As in fronds and bioaccumulation factor confirmed *P. cretica* as hyperaccumulator. However As toxicity was showed by decrease of biomass yield and total AAs content under As chronic stress. Content of As was 3.5-54-fold higher in fronds of As treatments in comparison to control. Significant part from total AAs content was formed by glutamine, glutamic acid, aspartic acid, phenylalanine and serine. These AAs, except glutamine increased in fronds with vegetation length. Content of glutamine decreased during vegetation. After 160 days was 3-8-fold lower than after 80 days. Contents of other free AAs were lower than 5 %.

Key words: hyperaccumulators, stress metabolism, Pteridaceae, plant defense

Souhrn

V nádobovém pokusu s kapradinou *Pteris cretica* (L.) var. *Albo-lineata* byl studován vliv kontaminace půdy As na obsah volných aminokyselin (AA) v rostlině při chronickém stresu. Arsen byl aplikován ve dvou dávkách (20 a 100 mg As/kg půdy) a rostliny byly odebírány po 80 a 160 dnech vegetace. Akumulace As v listech *P. cretica* a bioakumulační faktor potvrdily hyperakumulační charakter této kapradiny, avšak při chronickém stresu se projevila toxicita As snížením výnosu biomasy a celkového obsahu volných AA. Obsah As v listech byl oproti kontrole 3,5-54krát vyšší u As variant. Významný procentický podíl z celkového obsahu AA tvořily glutamin, kyselina glutamová, kyselina asparagová, fenylalanin a serin. Tyto AA s výjimkou glutaminu se akumulují v listech s délkou vegetace. Obsah glutaminu se naopak snižoval s délkou vegetace 3-8krát. Obsahy dalších volných AA byl menší než 5 %.

Klíčová slova: hyperakumulátory, stresový metabolismus, Pteridaceae, obrana rostlin

ÚVOD

Arsen (As) je metalloid, který je toxický pro živé organismy /1/. Rostlinou je As přijímán přes fosfátové transportéry (As^V) a aquaglyceroporíny (As^{III}) /2/. Většina rostlin je vůči As citlivá. Existují i tolerantní rostliny, např. některé ekotypy trávy *Holcus lanatus*, a zvláštní skupina rostlin, tzv. hyperakumulátory, které jsou hypertolerantní vůči As /3, 4/. Hyperakumulátory As jsou schopné v listech akumulovat více jak 1000 mg As/kg sušiny /4/. Prvním objeveným hyperakumulátorem As byla kapradina *Pteris vittata* /3/. U rostlin As ovlivňuje metabolismus C, N a S /2/. Formy As zvyšují tvorbu volných radikálů a reaktivních forem kyslíku, a tím způsobují oxidativní poškození, které může ovlivnit růst rostlin a

akumulaci biomasy /5/. Významnou roli v tvorbě komplexů, antioxidační obraně a signalizaci při stresu rizikovými prvky hrají aminokyseliny (AA) /6/.

MATERIÁL A METODA

Kapradiny *Pteris cretica* (L.) var. *Albo-lineata* (*Pc-A*) byly pěstovány 80 a 160 dní v nádobovém pokusu s černozemí modální (5 kg; $\text{pH}_{\text{KCl}} = 7,2$; $\text{KVK} = 258 \text{ mmol}_+/ \text{kg}$; $\text{C}_{\text{org.}} = 1,83 \%$; $\text{As} = 16 \pm 1,7 \text{ mg/kg}$) 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 ve formě roztoku $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ v dávce 20 a 100 mg As/kg půdy (As1 a As2). Kontrolní variantou byla půda bez aplikace As. Obsah prvků byl stanoven metodou ICP-OES po nízkotlakém mikrovlnném rozkladu. Po derivatizaci extraktu (1 g čerstvé biomasy; 15 mL MeOH + H_2O , 7:3 v/v; 24 hod) sadou EZ:faast (Phenomenex) byl změřen obsah volných AA pomocí GC-MS. Data byla přepočítána na obsah v suché biomase (DW) a vyhodnocena v programu Statistica 12.0 (neparametrický Kruskal-Wallisův test) a CANOCO 4.5 (analýza hlavních komponent - PCA).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky vlivu As kontaminace na výnos nadzemní biomasy, akumulaci As, P, S a celkový obsah volných AA uvádí tab. 1. Data v grafu 1 zobrazují výsledky PCA analýzy, z nichž je dle rozdělení značek pro 80 a 160 dní na opačných stranách diagramu patrný významný vliv délky vegetace na stanovené parametry. Značky pro jednotlivé varianty jsou seskupeny a odděleny od ostatních variant, což potvrzuje i významný vliv varianty. Výnos biomasy *Pc-A* byl vlivem As1 a As2 zvýšen po 80 dnech růstu a snížen po 160 dnech. Stejný trend byl pozorován u Cd hyperakumulátoru *Arabidopsis halleri* /7/.

Tab. 1: Výnosu biomasy (g/1 rostlina/nádoba DW), obsah As, P a S (g/kg DW) a celkový obsah volných AA (Σ AA, mmol/kg DW) v listech *P. cretica* *Albo-lineata*.

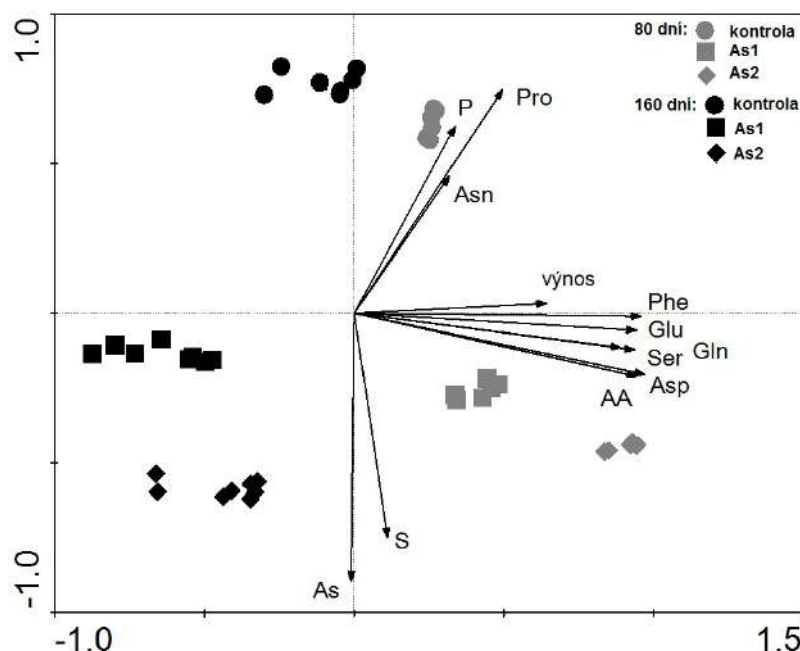
	80 dní			160 dní		
	kontrola	As1	As2	kontrola	As1	As2
výnos	23.4±0.05 ^{aA}	35.3±0.04 ^{bB}	24.8±0.03 ^{abB}	25.2±0.04 ^{aB}	24.8±0.03 ^{aA}	23.2±0.05 ^{aA}
As	0.04±0.001 ^{aA}	0.4±0.004 ^{abA}	2.4±0.009 ^{bB}	0.2±0.001 ^{aB}	0.6±0.001 ^{abB}	1.9±0.004 ^{bA}
P	2.9±0.02 ^{aA}	2.9±0.004 ^{aB}	3.5±0.008 ^{bB}	4.2±0.03 ^{bB}	2.8±0.004 ^{abA}	2.5±0.002 ^{aA}
S	1.7±0.008 ^{aA}	1.9±0.02 ^{abA}	2.8±0.004 ^{bB}	1.93±0.007 ^{aB}	1.99±0.001 ^{abB}	2.6±0.01 ^{bA}
Σ AA	86.4±2.8 ^{aB}	313.3±14.8 ^{abB}	508.7±5.4 ^{bB}	25.6±0.9 ^{bA}	19.1±1.3 ^{aA}	21.4±1.2 ^{abA}

Statisticky významný rozdíl ($\alpha < 0,05$) vyjadřují rozdílná písmena za průměry ($\pm \text{SCH}$, $n=6$) mezi variantou v jednotlivých odběrech (a, b) a mezi odběry pro každou variantu (A, B).

Akumulace As rostlinou se zvyšovala s rostoucí dávkou As v půdě (tab. 1). Varianta As1 zvýšila obsah As 9- a 3,5krát oproti kontrole a varianta As2 54- a 12krát. Na základě výsledků obsahu As v listech *Pc-A* byl spočítán bioakumulační faktor, jehož hodnoty byly 19,5 a 27,5 (As1, 80 a 160 dní) a 23,8 a 19,8 (As2, 80 a 160 dní). Podobné výsledky uvádějí Zhao et al. /8/, kteří jako první zjistili hyperakumulaci u *Pc-A*. Obdobně jako obsah As i obsah S byl zvýšen u As variant v průměru o 40 a 19 % (tab. 1) a byla vypočítána korelace mezi As a S ($r=0,98$; $p < 0,001$). Obsah P vzrostl po 80 dnech vegetace v průměru o 11 % a po 160 dnech se snížil v průměru o 37 %. Vyšší akumulaci S a P u *Pc-A* stanovili výše uvedení autoři, nepotvrdili však vliv As na obsah S a P ani korelaci mezi As a S.

Graf 1 ukazuje vyšší akumulaci AA po 80 dnech vegetace (3-24krát). Byla potvrzena korelace ($r=0,50$; $p=0,001$) mezi sumou AA a výnosem. Aminokyseliny mají stěžejní roli v interakci mezi C a N metabolismem, kdy N metabolity umožňují využití C pro růst /9/. Celkový obsah volných AA byl po 80 dnech v průměru 5krát vyšší u As variant. Po 160

dnech byl snížen v průměru o 21 %. Stejný trend pro sumu AA byl zjištěn v listech Cd hyperakumulátoru *Noccaea caerulescens* po 30 a 90 dnech růstu v půdě s aplikací Cd /7/.



Graf 1: Diagram výsledků PCA analýzy stanovených parametrů u *P. cretica* Albo-lineata. První osa vysvětluje 52 %, první dvě osy 74 % a první čtyři dohromady 96 % variability všech analyzovaných dat.

Hlavní AA byl glutamin (Gln), jehož obsah dosahoval u kontroly 43 % (80 dní) a 16 % (160 dní) z celkové sumy AA. Vlivem As se po 80 dnech obsah Gln zvýšil na 82 % u As1 a 85 % u As2. Naopak po 160 dnech byl obsah snížen na 10 % u As1 a 15 % u As2. Glutamin jako jediný z diskutovaných volných AA klesá s délkou vegetace u všech variant. Pokles je pravděpodobně způsoben jeho okamžitým zpracováním při chronickém stresu. Stejný jev byl pozorován u *A. halleri* vlivem Cd stresu /7/. Naopak u hyperakumulátoru *As Pityrogramma calomelanos* patřil Gln k AA s nejnižším obsahem /2/. V celkové sumě AA u *Pc-A* byly dále významně zastoupeny: kyselina glutamová (Glu) > kyselina asparagová (Asp) > fenylalanin (Phe) >> serin (Ser). U těchto AA byl snížen obsah po 80 dnech u As variant. Při chronickém stresu, tj. po 160 dnech byl obsah snížen u As variant pouze u Phe a zvýšen u Asp a Ser. Smíšený efekt As byl u Glu - zvýšení u varianty As1 a snížení u varianty As2. Obsah Glu byl u kontrol 32 % (80 dní) a 39 % (160 dní) a klesal vlivem aplikace As na 12 % (As1, 80 dní), 8 % (As2, 80 dní) a 38 % (As2, 160 dní). Varianta As1 po 160 dnech zvýšila obsah Glu na 43 %. V kapradině *P. calomelanos* byl obsah Glu a Ser, spolu s argininem, cysteinem, *O*-acetylserinem a valinem vyšší u As variant /2/. Obsah Asp u kontroly dosahoval 5 % (80 dní) a 13 % (160 dní) ze sumy AA. Vlivem As byl po 80 dnech obsah Asp snížen na 1,8 % (As1) a 1,7 % (As2) a naopak zvýšen po 160 dnech na 15 % u obou As variant. Opačný vliv, pokles obsahu Glu a Asp s délkou vegetace, měla Cd kontaminace půdy na špenát /10/. U těchto rostlin bylo zjištěno i zvýšení obsahu Glu a Asp vlivem Cd. Obě AA jsou odpovědné za přenos N ze zdrojových orgánů do zásobních pletiv pro využití při růstu a obraně rostlin /10/. Podobně jako Asp reagoval na vliv As kontaminace Ser, jehož obsah byl po 80 dnech vegetace snížen z 3 % na 0,6 % (As1) a 0,9 % (As2) a po 160 dnech byl zvýšen z 5,5 % na 8 % (As1) a 6 % (As2). Vlivem aplikace As klesal obsah Phe po 80 i 160 dnech ze 3 a 9 % na 0,8 a 7 % (As1) a na 0,9 a 8,6 % (As2). Z grafu 1 je vidět souvislost mezi těmito AA (úhel mezi šipkami je < 90°). Pozitivní korelace byla potvrzena mezi sumou AA a Gln, Asp, Glu, Phe a Ser ($r=0,99$; $r=0,96$; $r=0,91$; $r=0,89$ a $r=0,86$; $p < 0,001$). Nízký obsah z celkové sumy

AA (> 5 %) byl stanoven pro asparagin (Asn) a prolin (Pro), u nichž nebyla zjištěna statisticky významná korelace se sumou AA. Obsah Asn dosahoval max. 2,5 % a byl snižován vlivem As kontaminace. Asparagin má schopnost vytvářet intracelulární komplexy s kovy, např. Cd, Pb a Zn, a tím snižovat toxicitu těchto prvků /11/. I obsah Pro byl snižen u As variant a jeho obsah byl max. 1,5 % ze sumy AA. Mezi obsahem As a Pro byla zjištěna negativní korelace ($r=1-0,35$; $p=0,022$). U těchto AA se obsah zvyšoval s délkou vegetace.

