

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 2018

(Sborník recenzovaných vědeckých prací)

**INFLUENCE OF ABIOTIC AND BIOTIC STRESSES
ON PROPERTIES OF PLANTS 2018**
(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 2018**

(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 2018**

(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: Laboratorní pokusy, Kontrolní bučina v Obcích
foto: František Hnilička, Ján Kukla

Odborný garant konference: František Hnilička (ČZU v Praze)
Margita Kuklová (ÚEL SAV)

Odborní recenzenti: *doc. RNDr. Jan Novák, DrSc.*
RNDr. Božena Šerá, Ph.D.

Organizační výbor konference:

RNDr. Ľubica Ditmarová, Ph.D. (ÚEL SAV)

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, 2018
ISBN: 978-80-213-2863-1

© Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied, 2018
ISBN: 978-80-89408-31-3

OBSAH

	Úvodní slovo	1
<i>L. Hájková, V. Kožnarová, T. Vráblik</i>	Fenologická data polních plodin ze sítě ČHMÚ a možnosti jejich využití	3
<i>D. Fazekašová, J. Fazekaš</i>	Vplyv alkalické a metalické kontaminácie na pôdu a vegetáciu v imisnom poli magnetitového závodu	12
<i>E. Candráková</i>	Reakcia pestovaných obilnín na stresové faktory	18
<i>J. Lang</i>	Výroba kvalitní píce v podmínkách sucha. Jaké máme možnosti?	25
<i>M. Molnářová, J. Ružičková, B. Lehotská, A. Filová, A. Fargašová</i>	Ťažké kovy v příhlave dvojdoméj (<i>Urtica dioica</i>) a netýkavke malokvetéj (<i>Impatiens parviflora</i>) z lokalit v Malých Karpatoch zařazených starou banskou činností	31
<i>T. Salaj, K. Klubicová, M. Perniš, J. Salaj</i>	Dlhodobé udržiavanie embryónnych pletív hybridných jedlí v podmínkách <i>in vitro</i>	36
<i>H. Hniličková, F. Hnilička, J. Ježek, T. Vild, Kraus, K.</i>	Fyziologické charakteristiky chmele pěstovaného v režimu ekologického zemědělství	39
<i>P. Kaštier, Y. A. Krasylenko, A. Blehová</i>	Funkčná analýza cytoskeletu v komplexe vzťahov parazit-hostiteľ	43
<i>P. Petřík, A. Petek, A. Konôpková, P. Fleischer, D. Kurjak</i>	Fenotypová plasticita prieduchových a listových parametrov <i>Fagus sylvatica</i>	47
<i>F. Hnilička, M. Kuklová, J. Kudrna, I. Pivková, H. Hniličková, J. Kukla, K. Sládeková</i>	Vliv nízkých teplot na výměnu plynů juvenilních rostlin máku setého (<i>Papaver somniferum</i> L.)	51
<i>M. Golian, O. Paulen, M. Šlosár</i>	Alternatívne prístupy boja so suchom	57
<i>J. Frydrych, P. Volková, M. Pikulová</i>	Inovace pěstitelksé technologie v travávh na semeno	63
<i>R. Švubová, V. Kročková, J. Renčko, E. Slovákova, A. Záhoranová</i>	Vplyv nízkoteplotnej plazmy na klíčenie hospodársky významných plodín	70
<i>L. Holubová, S. Kyzek, I. Ďurovcová, J. Špačková, V. Medvecká, A. Ševčovičová, E. Gálová</i>	Interakcia nízkoteplotnej plazmy s rostlinnými bunkami	74
<i>A. Filová, J. Konôpková, D. Bošiaková</i>	Morfologicko-anatomické zmeny explantátovej kultúry <i>Magnolia x Soulangiana</i> v podmienkach nadbytku iónov Al^{3+} a Ca^{2+}	78
<i>M. Kysel, J. Žiarovská, V. Štefánová, K. Ražná</i>	Dĺžkový polymorfizmus retrotranspozónu sukkula v genóme pšenice s rôznou odolnosťou voči suchu	84
<i>V. Vargová, L. Jančová</i>	Porasty borůvky obyčajnej v rozdielnych nadmořských výškach	88
<i>N. Maximová, M. Saganová, E. Slovákova, M. Vaculík</i>	Akumulácia a fyziologické účinky vybraných ťažkých kovov na rast a vývin brusnice čučoriedkovej (<i>Vaccinium myrtillus</i> L.)	92
<i>M. Lukáčová, P. Mészáros</i>	Vplyv rôznych koncentracií kadmia na aktivitu chitináz vo vybraných odrodách sóje	96
<i>V. Zemanová, M. Pavlík, D. Pavlíková, F. Hnilička, M. Popov, P. Kotrba</i>	Reakce <i>Pteris cretica</i> na chronický stres arsenem	100

<i>R. Podlipná, T. Zunová, P. Maršík</i>	Pesticidy a stromy pobřežního pásma lesa: biotransformace tebukanzolu.	104
<i>M. Hájková, M. Kummerová, Š. Zezulka, K. Svobodová, J. Šmeringai</i>	Léčivý indukované změny v růstu a morfologii kořenů kukuřice a hrachu	109
<i>L. Langhansová, P. Maršík, K. Motková, P. Landa, R. Podlipná, T. Vaněk</i>	Odezva antioxidačního enzymatického aparátu u <i>Arabidopsis thaliana</i> na stres způsobený kontaminací nesteroidními antiflogistiky	113
<i>L. Svobodníková, Š. Zezulka, M. Kummerová</i>	Interakce diklofenaku s rostlinami na buněčné úrovni: model tabákové suspenze BY-2	118
<i>P. Svoboda, J. Haberle, G. Kurešová</i>	Hloubka kořenů polních plodín a zelenin a stanovení závlahové hloubky	123
<i>E. Chovanček, M. Živčák, M. Brestič, K. Olšovská, L. Botyanszká, M. Kovár</i>	Flavonoidy a produkcia biomasy v podmienkach sucha a mykorízy	127
<i>L. Botyanszka, M. Živčák, M. Brestič, E. Chovanček, P. Hauptvogel</i>	Multispektrálna indukovaná fluorescencia využitá při fenotypizácii stresových účinkov sucha v odrodách pšenice	131
<i>M. Kovár, M. Brestič, M. Živčák, K. Olšovská, O. Sytar, L. Botyanszká, E. Chovanček, V. Bárek</i>	Hyperspektrálne zobrazovanie – nástroj pre nedestrukčne hodnotenie obsahu vody v rastline	135
<i>E. Krivosudská</i>	Vplyv deficitu vody na vybrané fyziologické parametre hrachora siateho	139
<i>A. Žofajová, P. Hauptvogel, M. Švec</i>	Tolerancia voči suchu při vybraných odrodách pšenice letnej f. ozimnej	143
<i>A. Fargašová</i>	Využitie poľnohospodárskych plodín jako objektov na hodnotenie fytotoxicity vyvolanej Cr a Ni	149
<i>H. Ivanová</i>	Biotický stresor listov jaseňa štíhleho – huba <i>Fusarium</i> sp.	154
<i>M. Kubov, B. Schieber, R. Janík</i>	Fenológia vybraných lesných bylín vo vzťahu k meniacej sa klíme	158
<i>M. Kuklová, I. Pivková, F. Hnilička, H. Hniličková, K. Sládeková, J. Kukla</i>	Vplyv rychlostnej cesty na akumuláciu arzénu v lesných ekosystémoch	165
<i>H. Ollerová, A. Zacharová, A. Diviaková, E. Michalková</i>	Obsah Ni, Cr a Hg vo vybraných rostlinných druhov na starej environmentálnej záťaži	169
<i>Ž. Pauková, Z. Jureková</i>	Diverzita prieduchov dvoch taxónov trvácich bioenergetických tráv	173
<i>B. Piršelová, L. Lengyelová, L. Galuščáková, R. Kuna</i>	Hodnotenie vplyvu extraktu výhonkov repy cukrovej na klíčivosť a rast pšenice letnej	178
<i>E. Stehnová, J. Klimešová, H. Středová, T. Středa</i>	Trendy fenologických projevů rostlin	183
<i>B. Šerá, A. Zahoranová, M. Šerý</i>	Reakce různých druhů borovic na ošetření chladným plazmatem	187
<i>T. Havel</i>	Nabídka firmy Ekotechnika	193

JMENNÝ REJSTŘÍK

B			J		
Bárek	135			
Blehová	43	Jančová	88
Bošiaková	78	Janík	158
Botyanszká	132, 136, 140	Ježek	39
Brestič	132, 136, 140	Jureková	173
C			K		
Candráková	18	Kaštier	43
			Klimešová	183
			Klubicová	36
			Konôpková A.	47
			Konôpková J.	78
			Kotrba	100
			Kovár	127, 135
			Kožnarová	3
			Krasylenko	43
			Kraus	39
			Krivosudská	139
			Kročková	70
			Kubov	158
			Kudrna	51
			Kukla	51, 165
			Kuklová	51, 165
			Kummerová	109, 118
			Kuna	178
			Kurešová	123
			Kurjak	47
			Kysel'	84
			Kyzek	74
D			L		
Diviaková	169	Landa	113
Ďurovcová	74	Lang	25
			Langhansová	113
			Lehotská	31
			Lengyelová	178
			Lukáčová	96
F			M		
Fargašová	31, 149	Maršík	104, 113
Fazekaš	12	Maximová	92
Fazekašová	12	Medvecká	74
Filová Al.	31	Mészáros	96
Filová An.	78	Michalková	169
Fleischer	47	Molnárová	31
Frydrych	63	Mot'ková	113
G					
Gálová	74			
Galuščáková	178			
Golian	57			
H					
Haberle	123			
Hájková L.	3			
Hájková M.	109			
Hauptvogel	131, 143			
Hnilička	39, 51, 100, 165			
Hniličková	39, 51, 165			
Holubová	74			
CH					
Chovanček	127, 131, 135			
I					
Ivanová	154			

			Sytar	135
	O				
Ollerová	169		Š	
Olšovská	127, 135	Šerá	187
			Šerý	187
	P		Ševčovičová	74
Pauková	173	Šlosár	57
Paulen	57	Šmeringai	109
Pavlík	100	Špačková	74
Pavlíková	100	Štefúnová	84
Perniš	36	Švec	143
Petek	47	Švubová	70
Petrík	47			
Pikulová	63		V	
Piršelová	178	Vaculík	92
Pivková	51, 165	Vaněk	113
Podlipná	104, 113	Vargová	88
Popov	100	Vild	39
			Volková	63
	R		Vráblík	3
Ražná	84			
Renčko	70		Z	
Ružičková	31	Záhoranová	70, 187
			Zacharová	169
	S		Zemanová	100
Saganová	92	Zezulka	109, 118
Salaj J.	36	Zunová	104
Salaj T.	36			
Schieber	158			
Sládeková	51, 165		Ž	
Slováková	70, 92	Žiarovská	84
Stehnová	183	Živčák	132, 136, 140
Středa	183	Žofajová	143
Středová	183			
Svoboda	123			
Svobodníková	118			
Svobodová	109			

ÚVODNÍ SLOVO

Čas je pojem relativní, neboť pro někoho je rok dlouhá doba, kdežto pro dalšího uběhne velmi rychle. Ta druhá možnost se týká organizování naší společné stresové konference, neboť téměř před rokem jsme se rozcházeli s vidnou dalšího ročníku, která se nyní naplnila.

V letošním roce je tato konference již z pohledu života lidského plnoletá, prošla si určitým vývojem a doufáme, že to byl vývoj pozitivní. Jsme rádi, že se na tomto vývoji podílíte především Vy, kteří se této akce zúčastňujete. Osmnáctý ročník si jistě zaslouží také trochu bilancování, i když se nejedná o kulaté či půlkulaté jubileum.

Na tomto místě se sluší poděkovat duchovnímu otci a zakladateli této tradice Ing. Ladislavu Bláhovi, CSc., který stál u zrodu této akce a dvanáct let se podílel na jejím organizování. To on dal podnět ke vzájemnému setkávání a předávání zkušeností, informací a nových poznatků mezi námi všemi. Za to mu patří naše poděkování.

Dále bychom chtěli poděkovat všem pracovníkům obou institucí, kteří nám pomáhají s organizováním konference a dohlíží na její řádný průběh. Naše poděkování si jistě zaslouží i paní Ing. Ivana Šafářová, která se nám obětavě již několik let stará o finance. Zároveň bychom chtěli zmínit ještě jednoho obětavého člověka, který nám nezištně pomáhal, ale bohužel se již tohoto ročníku nedožil. Jedná se o paní doc. Gabrielu Juhásovou.

V rámci letošního ročníku opět zazní mnoho přednášek a plakátových sdělení, které zahrnují nejenom již klasické stresory, kterými bezesporu jsou vodní deficit, rizikové látky v prostředí, ale také biotické faktory, především antropogenní působení. V rámci letošního ročníku bude naše pozornost zaměřena na problematiku vlivu globálních změn klimatu na zemědělskou a lesnickou produkci. Průběh letošního počasí, výskyt sucha, nerovnoměrné či chybějící srážky velmi významně ovlivňují jak přirozené, tak i uměle vytvořené ekosystémy. Proto studium vlivu změn klimatu, ale i dalších stresorů je nutné sledovat také s ohledem na ekologické aspekty a s ohledem na možné změny biodiverzity, šíření nových druhů rostlin a živočichů, včetně jejich možného invazního působení na naše ekosystémy. Otázkou, která je stále v popředí zájmu je pochopení reakcí rostlin, které vedou k jejich možnému přizpůsobení změnám prostředí. 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, včetně těch krajových.

Obdobně jako v předcházejících letech jsou velmi podnětné příspěvky, které se zaměřují na popis a využití nových metodických postupů a jejich aplikaci ve stresové fyziologii rostlin. Nemůžeme však opomenout i pohled dnes již klasických metod. Je velmi důležitý komplexní pohled na rostlinu, jako na celek, a ne se zaměřovat pouze na určitou, i když významnou problematiku.

Naším přáním je, aby i letošní ročník nebyl pro Vás stresující, ale podnětný.

Organizační výbor konference

Vyzvané přednášky

FENOLOGICKÁ DATA POLNÍCH PLODIN ZE SÍTĚ ČHMÚ A MOŽNOSTI JEJICH VYUŽITÍ

PHENOLOGICAL DATA OF FIELD CROPS FROM CHMI PHENOLOGY NETWORK AND POSSIBILITY OF THEIR USE

Lenka Hájková¹, Věra Kožnarová², Tomáš Vráblík¹

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 – Suchbátka, koznarova@af.czu.cz

Summary

Phenology is the study of the timing of recurring biological events in the animal and plant world. In the paper, selected phenological phases of spring barley (*Hordeum vulgare*) for the period 1985–2010 were statistically from four phenological stations of the Czech Hydrometeorological Institute. The sums of effective air temperatures above 5 °C on the day of phenophase onset in the same period 1985–2010 were processed on the station Strážnice. The results show the serious variability of the phenophase onset in the respective year, and the phenological phases begin gradually, depending on the altitude of the respective station. The highest Pearson correlation coefficient was found in the phenological phase of the first nodus (BBCH 31), the second highest at the heading (BBCH 55). The evaluation of these statistics is important for preparing of data homogenization and subsequently as an input into phenological models. Detailed analysis of individual crops and phases will used also within the framework of the "Autopollen" research project within the EUMETNET program.

Key words: phenology, phenophase, spring barley, effective temperature, CHMI

Souhrn

Periodicita v životě rostlin a živočichů je pokládána za nepřímý ukazatel periodicity klimatu. Je to dáno tím, že rostliny a živočichové neustále reagují na různé povětrnostní vlivy. Fenologie je vědní disciplína, která se zabývá studiem časového průběhu periodicky se opakujících životních projevů, tzv. fenologických fází, rostlin a živočichů v závislosti na podmínkách vnějšího prostředí, zejména na podnebí a počasí. příspěvku byly statisticky vyhodnoceny vybrané fenologické fáze ječmene jarního (*Hordeum vulgare*) za období 1985–2010 z dat čtyř fenologických stanic ČHMÚ. Z měření na stanici Strážnice byly též zpracovány sumy efektivních teplot vzduchu nad 5 °C ke dni nástupu fenofáze ve stejném období 1985–2010. Výsledky ukazují na velkou variabilitu časového nástupu v příslušném roce, kdy fenologické fáze nastupují postupně v závislosti na nadmořské výšce příslušné stanice. Nejvyšší hodnota Pearsonova korelačního koeficientu byla zjištěna u fenologické fáze první kolénko (BBCH 31), druhá nejvyšší byla u metání (BBCH 55). Statistická šetření jsou důležitá pro přípravu homogenizace dat a následně pak pro vstup do fenologických modelů. Detailní rozbor jednotlivých plodin a fází poslouží i v rámci výzkumného projektu „Autopollen“ v rámci programu EUMETNET.

Klíčová slova: fenologie, fenofáze, ječmen jarní, efektivní teplota, ČHMÚ

ÚVOD

Periodicita v životě rostlin a živočichů je pokládána za nepřímý ukazatel periodicity klimatu. Je to dáno tím, že rostliny a živočichové neustále reagují na různé povětrnostní vlivy. Fenologie je vědní disciplína, která se zabývá studiem časového průběhu periodicky se opakujících životních projevů, tzv. fenologických fází, rostlin a živočichů v závislosti na podmínkách vnějšího prostředí, zejména na podnebí a počasí /3/.

Počátky pravidelných fenologických pozorování na území dnešní České republiky spadají do 19. století, kdy v roce 1828 Společnost vlasteneckohospodářská zavedla k rozšíření svého meteorologického programu také fenologická pozorování některých rostlin a živočichů, zejména pro zemědělské a lesnické účely. Po vzniku Československa byla fenologická pozorování organizována na širokém celostátním základě Výzkumnými ústavu zemědělskými zásluhou prof. Ing. Dr. Václava Nováka, který vypracoval pro pozorování „Zásadní pravidla“ a návrh jednotného formuláře. Tyto podklady projednala a schválila v r. 1923 Komise pro půdoznalství a zemědělskou meteorologii a následně vznikla rozsáhlá pozorovací síť, do níž bylo zapojeno více než 650 pozorovatelů.

V roce 1939 došlo v Protektorátu Čechy a Morava ke sloučení všech meteorologických služeb do Ústředního meteorologického ústavu pro Čechy a Moravu, od r. 1940 převzala fenologická pozorování česká meteorologická služba s celou sítí (cca 1 000 lokalit) i s archivem údajů od r. 1923. Počet fenologických stanic se tehdy blížil hustotě srážkoměrné sítě. Od té doby až do současnosti tvoří fenologie součást meteorologické služby, začleněné v roce 1954 do Hydrometeorologického ústavu.

Významná změna ve fenologickém pozorování nastala v polovině 80. let, kdy byla síť stanic tzv. všeobecné fenologie postupně rozdělena do tří typů, sledujících polní plodiny, ovocné dřeviny a lesní (volně rostoucí) rostliny. Pro zajištění jednotnosti pozorování byly vydány návody pro pozorovatele, jejichž obrazovým doplňkem se od roku 2005 stal Fenologický atlas /2/. V té době tvořilo pozorovací síť ČHMÚ zhruba 160 stanic. V současné době se fenologická pozorování provádějí na jenom typu stanice – lesní (dívoce rostoucí druhy).

Polní plodiny byly sledovány do 31. 12. 2012, z důvodu finančních úspor byla jejich činnost k tomuto datu ukončena. V letech 1985–2012 bylo v provozu cca 80 stanic polních plodin, které naplňovaly pozorovací program podle metodiky ČHMÚ /1/. V metodice je celkem popsáno 25 fenologických fází a do systematického sledování je vybráno 19 druhů polních plodin. Na každé stanici se provádějí pozorování dle možností příslušné stanice např. dle geografických podmínek, aktuálních osevních postupů daného roku a další.

Fenologická data polních plodin mají široké spektrum využití. Výsledky se dají využít např. k objektivní rajonizaci zemědělské výroby, k optimalizaci stanovení agrotechnických lhůt, ve sledování vývoje vegetace ve vztahu k erozi i dalším půdním parametrům, k tvorbě agrometeorologických modelů (např. vývoj a kvalita obilovin, působení škůdců), ke specifikaci plodinového sucha a stanovení závlahových dávek, v hodnocení intenzity sucha a jeho dopadů na polní kultury, v modelech a hodnocení vlhkosti půdy, evapotranspirace a vláhové bilance polních kultur a samozřejmě i ve vědě a výzkumu ke sledování a hodnocení závislosti rychlosti vývoje vegetace na aktuálním počasí. Data jsou využitelná i v alergologii, protože pyly mnohých polních plodin (např. obiloviny) jsou řazeny mezi alergeny. V této souvislosti jsou velmi významné informace o fenologické fázi metání, počátku a konci kvetení, které indikují trvání pylové sezony.

Je nesmírně důležité, aby napozorované fenologické údaje byly statisticky vyhodnoceny včetně souvisejících klimatologických charakteristik, mezi které řadíme např. sumy efektivních teplot.

V předkládaném zpracování jsme se vzhledem k omezenému rozsahu příspěvku zaměřili pouze na vyhodnocení vybraných fenologických fází ječmene jarního za období

1985–2010 ze 4 fenologických stanic ČHMÚ. Kromě toho byly na stanici Strážnice též zpracovány sumy efektivních teplot vzduchu nad 5 °C ke dni nástupu fenofáze ve stejném období 1985–2010. V této podobě budou zpracovány i další stanice a plodiny v navazujících studiích.

MATERIÁL A METODA

Jako plodina vhodná k analýze byl zvolen ječmen jarní (*Hordeum vulgare*). Zpracována byla data ze čtyř fenologických stanic ČHMÚ, které se nacházejí na území České republiky v různých nadmořských výškách (obr. 1 a tab. 1). Z fenologických fází byly vybrány etapy, které významně charakterizují ontogenetický vývoj ječmene jarního během vegetačního období. Jedná se o tyto fenologické fáze:

Vzcházení: nad povrch půdy pronikly první nadzemní orgány. U obilovin se jedná o první list, který vyrůstá z koleoptile (BBCH 10).

Odnožování: u obilovin jasně viditelný první list první odnože (postranního výhonu) (BBCH 21).

Počátek prodlužování listových pochev, který je též označován jako počátek sloupkování: vzdálenost mezi bázemi čepelí dvou nejvyšších listů se začala nápadně zvětšovat (BBCH 30).

První kolénko, druhé kolénko: v těchto fázích se od sebe neoddalují jen báze čepelí, ale také kolénka, která oddělují jednotlivé části stébla a z nichž vyrůstají listy (BBCH 31, BBCH 32).

Nadušení pochvy posledního listu: pochva nejvýše postaveného listu pod vlivem růstu květenství plně nadmutá, není však ještě nikde rozevřená, ani z jejího vrcholu zatím nevyčnívají osiny (BBCH 45).

Metání: z pochvy praporcového listu vyčnívá právě polovina květenství (BBCH 55).

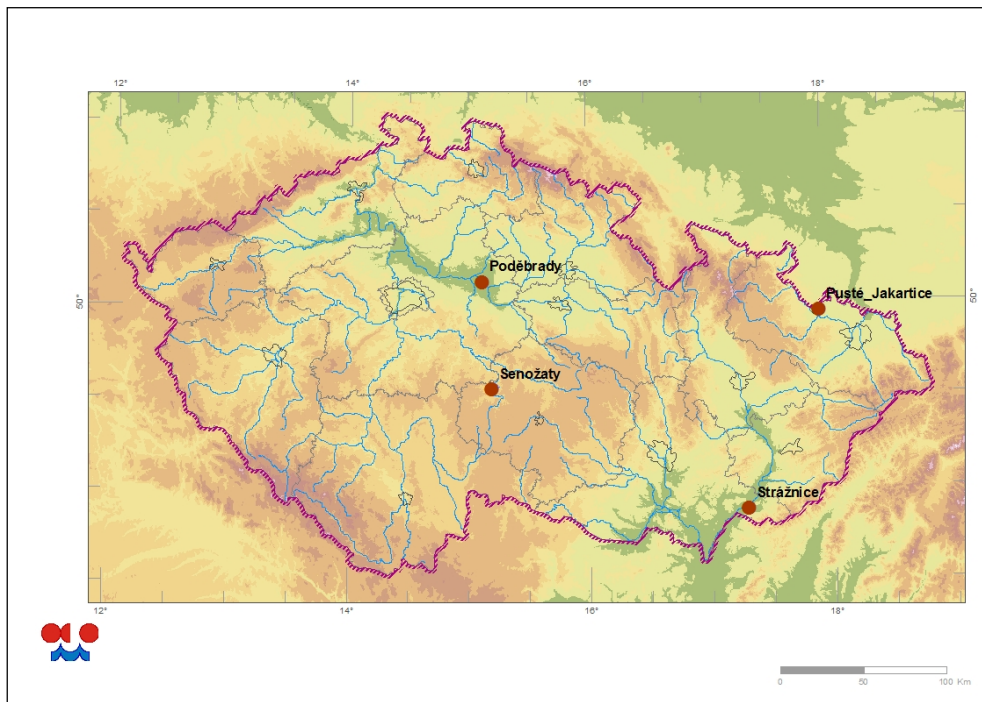
Zralost mléčná: všechny obilky jsou zelené. Ty vyvinutější jsou již plně dorostlé, při zmáčknutí uvolňuje mléčně zbarvenou šťávu (BBCH 73).

Zralost plná: semena jsou zcela tvrdá a jdou snadno uvolnit z klasu (BBCH 89).

Informace o BBCH je uvedena z důvodu využívání tohoto označení v rámci mezinárodní fenologické spolupráce /6/

Dále bylo vyhodnoceno průměrné trvání mezifázových intervalů ze všech 4 stanic a suma efektivních teplot nad 5 °C ke dni nástupu fenologické fáze vzcházení, první nodus, metání a zralost plná ze stanice Strážnice, která se nachází v nadmořské výšce 177 m. Efektivní teplota vzduchu je průměrná denní teplota zmenšená o biologické minimum teploty. Při dosažení hodnoty biologického minima teploty rostlina začíná, nebo přestává růst, tím, že posiluje, nebo omezuje metabolické procesy a transformaci energie. Zpravidla se jedná o teplotu 5 °C /5/.