LITERATURA

- /1/ Ali W, Isayenkov SV, Zhao FJ, Maathuis FJM: Arsenite transport in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66, 2009: 2329-2339
- /2/ Wang J, Zhao FJ, Meharg AA, Raab A, Feldmann J, MacGrath SP: Mechanisms of arsenic hyperaccumulation in *Pteris vittata*. Uptake kinetics, interactions with phosphate, and arsenic speciation. *Plant Physiology*, 130, 2002: 1552–1561
- /3/ Kramer U: Metal hyperaccumulation in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 61, 2010: 517–534
- /4/ 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
- /5/ Singh N, Ma LQ, Srivastava M, Rathinasabapathi B: Metabolic adaptations to arsenic-induced oxidative stress in *Pteris vittata* L. and *Pteris ensiformis* L. *Plant Sciences*, 170, 2006: 274–282
- /6/ 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
- /7/ Zemanová V, Pavlík M, Pavlíková D, Tlustoš P: The changes of contents of selected free amino acids associated with cadmium stress in *Noccea caerulea* and *Arabidopsis halleri*. *Plant, Soil and Environment*, 59, 2013: 417-422
- /8/ Zhao FJ, Dunham SJ, McGrath SP: Arsenic hyperaccumulation by different fern species. *New Phytologist*, 156, 2002: 27-31
- /9/ Lea PJ, Forde BG: The use of mutants and transgenic plants to study amino acid metabolism. *Plant Cell and Environment*, 17, 1994: 541-556
- /10/ Zemanová V, Pavlík M, Pavlíková D, Kyjaková P: Changes in the contents of amino acids and the profile of fatty acids in response to cadmium contamination in spinach. *Plant, Soil and Environment*, 61, 2015: 285-290
- /11/ Planchet E, Limami AM: Amino acid synthesis under abiotic stress. In: D'Mello JPF (Ed.), *Amino Acids in Higher Plants*. 2015. CABI Publishing, Wallingford, United Kingdom, pp. 262-276

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory projektu GA ČR č. 17-10591S.

RŮSTOVÁ ODEZVA HRACHU SETÉHO (*PISUM SATIVUM L.*) NA PŘÍTOMNOST DIKLOFENAKU V PROSTŘEDÍ

*GROWTH RESPONSE OF PEA (*PISUM SATIVUM L.*) TO DICLOFENAC IN THE ENVIRONMENT*

Štěpán Zezulka, Marie Kummerová, Markéta Hájková

Masarykova univerzita Brno, Přírodovědecká fakulta, Ústav experimentální biologie – oddělení fyziologie a anatomie rostlin, Kotlářská 2, 602 00 Brno, zezulka@sci.muni.cz, kumerova@sci.muni.cz, hajkova.marketa@email.cz

Summary

Results of this study declare, that even though the primary processes of photosynthesis (content of chlorophylls *a*, *b* and carotenoids, similarly as chlorophyll fluorescence parameters F_V/F_M , Φ_{II} , NPQ) were not affected by any of applied diclofenac concentrations, high environmental loading (5 and 10 mg/l) led to reduction in plant growth – the length of root and stem, leaf area size and dry weight.

Key words: diclofenac, Pisum sativum L., growth, content of photosynthetic pigments, chlorophyll fluorescence parameters

Souhrn

Výsledky této studie dokládají, že i přesto, že primární procesy fotosyntézy (obsah chlorofylu *a*, *b* a karotenoidů, stejně jako parametry fluorescence chlorofylu F_V/F_M , Φ_{II} , NPQ) nebyly ovlivněny žádnou z aplikovaných koncentrací diklofenaku, vysoký stupeň zatížení prostředí (5 a 10 mg/l) však redukoval růst rostlin - délku kořene a nadzemní části, velikost listové plochy a hmotnost sušiny.

Klíčové slova: diklofenak, Pisum sativum L., růst, obsah fotosyntetických pigmentů, parametry fluorescence chlorofylu

ÚVOD

Na antropogenním znečištění životního prostředí se v současné době podílejí vedle klasických (toxické kovy, PAHs, PCB a organochlorové pesticidy) i pseudopersistentní kontaminanty - léčiva a jejich transformační produkty. Léčiva, která v čistírnách odpadních vod nejsou zcela degradována, obohacují odpadní kaly a vody. Ty jsou v zemědělství využívány jako hnojiva nebo k zavlažování půd. Ke kontaminaci půd přispívají nemalou měrou i léčiva, která jsou užívána při profylaktické léčbě hospodářských zvířat. Chronická kontaminace životního prostředí může být potenciálně dlouhodobým rizikem pro vodní a suchozemské organismy. Zatímco účinek léčiv na mikroorganismy a živočichy je relativně dobře prostudován, příjem, transport, akumulace a transformace rostlinami nejsou prakticky známy, a to i přesto, že rostliny představují významnou trofickou úroveň v potravním a potravinovém řetězci. Stejně tak není znám ani vliv léčiv na biochemické a fyziologické procesy, které se významně podílejí na růstu a vývoji rostlin.

Cílem studie bylo posouzení vlivu nesteroidního protizánětlivého léku diklofenaku (DCF), který se významnou měrou podílí na kontaminaci prostředí, na růst a vybrané biochemické (obsah fotosyntetických pigmentů) a fyziologické (fluorescence chlorofylu: F_V/F_M , Φ_{II} , NPQ) parametry primárních procesů fotosyntézy u kulturní plodiny hrachu setého.

Aplikovaná koncentrace DCF simulovala nízké (0,1 a 1 mg/l) a vysoké (5 a 10 mg/l) zatížení prostředí.

MATERIÁL A METODA

Zásobní roztok diklofenaku (DCF, Sigma-Aldrich, Německo) o koncentraci 100 mg/l byl připraven rozpuštěním DCF v acetonu v poměru 1:1 (hm.:obj.) a destilované vodě a dodáván do 2.5L Reid- Yorkova živného roztoku /1/ pro dosažení výsledných koncentrací 0; 0,1; 1; 5 a 10 mg/l. Experimentální rostlinou byl hrách setý (*Pisum sativum* L., kultivar Oskar). Růst rostlin probíhal v kontrolovaných podmínkách (teplota $22\pm 2^\circ\text{C}$, vlhkost 60%, ozáření $200\pm 20 \mu\text{mol/m}^2\text{s}$, fotoperioda 14/10h den/noc). Růstové parametry rostlin (délka primárního kořene a stonku, celková listová plocha, sušina kořenů, stonku, listů a listenů), parametry fluorescence chlorofylu a obsah fotosyntetických pigmentů byly stanoveny po 20 dnech kultivace. Plocha listů a listenů byla stanovena planimetricky a sušina rostlinných orgánů gravimetricky, fluorescence chlorofylu (F_v/F_m , Φ_{II} , NPQ) byla měřena pomocí fluorometru PAM 2000 (Walz, Německo). Obsah fotosyntetických pigmentů (662, 646 a 470 nm) byl stanoven spektrofotometricky (UV-Vis Specord 205, Jena, Německo) a přepočítán podle Lichtenthalera /2/. Výsledky byly vyhodnoceny pomocí programu Statistica metodou jednocestné analýzy rozptylu (ANOVA) a Scheffého testu při $p < 0.05$.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Kořeny rostlin hrachu byly po celou dobu kultivace v přímém kontaktu s léčivem, DCF (0,1; 1; 5 a 10 mg/l) a proto lze považovat jejich růst a morfologii za citlivý indikátor přítomnosti kontaminantu v prostředí /3/. Vysoký obsah léčiv a jejich reziduí v půdách může vést, jak je zřejmé z významné inhibice délky primárního kořene (25 a 39% při koncentraci 5 a 10 mg/l; obr. 1A) i tvorby laterálních kořenů, k významné redukci absorpční plochy kořene a tím i ke snížení příjmu vody a živin. Tyto rostliny měly i významně menší plochu jak listů, tak i listenů, dokonce při 10 mg/l DCF byla plocha listů i listenů o více než 50 % menší oproti kontrole (obr. 1C). Podobné výsledky zaznamenali Rede et al. /4/ při kultivaci rostlin salátu v přítomnosti ibuprofenu.

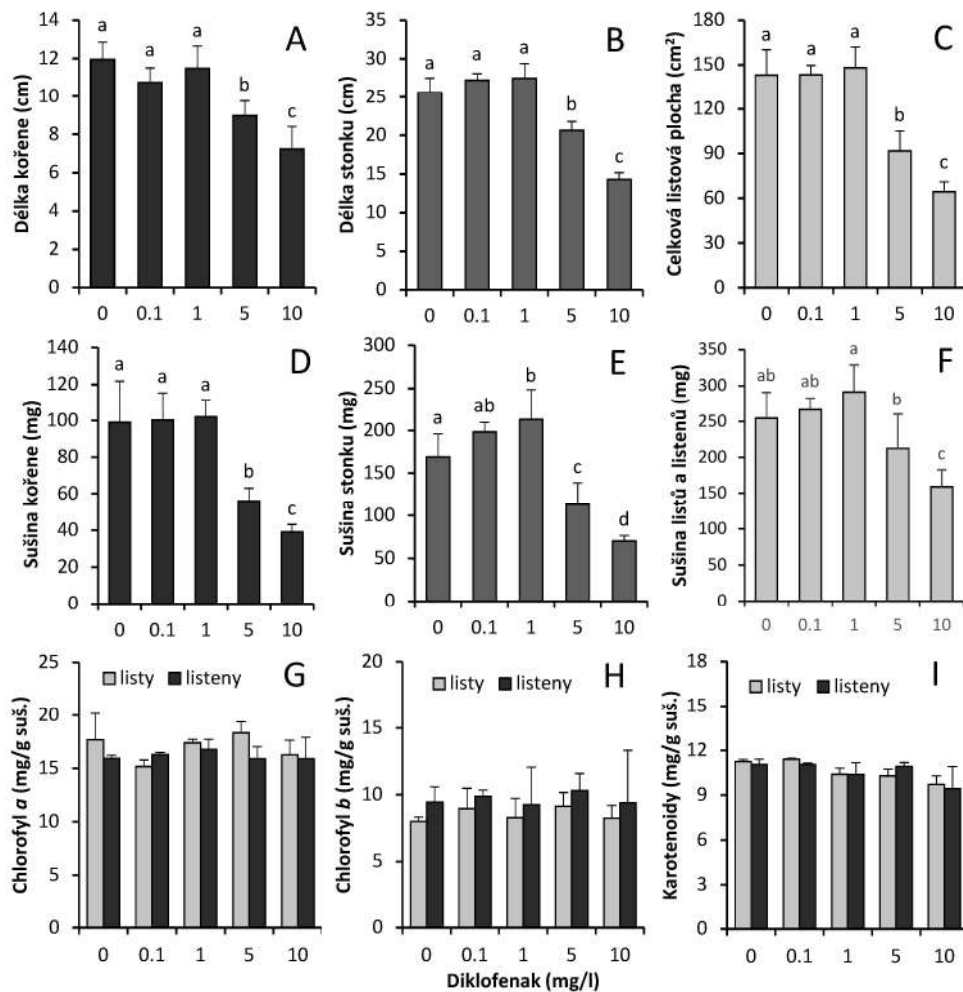
Tvorba biomasy je determinována biochemickými a fyziologickými procesy probíhajícími na úrovni buněk a orgánů rostlin. Ty mohou být ovlivněny jak endogenními, tak i exogenními faktory. Významně nižší hmotnost sušiny všech rostlinných orgánů, v pořadí: kořeny → stonky → listeny, zaznamenaná při 5 a 10 mg/l DCF v prostředí je toho dokladem (obr. 1 D-F). Hmotnost sušiny listů byla významně nižší pouze při nejvyšším zatížení.

Obsah fotosyntetických pigmentů je mnoha autory řazen mezi primární ukazatele možného ovlivnění rostlin anorganickými i organickými polutanty. Informuje o vnitřním poškození rostlinného organismu dříve, než jsou patrné vnější symptomy vlivu zatížení. Na rozdíl od An et al. /5/, kteří při kultivaci pšenice v prostředí s paracetamolem, a Bradáče /6/ při kultivaci okřehku menšího v přítomnosti DCF jsme u jiného rostlinného druhu, hrachu setého, neprokázali významný vliv DCF na obsah fotosyntetických pigmentů (chlorofyl a, chlorofyl b, karotenoidy), a to v žádné z aplikovaných koncentrací (0,1; 1; 5 a 10 mg/l), viz obr. 1 G-I.