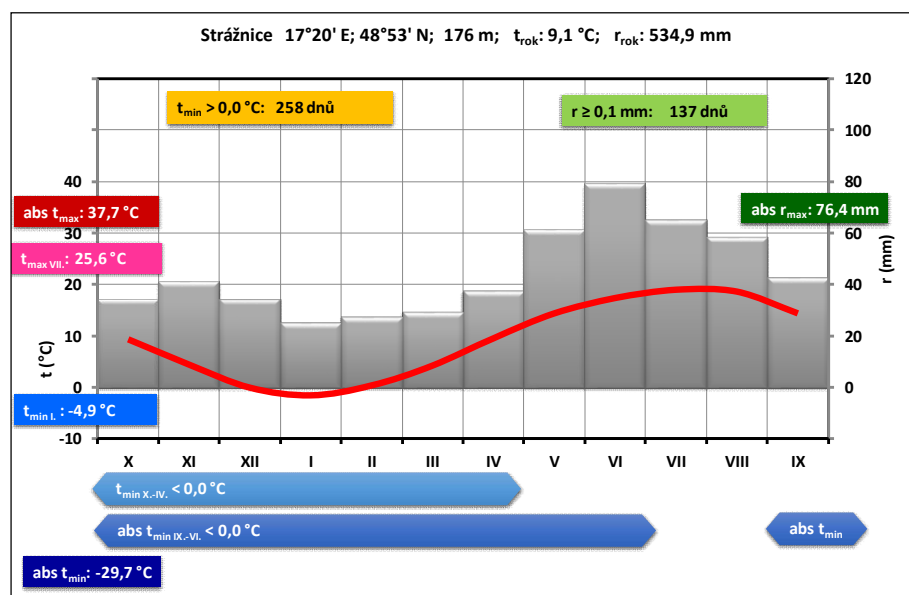
Fenologická data byla exportována z fenologické databáze ČHMÚ FENODATA. Vlastní fenologická pozorování provádějí dobrovolní pozorovatelé dle metodiky ČHMÚ /1, 2/. Průměrná denní teplota vzduchu byla exportována z klimatologické databáze ČHMÚ CLIDATA, do výpočtů sum efektivních teplot vstupovala tzv. technická řada, tj. homogenizovaná časová řada. Pro většinu výpočtů se používají technické datové řady, které 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 /5/ a poté je váženým průměrem spočtena nová hodnota /7/.



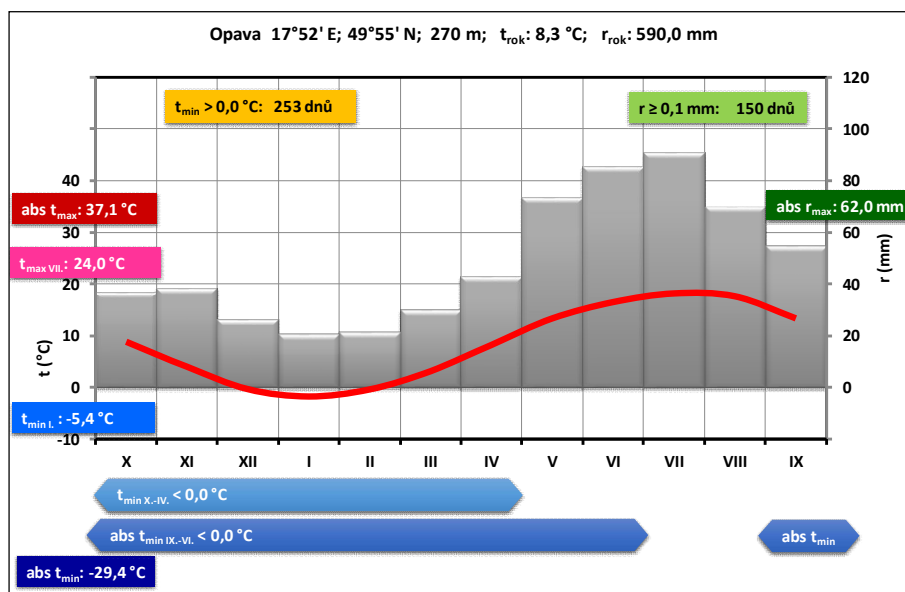
Obr. 1: Vybrané fenologické stanice sítě Českého hydrometeorologického ústavu

Tab. 1: Seznam fenologických a klimatologických stanic

Stanice fenologická			Stanice klimatologická		
	Indikativ	Nadmořská výška		Indikativ	Nadmořská výška
Strážnice	B1STRZ11	177	Strážnice	B1STRZ01	176
Poděbrady	H4PODE11	194	Poděbrady	H3PODE01	198
Pusté Jakartice	O1PUJA11	275	Opava	O1OPAV11	270
Senožaty	P3SENO11	470	Košetice	P3KOSE01	533



Obr. 2: Klimagram podle meteorologické stanice Strážnice



Obr. 3: Klimogram podle meteorologické stanice Opava

Vysvětlivky:

všeobecné údaje v záhlaví: zeměpisné souřadnice a nadmořská výška; t_{rok} = průměrná roční teplota vzduchu; r_{rok} = roční úhrn srážek;

graf: červená křivka = spojnice průměrné měsíční teploty vzduchu (°C); šedé sloupce = měsíční úhrn srážek (mm);

teplotní charakteristiky: abs t_{max} = absolutní maximum teploty vzduchu; $t_{max VII}$ = průměrné denní maximum teploty vzduchu v červenci; $t_{min I}$ = průměrné denní minimum teploty vzduchu v lednu; abs t_{min} = absolutní minimum teploty vzduchu; $t_{min} > 0,0$ °C = počet dnů s denním minimem teploty vzduchu $> 0,0$ °C;

modrý pruh s $t_{min X-IV} < 0,0$ °C = měsíce s průměrným měsíčním minimem teploty vzduchu $< 0,0$ °C; modrý pruh s abs $t_{min IX-VI} < 0,0$ °C = měsíce s absolutním minimem teploty vzduchu $< 0,0$ °C;

srážkové charakteristiky: $r > 0,0$ mm = počet dnů s denním úhrnem srážek $> 0,0$ mm; abs r_{max} = absolutní maximum denního úhrnu srážek.

Data byla statisticky vyhodnocena v prostředí Microsoft Excel. Souhrnné vyjádření klimatických poměrů lze např. vyjádřit pomocí klimogramu /4/. Na ukázkou uvádíme klimagramy z meteorologické stanice Strážnice (doplňuje fenologickou stanici Strážnice) a meteorologické stanice Opava (doplňuje fenologickou stanici Pusté Jakartice) za období 1961–2010 (obr. 2 a 3) v tzv. agrometeorologickém roce, který začíná 1. říjnem a končí 30. zářím následujícího roku. Tento způsob umožňuje hodnotit chladný půlrok (včetně zimního období jako celek) a teplý půlrok odpovídající přibližně vegetačnímu období většiny u nás rostoucích rostlin. Takto jsou charakterizovány klimatické poměry i na ostatních fenologických stanicích, tyto informace jsou důležité pro celkový popis daných stanic.

VÝSLEDKY A DISKUSE

V analýze byla vyhodnocena data ze stanic Strážnice, Poděbrady, Pusté Jakartice a Senožaty pro jednotlivé fenologické fáze pomocí standardních charakteristik popisné statistiky: střední hodnota, chyba střední hodnoty, medián, modus, minimum, maximum, směrodatná odchylka, rozptyl, špičatost a šikmost. Výsledky jsou uvedeny v tab. 2 až 5.

Tab. 2: Statistické výsledky vybraných fází ječmene jarního – stanice Strážnice (177 m n. m.), hladina významnosti 95 %

Statistická charakteristika	vzcházení	odnožování	počátek prodlužování	první kolénko	druhé kolénko	nadouvání pochvy posledního listu	metání	mléčná zralost	plná zralost
Střední hodnota	6. IV.	25. IV.	5. V.	13. V.	20. V.	27. V.	3. VI.	30. VI.	22. VII.
Chyba stř. hodn.	1,94	2,07	1,52	1,39	1,38	1,41	1,29	1,49	1,00
Medián	9. IV.	25. IV.	4. V.	14. V.	19. V.	27. V.	3. VI.	27. VI.	22. VII.
Modus	11. IV.	23. IV.	15. V.	17. V.	25. V.	1. VI.	31. V.	26. VI.	21. VII.
Minimum	12. III.	1. IV.	22. IV.	1. V.	9. V.	10. V.	20. V.	15. VI.	7. VII.
Maximum	22. IV.	11. V.	17. V.	30. V.	8. VI.	17. V.	19. VI.	19. VII.	31. VII.
Směr. odchylka	9,90	10,56	7,78	7,12	7,05	7,23	6,60	7,61	5,11
Rozptyl	98,18	111,57	60,61	50,69	49,81	52,39	43,59	58,02	26,15
Špičatost	0,43	0,08	-1,13	-0,18	0,66	2,34	2,34	-0,43	1,86
Šikmost	-0,91	-0,51	0,01	0,19	0,68	0,50	0,14	0,14	-0,82

Tab. 3: Statistické výsledky vybraných fází ječmene jarního – stanice Poděbrady (190 m n. m.)

Statistická charakteristika	vzcházení	odnožování	počátek prodlužování	první kolénko	druhé kolénko	nadouvání pochvy posledního listu	metání	mléčná zralost	plná zralost
Střední hodnota	13. IV.	1. V.	15. V.	24. V.	30. V.	6. VI.	13. VI.	3. VII.	26. VII.
Chyba stř. hodn.	2,15	2,02	1,47	1,40	1,46	1,36	1,65	1,61	1,55
Medián	12. IV.	2. V.	14. V.	24. V.	30. V.	8. VI.	15. VI.	3. VII.	29. VII.
Modus	11. IV.	10. V.	12. V.	22. V.	4. VI.	10. VI.	20. VI.	24. VI.	31. VII.
Minimum	14. III.	6. IV.	23. IV.	8. V.	16. V.	21. V.	26. V.	16. VI.	7. VII.
Maximum	5. V.	19. V.	26. V.	7. VI.	11. VI.	16. VI.	27. VI.	19. VII.	10. VIII.
Směr. odchylka	10,98	10,31	7,51	7,18	7,46	6,97	8,45	8,22	7,95
Rozptyl	120,73	106,30	56,52	51,64	55,75	48,66	71,51	67,69	63,22
Špičatost	1,41	0,83	1,33	-0,48	-1,13	-0,19	-0,49	-0,48	0,54
Šikmost	-0,61	-0,86	-0,57	-0,20	-0,14	-0,57	-0,44	0,11	-0,72

Na základě těchto zjištění lze konstatovat, že:

- fenologická fáze vzcházení nastává v průměru na těchto vybraných stanicích mezi 6. až 17. dubnem, fenofáze odnožování mezi 25. dubnem až 5. květnem, počátek prodlužování mezi 5. až 21. květnem, první kolénko mezi 13. až 29. květnem, druhé kolénko mezi 20. květnem až 4. červnem, nadouvání pochvy posledního listu mezi 27. květnem až 12. červnem, metání mezi 3. až 18. červnem, zralost mléčná mezi 30. červnem až 8. červencem a zralost plná mezi 22. červencem až 7. srpnem.

- Fenologické fáze nastupují postupně v závislosti na nadmořské výšce příslušné stanice. Rozdíl mezi minimem a maximem u mnohých stanic činí i více než měsíc. To dokazuje velkou variabilitu v časovém nástupu fáze v daném roce.
- Směrodatné odchylky jsou na všech stanicích velmi podobné, nabývají hodnot 5,10 až 10,98.
- Špičatost a šikmost nabývají záporných či kladných hodnot v závislosti na rozdělení příslušného datového souboru.

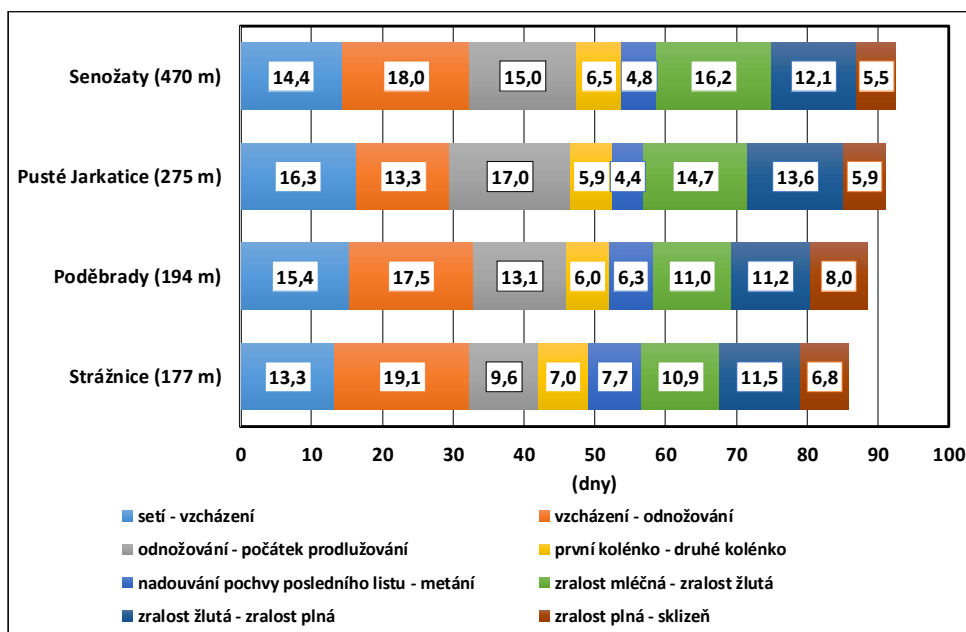
Tab. 4: Statistické výsledky vybraných fází ječmene jarního – stanice Pusté Jarkatice (275 m n. m.)

Statistická charakteristika	vzházení	odnožování	počátek prodlužování	první kolénko	druhé kolénko	nadouvání pochvy posledního listu	metání	mlečná zralost	plná zralost
Střední hodnota	16. IV.	30. IV.	17. V.	24. V.	30. V.	6. VI.	11. VI.	1. VII.	30. VII.
Chyba stř. hodn.	1,80	1,48	1,64	1,47	1,30	1,42	1,57	1,51	1,60
Medián	18. IV.	17. V.	17. V.	23. V.	31. V.	7. VI.	12. VI.	29. VI.	30. VII.
Modus	21. IV.	3. V.	14. V.	30. V.	25. V.	3. VI.	5. VI.	24. VI.	1. VIII.
Minimum	28. III.	14. IV.	30. IV.	11. V.	18. V.	27. V.	27. V.	17. VI.	12. VII.
Maximum	1. V.	3. VI.	3. VI.	10. VI.	14. VI.	25. VI.	25. VI.	17. VII.	15. VIII.
Směr. odchylka	9,19	7,58	8,37	7,50	6,63	7,28	8,05	7,73	8,19
Rozptyl	84,48	57,52	70,17	56,33	44,01	53,04	64,88	59,87	67,09
Špičatost	-0,55	-0,24	0,01	-0,51	-0,52	-0,40	-0,64	-0,73	0,01
Šikmost	-0,54	-0,42	-0,13	0,28	0,08	-0,33	-0,03	0,40	0,01

Tab. 5: Statistické výsledky vybraných fází ječmene jarního – stanice Senožaty (470 m n. m.)

Statistická charakteristika	vzházení	odnožování	počátek prodlužování	první kolénko	druhé kolénko	nadouvání pochvy posledního listu	metání	mlečná zralost	plná zralost
Střední hodnota	17. IV.	5. V.	21. V.	29. V.	4. VI.	12. VI.	18. VI.	8. VII.	7. VIII.
Chyba stř. hodn.	1,73	1,42	1,42	1,91	1,73	1,49	1,58	1,52	1,60
Medián	18. IV.	4. V.	22. V.	29. V.	4. VI.	13. VI.	19. VI.	10. VII.	7. VIII.
Modus	30. IV.	3. V.	24. V.	31. V.	7. VI.	16. VI.	20. VI.	11. VII.	5. VIII.
Minimum	31. III.	20. IV.	2. V.	5. V.	5. V.	26. V.	29. V.	20. VI.	17. VII.
Maximum	5. V.	18. V.	9. VI.	22. V.	22. VI.	1. VII.	6. VII.	23. VII.	24. VIII.
Směr. odchylka	8,86	7,26	8,87	9,77	8,83	7,63	8,09	7,75	8,16
Rozptyl	78,64	52,74	78,71	95,48	78,04	58,35	65,60	60,10	66,65
Špičatost	-0,48	-0,52	0,01	1,47	1,25	1,05	0,85	0,42	1,09
Šikmost	0,20	0,01	0,01	0,01	0,39	0,17	-0,04	-0,08	-0,28

Průměrné trvání mezifázových intervalů je uvedeno na obr. 4.



Obr. 4: Průměrné trvání mezifázových intervalů (dny)

Mezifázový interval (obr. 4) setí-vzcházení trvá v průměru 13,3 až 16,3 dnů; vzcházení–odnožování 13,3 až 19,9 dnů; odnožování–počátek prodlužování 9,6 až 17,0 dnů; první kolénko–druhé kolénko 5,9 až 7,7 dnů; nadouvání pochvy posledního listu–metání 4,4 až 7,7 dnů; zralost mléčná–zralost žlutá 10,9 až 16,2 dnů; zralost žlutá–zralost plná 11,2 až 13,6 dnů. Nejkratší interval je mezi fázemi nadouvání pochvy posledního listu a metání, nejdelší mezi fázemi vzcházení a odnožování.

Statistické výsledky analýzy sumy efektivních teplot jsou uvedeny v tab. 6.

Tab. 6: Statistické výsledky sumy efektivních teplot

Statistická charakteristika	$\Sigma t_{ef > 5^\circ C}$ do vzcházení	$\Sigma t_{ef > 5^\circ C}$ do prvního kolénka	$\Sigma t_{ef > 5^\circ C}$ do metání	$\Sigma t_{ef > 5^\circ C}$ do plné zralosti
Střední hodnota	80,4	325,5	540,8	1187,4
Chyba stř. hodn.	6,7	16,3	15,2	18,2
Medián	78,2	326,7	532,9	1173,3
Minimum	14,7	174,3	371,1	1050,6
Maximum	174,9	472,6	683,7	1386,8
Směr. odchylka	34,3	83,2	77,4	92,8
Rozptyl	1181,8	6926,1	5993,1	8605,1
Špičatost	1,76	-0,61	-0,28	-0,47
Šikmost	0,81	0,08	0,01	0,49

Tab. 7: Závislost sumy efektivních teplot a nástupu fenologické fáze

Pearsonův korelační koeficient	vzcházení	první kolénko	metání	plná zralost
	0,276	0,786	0,522	0,417

Suma efektivních teplot nad 5 °C ke dni nástupu fenologické fáze vzcházení činí 80,4 °C; u prvního kolénka 325,5 °C; u metání 540,8 °C a u plné zralosti 1187,4 °C. Pro zjištění korelační závislosti mezi sumou efektivních teplot nad 5 °C a datem nástupu

fenologické fáze byl použit Pearsonův korelační koeficient (tab. 7). Nejvyšší hodnota výše uvedeného korelačního koeficientu byla zjištěna u fenologické fáze první kolénko (BBCH 31), druhá nejvyšší byla u metání (BBCH 55).

ZÁVĚR

V příspěvku byly analyzovány vybrané fenologické fáze ječmene jarního ze čtyř fenologických stanic ČHMÚ a sumy efektivní teploty ke dni nástupu fenologické fáze ze stanice Strážnice z období 1985 až 2010.

Fenologická data jsou široce využívána v řadě oborů a také v mnoha činnostech souvisejících s posláním ČHMÚ. Jejich statistické hodnocení je důležité pro přípravu na homogenizaci dat a následně pak jako vstup do různých fenologických modelů. Výsledky provedeného šetření vegetačního období ječmene jarního ukazují na velkou variabilitu časového nástupu v jednotlivých letech. Fenologické fáze nastupují postupně v závislosti na nadmořské výšce příslušné stanice. Nejvyšší hodnota Pearsonova korelačního koeficientu byla zjištěna u fenologické fáze první kolénko (BBCH 31), druhá nejvyšší byla u metání (BBCH 55). Detailní rozbor dalších plodin a jejich fenologických fází může posloužit i v rámci výzkumného projektu „Autopollen“ v programu EUMETNET.

Na závěr nezbyvá než konstatovat, že současná pozorování v rámci sítě ČHMÚ na omezeném počtu stanic (resp. pouze tzv. „lesní fenologie“ volně rostoucích rostlin) poskytují jen nedostatečné množství dat. Při řešení stávajících problémů souvisejících se změnou povětrnostních a tím i klimatických podmínek projevujících se např. v rozdělení srážek je důležité využít databázi historických fenologických pozorování a zároveň obnovit pozorovací síť fenologických stanic na území ČR. Reakce rostlin v kontextu s meteorologickými faktory je jedním ze základních indikátorů pro predikci ekonomických dopadů. Dalším významným argumentem pro revitalizaci fenologických pozorování v ČR je celosvětový trend využívání fenologických dat ve všech oblastech uvedených výše. Absence aktuálních fenologických dat tak omezuje i mezinárodní spolupráci v různých oblastech – zejména pak agrometeorologie a biometeorologie.

LITERATURA

- /1/ Anonymus: Metodický předpis č. 2 „Návod pro činnost fenologických stanic - polní plodiny“. ČHMÚ, Praha, 2009..
- /2/ Coufal L. et al.: Fenologický atlas. Praha, 2004: 263 s.
- /3/ Hájková L. et al.: Atlas fenologických poměrů Česka. ČHMÚ Praha a UP Olomouc, 2012: 311 s.
- /4/ Hájková, L., Kožnarová, V., Sulovská, S., Nekovář, J.: Fenologické charakteristiky vybraných lesních bylin v Česku, ČHMÚ. Praha, 2013: 90 s.
- /5/ Hájková, L., Kožnarová, V., Hnilička, F.: Vyhodnocení vybraných agroklimatických charakteristik ve vegetačním období na území ČR za období 1961–2010. Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2017 (Sborník recenzovaných vědeckých prací) Influence of abiotic and biotic stresses on properties of plants 2017 (Proceedings of scientific articles) Česká zemědělská univerzita v Praze, 2017 ISBN: 978-80-213-2767-2, 2017.: 3–11.
- /6/ Meier U. (ed.): Growth stages of mono- and dicotyledonous plants. BBCH Monograph (2. ed.). Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, Berlin (<https://www.politicheagricole.it/flex/AppData/WebLive/Agrometeo/MIEPFY800/BBCHengl2001.pdf> 25. 6. 2018), 2001.
- /7/ 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*, 115, 1–2, 2011: 87–98.

Poděkování

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

VPLYV ALKALICKEJ A METALICKEJ KONTAMINÁCIE NA PÔDU A VEGETÁCIU V IMISNOM POLI MAGNEZITOVÉHO ZÁVODU

IMPACT OF ALKALINE AND METALLIC CONTAMINATION ON SOIL AND VEGETATION IN THE EMISSION FIELD OF MAGNESIUM FACTORY

Danica Fazekašová, Juraj Fazekaš

Prešovská univerzita v Prešove, Fakulta manažmentu, Katedra environmentálneho manažmentu, Konštantínova 16, 08001 Prešov, danica.fazekasova@unipo.sk

Summary

The studied area Jelšava-Lubeník (Slovakia) is one of the most degraded regions of Slovakia. The free magnesium oxide (MgO) particles have strongly influenced soil, diversity and vegetation cover. Research has shown that the studied areas were mostly strongly alkaline, the Cr, Mn and Mg contents were above the toxicity limit, while the measured Pb and Zn values did not exceed the limits. Heavy metal values, which were measured well above the set limit, indicate contamination, which can be considered harmful and toxic. In the studied plant species *Agrostis stolonifera*, *Elytrigia repens* and *Phragmites australis*, we found above-limit Pb and Zn content and the toxic content of Mg and Mn.

Key words: magnesium, manganese, soil reaction, Phragmites australis, Elytrigia repens, Agrostis stolonifera.

Súhrn

Skúmaná oblasť Jelšava-Lubeník (Slovensko) je jednou z najviac zdevastovaných regiónov Slovenska. Úletové častice voľného oxidu horečnatého (MgO) silne ovplyvnili reakciu pôdy, diverzitu a vegetačnú pokrývku. Výskum ukázal, že skúmané miesta boli väčšinou silne alkalické, obsahy Cr, Mn a Mg boli nad hranicou toxicity, zatiaľ čo namerané hodnoty Pb a Zn neprekročili limity stanovené zákonom. Hodnoty ťažkých kovov, ktoré sme namerali výrazne nad stanoveným limitom, ukazujú kontamináciu, ktorú možno považovať za škodlivú a toxickú. V sledovaných rastlinných druhoch *Agrostis stolonifera*, *Elytrigia repens* a *Phragmites australis* sme zistili nadlimitný obsah Pb a Zn a toxický obsah Mg a Mn.

Kľúčové slová: horčík, mangán, pôdna reakcia, Phragmites australis, Elytrigia repens, Agrostis stolonifera.

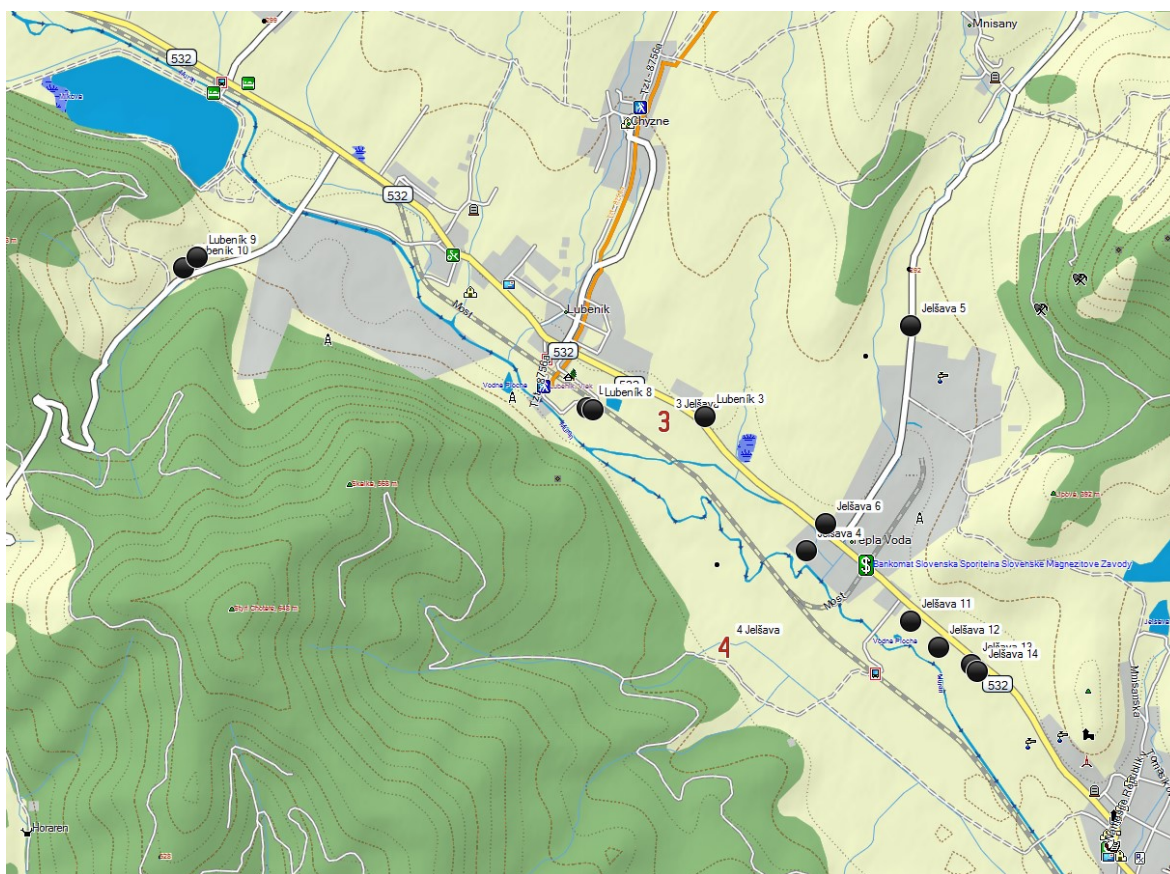
ÚVOD

Oblasť Jelšava – Lubeník, so špecifickými zásaditými imisiami, je jednou z najviac zdevastovaných oblastí Slovenska a s alarmujúcim stupňom poškodenia životného prostredia. Spracovanie magnezitovej suroviny a výroba magnezitových slinkov v Slovenských magnezitových závodoch (SMZ) v Jelšave a Lubeníku sprevádzala enormná emisia prašných častíc MgO do ovzdušia. Podľa environmentálnej regionalizácie Slovenskej republiky [7] sa skúmané územie Jelšava a Lubeník nachádza v Revúckom regióne, ktoré predstavuje územie 2. environmentálnej kvality, t.j. región s mierne narušeným prostredím. V rámci uvedeného regiónu sa skúmané územie nachádza v Jelšavsko-lubenickom okrsku so značne narušeným prostredím.