Analýza fluorescence chlorofylu je široce využívaná metoda pro studium fotosyntetické aktivity v rostlinách. Z hodnot uvedených v tabulce 1 je zřejmé, že parametry fluorescence chlorofylu F_v/F_m , Φ_{II} a NPQ nebyly významně ovlivněny kultivací rostlin v prostředí s DCF, jinými slovy nebyla ovlivněna fotosyntetická aktivita. Domníváme se, že tato skutečnost může do jisté míry souviset s prokázanými nevýznamnými změnami v obsahu fotosyntetických pigmentů.

Je však otázkou, jaký další mechanismus působení je za negativním účinkem DCF na růst rostlin. Možným vysvětlením je jeho přímý vliv na kořenový systém, spočívající v

omezení příjmu vody a živin důležitých pro růst rostliny. Mechanismy, kterými léčiva mohou ovlivňovat růst rostlin, mohou navíc zahrnovat inhibici mitózy, inhibici nebo stimulaci prodlužování buněk, pletiv a změny v jejich diferenciaci - doposud nejsou objasněny změny probíhající na úrovni buněčného metabolismu, specifickou reakci rostlinných druhů, resp. genotypů na dosažení prahové koncentrace účinku xenobiotika a s tím související tvorby volných radikálů a aktivity antioxidantních enzymů. Ta je u mladých rostlin hrachu setého pravděpodobně dostatečná, a proto není proces fotosyntézy negativně ovlivněn volnými radikály.



Obr. 1: Přehled růstových a biochemických parametrů rostlin hrachu setého (*Pisum sativum*) po 20 dnech kultivace při zvyšující se koncentraci DCF (0; 0,1; 1; 5 a 10 mg/l): délka primárního kořene (cm, A) a stonku (cm, B), celková plocha listů a listenů (cm², C), sušina (mg) kořene (D), stonku (E) a celková sušina listů a listenů (F), obsah fotosyntetických pigmentů v listech a listenech (mg/g suš.) – chlorofyl a (G), chlorofyl b (H) a karotenoidy (I). Sloupce představují průměr z 5 (růstové parametry), resp. 3 (obsahy pigmentů) opakování, chybová úsečka reprezentuje směrodatnou odchylku. Písmena nad sloupci vyjadřují statisticky významné rozdíly na hladině významnosti $P < 0,05$ (ANOVA, Schefféův test).

Tab. 1 Základní fluorescenční poměr (F_V/F_M), efektivní kvantový výtěžek elektronového transportu ve fotosystému II (Φ_{II}) a nefotochemické zhášení (NPQ) u hrachu setého (*Pisum sativum*) po 20 dnech kultivace při zvyšující se koncentraci DCF (0; 0,1; 1; 5; 10 mg/l).

DCF (mg/l)	F_V/F_M^1	Φ_{II}^1	NPQ ¹
0	0,7292 ± 0,0429a	0,6703 ± 0,0227a	0,0951 ± 0,0501a
0,1	0,7096 ± 0,0182a	0,6520 ± 0,0022a	0,1176 ± 0,0298a
1	0,7036 ± 0,0357a	0,6590 ± 0,0245a	0,0973 ± 0,0189a
5	0,7232 ± 0,0129a	0,6673 ± 0,0018a	0,1032 ± 0,0219a
10	0,6725 ± 0,0198a	0,6485 ± 0,0299a	0,0754 ± 0,0118a

¹ Hodnoty představují průměr z 5 opakování ± směrodatná odchylka. Písmena za směrodatnou odchylkou vyjadřují statisticky významné rozdíly na hladině významnosti $P < 0,05$ (ANOVA, Schefféův test).

LITERATURA

- /1/ Reid, P.H., York, E.T.: Effects of nutrient deficiencies on growth and fruiting characteristics of peanuts in sand culture. *Agronomy Journal*, 50, 1958: 63-67.
- /2/ Lichtenthaler, H.K.: Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes, *Methods in Enzymology*, 148, 1987: 350-382.
- /3/ Kummerová, M., Zezulka, Š., Babula, P., Váňová, L.: Root response in *Pisum sativum* and *Zea mays* under fluoranthene stress: Morphological and anatomical traits. *Chemosphere*, 90, 2013: 665–673.
- /4/ Rede, D., Santos, L.H.M.L.M., Ramos, S., Oliva-Teles, F., Antao, C., Sousa, S.R., Delerue-Matos, C.: Ecotoxicological impact of two soil remediation treatments in *Lactuca sativa* seeds. *Chemosphere*, 159, 2016: 193-198.
- /5/ An, J., Zhou, Q.X., Sun, F.H., Zhang, L.: Ecotoxicological effects of paracetamol on seed germination and seedling development of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Hazardous Materials*, 169, 2009: 751-757.
- /6/ Bradáč, A.: Vliv diklofenaku na růst *Lemna minor* L.. Diplomová práce, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita Brno, 2015.

Poděkování

Práce vznikla za podpory projektu FWF/GAČR I-3046-N28 (evid.č. GF17-33746L). Autoři děkují Mgr. Kateřině Rychtaříkové a Mgr. Kláře Buriánové za pomoc s přípravou a vyhodnocením experimentu.

ANALÝZA ODRÔD PŠENICE LETNEJ S RÔZNOU ODOLNOSŤOU VOČI SUCHU MARKÉRMÍ KÓDUJÚCICH OBLASTÍ

ANALYSIS OF WHEAT VARIETIES WITH DIFFERENT DROUGHT STRESS TOLERANCE BY MARKERS OF CODING REGIONS

Jana Žiarovská, Veronika Štefúnová, Matúš Kysel', Milan Bežo
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FAPZ, Katedra genetiky a šľachtenia rastlín,
Tr.A. Hlinku 2, 94976, Nitra, jana.ziarovska@uniag.sk

Summary

The potential of PBA markers was analysed in the study as to be able to distinguish the drought stress tolerant and susceptible wheat varieties. Three different primer combinations were used in total where two of them provided only monomorphic amplification profiles. In the case of the primer combination CYP2B F+R, the drought stress susceptible varieties were identified both, by the the different profile and unique fragments, too.

Key words: Triticum aestivum, drought stress, PBA polymorphism

Súhrn

V práci bol hodnotený potenciál PBA markérov odlišiť na úrovni dĺžkového polymorfizmu odrody pšenice letnej, ktoré sú odolné a náchylné na suchu. Celkovo boli použité tri prajmerové kombinácie, z ktorých dve však poskytli monomorfné profily. V prípade primerovej kombinácie CYP2B F+R boli odlišené odrody náchylné na suchu a boli pri nich zaznamenané jedinečné amplifikované fragmenty.

Kľúčové slová: pšenica letná, sucho, stres, PBA polymorfizmus

ÚVOD

Pšenica ako jedna z najdôležitejších plodín predstavuje základný zdroj ľudskej výživy pre viac ako 30% ľudskej populácie. Je základnou obilninou nášho klimatického pásma, ktorej zrno je svojimi technologickými vlastnosťami vhodné na výrobu rôznych pokrmov, chleba, pečiva, oblátok či cestovín. V súčasných nestabilných podmienkach je nutné poznať a analyzovať viaceré prirodzene sa vyskytujúce gény odolnosti k abiotickým faktorm. Sucho je stresorom, ktorému v našich klimatických podmienkach začínajú čeliť aj u nás pestované rastliny. V prípade pšenice letnej asociačné mapovanie a analýza variability nukleotidov doteraz umožnila popis viacerých kandidátskych génov odolnosti voči suchu /1/. V optimálnych environmentálnych podmienkach je limitujúcim faktorom produktivity pšenice aktivita a atrakčná sila akceptora asimilátov /2/. Výskyt stresovej situácie v období po kvitnutí (najmä sucho a vysoká teplota) znižuje aktivitu zdroja, najmä difúznymi a metabolickými limitáciami procesu fotosyntézy /3,4/. Okrem toho, stresová situácia nastávajúca po kvitnutí obmedzuje potenciál atrahovať asimiláty sinkom redukciami počtu endospermálnych buniek a amyloplastov v zrne /5/.

Tvorba celogenómových profilov rastlín je v súčasnosti aktuálna vo veľmi širokých aplikačných smeroch, od základnej charakteristiky odrôd až po špecifické otázky asociačného mapovania /6,7/. V práci boli na účely celogenómového mapovania odrôd pšenice letnej s rôznou odolnosťou voči suchu použité PBA markéry /8/, ktoré analyzujú dĺžkový polymorfizmus medzi sekvenciami cytochrómu P450.

MATERIÁL A METÓDA

Biologický materiál na izoláciu celkovej DNA pre účely analýzy PBA polymorfizmu bol získaný z rastlín odrôd pšenice letnej odolných voči suchu (Aladin, Dagmar) a náchylných na suchu (Venturero a Seladon), dopestovaných v kvetináčoch. Extrakcia celkovej genomickej DNA bola uskutočnená analytickou súpravou GeneJET™ Plant genomic DNA purification kit. PCR analýzy boli uskutočnené pre 30 ng DNA a 50°C pre naviazanie prajmerov podľa protokolu Inui et al. /8/ s použitím 2xMyTaq MM (Bioline). Amplifikované PBA produkty boli nanášané na 2% AGE a 6% nedenaturovaný PAGE a hodnotené softwérom GeneAnalyser.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na analýzu profilov dĺžkového polymorfizmu odrôd pšenice letnej s rôznou odolnosťou voči suchu pomocou techniky PBA bola použitá sekvencia cytochrómu P450, ktorá bola predlohou pre celkovo šesticu markérov. Cytochróm P450 gény sú v genóme rastlín bohato zastúpené, čo vytvára predpoklad tvorby polymorfných genetických odtlačkov použitím univerzálnych prajmerov. Univerzálne použiteľné prajmery pre techniku polymorfizmu analógov cytochróm P450 mono-oxigenáz sú navrhované tak, aby susedili s oblasťami intrónov. Tieto mono-oxigenázy sú vysoko zastúpené v rastlinách, živočíchoch aj mikroorganizmech, čo robí tento markérovací systém univerzálne použiteľným. V rastlinách sa mono-oxigenázy zúčastňujú procesov oxidatívnej detoxikácie a biosyntézy sekundárnych metabolitov /9/. Variabilita sekvencií analógov génu P450 tak v rastlinnom organizme predstavuje výborný nástroj analýz nielen na úrovni výskytu polymorfizmu, ale aj na úrovni analýz smerujúcich k funkčnému prepojeniu tohto markérovacieho systému.

Počet úrovní amplifikovaných fragmentov získaného kombináciou jednotlivých primerov bol v priemere 18 a získaný polymorfizmus ani v jednej primerovej kombinácii v analyzovaných odrodách nedosiahol 100% (tabuľka 1).

Tab.1: Charakteristiky PBA amplifikačných profilov analyzovaných odrôd pšenice letnej

primerová kombinácia	Aladin		Seladon		Venturero		Dagmar		odlíšenie odolných a náchylných odrôd
	počet fragmentov	jedinečné fragmenty	počet fragmentov	jedinečné fragmenty	počet fragmentov	jedinečné fragmenty	počet fragmentov	jedinečné fragmenty	
CYPA1F+R	12	nie	12	nie	12	nie	12	nie	nie
CYP2BF+R	20	nie	13	áno	20	nie	21	áno	áno
CYP2CF+R	22	nie	22	nie	22	nie	22	nie	nie

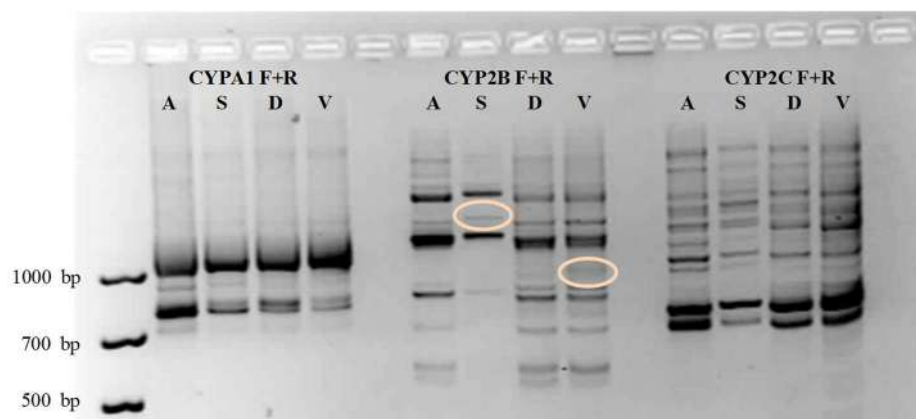
V prípade primerovej kombinácie CYP2B F+R boli pri odolných odrodách Aladin a Dagmar zaznamenané zhodné profily, ktoré sa však líšili od oboch odrôd náchylných na suchu. Pre obe odrody náchylné na suchu bolo v tejto primerovej kombinácii zaznamenané po jednom jedinečnom PBA fragmente, ktorý však nebol pre tieto odrody spoločný (obrázok 1).

Pri použitých PBA markéroch nebola pozorovaná ich schopnosť amplifikácie špecifických profilov či už pre odrody náchylné na suchu, alebo pre odrody odolné voči suchu v prípade prajmerových kombinácií CYP1 F+R a CYP2C F+R, ktoré poskytli monomorfné profily pre všetky analyzované odrody pšenice letnej.

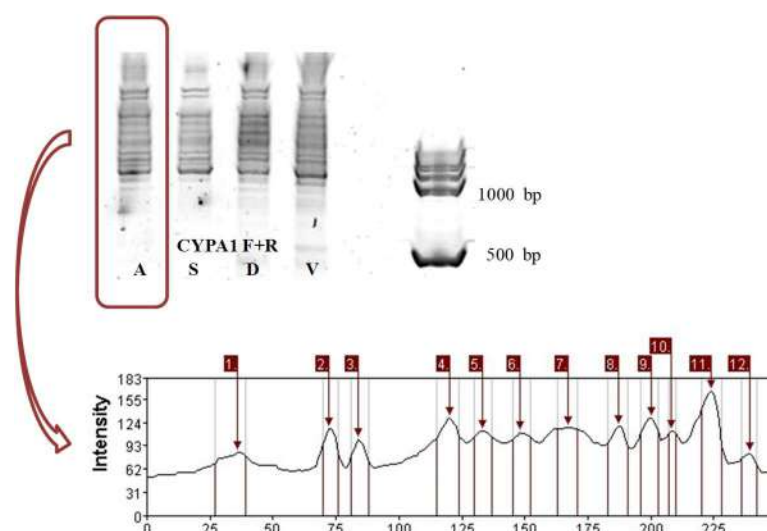
V prípade primerovej kombinácie CYPA1 F+R boli amplifikované PBA profily ďalej delené na PAGE a to vzhľadom k tomu, že v 2% nom AGE nebolo možné separovať všetky fragmenty tak, aby boli odlišené. V PAGE delení bol potvrzený monomorfný profil získaný touto primerovou kombináciou (obrázok 2).

PBA markéry boli doteraz úspešne použité v štúdiách, ktoré sa zaoberali rôznymi rastlinnými druhmi ako *Hibiscus mutabilis* /9/, *Vitis vinifera* /10/ alebo *Hedera helix* /11/. V doterajších štúdiách sa potvrdil potenciál tejto techniky v jej schopnosti generovať

polymorfné profily, technika však doteraz nebola aplikovaná na jej prípadné použitie v odlišovaní genotypov rastlín odolných a náchylných voči suchu.



Obr 1: PBA profily analyzovaných odrôd pšenice letnej delených v AGE. Použité skratky: A-Aladin; S-Seladon, D-Dagmar; V-Venturero



Obr 2: PBA profily primerovej kombinácie CYP1A1 F+R v PAGE so zobrazením profilu vyhodnoteného softwérom GeneAnalysér. Použité skratky: A-Aladin; S-Seladon, D-Dagmar; V-Venturero

LITERATÚRA

- Bates/1/ Nezhadahmani, A., Prodhan, Z.H., Faruq, G.: Drought tolerance in wheat. The Scientific World Journal, 2013, DOI <http://dx.doi.org/10.1155/2013/610721>
- /2/ Borrás, L., Slafer, G.A., Otegui, M.E.: Seed dry weight response to source-sink manipulations in wheat, maize and soybean: a quantitative reappraisal. Field Crops Research, 86, 2004: 131-146
- /3/ Lawlor, D.W., Tezara, W.: Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. Annals of Botany, 103, 2009: 561- 579
- /4/ Parry, M.A.J., Reynolds, M., Salvucci, M.E., Raines, Ch., Andralojc, P.J., Zhu, X.G., Price, G.D., Condon, A.G., Furbank, R.T.: Raising yield potential of wheat. II. Increasing photosynthetic capacity and efficiency. Journal Experimental Botany, 62, 2011: 453-467
- /5/ Saini, H.S., Westgate, M.E.: Reproductive development in grain crops during drought. Advances in Agronomy, 68, 2000: 59-95

- /6/ Gupta, P.K., Kulwal, P.L., Jaiswal, V.: Association mapping in crop plants: opportunities and challenges. *Advances in Genetics*, 85, 2014: 109-147
- /7/ Balážová, Ž., Gálová, Z., Vivodík, M., Petrovičová, L., Hornyák Gregáňová, R.: Molecular variability of oat based on genetic specific markers. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 11, 2017: 332-337
- /8/ Inui, H., Komada, T., Ohkawa, Y., Ohkawa, H.: Herbicide metabolism and cross-tolerance in transgenic potato plants co-expressing human CYP1A1, CYP2B6 and CYP2C19. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 66, 2000: 116–129
- /9/ Yamanaka, S., Suzuki, E., Tanaka, M., Takeda, Y., Watanabe, J.A., Watanabe, K.N.: Assessment of cytochrome P450 sequences offers a useful tool for determining genetic diversity in higher plant species. *Theoretical and Applied Genetics*, 108, 2003:1–9
- /10/ Cheng, D.W., Lin, H., Takahashi, Y., Walker, M.A., Civerolo, E.L., Stenger, D.C.: Transcriptional regulation of the grape cytochrome P450 monooxygenase gene CYP736B expression in response to *Xylella fastidiosa* infection. *BMC Plant Biology*, 10, 2010:135
- /11/ Bošeřová, D., Žiarovská, J.: Direct PCR as the platform of *Hedera helix*, L. genotyping without the extraction of DNA. *Journal of Central European Agriculture*, 17, 2016: 941-949

Pod'akovanie

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory projektu APVV-15-0156 Genomická selekcia obilnín na suchovzdornosť.

Príspevky do sborníku

HODNOTENIE VPLYVU ARZÉNU NA RAST A OBSAH FOTOSYNTETICKÝCH PIGMENTOV KUKURICE SIATEJ (*ZEA MAYS* CV. CHAPALU)

ASSESSMENT THE EFFECT OF ARSENIC ON GROWTH AND PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS CONTENT OF CORN (*ZEA MAYS* CV. CHAPALU)

Peter Boleček, Libuša Lengyelová, Ľudmila Galuščáková, Beáta Piršelová
Univerzita Konštantína filozofa v Nitre, Fakulta prírodných vied, Katedra botaniky a genetiky,
Nábřežie Mládeže 91, 949 74 Nitra, Slovenská republika, e-mail: bpirselova@ukf.sk

Summary

The effect of different concentrations of arsenic (2,3,5 and 10 mg/kg of soil: As₂ – As₅) on the growth and selected physiological parameters (content of photosynthetic pigments, fluorescence of chlorophyll) of maize (*Zea mays* cv. Chapalu) were tested. The dose of arsenic evoked stimulation of the extension growth of roots and shoots, and enhanced the maximum quantum yield of photosystem II. The content of carotenoids and chlorophyll enhanced as the effect of dose of As₅. The variations of response could be signals of tolerance or adaptive mechanisms of the tested cultivar of maize under the condition of arsenic.

Key words: arsenic, maize, growth, photosynthesis

Súhrn

Vplyv rôznych koncentrácií arzénu (2,3,5 a 10 mg/g pôdy) bol testovaný na rast a vybrané fyziologické parametre (obsah fotosyntetických pigmentov, fluorescencia chlorofylu) kukurice siatej (*Zea mays* cv. Chapalu). Vplyvom testovaných dávok arzénu bol zaznamenaný stimulačný účinok na predĺžovací rast koreňov a výhonkov a tiež na maximálny kvantový výťažok fotosystému II. Obsah karotenoidov a chlorofylu a sa zvýšil vplyvom dávky As₅. Zaznamenané výsledky môžu byť signálom tolerancie resp. adaptívnych mechanizmov testovanej odrody kukurice v podmienkach pôsobenia arzénu.

Kľúčové slová: arzén, kukurica, rast, fotosyntéza

ÚVOD

Arzén (As) je prirodzene sa vyskytujúci prvok v pôdach, predovšetkým v dôsledku poľnohospodárskej a priemyselnej činnosti ľudí. Je analógom fosforu (P), s ktorým súperí o vychytávanie transportérov v plazmaléme koreňov rastlín /1/.

Toxicita zlúčenín arzénu závisí hlavne od ich rozpustnosti a od oxidačného stupňa arzénu. Zlúčeniny As⁵⁺ patria medzi menej toxické. Väčšina rastlín prijíma arzén z pôdy ako As⁵⁺, keďže arzenitany sú nestabilné a oxidujú sa na arzeničnany biochemickými procesmi v pôde /2/.

Hoci arzén nie je pre rastliny esenciálny, v nízkych koncentráciách podporuje rast. Vyššie výnosy plodín boli zaznamenané najmä v prípade tolerantných rastlín. Vyššie koncentrácie arzénu však pôsobia takmer na všetky rastliny toxicky, spôsobujú chlorózy, nekrózy, inhibíciu rastu a fotosyntézy atď.

Cieľom našich analýz bolo zhodnotiť vplyv nízkych dávok arzénu na rast a fotosyntézu kukurice siatej (cv. Chapalu) a vytvoriť východiská pre ďalšie analýzy.

MATERIÁL A METÓDA

Založenie nádobového pokusu

Pokus 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. Chapalu). Následne boli do pôdneho substrátu aplikované dávky arzenu v nasledovných dávkach: As – 1, 2, 3 a 5 mg/kg pôdy. Testované kontaminanty boli aplikované vo forme roztoku. Rastliny boli následne zalievané množstvom vody zodpovedajúcej maximálnej sorbčnej kapacite pôdy. Kontrolné varianty boli zalievané destilovanou vodou. Nádobový pokus bol založený v rastovej komore s konštantnými podmienkami (teplota 20°C, vlhkosť vzduchu 60-70%, osvetlenie v režime 12 h svetlo/12 h tma, intenzita osvetlenia 400 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$). Pokus bol založený v troch opakovaniach.

Stanovenie rastových parametrov

Dĺžka primárnych koreňov bola meraná pravítkom. Po stanovení čerstvej hmotnosti koreňov pomocou analytických váh boli korene vysušené v inkubátore 48 hodín pri 60 °C do konštantnej hmotnosti a následne odvážené pomocou analytických váh.

Stanovenie obsahu fotosyntetických pigmentov

Obsah fotosyntetických pigmentov (chlorofyl *a*, chlorofyl *b* a karotenoidy) bol stanovený spektrofotometricky v plne vyvinutom asimilačnom liste /3/. Pigmenty boli stanovené v šiestich opakovaniach v každom variante experimentu.

Meranie fluorescencie chlorofylu

Po 10 dňoch rastu boli na plne vyvinutých listoch zmerané parametre fluorescencie chlorofylu: F0 – minimálna fluorescencia, Fm - variabilná fluorescencia) pomocou kinetickej fluorescenčnej kamery (FluorCam FC 1000-H). Po vystavení listov 5 minút tme bol stanovený maximálny kvantový výťažok fluorescencie podľa vzťahu: $(F_v/F_m) = (F_m - F_0)/F_m$. Merania boli uskutočnené päťkrát.

Štatistické spracovanie údajov

Získané výsledky boli štatisticky spracované pomocou programu EXCEL. Boli stanovené základné štatistické charakteristiky (aritmetický priemer, smerodajná odchýlka). Rozdiely medzi súbormi údajov boli hodnotené Studentovým-t testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Testované dávky arzenu (2, 3, 5 mg.kg⁻¹ pôdy) stimulovali rast výhonkov o 8 % , 6 % a 8 % a zvýšili čerstvú hmotnosť výhonkov o 15 % (As1), 14 % (As2), 11 % (As3) a 10 % (As5) (Tab. 1). Vplyv arzenu na hmotnosť sušiny výhonkov (DW) bol zanedbateľný. Stimulačný účinok arzenu sa prejavil aj na raste koreňov. V prípade dĺžky sa daný účinok štatisticky významne prejavil vplyvom dávky As5 (predĺženie o 8%) a v prípade FW došlo k nárastu o 37 % (As1), 29 % (As2), 60 % (As3) a 74 % (As5). Obsah sušiny koreňov sa nezmenil (Tab. 1).

Stimulačný účinok arzenu (12,5 a 25 mg/kg⁻¹ pôdy) na rast kukurice a nutričnú kvalitu zrna zaznamenali iní autori /4/. Dávky arzenu do 10 mg/kg pôdy naopak pôsobili inhibične na rast *Brassica juncea* /5/, *Lycopersicum esculentum* /6/, *Medicago sativa* a *Hordeum vulgare* /7/.

So zvyšujúcou sa koncentráciou arzenu v pôde došlo k nárastu obsahu chlorofylu *a* v listoch o 19 % (As1), 10 % (As2), 31 % (As3) a 30 % (As5) a tiež obsahu karotenoidov o 16 % (As1), 4 % (As2), 20 % (As3) a 20 % (As5) (Tab. 2). Na druhej strane sme zaznamenali pokles obsahu chlorofylu *b*, ktorý nebol štatisticky významný.

Stimulačný účinok arzenu na fotosyntetický aparát pšenice ozimnej bol tiež popísaný pri aplikácii dávky 2,5 mg/l As /8/. Nezmenený obsah fotosyntetických pigmentov bol zaznamenaný v listoch sóje pri dávke arzenu 5 mg/kg pôdy /9/.

Vplyvom testovaných dávok arzenu sme zaznamenali zvýšenie Fv/Fm (o 1,4 %) nezávisle od dávky aplikovaného arzenu (Tab. 2).