Cieľom práce bolo zistiť stupeň kontaminácie pôdy a vegetácie v imisnom poli magnezitových závodov Jelšava a Lubeník (Slovensko).

MATERIÁL A METODIKA

Odber pôdných vzoriek bol uskutočnený v roku 2017 v letnom období. Vzorky pôdy boli odobraté z A horizontu (0,15 – 0,20 m) za účelom stanovenia celkového obsahu ťažkých kovov a pôdnej reakcie. Odberové miesta boli situované na trvalých trávnych porastoch (TTP). Celkový obsah ťažkých kovov (Hg, Cd, Pb, Cr, Zn, Cu, Mn, Mg) bol stanovený v akreditovanom laboratóriu metódou AAS (atómová absorpčná spektrometria) a RFS (röntgenfluorescenčná spektrometria) /4/. Pre stanovenie ťažkých kovov v rastlinách boli odobraté nadzemné orgány rastlinných druhov *Phragmites australis*, *Elytrigia repens*, *Agrostis stolonifera*. Vo vzorkách bol stanovený obsah ťažkých kovov Cd, Pb, Zn, Cr, Mn, Mg. Vzorky boli analyzované v akreditovanom laboratóriu metódami AAS (atómová absorpčná spektrometria), RFS (röntgenfluorescenčná spektrometria) podľa metodiky Fialu a kol. /4/. Z chemických vlastností pôdy bolo stanovené výmenné pH/KCl potenciometricky. Lokalizácia odberových miest je uvedená na obrázku 1.



Obr. 1: Lokalizácia odberových miest na území Jelšavy a Lubenika

Kontaminácia pôdy bola vyhodnotená pomocou kontaminačného faktora a stupňa znečistenia podľa Hakansonu /5/:

$$C_f^i = \frac{C_i}{C_n^i},$$

kde C_i je priemerná koncentrácia ťažkých kovov a C_n^i je požadovaná koncentrácia ťažkých kovov pre pôdy Slovenskej republiky /3/.

Stupeň celkovej kontaminácie životného prostredia C_d je definovaný ako súčet všetkých C_f^i :

$$C_d = \sum_{i=1}^n C_f^i,$$

Výsledky kontaminačného faktora C_f^i , stupeň kontaminácie C_d boli hodnotené podľa klasifikácie uvedenej v tabuľke 1.

Tab. 1: Klasifikácia kontaminačného faktora C_f a stupeň kontaminácie C_d podľa Hakansona /5/.

Kontaminačný faktor	Stupeň kontaminácie	Klasifikácia
$C_f < 1$	$C_d < 8$	Nízky
$1 \leq C_f < 3$	$8 \leq C_d < 16$	Mierny
$3 \leq C_f < 6$	$16 \leq C_d < 32$	Značný
$C_f > 6$	$C_d > 32$	Veľmi vysoký

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Spracovanie magnezitovej suroviny a výroba magnezitových slinkov v Slovenských magnezitových závodoch v Jelšave a Lubeníku sprevádzala enormná emisia prašných častíc MgO do ovzdušia, ako aj únik plyných zlúčenín, najmä SO₂ a NO_x. V prašných časticiach sa nachádzajú aj ťažké kovy, najmä Cd, Pb, Zn, Mn, Cr. Naše výskumy ukázali, že v pôdach skúmanej oblasti sa nachádza nadlimitný obsah Cr, Mn a Mg, obsah Cd, Pb a Zn je pod úrovňou toxicity. Obsah chrómu v pôde na skúmanom území bol v rozsahu 83 až 1055 mg.kg⁻¹ (Tabuľka 2). Stredná úroveň chrómu v pôdach Slovenskej republiky je 85 mg.kg⁻¹ v horizonte A /9/.

V sledovanej oblasti sme zistili významnú kontamináciu horčíka pôdou s hodnotami v rozmedzí 7000 až 197000 mg.kg⁻¹, ktorá je v priemere 18 až 493 krát vyššia ako prahový limit. Najvyššie koncentrácie Mg prekročili vysoký obsah tohto prvku 493 krát, čo je porovnateľné s Wangom et al. /11/. Hodnoty obsahu dostupného horčíka sú v hornej vrstve poľnohospodárskej pôdy na Slovensku v rozmedzí 200-400 mg.kg⁻¹Mg, čo predstavuje vysoký obsah tohto prvku v pôde /8/.

Namerané obsahy mangánu vykazujú podobný priebeh a boli zistené obsahy v rozmedzí 220 až 2300 mg.kg⁻¹ (Tabuľka 2). Priemerný obsah mangánu v pôde Slovenskej republiky je v rozpätí od 0,85 do 112,90 mg.kg⁻¹, čo naznačuje významnú priestorovú heterogenitu prvkov, avšak prevláda stredná zásoba tohto prvku v pôde. Kabata-Pendias /6/ uvádza hodnotu 1500 mg.kg⁻¹, pri ktorej sa prejavujú symptómy toxicity mangánu. Výrazne prekročenie Cr, Mn a Mg poukazuje na kontaminovanosť, pri ktorej môžeme rátať so škodlivosťou a toxicitou.

Prachové častice silne ovplyvnili dynamické vlastnosti pôd, najmä pH. Kontinuálna magnezitová krusta pokrýva časť pôdy a ovplyvnila ekologicky dôležité funkcie pôdy čo potvrdzujú vo svojej práci aj Wang et al. /11/. Pôdna reakcia v oblasti Jelšavy a Lubeníka sa pohybovala v rozmedzí 6,50 až 9,15. Rozsah hodnôt pôdnej reakcie naznačuje, že pôda je slabo kyslá až silne alkalická (Tabuľka 5).

Pôdy v oblasti Jelšavy a Lubeníka boli na základe priemerných hodnôt faktora kontaminácie klasifikované ako mierne kontaminované Hg, Cd, Pb, Cr, Zn a Cu. Hodnoty stupňa kontaminácie sa pohybovali od 22,06 (JL 08) do 6,91 (JL 10). Na základe klasifikácie podľa Hakansona /5/ sme v oblasti Jelšavy a Lubeníka zistili nízky stupeň kontaminácie ($C_d < 8$) na mieste odberu JL 10, značný stupeň kontaminácie ($16 \leq C_d < 32$) na mieste odberu JL

08 a na ostatných miestach bol stupeň kontaminácie mierny ($8 \leq C_d < 16$), (Tabuľka 3). Klasifikácia kontaminačného faktora a stupeň kontaminácie sú uvedené v tabuľke 1.

Tab. 2: Namerané hodnoty ťažkých kovov ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v pôde v oblasti Jelšavy a Lubeníka vyjadrené popisnou štatistikou

Parameter	Priemer	Min	Max	Smerodajná odchýlka	Limit*
Hg	0,08	0,04	0,10	0,03	0,50
Cd	0,50	0,50	0,50	0,00	0,70
Pb	32,42	17,00	45,00	8,16	70,00
Cr	231,08	83,00	1055,00	279,49	150,00
Zn	88,33	48,00	108,00	15,17	150,00
Cu	23,08	11,00	44,00	9,40	60,00
Mn	1410,00	220,00	2300,00	607,62	-
Mg	49841,67	7000,00	197000,00	59039,25	-
pH/KCl	7,99	6,50	9,15	0,98	-

*Zákon č. 220/2004

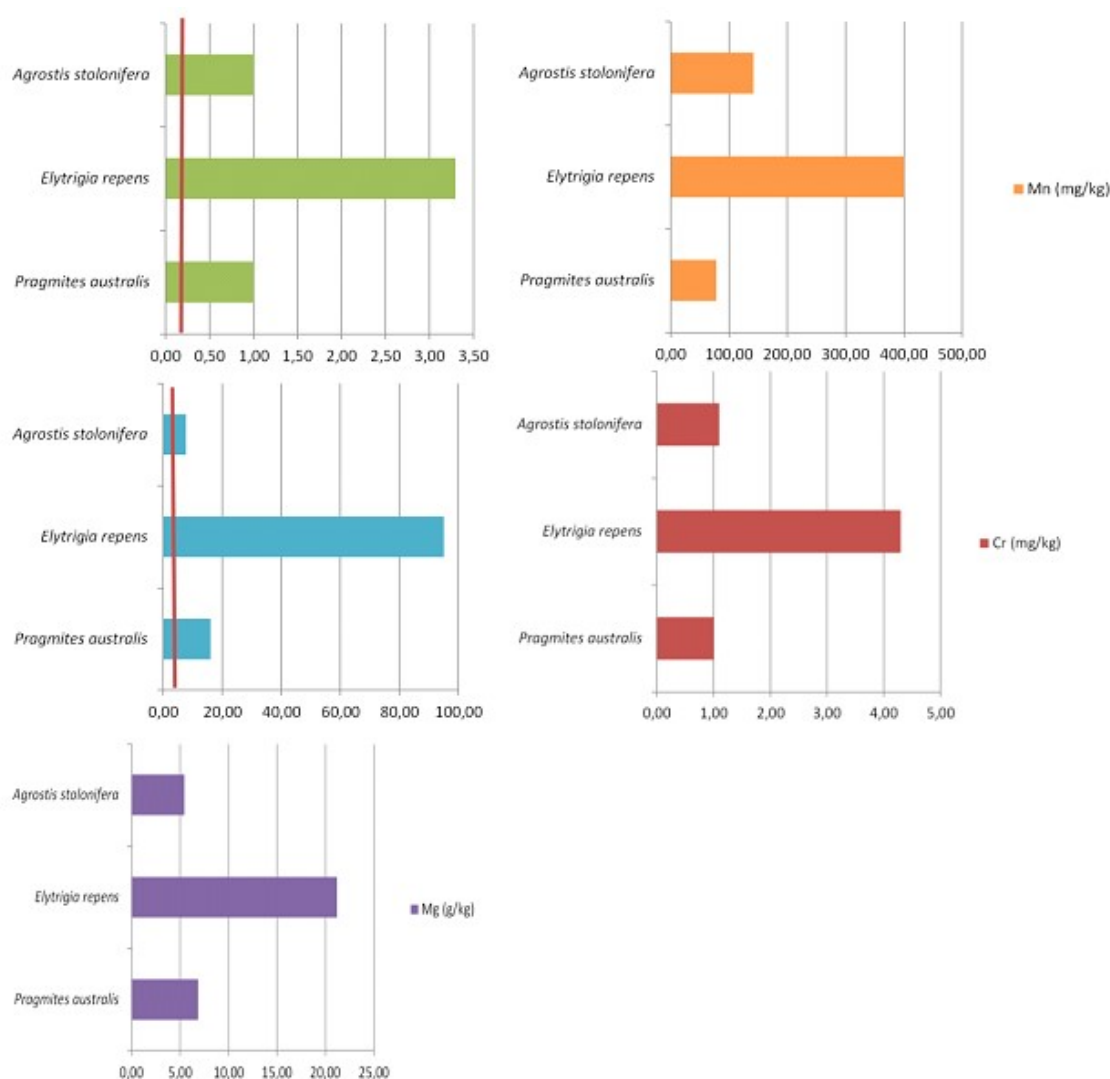
Tab. 3: Kontaminačný faktor C_f^i a stupeň kontaminácie pôdy C_d v oblasti Jelšavy Lubeníka

Miesto odberu	Hg	Cd	Pb	Cr	Zn	Cu	C_d
	C_f^i						
JL 01	2,17	2,00	2,44	1,11	2,31	1,23	11,26
JL 02	1,50	3,00	1,58	1,71	1,33	0,95	10,07
JL 03	0,67	3,00	1,91	1,12	2,31	1,75	10,76
JL 04	1,11	3,00	1,96	1,91	2,12	1,06	11,16
JL 05	0,83	3,00	1,47	2,00	1,09	0,76	9,15
JL 06	1,00	3,00	1,42	2,42	1,26	0,76	9,86
JL 07	0,89	3,00	1,48	5,54	1,96	1,25	14,11
JL 08	0,89	3,00	1,61	12,41	2,40	1,75	22,06
JL 09	0,44	3,00	1,09	1,67	1,96	2,75	10,91
JL 10	0,44	3,00	0,74	0,98	1,07	0,69	6,91
JL 11	1,33	3,00	1,52	1,86	2,07	1,69	11,47
JL 12	1,00	3,00	1,22	1,00	1,96	2,13	10,30
Priemer	1,02	2,92	1,54	2,81	1,82	1,40	11,50

Na siedmich skúmaných lokalitách v oblasti Jelšavy a Lubeníka sme zistili alkalickú až silne alkalickú pôdnu reakciu. To značne ovplyvnilo variabilitu druhov. Na trvalých trávnych porastoch boli prítomné charakteristické voľne rastúce rastliny ako *Elytrigia repens*, *Chenopodium album*, *Equisetum arvense*. Trvalé trávne porasty boli reprezentované druhmi typickými pre mokré a podmáčené miesta, ako sú *Alopecurus pratensis*, *Lychnis flos-cuculi*, *Cirsium rivulare*, *Acetosa pratensis*, *Archangelica officinalis*, *Agrostis stolonifera* a konkurenčne silný druh *Elytrigia repens* a *Phragmites australis*.

Na hodnotenie kontaminácie vegetácie boli vybrané druhy na základe ich významnosti na skúmaných lokalitách. V nadzemných rastlinných orgánoch boli analyzované Pb, Zn, Cr, Mn a Mg. Najvyššia kontaminácia v porovnaní s limitnými hodnotami sa zistila v prípade *Elytrigia repens*, kde obsah zinku prekročil limit 47 krát a obsah olova 33 krát. Nadlimitné hodnoty zinku sa nachádzali aj v sušine *Phragmites australis* (obrázok 2).

Koncentrácia horčíka v testovaných rastlinách vykazovala veľmi vysoký obsah (Obrázok 2). Najvyšší obsah horčíka sme zistili v *Elytrigia repens* ($21\,208\text{ mg.kg}^{-1}$) > *Phragmites australis* ($6\,860\text{ mg.kg}^{-1}$) > *Agrostis stolonifera* ($5\,419\text{ mg.kg}^{-1}$). Vysoká koncentrácia mangánu sa vyskytovala aj v *Elytrigia repens* (400 mg.kg^{-1}) > *Agrostis stolonifera* (142 mg.kg^{-1}) > *Phragmites australis* (78 mg.kg^{-1}). Väčšina rastlín je ovplyvnená obsahom Mn nad 400 mg.kg^{-1} . Akumulácia nad 1000 mg.kg^{-1} bola zistená pre niekoľko ďalších rezistentných druhov. Hyperakumuláčny rastliny (*Phytoacca americana* L.) absorbovali Mn z kontaminovanej zeminy až do $13\,400\text{ mg.kg}^{-1}$ v listoch /6/. Nadmerné množstvo horčíka spôsobuje príznaky toxicity. Rastliny, ktoré dostali $10\,000\text{ mg Mg}^{2+}.\text{kg}^{-1}$, odumreli 20. deň po aplikovaní toxickej dávky a rastliny, ktoré dostali $5\,000\text{ mg Mg}^{2+}.\text{kg}^{-1}$, odumreli na 45. deň /10/.



Obr. 2: Obsah ťažkých kovov v rastlinných druhoch (*Phragmites australis*, *Elytrigia repens*, *Agrostis stolonifera*) v skúmanej oblasti Jelšava a Lubeník

Phragmites australis môže tolerovať mnoho typov biotopov a rastie v oblastiach so širokou ekologickou amplitúdou vrátane mokradí a pôdy. Mnohé štúdie uvádzajú *Phragmites australis* ako jeden z najlepších rastlinných organizmov na detekciu a adsorpciu ťažkých kovov /15/. Často sa využíva na zníženie koncentrácie kovov v pôde, sedimentoch a vodách

/1/. *Phragmites australis* sa používa aj na identifikáciu prítomnosti Cd, Cu, Pb a Zn v ústiach riek, čo naznačuje, že môže byť použitý ako bioindikátor /2/.

LITERATÚRA

- /1/ Bragato, C., Brix, H., Malagoli, M.: Accumulation of nutrients and heavy metals in *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel and *Bolboschoenus maritimus* (L.) Palla in a constructed wetland of the Venice lagoon watershed. *Environ. Pollut.*, 144, 2006: 967-975.
- /2/ Cicero-Fernandes, D., Peña-Fernández, M., Expósito-Camagro, J.A., Antizar-Ladislao, B.: Long term (two annual cycles) phytoremediation of heavy metal-contaminated estuarine sediments by *Phragmites australis*. *New Biotechnology*, 38, 2017: 56-64.
- /3/ Čurlík, J. Šefčík, P.: Geochemický atlas Slovenskej republiky. Bratislava: MŽP SR, 1999, 185 s.
- /4/ Fiala, K., Barančíkova, G., Brečkova, V., Burik, V., Houšková, B., Chomaničova, A., Kobza, J., Litavec, T., Makovníkova, L., Pechova, B., Varadiova, D.: Závazné metódy rozborov pôd. Čiastkový monitorovací systém – pôda. Výskumný ústav pôdozvedectva a ochrany pôdy v Bratislave, Edičné stredisko VÚPOP, 1999, 142 s. ISBN 80-85361-55-8.
- /5/ Hakanson, L.: An Ecological Risk Index for Aquatic Pollution Control: A Sedimentological Approach, *Water Res.*, 14, 1980: 975–1001,
- /6/ Kabata-Pendias, A.: Trace Elements in Soil and Plants. 4th edition. London: CRC Press, 2011.
- /7/ Klinda J., Mičík, T., Némethová, M., Slámková, M.: Environmentálna regionalizácia Slovenskej republiky. Bratislava: MŽP SR, 2016: 134 s.
- /8/ Kobza, J. a kol.: Monitoring a hodnotenie vlastnosti pôd SR a potenciálov ich vývoja. Bratislava: VÚPOP, 2010: 142 s.
- /9/ Šefčík, P.: Distribúcia rizikových prvkov v pôdach Slovenska. *Agriculture*, 52(2), 2006: 57-62.
- /10 Venkatesan, S., Jayaganesh, S.: Characterisation of Magnesium Toxicity, its Influence on Amino Acid Synthesis Pathway and Biochemical Parameters of Tea. *Research Journal of Phytochemistry*, 4, 2010: 67-77.
- /11/ Wang, L., Tai, P., Jia, Ch., Li, X., Li, P., Xiong, X.: Magnesium Contamination in Soil at a Magnesite Mining Region of Liaoning Province, China. *Bull Environ Contam Toxicol*, 95, 2015: 90–96.

Pod'akovanie

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

REAKCIA PESTOVANÝCH OBILNÍN NA STRESOVÉ FAKTORY***THE RESPONSE OF CULTIVATED CEREALS ON STRESS FACTORS***

Eva Candráková

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FAPZ, katedra rastlinnej výroby, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Eca:Candrakova@uniag.sk

Summary

The field experiment with winter wheat and spring barley was carried out in 2014 - 2016. Influence of year, 2 soil cultivation ways (tillage to 0,24 m, disc tillage to 0,12 m) and 3 fertilization variants (control, industrial fertilizers, industrial fertilizers + forecrop harvest remains) on grain yield and quality was investigated. Yield and quality of both cereals were high significantly influenced by year. The best results were achieved in 2014 (grain yield of wheat 7,17 t.ha⁻¹ and barley 6,98 t.ha⁻¹). Wheat also achieved the best qualitative indicators in this year. Variants of fertilization increased grain yield of both cereals high significantly. The prevailing warm and dry weather conditions during spring months did not allow plants to fully utilize nutrients from the fertilizer because their release was slow and insufficient. Minimized soil preparation achieved better results in comparison to conventional technology.

Key words: winter wheat, fertilization, soil cultivation, yield, crude protein

Súhrn

V rokoch 2014 – 2016 sme skúmali vplyv podmienok pestovania, spôsobov obrábania pôdy O1 (orba do 0,24 m), O2 (tanierové náradie do 0,12 m) a variantov hnojenia H1 (kontrola), H2 (priemyselné hnojivá), H3 (priemyselné hnojivá + pozberové zvyšky predplodiny na úrodu a kvalitu zrna pšenice a jačmeňa. Predplodinou pre pšenicu bola d'atelina lúčna a jačmeň bol zasiaty po kukurici na zrno. Úroda a kvalita zrna obidvoch obilnín bola vysokopreukazne ovplyvnená ročníkom. Najlepšie výsledky boli dosiahnuté v roku 2014 s úrodou zrna pšenice 7,17 t.ha⁻¹ a jačmeňa 6,98 t.ha⁻¹. V tomto roku dosiahla pšenica aj najlepšie kvalitatívne ukazovatele (HTZ 52,20 g a obsah bielkovín 13,11 %). Pre jačmeň siaty jarný lepšie vyhovovali podmienky ročníka 2015 (HTZ 48,21 g). Vplyvom variantov hnojenia sa vysokopreukazne zvýšila úroda zrna obidvoch obilnín. Pri obrábaní pôdy prevládol pozitívny vplyv minimalizačného spôsobu prípravy pôdy s použitím iba tanierového náradia nad konvenčnou technológiou.

Kľúčové slová: pšenica, hnojenie, obrábanie pôdy, úroda, bielkoviny

ÚVOD

Obilniny sú najvýznamnejšou skupinou poľných plodín. Na Slovensku sa v rokoch 2014 až 2016 pestovali na ploche 786 – 757 tis. ha (vrátane kukurice na zrno a ostatných obilnín). V roku 2016 zaberali z ornej pôdy 53,8 %. Z pestovaných obilnín bol podiel pšenice asi 48,3 % a jačmeňa 17,7 % /6/.

Množstvo a kvalita úrody zrna závisí od genotypu, prostredia a ich interakcií, pričom sa nedá presne určiť, ktorý z týchto faktorov je najdôležitejší /2, 10, 13/.

K najvýznamnejším faktorom, determinujúcim výšku a kvalitu úrody, patrí hnojenie rastlín /9/.

Veľmi dôležitú úlohu má technologický systém prípravy pôdy. Klasické spôsoby sú nahradzované minimalizačnými a bezorbovými technológiami, ktoré šetria spotrebu pohonných hmôt a zvyšujú výkonnosť strojov a náradí.

Cieľom príspevku je posúdiť vplyv spôsobov obrábania pôdy, hnojenia a faktorov prostredia na úrodu a kvalitu zrna pšenice letnej formy ozimnej a jačmeňa siateho jarného.

MATERIÁL A METÓDY

Poľný polyfaktorový pokus bol založený na Výskumno-experimentálnej báze Fakulty agrobiológie a potravinových zdrojov SPU v Nitre v lokalite Dolná Malanta v nadmorskej výške 170 m. Územie spadá do teplého, veľmi suchého, nížinného klimatického regiónu. Zeminy z orníc sú prachovito-hlinité s objemovou hmotnosťou 1500 - 1680 kg.m⁻³ /14/.

V stabilnom osevnom postupe sa striedajú plodiny: d'atelina lúčna, pšenica letná f. ozimná, hrach siaty, kukurica siata, jačmeň siaty jarný. Pre hodnotenie sme vybrali jačmeň siaty jarný odrodu Kangoo a pšenicu letnú formu ozimnú odrodu Bertold.

Odroda Kangoo (2009) je stredne skorá, vyššieho typu (0,75 m), s dobrou odolnosťou proti poliehaniu. Odroda Bertold je stredne skorá s dobrým zdravotným stavom a potravinárskou kvalitou A.

Pokus bol založený metódou dlhých pásov s kolmo delenými blokmi. Veľkosť pokusnej plochy variantu bola 20 m² (10 x 2) s tromi opakovaniami.

V práci boli skúmané spôsoby obrábania pôdy:

K - konvenčné obrábanie pôdy (orba do hĺbky 0,20 - 0,25 m),

M - minimálne obrábanie pôdy (tanierovanie do hĺbky 0,10 - 0,12 m).

V rámci obrábania pôdy boli tri varianty hnojenia usporiadané náhodne s cieľom eliminovať heterogenitu pôdy:

H1 - kontrola bez hnojenia, H2 - racionálne hnojenie priemyselnými hnojivami,

H2 - racionálne hnojenie priemyselnými hnojivami,

H3 - racionálne hnojenie priemyselnými hnojivami so zapravením rastlinných zvyškov predplodiny.

Termín sejby pšenice: 9.10.2013; 12.10.2014, 18. 10. 2015. Termín zberu pšenice: 26.6.2014, 22. 7. 2015, 20. 7. 2016.

Termín sejby jačmeňa: 6. 3. 2014; 21. 3. 2015; 15. 3. 2016. Termín zberu jačmeňa: 11. 7. 2014; 28. 7. 2015; 29. 7. 2016

Dávky priemyselných hnojív boli určené na základe analyticky zisteného obsahu prístupných živín v pôde, v hĺbke 0,60 m, na plánovanú úrodu zrna pšenice 6 t.ha⁻¹, jačmeňa 5 t.ha⁻¹ a príslušného množstva slamy /3/. Normatív odberu živín pre pšenicu: 25 kg N, 5,7 kg P, 21,0 kg K. Normatív odberu živín pre jačmeň: 24 kg N, 5,0 kg P, 20,0 kg K. Porasty boli ošetrené proti burinám.