Tab. 1.: Vplyv arzenu na dĺžku, čerstvú hmotnosť (FW) a obsah sušiny koreňov (DW).

Sledovaný parameter	Kontrola	As1	As2	As3	As5	
Koreň	dĺžka (cm)	18,94± 2,16	19,49± 2,13	19,32± 3,09	19,02± 3,62	20,49± 1,95*
	FW (g)	0,35± 0,09	0,48± 0,15**	0,45± 0,14*	0,56± 0,18***	0,61± 0,20***
	DW (g)	0,03± 0,01	0,03± 0,01	0,03± 0,01	0,03± 0,01	0,03± 0,01
Výhonok	dĺžka (cm)	16,69± 1,65	17,28± 2,59	18,05± 2,15*	17,69± 1,35*	18,08± 1,64*
	FW (g)	0,87± 0,13	1,00± 0,18*	0,99± 0,18*	0,97± 0,16*	0,96± 0,12*
	DW (g)	0,05± 0,01	0,06± 0,01	0,06± 0,01	0,06± 0,01	0,06± 0,01

Údaje predstavujú aritmetické priemery ± SDEV. Hladiny významnosti rozdielov vzhľadom ku kontrole: * P<0,05;

** P<0,01; *** P<0,001

Tabuľka 2. Vplyv arzenu na obsah chloroylu a, chlorofylu b, karotenoidov (C) a maximálny kvantový výťažok fluorescencie (Fv/Fm).

	Kontrola	As1	As2	As3	As5
Chl a (mg/g)	0,97± 0,09	1,15± 0,15	1,07± 0,22	1,27± 0,28	1,26± 0,08*
Chl b (mg/g)	0,24± 0,07	0,28± 0,05	0,19± 0,06	0,20± 0,05	0,14± 0,02
Karotenoidy (mg/g)	0,50± 0,04	0,58± 0,06	0,52± 0,10	0,6± 0,12	0,60± 0,03*
Fv/Fm	0,72± 0,01	0,73± 0,01**	0,73± 0,01**	0,73± 0,01**	0,73± 0,01**

Údaje predstavujú aritmetické priemery ± SD. Hladiny významnosti rozdielov vzhľadom ku kontrole: * P<0,05;

** P<0,01

Výsledky doterajších štúdií naznačujú, že zmeny v hodnotách Fv/Fm vplyvom arzenu sú variabilné a závislé najmä od rastlinného druhu. V listoch požltu napr. neboli zaznamenané žiadne zmeny vo funkcii fotosystému II vplyvom dávky As 90 mg/l pôdy /10/. Naopak v listoch ovsa došlo ku zvýšeniu hodnôt Fv/Fm vplyvom dávky As 160 mg/kg pôdy /11/.

Stimulačný účinok arzenu doteraz nie je celkom objasnený. Predpokladá sa, že vplyvom nízkych dávok dochádza ku zvýšenej syntéze cytokinínov, ktoré stimulujú procesy fotosyntézy /12/.

LITERATÚRA

- /1/ Meharg, A.A, Hartley-Whitaker J.: Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytologist*, 154, 2002, 29-43.
- /2/ MacNair, M.R, Cumbes, Q.J.: Evidence that arsenic tolerance in *Holcus lanatus* L. is caused by an altered phosphate uptake system. *New Phytol*, 107, 1987, 387-394.

- /3/ Lichtenthaler, H.K., Miehe, J.A.: Fluorescence imaging as a diagnostic tool for plant stress. *Trends Plant Sci.*, 2, 1997, 316-320.
- /4/ Ci, X.K., Liu, H.L., Hao, Y.B., Zhang, J.W., Liu, P.: Arsenic distribution, species, and its effect on maize growth treated with arsenate. *J Integr Agric*, 11, 2012, 416-23.
- /5/ Chaturvedi, I.: Effects of arsenic concentrations and forms on growth and arsenic uptake and accumulation by Indian mustard (*Brassica juncea* L.) genotypes. *Journal Central European Agriculture*, 7, 2006, 31-40.
- /6/ Carbonell-Barrachina, A.A., Burló, J.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.
- /7/ Eisler, R.: *Eisler's Encyclopedia of Environmentally Hazardous Priority Chemicals*, Elsevier, Amsterdam, 2007, ISBN: 978-0-444-53105-6.
- /8/ Mahdih, S., Ghaderian, S., Karimi, M.N.: Effect of arsenic on germination, photosynthesis and growth parameters of two winter wheat varieties in Iran. *J. Plant Nutr.*, 36, 2013, 651-664.
- /9/ Dobroviczka, T., Piršelová, B., Mészáros, P., Blehová, A., Libantová, J., Moravčíková, J., Matušíková, I.: Effects of cadmium and arsenic ions on content of photosynthetic pigments in the leaves of *Glycine max* (L.) Merrill. *Pakistan Journal of Botany*, 45, 2013, 105–110.
- /10/ Heidari, M., Mohamadi, S., Effect of arsenic and nitrogen application on grain yield and some physiological parameters of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *J. Adv. Agric. Tech.*, 1, 2014, 48–51.
- /11/ Stoeva, N., Bineva, T.: Oxidative Changes and Photosynthesis in Oat Plants Grown in As-Contaminated Soil. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 29, 2003, 87-95.
- /12/ Nyitrai, P., Mayer, M., Óvári, M., Keresztes, Á.: Involvement of the phosphoinositide signaling pathway in the antisenescence effect of low-concentration stressors on detached barley leaves. *Journal of Plant Biology*, 8, 2006, 1-7.

PodĎakovanie

Práca bola podporená projektom VEGA V-17-301-00.

ZMENY V ZDRAVOTNOM STAVE LESA VPLYVOM ŤAŽBY STAVEBNÉHO KAMEŇA

CHANGES OF FOREST HEALTH CONDITION CAUSED BY MINING OF BUILDING STONE

Andrea Diviaková¹, Hana Ollerová², Andrea Zacharová², Andrej Kunca³

¹ Technická univerzita vo Zvolene, FEE, Katedra UNESCO pre ekologické vedomie a TUR, T. G. Masaryka 24, 960 53 Zvolen, diviakova@tuzvo.sk

² Technická univerzita vo Zvolene, FEE, Katedra environmentálneho inžinierstva, T. G. Masaryka 24, 960 53 Zvolen, ollerova@tuzvo.sk; andrea.zacharova@tuzvo.sk

³ Národné lesnícke centrum – Lesnícky výskumný ústav Zvolen, Stredisko lesníckej ochranárskej služby, Lesnícka 11, 969 23 Banská Štiavnica, kunca@nlcsk.org

Summary

The paper is focused on evaluation of impact of limestone mining activity in Beluša mining area on surrounding forest ecosystems. We have evaluated health conditions of forest ecosystems using selected characteristics including chemistry of assimilation organs. Results were compared to previous monitoring from 2013. According to results, we can claim that mining activity in Beluša has influenced neither health condition of forest nor chemical properties of assimilatory organs and soil.

Key words: limestone mining, forest health condition, macro-elements, assimilatory organs

Súhrn

Cieľom príspevku bolo zhodnotiť vplyv ťažby vápenca v dobývacom priestore Beluša na okolité lesné ekosystémy. Hodnotili sme zdravotný stav lesných porastov prostredníctvom vybraných parametrov vrátane chemizmu asimilačných orgánov. Dôraz sa kládol na porovnanie parametrov aktuálne zaznamenaných s rokom 2013, kedy sa uskutočnil prvotný monitoring. Na základe dosiahnutých výsledkov môžeme povedať, že dobývanie stavebného kameňa v lome Beluša nemá významný vplyv na sledované parametre a ani na chemizmus asimilačných orgánov a pôdy.

Kľúčové slová: ťažba vápenca, zdravotný stav lesov, makroelementy, asimilačné orgány

ÚVOD

Každá antropogénna činnosť ovplyvňuje stav a kvalitu jednotlivých zložiek životného prostredia. Katastrálne územie obce Beluša je od roku 1955 ovplyvnené banskou činnosťou, konkrétne ťažbou stavebného kameňa povrchovým spôsobom. Lom Mojtnín bol založený na JZ úbočí vrchu Pasiенок, južne od Belušských Slatín v okrese Púchov. Rozhodnutím Obvodného banského úradu v Prievidzi č. 1412-4301/2010 z roku 2010 je povolená banská činnosť aj na ďalšie roky 2011-2025. Je preto dôležité monitorovať dané územie hlavne kvôli značnej prašnosti, ktorá je spôsobená nielen ťažbou vápenca, ale aj jeho transportom do vzdialenejších lokalít /1, 2/.

Cieľom výskumu bolo hodnotenie zdravotného stavu lesných porastov na vybraných lokalitách, vrátane hodnotenia obsahu vybraných prvkov v asimilačných orgánoch drevín. Dôraz sa kládol na porovnanie dosiahnutých výsledkov v roku 2016 s rokom 2013, kedy sa nami uskutočnil prvotný monitoring sledovaných parametrov v dobývacom priestore (DP)

Beluša. Od roku 2016 dochádza k zníženiu ťažby z pôvodných 350-400 kt ročne na 250 kt ročne.

MATERIÁL A METÓDY

Terénny prieskum bol vykonaný na troch lokalitách v septembri roku 2016. Boli zvolené tak, aby bolo možné hodnotiť zdravotný stav lesných porastov a chemizmus v asimilačných orgánoch drevín bezprostredne ovplyvnených ťažbou kameňa v DP (lokalita 1) a v lesnom poraste vzdialenom od DP približne 5 km SZ smerom, teda ťažbou kameňa neovplyvnenom (lokalita 2 - kontrolná). Boli to lokality s podobnými vlastnosťami, týkajúce sa sklonu svahu, expozície, veku a drevinového zloženia. V daných lesných porastov boli založené výskumné plochy, cca o veľkosti 50x50 m, na ktorých bol hodnotený zdravotný stav drevín a boli odobraté vzorky asimilačných orgánov drevín ako aj vzorky pôdy určené pre chemické analýzy. Pre komplexnejšie posúdenie zmien v chemizme rastlín a pôdy sme navyše odobrali vzorky z lokality 1 – les – ide o identickú plochu, ale vzorky boli odobrané z opačného okraja vytýčenej plochy, približne 100 m od odberového miesta lokalita 1, hlbšie v lesnom poraste. Kvôli hodnoteniu vplyvu prašnosti z transportu stavebného kameňa, sme odobrali ešte vzorky z lokality 3, umiestnenej pozdĺž prístupovej cesty k lomu. Charakteristiku lokalít uvádzane v práci Diviaková et al. (2016), /3/.

Hodnotenie zdravotného stavu lesov

V rámci vybraných lokalít bolo hodnotených náhodne vybraných 50 stromov na každej lokalite. Zmerali sme obvod každého kmeňa a 18 ďalších parametrov (napr. defoliácia, diskolorácia, stav vetiev, kmeňa, koreňových nábehov, a pod.) v zmysle práce /4, 5, 6/ .

Chemické analýzy asimilačných orgánov drevín

Pri odbere rastlinných vzoriek sme vychádzali z normy STN 48 1001 /7/. Vzorky asimilačných orgánov sa odoberali z jedincov rastúcich na okraji porastu. Odobrané asimilačné orgány neboli pred analýzou oplachované, len vysušené pri laboratórnej teplote, zhomogenizované na guľovom mlyne 2 min. pri frekvencii 25 Hz a následne analyzované.

Stanovenie makroprvkov (Ca, K, Mg, P) sa uskutočnilo metódou hmotnostnej spektrometrie s indukčne viazanou plazmou (ICP – MS).

Zistené výsledky v roku 2016 boli porovnané s výsledkami dosiahnutými v roku 2013, kedy sa uskutočnil prvý monitoring sledovaných parametrov v tejto oblasti.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Rastlinné taxóny, ktorých prítomnosť bola počas terénneho prieskumu zaznamenaná na obidvoch lokalitách, sú druhy charakteristickými pre prítomné typy biotopov. Akurát v bezprostrednej blízkosti dobývacieho priestoru bol zvýšený výskyt burinných a nitrofilných druhov, čo je v prítomnosti takýchto prvkov krajinskej štruktúry akým sú lomy, opodstatnené. Na obidvoch porovnávaných plochách bolo zaznamenané intenzívne prirodzené zmladenie buka lesného, javora horského, lipy veľkolistej, bresta horského, jaseňa štíhleho a i., čo sú prejavy schopnosti prirodzenej reprodukcie lesných porastov na obidvoch porovnávaných lokalitách.

Hodnotenie zdravotného stavu lesa

Na lokalite 1 bolo hodnotených 36 jedincov buka lesného, po 5 jedincov hrabu obyčajného a duba zimného a 4 jedince javora horského. Na lokalite 2 bolo sledovaných 31 jedincov buka lesného, 10 jedincov hrabu obyčajného, 7 jedincov duba zimného a 2 jedince javora horského.

Defoliácia a diskolorácia sú 2 parametre, ktoré do určitej miery spolu súvisia. Na jednej lokalite prevažovalo poškodenie defoliáciou, na druhej diskoloráciou. Vplyv kameňolomu na tieto parametre nie je teda tak jednoznačný.

Štatisticky významné rozdiely boli zistené okrem defoliácie a diskolorácie aj pri výskyte mínovačov listov, nekróze listov a prítomnosti zaprášenia na listoch. Z 5 parametrov s významnými rozdielmi boli 4 (defoliácia, mínovače, nekrózy listov a zaprášenosť listov) s horším zdravotným stavom na lokalite 1 (vedľa súčasného kameňolomu) a 1 horší v poraste ďalej od súčasného lomu. Výskyt škodlivých činiteľov (mínovače listov, nekrózy listov) nebol však v takej početnosti, že by bolo možné hodnotiť začiatok kalamity biotických škodcov. Navyše, ochorenie listov u listnáčov, ktoré zhadzujú každoročne listy, nie je považované za výrazné poškodenie zdravotného stavu stromov. Výskyt zaprášených listov pri kameňolome je pochopiteľné, tieto stromy nemali ďalšie škodlivé činitele.

Očakávané bolo tiež zvýšené mechanické poškodenie kmeňov a koreňových nábehov na ploche pri kameňolome, kde je zvýšený pohyb ťažkých mechanizmov a zosúvanie uvoľnených kameňov rôznej veľkosti. Avšak kvôli spôsobu hospodárenia vo vzdialenejšom poraste, keď pri ťahaní kmeňov zo zapojeného porastu dochádza k poškodeniu kôry zostávajúcich stromov, neboli tieto rozdiely štatisticky významne rozdielne.

Chemizmus asimilačných orgánov

Vplyv ťažby stavebného kameňa v dobývačom priestore Beluša na obsah makroprvkov v asimilačných orgánoch vybraných drevín (buk lesný *Fagus sylvatica* a hrab obyčajný *Carpinus betulus*) sme sledovali na 4 lokalitách (tab. 1).

Tab. 1: Obsah Ca, K, Mg a P (%) v asimilačných orgánoch buka lesného a hrabu obyčajného v okolí DP Beluša

Lokalita	Drevina	Ca (%)		K (%)		Mg (%)		P (%)	
		2013	2016	2013	2016	2013	2016	2013	2016
Lokalita 1 - lom	buk lesný	1,62	1,81	0,598	0,554	0,189	0,193	0,132	0,122
	hrab obyč.	2,75	1,70	0,661	0,744	0,243	0,153	0,143	0,124
Lokalita 1 les	buk lesný	1,42	1,41	0,87	0,963	0,236	0,228	0,137	0,131
Lokalita 2 - kontrola	buk lesný	1,19	1,48	0,882	1,030	0,142	0,181	0,112	0,140
	hrab obyč.	1,44	1,77	0,659	1,080	0,224	0,201	0,151	0,157
Lokalita 3 – okraj cesty	hrab obyč.	1,57	1,69	0,884	0,922	0,228	0,218	0,157	0,155
Bublinec, 1994	buk lesný	0,95		1,04		0,18		0,16	
	hrab obyč.	1,63		1,01		0,31		0,30	
Maňkovská, 1991	buk lesný	1,35		0,95		0,19		-	

Namerané hodnoty sme porovnali s priemernými údajmi o obsahu jednotlivých prvkov v oboch testovaných drevinách. Použili sme pritom práce Maňkovská /8/ a Bublinec /9/, ktoré uvádzajú priemerné hodnoty prvkov v asimilačných orgánoch buka a hrabu na Slovensku.

Hodnoty živín v asimilačných orgánoch buka lesného (*Fagus sylvatica*) a hrabu obyčajného (*Carpinus betulus*) sa vo všeobecnosti výrazne nezmenili, vo väčšine prípadov sa obsah zvýšil. Obsah vápnika sa v asimilačných orgánoch sledovaných drevín nezmenil alebo sa mierne zvýšil. Výnimku predstavuje len pokles Ca v listoch hrabu, odobraných v bezprostrednej blízkosti lomu. Aj keď rozdiel predstavuje 38 %, obsah Ca stále môžeme považovať za optimálny a v žiadnom prípade nemôžeme hovoriť o jeho deficite. Rovnako aj ostatné koncentrácie vápnika v analyzovaných vzorkách dosahujú, alebo dokonca (vysoko) prevyšujú priemerné obsahy tohto prvku v zmysle citovaných autorov /8, 9/.

Množstvo draslíka sa v každej vzorke zvýšil, resp. zostal na rovnakej úrovni (asimilačné orgány buka z bezprostrednej blízkosti lomu). Táto skutočnosť je zaujímavá, pretože výsledky analýz obsahu K v pôdach ukazujú na jeho pokles. Dochádza zrejme k zvýšenému príjmu draslíka drevinami, z dôvodu vyrovnávania pôvodného mierneho deficitu draslíka

v asimilačních orgánech (podľa výsledkov z roku 2013), /3/. Príjem draslíka môže byť ovplyvnený aj nadbytkom vápnika v pôde, čo môže vzhľadom na antagonistické vzťahy týchto dvoch prvkov, znižovať absorpciu draslíka.

Zmeny v obsahu horčíka sú len mierne, väčšinou na úrovni štatistickej chyby. Koncentrácie Mg v listoch buka lesného sú na úrovni priemerných, resp. optimálnych hodnôt, obsah Mg v listoch hrabu je výrazne nižší ako priemerná hodnota ($0,31 \text{ mg.kg}^{-1}$) uvádzaná Maňkovskou /8/. Aj v tomto prípade sa pravdepodobne prejavuje antagonistický vzťah medzi Ca a Mg, kedy zvýšené množstvo Ca v pôde môže brzdiť sorpciu horčíka.

Obsah fosforu v bukových listoch je veľmi podobný priemerným hodnotám, ktoré uvádza Bublinc /9/ v bukových ekosystémoch Slovenska. Úroveň fosforu v hrabových asimilačných orgánech je však omnoho nižší ako je jeho bežný obsah. Množstvo fosforu sa vo väčšine vzoriek nezmenilo, rozdiely sú na úrovni štatistickej chyby.

ZÁVER

Na základe inventarizačného prieskumu prítomných rastlinných druhov, štatistického vyhodnotenia 18 parametrov týkajúcich sa zdravotného stavu lesov a zhodnotenia významu týchto rozdielov na 2 skúmaných lokalitách (v prípade chemických analýz na 3), nepovažujeme vplyv činnosti dobývacieho priestoru Beluša na zdravotný stav okolitých porastov za tak významný, aby ohrozoval existenciu týchto lesných porastov, alebo ich značne poškodzoval a ohrozoval tak ich zdravotný stav.

LITERATÚRA

- /1/ Venglovský, J., Heseck, M.: Rozptylová a hluková štúdia k zámeru „Rozšírenie ťažby stavebného kameňa v dobývacom priestore Beluša“, 2013
- /2/ Zámer „Rozšírenie ťažby stavebného kameňa v dobývacom priestore Beluša“
- /3/ Diviaková, A., Ollerová, H., Zacharová, A., Kunca, A.: Vplyv ťažby stavebného kameňa na chemizmus asimilačných orgánov lesných drevín a zdravotný stav lesa. In Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin. Zborník recenzovaných vedeckých prác. Česká zemědělská univerzita, Praha, 2016: 213 - 218. ISBN 978-80-813-2681-1.
- /4/ Kunca, A. (ed): Výskyt škodlivých činiteľov v lesoch Slovenska za rok 2011 a ich prognóza na rok 2012. Národné lesnícke centrum - Lesnícky výskumný ústav, Zvolen, 2012: 134 pp. ISBN 978-80-8093-165-0
- /5/ Zúbrik, M., Kunca, A., Csóka, G., (eds): Insects and diseases damaging trees and shrubs of Europe. N.A.P. Editions, 2013: 535 pp. ISBN 978-2-913688-18-6
- /6/ Zúbrik, M., Kunca, A., Novotný, J.: Hmyz a huby: atlas poškodení lesných drevín. Národné lesnícke centrum – Lesnícky výskumný ústav, Zvolen, 2008: 178 pp.
- /7/ STN 48 1001. Odber vzoriek asimilačných orgánov na zisťovanie zdravotného stavu lesa.
- /8/ Maňkovská, B.: Geochemical Atlas of Slovakia – forest biomass. Geologická služba Slovenskej republiky, Bratislava, 1996: 87 s. ISBN 80-85314-517-7.
- /9/ Bublinc, E.: Koncentrácia, akumulácia a kolobeh prvkov v bukovom a smrekovom ekosystéme. In Acta Dendrologica, Zvolen, 1994: 132 s. ISBN 80-224-0127-7.

PodĎakovanie

Príspevok bol podporený vedeckou grantovou agentúrou VEGA, projekt č. 1/0096/16.

VLIV VODNÍHO STRESU NA VODNÍ REŽIM JUVENILNÍCH ROSTLIN ČIROKU A BÉRU

INFLUENCE OF WATER STRESS ON THE WATER REGIME OF JUVENILES PLANTS BY FOXTAIL AND SORGHUM

František Hnilička¹, Margita Kuklová², Helena Hnilíčková¹, Ján Kukla²

¹ Česká zemědělská univerzita v Praze, Katedra botaniky a fyziologie rostlin, Kamýcká 129, 165 21
Praha 6 – Suchbátka, Česká republika, hnilicka@af.czu.cz

² Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied, Štúrova 2, 960 53 Zvolen, Slovenská republika,

Summary

The work studies the effect of water deficit on plants of common sorghum (genotypes 1216, 304 and varieties Ruzrok and Bernard Red) and millet (Ruberit). Plants of millet and sorghum were grown in a pot experiment in the greenhouses of the Faculty of Agrobiological Sciences, Food and Natural Resources in four variants. The control variant was irrigated to the extent of 70% of field water capacity during the entire experiment time. In order to induce water deficit, the stressed variant was not irrigated for 10 days and after that it was rehydrated for 4 days. During the experiment the WP4C apparatus was used in two-day intervals to measure osmotic potential and water richness deficit in compliance with Čatky's method. The results of the experiment have proved interspecific differences in response to water deficit and the observed characteristics. The measurements show that plants of Ruzrok genotype respond to water deficit more sensitively than other genotypes.

Key words: water stress, osmotic potential, sorghum, foxtail

Souhrn

V práci byl sledován vliv vodního deficitu na rostliny čiroku obecného (genotypy 1216, 304 a odrůdy Ruzrok a Bernard Red) a béru italského (Ruberit). Rostliny béru a čiroku byly pěstovány v nádobovém pokusu ve sklenících FAPPZ ve čtyřech variantách. Kontrolní varianta byla po celou dobu pokusu zavlažovaná na 70 % polní vodní kapacity. Pro navození vodního deficitu nebyla stresovaná varianta 10 dní zalévána a následně byla 4 dni rehydratována. V průběhu pokusu se ve dvou denních intervalech měřil přístrojem WP4C osmotický potenciál a dále byl sledován vodní sytostní deficit. Na základě měření byly potvrzeny mezidruhové rozdíly v reakci na vodní deficit a sledované charakteristiky. Z měření vyplynulo, že na vodní deficit reagují citlivěji rostliny genotypu Ruzrok v porovnání s ostatními genotypy.

Klíčová slova: vodní stres, osmotický potenciál, čirok, bér

ÚVOD

Vodní deficit patří mezi stresové faktory, které mají v celosvětovém měřítku významné negativní dopady na pěstování plodin. Tento významný stresor se projevuje také v ČR, jak dokládají poslední tři roky v některých oblastech naší republiky, především na jihu Moravy. Mezi plodiny, které byly a jsou postiženy vodním deficitem, patří také kukuřice. Kukuřice setá patří mezi rostliny C4, u nichž existuje reálný předpoklad, že by měly být odolné vůči nedostatku vody. Jako alternativní plodiny za kukuřici lze využít čiroky či béry. Oba tyto rostlinné rody patří také jako kukuřice do skupiny rostlin s C4 metabolismem.

Béry a čiroky se vyznačují vyšší odolností vůči nižšímu obsahu vody v půdě a horším půdním podmínkám. Tato odolnost je dána také místy jejich pěstování, kdy čirok je dominantní plodinou Afriky. Obdobně také bér, patřící mezi staré plodiny, je pěstován v Africe.

Vzhledem k těmto skutečnostem byl stanoven cíl sledovat u těchto dvou rodů působení vodního deficitu na jejich vodní režim.

MATERIÁL A METODA

Jako pokusné rostliny byly vybrány čtyři genotypy čiroku a jeden genotyp béru. Osivo bylo získáno z Genové banky VÚRV, v. v. i. v Praze – Ruzyni. Čirok byl zastoupen genotypy 1216, 304 a dále odrůdami Ruzrok a Bernard Red. V případě béru se jednalo o odrůdu Ruberit. Pokusné rostliny byly pěstovány v částečně řízených podmínkách skleníku katedry botaniky a fyziologie rostlin FAPPZ ČZU v Praze v nádobách o rozměrech 11x11 cm. Juvenilní rostliny čiroku a béru byly pěstovány ve směsi písku a zahradního substrátu, v poměru 1:2.