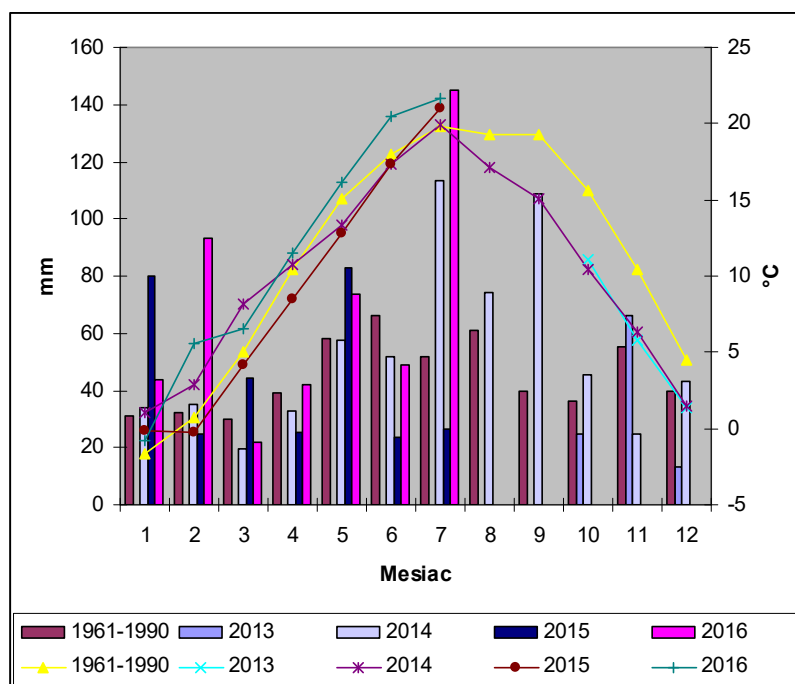
V zrne pšenice a jačmeňa bol stanovený obsah látok na prístroji Amatsek. Získané výsledky boli vyhodnotené štatistickým softwarom Statgraphics Plus. Pre vyhodnotenie významnosti jednotlivých faktorov na sledované parametre bola použitá viacfaktorová analýza rozptylu (ANOVA). Rozdiely medzi variantmi boli posúdené Tukey testom s minimálnou hladinou významnosti α 0.05 a α 0.01.

Cieľom pokusu bolo zistiť vplyv spôsobov obrábania pôdy a variantov hnojenia na úrodu a kvalitu zrna pšenice letnej formy ozimnej a jačmeňa siateho jarného.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Produkčný proces poľných je cieľavedome realizovaný výrobný systém, pri ktorom sa využívajú podmienky vonkajšieho prostredia pri racionálnej a ekologicky únosnej technológii

pestovania cez vyššie produkčné potenciály odrôd s toleranciou voči nepriaznivým a meniacim sa faktorom prostredia /8/.



Graf 1: Teplotné a vlhové podmienky v rokoch 2014 – 2016 a dlhodobý normál 1961 - 1990

Rozhodujúcimi faktormi v produkčnom procese je množstvo vody a teplota v kritických obdobiach rastu. Pri obilninách je to obdobie klíčenia a vzhádzania, aby sa založil kompletný porast, ale oveľa dôležitejším je obdobie kvitnutia a nalievania zŕn, od čoho závisí hmotnosť zŕn.

Zimné obdobie na prelome rokov 2013/2014 sa vyznačovalo teplým až mimoriadne teplým počasím s výnimkou suchého marca. Priebeh poveternostných podmienok dokumentuje Graf 1. Úhrn zrážok za obdobie január – jún zodpovedal dlhodobému normálu, čo sa priaznivo prejavilo na úrode zrna pšenice, ktorá bola z hodnotených ročníkov najvyššia (7,17 t.ha⁻¹). Vysokými hodnotami sa vyznačovala aj HTZ (52,20 g) a vysoký bol aj obsah bielkovín v zrne (13,11 %). Preukazne najnižšia úroda zrna pšenice (5,46 t.ha⁻¹) bola v roku 2015, ktorý sa vyznačoval veľmi teplými a suchými podmienkami v jarných mesiacoch (tab. 1). Zodpovedala tomu aj najnižšia HTZ (48,31 g). Obsah bielkovín v zrne bol oproti roku 2014 nižší o 0,18 %. V roku 2016 boli podmienky podobné, okrem mesiaca máj, ktorý bol teplotne normálny a vlhký. Zrážky prekročili normálne hodnoty o 33,6 %. Oproti roku 2015 sa úroda zvýšila o 0,33 t.ha⁻¹ a HTZ s hodnotou 52,56 g. bola vyššia ako v roku 2014. V zrne s vyššou HTZ, sa znížil obsah bielkovín v zrne na 12,00 %, čo spôsobil veľmi teplý a suchý jún.

Obsah bielkovín, ako aj HTZ, sú vo veľkej miere ovplyvnené prostredím a konkrétnymi podmienkami /4, 7, 16/.

Obilniny vo všeobecnosti patria medzi plodiny, ktoré majú dobré schopnosti využívať na tvorbu úrody agrometeorologické faktory prostredia. Vzhľadom k zložitým vzťahom medzi množstvom vody v rastline a v okolitom prostredí, vrátane pôdy, nie je možné zaviesť jednoduché kritérium, podľa ktorého by bolo možné objektívne hodnotiť ako veľkému stresu z nedostatku vody je rastlina vystavená /12/.

Z výsledkov vyplýva, že ročník pôsobil vysokopreukazne na úrodu zrna pšenice a s tým súvisiacu aj HTZ a kvalitu zrna, ktorá je hodnotená vo forme obsahu bielkovín. Tie majú

výrazný vplyv na ďalšie ukazovatele kvality zrna, ako je lepok, Zelenyho test a pádové číslo, ktoré sú rozhodujúce pre využívanie zrna pšenice na potravinárske účely. Potvrdili sa poznatky, že teplotné a vlhové podmienky v mesiaci máj, sú pre úrodu zrna rozhodujúce.

Tab. 1: Úroda zrna pšenice letnej f. ozimnej, HTZ a obsah bielkovín v rokoch 2014 - 2016

Faktor		Úroda (t.ha ⁻¹)	HTZ (g)	Bielkoviny (%)
Rok	2014	7,17c	52,20b	13,11b
	2015	5,46a	48,31a	12,93b
	2016	5,79b	52,56b	12,00a
Obrábanie	K	6,10a	50,66a	12,73a
	M	6,18a	51,45a	12,63a
Hnojenie	H1	5,01a	51,05ab	12,35a
	H2	6,62b	50,42a	12,84b
	H3	6,79b	51,71b	12,86b

Rok a hnojenie: $P_{0,05}=0,3248$; $P_{0,01}=0,4156$; obrábanie pôdy: $P_{0,05}=0,2195$; $P_{0,01}=0,2961$

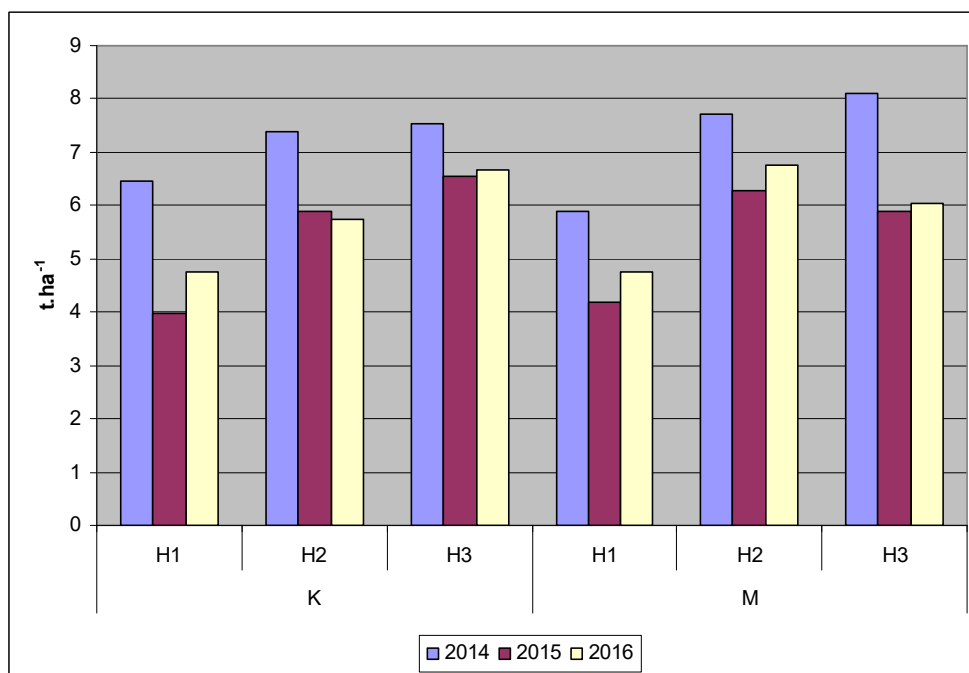
HTZ: rok a hnojenie: $P_{0,05}=1,0136$; $P_{0,01}=1,2970$; obrábanie pôdy: $P_{0,05}=0,6850$; $P_{0,01}=1,9240$

Bielkoviny: rok a hnojenie: $P_{0,05}=0,3222$; $P_{0,01}=0,4123$ obrábanie pôdy: $P_{0,05}=0,2177$; $P_{0,01}=0,2937$

Pre zabezpečenie vysokej a kvalitnej úrody zrna obilnín musia mať rastliny k dispozícii potrebné množstvo živín. Po zbere predplodiny boli z vrstvy pôdy 0 – 0,3 m odobraté vzorky pôdy pre potreby určenia dávok priemyselných hnojív. Obsah prístupného fosforu podľa Mehlicha III bol vyhovujúci až dobrý, obsah draslíka dobrý až vysoký a obsah horčíka dobrý až veľmi vysoký. Pôdna reakcia bola slabo kyslá až neutrálna. Na pšenicu bola použitá regeneračná dávka dusíka vo forme LAV v množstve 30 kg.ha⁻¹ čistých živín vo variantoch H2 a H3. Jačmeň siaty jarný bol prihnojený LAV v dávke 30 kg.ha⁻¹ čistých živín dusíka vo variantoch H2 a H3 na konci odnožovania. Vplyv variantov hnojenia a spôsobov obrábania pôdy na úrodu zrna pšenice letnej znázorňuje Graf 2.

Aplikovanie priemyselných hnojív vo variante H2, spolu s pozberovými zvyškami vo variante H3, pôsobili na úrodu zrna pšenice a na obsah bielkovín vysokopreukazne. Vyššie hodnoty boli na variante H3. Podobne pôsobil variant H3 aj na HTZ, ale najnižšia HTZ (50,42 g) bola vo variante H2 po aplikácii priemyselných hnojív. Bolo to spôsobené menšou využiteľnosťou živín v dôsledku nedostatku vlahy.

Jačmeň siaty jarný má kratšie vegetačné obdobie a citlivejšie reaguje na podmienky pestovania. Pre lepšie porovnanie sme zvolili na hodnotenie rovnaké parametre. Priaznivé teplotné a vlhové podmienky v roku 2014 pôsobili aj na jačmeň pozitívne. Úroda zrna bola v tomto roku preukazne najvyššia (6,98 t.ha⁻¹). Vplyvom teplého júna a júla poklesla HTZ na 42,03 g a bola vysokopreukazne najnižšia v porovnaní s rokmi 2015 (48,21 g) a 2016 (48,15 g). Obsah bielkovín v zrne jačmeňa sa v roku 2014 udržal na priaznivej úrovni (11,08 %). Najvyšší obsah bielkovín v zrne jačmeňa bol v roku 2015, až na úrovni 12,45 %, čím zrno nespĺňalo kritériá na výrobu sladu (Tab. 2). Priaznivejší obsah bielkovín v zrne jačmeňa bol v roku 2016 (11,20 %) aj keď mierne prevýšil požiadavky podľa STN (11,00 %).



Graf 2: Úroda zrna pšenice letnej f. ozimnej v rokoch 2014 – 2016 podľa variantov hnojenia (H, H2, H3) a spôsobov obrábania pôdy (O1, O2)

Tab. 2: Úroda zrna jačmeňa siateho jarného, HTZ a obsah bielkovín v rokoch 2014 – 2016

Faktor		Úroda (t.ha ⁻¹)	HTZ (g)	Bielkoviny (%)
Rok	2014	6,98b	42,03a	11,08a
	2015	4,26a	48,21b	12,45b
	2016	4,06a	48,15b	11,20a
Obrábanie	K	4,48a	46,28a	11,63a
	M	5,06b	45,98a	11,52a
Hnojenie	H1	4,47a	46,42a	11,48a
	H2	4,84b	46,00a	11,43a
	H3	5,00b	45,97a	11,81a

Úroda: rok a hnojenie: $P 0,05=0,2572$; $P 0,01=0,3292$ obrábanie pôdy: $P 0,05=0,1738$; $P 0,01=0,2345$; HTZ: rok a hnojenie: $P 0,05=1,3566$; $P 0,01=1,7359$; obrábanie pôdy: $P 0,05=0,9167$; $P 0,01=1,2367$; Bielkoviny: rok a hnojenie: $P 0,05=0,3441$; $P 0,01=0,4403$ obrábanie pôdy: $P 0,05=0,2325$; $P 0,01=0,3441$

Vysokopreukazné rozdiely, v dôsledku použitých variantov hnojenia v hodnotenom období, vznikli pri úrode zrna. Najvyššia úroda zrna jačmeňa bola vo variante H3 (5,00 t.ha⁻¹) a vo variante H2 (4,84 t.ha⁻¹). Dusík sa z pozberových zvyškov bôbových uvoľňuje postupne a k dispozícii je v období tvorby zrna /5/. Predplodinou pšenice bola ďatelina lúčna. Preukazne najnižšia úroda zrna bola na nehnojenom variante (4,47 t.ha⁻¹).