Schéma pokusu zahrnovalo čtyři varianty. První varianta byla kontrolní (KK). Rostliny pěstované v této variantě byly zavlažovány po celou dobu pokusu. Množství závlahy vody odpovídalo 70 % polní vodní kapacity, to znamená, že každá rostlina byla zalévána přibližně 250 ml vody. Druhá varianta byla označena KS a rostliny v této variantě byly zavlažovány po dobu prvních deseti dní. Poté následovalo období bez závlahy, navozeného postupným vysycháním substrátu. Třetí varianta měla označení SK. Tato varianta byla navrhována tak, že prvních deset dní pokusu byla stresována a od jedenáctého dne až do ukončení pokusu již byla plně obnovena závlhka na úroveň kontrolních rostlin. Čtvrtá varianta byla označena SS, kdy v rámci této varianty byly použity dva identické časové bloky. První blok byl tvořen 10 dny navozeného vodního deficitu, který byl poté vystřídán obnovením závlhky na úroveň kontrolních rostlin po dobu 4 dnů. Po tomto období následoval druhý blok, který byl opět představován 10 dny vodního deficitu a 4 dny závlhky. Pokus byl zahájen při vytvoření pěti pravých listů.

Vzorky pro měření fyziologické charakteristiky byly odebírány, každý druhý den. Celkový počet odběrů byl 15, při zachování 3 opakování. U rostlin byl sledován standardními metodami vodní sytostní deficit /1/. Dále byl sledován osmotický potenciál listů pomocí přístroje WP4C (Decagon Devices, Inc., Pullman, USA). Statistická analýza dat byla provedena pomocí počítačového programu Statistica, verze 10 Cz.

VÝSLEDKY A DISKUSE

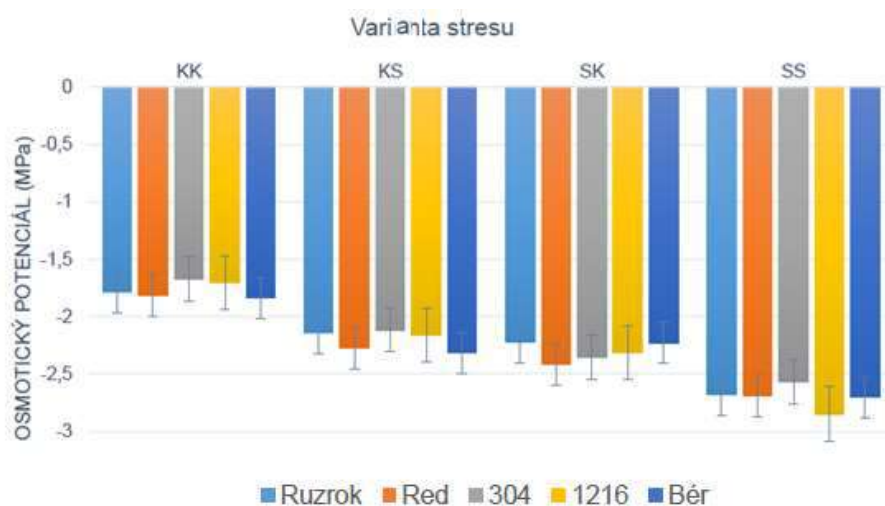
Průměrné hodnoty osmotického potenciálu v rámci sledovaných variant a genotypů jsou uvedeny v grafu 1. Z něho vyplývá, že mezi sledovanými genotypy byly nalezeny rozdíly v osmotickém potenciálu u variant KK. Nejvyšší průměrnou hodnotou osmotického potenciálu v této variantě měla odrůda béru Ruberit (-1,84 MPa). Nejnižší průměrnou hodnotu osmotického potenciálu měl čirok genotypu 304 (-1,67 MPa). Tyto hodnoty jsou nižší, než uvádí /2/, dle nich u plně zavlažovaných rostlin pšenice tvrdé dosahuje vodní potenciál hodnoty -1,43 MPa. Shabala /3/ konstatuje že, u rostlin rýže pěstovaných v prostředí s dostatkem vody se vodní potenciál pohybuje od -0,2 do -0,6 MPa. Rozdíl mezi literárními daty a naměřenými hodnotami mohou být způsobeny také tím, že testované rostliny patří do skupiny C4 a pšenice i rýže do C3.

V rámci varianty KS byly nalezeny průkazné rozdíly mezi sledovanými genotypy, kdy nejvyšší průměrná hodnota osmotického potenciálu byla zjištěna u odrůdy béru Ruberit (-2,32 MPa) a naopak nejnižší u genotypu čiroku 304 (-2,11 MPa).

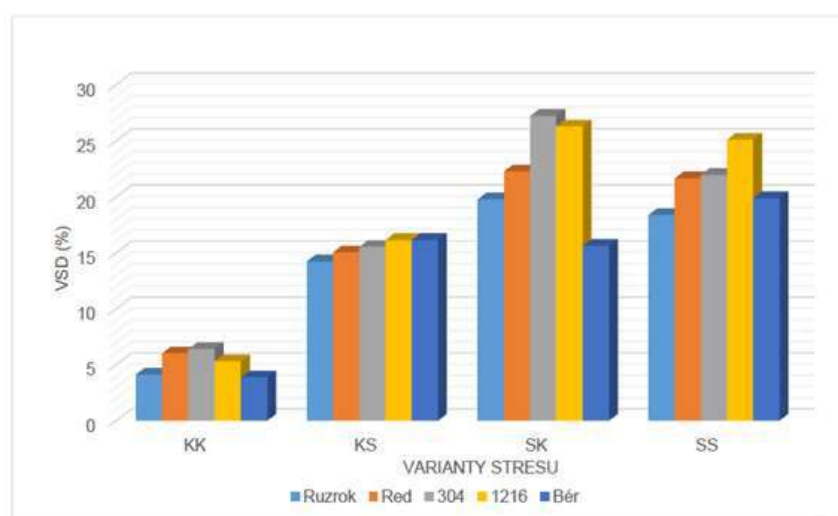
Z grafu 1 dále vyplývá rozdíl mezi sledovanými genotypy v rámci varianty SK, neboť nejvyšší osmotický potenciál měla odrůda čiroku Bernard Red (-2,41 MPa). Na straně druhé nejnižší průměrná hodnota osmotického potenciálu (-2,22 MPa) byla zjištěna u odrůdy čiroku Ruzrok. V případě varianty SS byla nejvyšší průměrná hodnota osmotického potenciálu naměřena u genotypu 304 (-2,56 MPa) a nejnižší hodnota osmotického potenciálu byla dosažena u genotypu 1216 (-2,85 MPa), jak zachycuje graf 1. Snížení osmotického potenciálu v závislosti na působení vodního deficitu v rámci této varianty potvrzuje závěry /4/.

Ze sledovaných genotypů dosáhl nejnižší hodnoty osmotického potenciálu genotyp 304 (-1,67 MPa) a naopak nejvyšší genotyp 1216 (-2,85 MPa). Z grafu 1 je patrné, že na vodní deficit nejcitlivěji reagoval genotyp 1216, kdy rozdíl v hodnotách osmotického potenciálu mezi variantami KK a SS činil -1,15 MPa. Jako tolerantní se jeví u rostlin čiroku odrůda Bernard Red a Ruzrok, jejichž rozdíl v hodnotách osmotickém potenciálu mezi těmito variantami stresu činil -0,87 MPa a -0,88 MPa. Avšak nejvíce tolerantní je odrůda bėru Ruberit (-0,86 MPa).

Na základě získaných výsledků je možné konstatovat v souladu s prací /5/, že vlivem působení vodního deficitu vodní potenciál u všech stresovaných rostlin postupně klesal.



Graf 1: Vliv genotypu bėru a čiroku na osmotický potenciál (MPa) v rámci pokusných variant.



Graf 2: Vliv genotypu bėru a čiroku na vodní sytostní deficit (%) v rámci pokusných variant.

Průměrné hodnoty vodního sytostního deficitu (VSD) jsou uvedeny v grafu 2. Z něho je patrné, že u rostlin pěstovaných ve variantě KK byl naměřený interval této charakteristiky v rozpětí hodnot od 3,87 % (Ruberit) do 6,42 % (genotyp 304). Z uvedených hodnot vyplývá, že rostliny netrpěly vodním deficitem, jak uvádí např. /6/. Rostliny pěstované v podmínkách varianty KS vykazují v rámci sledovaných genotypů relativně vyrovnané hodnoty, viz graf 2, neboť nejnižší hodnota VSD byla získána u odrůdy Ruzrok 14,24 %. Naopak nejvyšší hodnota VSD (16,17 %) byla vypočtena u béru odrůdy Ruberit.

Z uvedeného grafu je dále patrný značný rozdíl v hodnotách vodního sytostního deficitu v rámci varianty SK mezi sledovanými genotypy. V rámci této varianty byla nejvyšší hodnota VSD vypočtena u genotypu čiroku 304 (27,2 %). Na straně druhé nejnižší průměrná hodnota VSD (15,65 %) byla zjištěna u odrůdy béru Ruberit. Podle /7/ se jedná již o velký vodní stres.

Z průměrných hodnot vodního sytostního deficitu získaných u rostlin rostoucích ve stresované variantě (SS) vyplývá, že nejnižší hodnota VSD byla stanovena u čiroku odrůdy Ruzrok (18,39 %). Nejvyšší hodnota VSD v rámci varianty SS činila 25,12 % (genotyp 1216).

Nejnižší hodnota VSD byla naměřena u rostlin beru odrůdy Ruberit ve variantě KK, která činila 3,87 %. Nejvyšší hodnota vodního sytostního deficitu činila 27,2 % (genotyp 304, varianta SK).

LITERATURA

- /1/ Čatský, J.: Water saturation deficit in the wilting plant. The preference of young leaves and the translocation of water from old into young leaves. *Biologia Plantarum*, 4 (4), 1962: 306-314.
- /2/ Tambussi, E. A., Nogués, S., Araus, J. L.: Ear of durum wheat under water stress: water relations and photosynthetic metabolism. *Planta*, 221 (6), 2005: 446-458.
- /3/ Shabala, S.: *Plant Stress Physiology*. Cobi, Oxfordshire - Cambridge, 2012: 318 pp.
- /4/ Munns, R.: Why measure Osmotic Adjustment? *Australian Journal of Plant Physiology*, 15, 1998: 717-726.
- /5/ Nilsen, E. T., Orcutt, D. M.: *The Physiology of Plants Under Stress*. John Wiley and Sons, Inc., 1996. 689-704. ISBN 978-0-471-03152-9.
- /6/ Brestič, M. Olšovská, K. : Funkcia chemickej a hydraulickej signalizácie o vodnom strese pri hodnotení suchovzdornosti juvenilných rastlín. SPU Nitra, 2005: 164 pp.
- /7/ Listowský, V. A.: *Zagadaniem fyziologii pšenici*. Moskva, Kolos, 1976.

Poděkování

Tato práce byla finančně podpořena S projektem MŠMT České republiky.

BIOTIC STRESSES OF TREES – FUNGI *SORDARIA MACROSPORA* AND *SORDARIA FIMICOLA* - MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS

BIOTICKÉ STRESORY DREVÍN-HUBY *SORDARIA MACROSPORA* A *SORDARIA* *FIMICOLA* - MORFOLOGICKÉ CHARAKTERISTIKY

Helena Ivanová

Ústav ekológie lesa SAV Zvolen, Pobočka biológie drevín, Akademická 2, Sk-949 01 Nitra, Slovakia,
helena.ivanova@sav.savzv.sk

Summary

During an investigation of the mycoflora of pine trees growing in park Arborétum Mlyňany, Slovakia, ascomycetous fungus *Sordaria fimicola* was isolated from affected needles of *Pinus coulteri* showing rusty to brown coloured blight symptoms. This fungus characterized by thick-walled, obpyriform, densely aggregated ascospores, at maturity dark brown ascospores with basal germ pore surrounded by a gelatinous sheath by fungus *Sordaria macrospora*, occurring on other coniferous and ornamental trees was morphologically compared. The data document wide ecological valence and geographical distribution of *S. fimicola*.

Key words: morphological characteristics, *Pinus coulteri*, *P. nigra*, *Sordaria fimicola*, *Sordaria macrospora*

Súhrn

Počas výskumu mykoflóry borovíc rastúcich v parku Arborétum Mlyňany, Slovensko, bola z ihličia *Pinus coulteri* izolovaná a popísaná askomycétna huba *Sordaria fimicola* prejavujúca sa hrdzavohnedými symptómami diskolorácie. Huba, ktorej charakteristickou črtou sú hrubostenné, tmavohnedé plodničky hruškovitého tvaru s pozdĺžnym klíčnym otvorom obklopeným želatinovým puzdrom bola morfológicky porovnávaná s hubou *Sordaria macrospora* vyskytujúcou sa na iných ihličnatých aj okrasných listnatých drevinách. Výsledky dokumentujú široký ekologický potenciál a geografické rozšírenie huby *S. fimicola*.

Kľúčové slová: morfológická charakteristika, *Pinus coulteri*, *P. nigra*, *Sordaria fimicola*, *Sordaria macrospora*

INTRODUCTION

Order Sordariales belongs to Ascomyceteous fungi which represent a wide variety that differ in morphology, ontogeny, ascocarp details, ascus organisation, nature of ascospores and ultrastructure. Several members of this order are common saprophytes, the natural habitat is dung of herbivorous animals /6/ but had been found on many different substrates and hosts (on wood and bark, leaves and leaf litter of different trees) whichever from remains of plant biomass, live plants, seeds and from soil have been isolated /12, 13/. The order includes several members including species as the model organisms as *S. macrospora* Auersw. and *Sordaria fimicola* (Roberge) Ces. & De Not.

Uniting morphological features of Sordariales species are the erumpent to superficial, perithecial ascospores with large-celled ascospore walls, as well as the predominantly one or two-celled ascospores formed in unitunicate asci which show a remarkable morphological diversity /8/. The ascospores have hyaline and/or dark brown cells that typically form an

apical head and basal tail when two-celled, and commonly are surrounded by a gelatinous sheath or have appendages in various sizes and shapes /13, 15/. *Sordaria* species are of low virulence on most hosts, usually appearing on dead tissue or as opportunistic invaders of previously infected, wounded or senescent tissue /2/.

The aim of this work was to isolate and identify on the basis of light-microscopic morphological studies the organisms occurring on affected coulter pine needles in evergreen park Arborétum Mlyňany and compare with morphological characteristics of fungus *S. macrospora* which occurred on Austrian pine (*Pinus nigra*) needles.

MATERIAL AND METHODS

From spring to autumn 2015 - 2016, needles from 15 trees (age between 20-25 years) of *Pinus coulteri* D. Don with blight symptoms were collected in the geographic location Arborétum Mlyňany SAS. Every sample was cultivated on 30 Petri dishes (PD) with PDA medium. The needles parts were surface-sterilized for 20 minutes and cultivation on nutritive 3 % PDA medium in test chamber with constant temperature 23°C and humidity 45% humidity in dark conditions in a versatile environmental test chamber MLR-351H - Sanyo were used to isolate and obtain pure cultures. Occurrence of new fungus *Sordaria* was expressed numerically at per cent and identified by microscopic analysis. Morphometric measurements of fungal structures were made from each sample PD with the occurrence of fungus. The samples of biological material were deposited in herbarium at the Institute of Forest Ecology of the SAS, Branch for Woody Plant Biology in Nitra. Study of fungal structures was performed with a light clinical microscope BX41 Olympus under a 400× and 1000× magnification. Measurements were made through the medium of QuickPhotomicro 2.2 programme. Identification of fungus to the level of the genus was made using the taxonomic guide of authors /7, 2, 17/ and the morphometric values comparison using previously published data of authors /1, 4, 14/.

RESULTS AND DISCUSSION

Colonies of fungus *Sordaria fimicola* isolated in our experiments from necrotic needles of *Pinus coulteri* on PDA agar growing rapidly at first white and thin. Aerial mycelium composed of hyaline, branched, smooth-walled, septate hyphae. At the agar surface formed abundant setose and pyriform, black, solitary scattered, superficial perithecia. Setae occur relatively scarce, were brown or hyaline. Perithecial neck with a central erect ostiole, which elongating to mature dark brown to nearly black 8-spored cylindrical unitunicate asci with truncate apex and small apical rings. Asci were fasciculate, aseptate with a non-amyloid apical thickening without distinct apical structure formed rosettes without paraphyses. Smooth-walled ascospores were uniseriate, one-celled, first olivaceous green and finally dark brown, broadly ellipsoidal, with granular contents without guttules with a colourless basal germ slit. The spores were surrounded by a gelatinous hyaline and thin sheath, later disappearing. Our obtained data are distinguish to results achieved to Crous /4/ with the fungus *Sordaria macrospora*. Ascumata of this fungus were mostly densely aggregated with a central erect ostiole, up to 150 µm wide. They were smaller as pyriform perithecia of *S. macrospora*, which were 370-400(500) × 250-300 µm in size with brown, hyaline, straight with smooth-walled setae /10/ or 400-700 µm in size with soft setae on the outer surface /4/. Perithecial cylindrical and papillose neck, which elongating to mature dark brown to nearly black asci was 80(120) µm in size. Setae occur relatively scarce were hyaline, smooth-walled, strait with globose or subglobose apices, 39(48) × 3-5 µm. These features distinguish this fungus from *S. macrospora* which perithecia pyriform, black, setose, solitary with a central ostiole /10/. According to Doveri /5/ *Sordaria fimicola* differs from *S. macrospora* in having smaller spores, ellipsoidal rather than broadly ellipsoidal and smaller perithecia and asci.

Tab. 1.: Comparison of the morphological characteristics of species *Sordaria macrospora* and *Sordaria fimicola* identify on different host trees with signs of a new pathogen *Sordaria fimicola* isolated on *P. coulteri*

Host /author	<i>P. coulteri</i> <i>our experiment</i> <i>Sordaria fimicola</i>	<i>Acer palmatum</i> (9) <i>S. fimicola</i>	<i>Prunus iavasakura</i> (16) <i>S. fimicola</i>	<i>Pinus nigra</i> (10) <i>S. macrospora</i>	(4) <i>S. macrospora</i>
Caus. agent	<i>Sordaria fimicola</i>	<i>S. fimicola</i>	<i>S. fimicola</i>	<i>S. macrospora</i>	<i>S. macrospora</i>
Colonies on PDA	White, aenial mycelium	-	-	Pale white, abundant aenial mycelium	Fast growing, at first white with abundant aenial mycelium
Hypphae	Hyaline, septate, branched, smooth-walled, 3.0-3.5 µm	Hyaline, 2 µm wide	-	4-5, µm, hyaline	Hyaline, irregularly branched, thin-walled, septate
Ascomata	Penthecium obpyriform, densely aggregated, superficial 385-450×260-350 µm	Penthecium, solitary subglobose to pyriform 370×320 µm	Penthecium 291.5-530×(185-)200-425 µm	Penthecium pyriform 370-400(500)×250-300 µm	Penthecium superficial, pear-shaped, 400-700 µm
Neck	80(120) µm	100-160 µm	90-125×60-100 µm	35-60(150) µm	Neck with ostiolum 30×12 µm
Setae	Flexuous, colourless, 39(48)×3-5 µm	Brown or hyaline, straight setae, 80-100×6 µm	Hairs	Brown or hyaline, straight, smooth-walled, 55(68)×2 µm	On the other surface often with soft setae
Paraphyses	Absent	Absent	-	Absent	Absent
Asci	8-spored, uniseriate, cylindrical, 150-230×19-23 µm	150(165)×15.8 µm	127.5-202.5×13.7-17.5(-22.5) µm	8-spored, cylindrical, uniseriate, 160-175×20 µm	Uniseriate, 8-spored cylindrical, uniseriate with a non-amyloid apical thickening
Ascospores	Brown, ellipsoidal 1-celled 21(23)27×12-15 µm	Green to brown, one-celled, ellipsoidal, smooth-walled, germ pore 17-22×10-11 µm, granular contents	15-20×10-12.5 µm	Uniseriate, brown, 1-celled, granular contents, germ slit, 20(22)28×13(14)-20 µm	Brown, ellipsoidal, smooth, 25-35×17-22 µm, a colourless basal germ pore
Mucous/gelatinous sheath	Visible gelatinous sheath 3-6 µm in size	Visible gelatinous sheath	-	Visible gelatinous sheath	Visible gelatinous sheath

Microscopic features of *Sordaria fimicola* - fungus formed colonies of sparse aerial mycelium white at the beginning which is fast growing on PDA. Vegetative hyaline, thin-walled, 2 µm wide hyphae are septate, branched, lacking chlamydospores. Macroconidia did not discover /9/. Ascospore size and shape are important taxonomic and valuable criterion for distinguishing species, although there is considerable variation within species. When compared morphologically with the species occurring on different trees material reported in the literature /9, 13, 14/, *Sordaria fimicola* differs from *S. macrospora* in having smaller spores, ellipsoidal rather than broadly ellipsoidal and smaller perithecia and asci. Bell /3/ compared ascospore size and shape of fungus *Sordaria macrospora* and *S. fimicola*. Ascospores of *S. macrospora* are ellipsoidal and ascospores of *S. fimicola* are smaller, ovoid, subglobose or sometimes slightly obovoid. The fungus *Sordaria fimicola* formed fifteen percent of cultivated isolates. Important finding is that this fungus was identified for the first time as a new pathogen associated for the damaged needles of *Pinus coulteri* in Slovakia. Comparison of the morphological characteristics of species *Sordaria macrospora* and *Sordaria fimicola* identify on different host trees with signs of a new pathogen *Sordaria fimicola* isolated on *P. coulteri* needles is in Table 1.

REFERENCES

- /1/ Alexopoulos, C.J., Mims, C.W., Blackwell, M.: Introductory mycology. 4th ed. John Wiley & Sons, INC., 1996, 869 pp.
- /2/ Asgari, B., Zare, R., Gams, W.: *Coniochaeta ershadii*, a new species from Iran, and a key to well-documented *Coniochaeta* species. Nova Hedwigia 84(1-2), 2007: 175–187.
- /3/ Bell, A.: Dung fungi: an illustrated guide to coprophilous fungi in New Zealand. Victor. Univ. Press, 1983: 87.
- /4/ Crous, P.W., Verkley, G.J.M., Groenewald, J.Z., Samson, R.A.: Fungal biodiversity. CBS-KNAW. Fungal biodiversity. Centre Utrecht, Netherlands, 2009: 269.
- /5/ Doveri F., 2004. Fungi Fimicoli Italiani: a guide to the recognition of Basidiomycetes and Ascomycetes living on faecal material. 1104 pp., Bresadola: Scientific Committee of the Bresadola Mycological Association.
- /6/ Fields, W.G. An introduction to the genus *Sordaria*. *Neurospora* Newsletter 16, 1970: 14–17.
- /7/ Fisher, P.J., Petrini, O., Sutton, B.C.: A comparative study of fungal endophytes in leaves, xylem and bark of *Eucalyptus nitens* in Australia and England. *Sydowia* 45, 1993: 338–345.
- /8/ Huhndorf, S.M., Miller, A.M., Fernández, F.A.: Molecular systematics of the Sordariales: the order and the family Lasiosphaeriaceae redefined. *Mycologia* 96, 2004: 368–387.
- /9/ Ivanová, H.: *Sordaria fimicola* (Ascomycota, Sordariales) on *Acer palmatum*. *Folia Oecol.* 42(1), 2015: 67–71.
- /10/ Ivanová, H., Pristaš, P., Ondrušková, E.: Comparison of Two *Coniochaeta* Species (*C. ligniaria* and *C. malacotricha*) with a New Pathogen of Black Pine Needles – *Sordaria macrospora*. *Plant Prot. Sci.* 52(1), 2016: 18–25.
- /11/ Kavak, H.: Some biological parameters in *Sordaria fimicola*. *Pak. J. Bot.* 44(3), 2012: 1079–1082.
- /12/ Kruys, A., Huhndorf, S.M., Miller, A.N.: Coprophilous contributions to the phylogeny of Lasiosphaeriaceae and allied taxa within Sordariales (Ascomycota, Fungi). *Fungal Divers.* 70(1), 2014: 101–113.
- /13/ Lundqvist, N.: Nordic Sordariaceae s. lat. *Symbolae Botanicae Upsalliensis* 20, 1972: 1–374.
- /14/ Mungai, P.G., Chukeatirote, E., Njogu, J.G., Hyde, K.D.: Studies of coprophilous ascomycetes in Kenya: *Sordariales* from wildlife dung. *Mycosphere* 3(4), 2012: 437–448.
- /15/ von Arx, J.A., Guarro, J., Figueras, M.J.: The ascomycete genus *Chaetomium*. *Nova Hedwigia* 84, 1986: 1–16.
- /16/ Watanabe, T.: Three species of *Sordaria* and *Eudarlucia biconica* from cherry seeds. *Trans. Mycol. Soc. Japan* 30, 1989: 395–400.
- /17/ Weber, E.: The Lecythophora-Coniochaeta complex. I. Morphological studies on Lecythophora species isolated from *Picea abies*. *Nova Hedwigia* 74(1-2), 2002: 159–185.

Acknowledgements

Supported by the Scientific Grant Agency of Ministry of Education of the Slovak Republic and Slovak Academy of Sciences – VEGA, Projects No. 2/0069/14 and No. 2/0071/14.

Sponzoři



Půda



Voda



Rostliny



Meteorologie



Sedimenty



Geotechnika



Ekotechnika[®]
spol. s r.o.

Ekotechnika spol. s r.o. byla založena v roce 1997.

Nabízíme vzorkovací a měřicí přístroje pro pedologii, geologii, hydrogeologii, hydrologii, meteorologii, geotechniku, výzkum rostlin a diagnostiku životního prostředí.

Našimi zákazníky jsou vědecké instituce, vysoké a střední školy, sanační společnosti, inženýrští geologové, hydrogeologové, státní instituce.

Dodávané přístroje jsou vyráběny předními světovými výrobci ADC Bioscientific Ltd., Delta-T Devices Ltd. a další, které výhradně zastupujeme v ČR a SR.

Vyvíjíme také vlastní přístroje a měřicí zařízení.








www.ekotechnika.cz

Název: Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2017

Editor: František Hnilička

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: 110 ks

Počet stran: 243

Vydání: první

Rok vydání: 2017

ISBN: 978-80-213-2767-2 (Česká zemědělská univerzita v Praze)

ISBN: 978-80-89408-27-6 (Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied)

Texty příspěvků neprošly jazykovou úpravou