Na hodnotách HTZ a obsahu bielkovín sa varianty hnojenia neprejavili. Priemyselné hnojivá boli aplikované v pevnej forme a prevládajúce teplé a suché počasie, v skúmaných ročníkoch počas jarných mesiacov, neumožnilo efektívne využitie živín rastlinami (tab. 2).

Pri pestovaní poľných plodín je dôležitá aj kvalitná príprava pôdy. V súčasnosti sa pri pestovaní obilnín uprednostňuje minimalizačný spôsob obrábania pôdy, hlavne z dôvodu šetrenia finančných nákladov. Racionalizáciu dodatkových vkladov do výrobného procesu v súvislosti s obrábaním pôdy uvádzajú aj /9, 15/. Nami zvolené a porovnávané dva spôsoby

obrábania pôdy, konvenčný s orbou a minimalizačný bez orby, sa na skúmaných výsledkoch pšenice neprejavili. Rozdiely v úrode zrna, HTZ a v obsahu bielkovín v zrne boli štatisticky nepreukazné. Mierne vyššia úroda zrna ($6,18 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$) bola zistená po minimalizačnom obrábaní pôdy v porovnaní s konvenčným spôsobom ($6,10 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$).

Pri jačmeni siatom jarnom vznikol štatisticky preukazný rozdiel v úrode zrna medzi spôsobmi obrábania pôdy v prospech minimalizačnej prípravy ($5,06 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$) s rozdielom $+0,58 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ oproti konvenčnej. Podobné výsledky po tanierovaní zistili aj autori /1, 11/. Na hmotnosti tisíc zrn ani na obsahu bielkovín sa spôsob obrábania pôdy neprejavil.

Tab. 3: Smerodajné odchýlky vo vybratých faktoroch obilnín

Ukazovateľ	Pšenica letná f. ozimná			Jačmeň siaty jarný		
	Rok	Obrábanie pôdy	Variety hnojenia	Rok	Obrábanie pôdy	Variety hnojenia
Úroda ($\text{t}\cdot\text{ha}^{-1}$)	$\pm 2,32$	$\pm 1,28$	$\pm 2,32$	$\pm 1,72$	$\pm 1,88$	$\pm 1,23$
HTZ (g)	$\pm 24,71$	$\pm 24,96$	$\pm 24,71$	$\pm 22,33$	$\pm 7,01$	$\pm 22,33$
Bielkoviny (%)	$\pm 5,42$	$\pm 5,65$	$\pm 5,42$	$\pm 4,88$	$\pm 5,11$	$\pm 4,88$

Zo smerodajných odchýlok vyplýva, že na podmienky ročníka a varianty hnojenia výraznejšie reagovala úrodou zrna pšenica letná f. ozimná ako jačmeň siaty jarný. V porovnaní s jačmeňom siatym jarným, väčšia smerodajná odchýlka bola pri pšenici v obsahu bielkovín v závislosti od podmienok ročníka. Jačmeň siaty jarný najmenej reagoval na spôsoby obrábania pôdy pri HTZ (Tab. 3).

LITERATÚRA

- /1/ Candráková, E., Hanáčková, E., Žembery, J., Illéš, L., Ondrišík, P., Urminská, J.: Pestovanie poľných plodín vo vyváženom osevnom postupe. Vedecká monografia. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2015: 145 s.
- /2/ Carson, G. R., Edwards, N. M.: Criteria of wheat and flour quality. In: Khan, K. – Shewrz, P. R. (Eds.), Wheat: Chemistry and Technology, fourth ed. AACCI International, Inc, St. Paul, MN, USA, 2009: 97-118.
- /3/ Fecenko, J., Ložek, O.: Výživa a hnojenie poľných plodín. Nitra : SPU a Duslo, a.s., Šala, 2000: 442 s, ISBN 80-7137-777-5.
- /4/ Hanáčková, E., Candráková, E.: Možnosti uplatnenia pestovateľských systémov jačmeňa siateho jarného v udržateľnom poľnohospodárstve. 1. vyd. Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2013: 119 s. ISBN 978-80-552-1133-6
- /5/ Hřivna, L.: Výživa a hnojení porostů pšenice ozimé a kvalita produkce. Družstvo vlastníku odrůd : Šlechtitelské listy, Podzim 2012. Dostupné z: http://www.druvod.cz/files/aktuality/vyziva_a_hnojeni_porostu_psenice_ozime_a_kvalita_produkce.pdf, 2012
- /6/ Jamborová, M.: Obilniny. Situačná a výhľadová správa k 31. 12. 2015. NPPC-VÚEPP, 2016
- /7/ Kong, L., Si, J., Zhang, B., Feng, B., Li, S., Wang, F.: Environmental modification of winter wheat grain protein accumulation and associated processing quality a case study of China. Aust. J. Crop Sci. 7, 2013: 173-181.
- /8/ Kostrej, A. et al.: Ekofyziológia produkčného procesu porastu a plodín. SPU v Nitre. 1998: 187 s. ISBN 80-7137-528-4
- /9/ Kováč, K., Macák, M.: The influence of forecrop, cultivation intensity of wetter condition on the yield of winter wheat and yield components. Scienta Agriculture Bohemica, 1, 2004: 12-20.
- /10/ Muchová, Z. 2001. Faktory ovplyvňujúce technologickú kvalitu pšenice a jej potravinárske využitie. Nitra, SPU, 2001, 112 s. ISBN 80-7137-923-9
- /11/ Ňaršanská, M., Galuščáková, E., Ondrišík, P., Porhajašová, J., Urminská, J.: Analýza vplyvu pestovateľských zásahov na zmeny anorganického dusíka v pôde pri pestovaní jačmeňa siateho f. jarnej (*Hordeum vulgare*). In *Agrochémia*, roč. XIII. (49), č. 1/2009, 2009: 11-15.
- /12/ Procházka, S. et al.: Fyziologie rostlin. Praha : Academia, 1998: 484 s.
- /13/ Smith, G. P., Gooding: Models of wheat grain quality considering climate, cultivar and nitrogen effects. in: Agr. For. Meteorol. 94, 1999: 159-170.

- /14/ Tobiášová, E., Šimanský, V.: Kvantifikácia pôdnych vlastností a ich vzájomných vzťahov ovplyvnených antropickou činnosťou. 1. vydanie. Nitra: SPU., 2009: 114. ISBN 978-80-552-0196-2
- /15/ Vavera, R.: Ovlivnění kvalitativních parametrů zrna ozimé pšenice. In *Agrotechnika*, 13, 7, 2007: 12- 14.
- /16/ Yong, Z., Zhonghu, H., YE, G., Aimin, Z., Van Ginkel, M.: Effect of environment and genotype on breadmaking quality of spring.sown spring wheat cultivars in China. *Euphytica* , 139, 2004: 75-83

Pod'akovanie

Práca vznikla za finančnej podpory projektu VEGA: 1/0359/14 Racionalizácia pestovateľských systémov hlavných druhov poľných plodín vo vzťahu k výslednej produkcii a jej kvalite. Doba riešenia: 01/2014-12/ 2016.

VÝROBA KVALITNÍ PÍCE V PODMÍNKÁCH SUCHA. JAKÉ MÁME MOŽNOSTI?

PRODUCTION OF HIGH QUALITY FORAGE IN DRY CONDITIONS. WHAT ARE OUR OPTIONS?

Jaroslav Lang

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

Summary

The work was focused on the yield and quality of forage crops on arable land in dry condition. Meta-analysis of these data was performed in this paper. It was found, that for dry conditions alfalfa and alfalfa-grass mixtures are the best. Grasses have high demand for water, but there are some species, like Felina hybrid and orchardgrass, that require less water and are suitable for mixtures for dry conditions. Alone grasses, red clover and clover-grass mixtures are not suitable for dry conditions. Maize tolerates the short term droughts, but long-term droughts decrease yield and forage quality.

Key words: drought, alfalfa, red clover, orchardgrass, Felina, yield, forage quality

Souhrn

V článku byla provedena metaanalýza dat se zaměřením na produkci pícnin na orné půdě v podmínkách sucha. Bylo zjištěno, že do takových podmínek je vhodná vojtěška a vojtěškotravní směsi. Samotné trávy, jetel luční a jetelotravní směsi jsou do podmínek sucha nevhodné. Travní komponent do směsí je potřeba volit velmi opatrně s ohledem na vyšší potřebu vody. Vhodné travní druhy do směsí jsou hybrid Felina a pozdní odrůdy srhy laločnaté. Silážní kukuřice snáší střednědobé přísušky, dlouhodobé sucho snižuje výnosy a kvalitu krmiva.

Klíčová slova: sucho, vojtěška, jetel, srha, Felina, výnos, kvalita píce

ÚVOD

Základem krmné dávky býložravých hospodářských zvířat jsou jadrná a objemná krmiva. Mezi jadrná krmiva patří například obiloviny, luštěniny olejninu a vyznačují se vysokou koncentrací energie na jednotku sušiny. Mezi objemná krmiva patří jeteloviny a trávy, buď v čerstvém, nebo konzervovaném stavu. Objemná krmiva jsou zdrojem mnoha živin využitelných přímo skotem a zajišťují především proces správného přezvykání mechanickým drážděním stébel v bachoru. Vyznačují se nižším obsahem energie v jednotce sušiny a jsou důležité pro svůj obsah stravitelné (celulóza, hemicelulóza) i nestravitelné vlákniny (ligninu). Pro přežvýkavce i pro býložravá monogastrická zvířata představuje vláknina významný zdroj energie, protože početné mikroorganismy, které se u nich nacházejí v předžaludku nebo ve slepém a tlustém střevě, dokáží složky vlákniny účinně štěpit. Ustálená rovnováha mikroorganismů je důležitá pro správnou činnost trávícího traktu a nedostatek objemných pícnin v krmných dávkách vede k fyziologickým poruchám a k onemocnění zvířat. U mladých pícních porostů obvykle převažuje stravitelná vláknina (důležitá je hemicelulóza, která je prekurzorem mléčného tuku a ovlivňuje kvalitu mléka), se stárnutím rostlin se poměr mění ve prospěch vlákniny nestravitelné. Zvláštní postavení má silážní kukuřice, která je ceněna pro svoji vysokou energetickou hodnotu, obsah vlákniny a

pro vysoké hektarové výnosy. Kukuřičná siláž nemůže nahradit klasickou objemnou píceňinu s vysokým obsahem vlákniny, protože obsahuje vysoké množství rychle degradovatelného škrobu, který u přežvýkavců, ve vyšších dávkách, vyvolává acidózy. Zatímco s výrobou jaderných krmiv v suchých letech, nebo v letních přísuších nebývá velký problém, s výrobou objemných krmiv je situace horší. Píční trávy a jetele jsou náročné na přísun vody a při jejím nedostatku se podstatným způsobem snižuje výnos hmoty. Rostliny dříve stárnou a sklizená píče bývá vlivem nárůstu nestravitelné vlákniny a poklesu nutričních látek (cukry, dusíkaté látky) nekvalitní /4/. V suchých letech klesají výnosy a kvalita i u vojtěšky seté /2/, která se běžně používá do suchých oblastí. Při výrobě objemné píče se s výhodou používají jetelovinotravní směsi, které usnadňují procesy konzervace a jsou pro zvířata zdrojem jak dusíkatých látek z jetelovin, tak zdrojem cukrů z trav. Směsi jsou při teplotních a vláhových výkyvech stabilnější tím, že travní komponent zajistí výnos v chladnějších obdobích zejména na jaře a vojtěška zajistí výnos v teplých obdobích většinou s nedostatkem vody, kdy dochází k utlumení růstu píčních trav /3/. Také snižují riziko nízkých výnosů tím, že jsou troj až čtyřsečné a případný nízký výnos u nosné první sklizně, může být doplněn ze sklizní následných, což není možné u plodin jednosečných.

MATERIÁL A METODA

V této publikaci je provedena metaanalýza dat z vědeckých článků zabývajících se produkcí a kvalitou jednoletých a víceletých pícnin pěstovaných na orné půdě v podmínkách sucha na lokalitě Troubsko. Lokalita Troubsko patří do řepařské výrobní oblasti, s nadmořskou výškou 270 m, průměrnou roční teplotou 8,6 °C, ve vegetaci (duben – září) 14,8 °C. Roční suma srážek činí 547 mm, ve vegetaci 346 mm. Teplotní a srážkové hodnocení bylo provedeno podle doporučení WMO pro popis klimatologických podmínek /5/.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Článek publikovaný v roce 2011 se zabývá výnosem a kvalitou dvou travních hybridů Felina (festucoidní hybrid) a Perseus (loloidní hybrid), pěstovaných na orné půdě, ve dvou systémech aplikace a třemi úrovněmi dávek dusíkatých hnojiv. Přestože se článek přímo nezabývá výnosy hybridů v návaznosti na agroekologické podmínky, lze po doplnění klimatického hodnocení lokality zjistit reakce hybridů ve výnosech na sucho. Výnos sušiny, vypočtený jako průměr pokusných variant bez ohledu na systémy hnojení a dávky dusíku (rozdíly v systému hnojení a v dávkách dusíku mezi hybridy nebyly statisticky průkazné) v 1. užitkovém roce (2008) byl u hybridu Felina 12,84 t.ha⁻¹, u hybridu Perseus 12,26 t.ha⁻¹. Ve výnosech mezi hybridy nebyl zjištěn statistický rozdíl.

Tento půlrok byl ve vegetaci (duben – září) hodnocený jako silně teplý a srážkově normální v téměř všech hodnocených měsících, s výjimkou dubna, který byl silně vlhký. Oba hybridy byly v tomto roce nadprůměrně výnosné a z výsledků je patrné, že vyšší teplota s dostatkem hlavně jarních srážek oběma hybridům svědčí. Ve druhém užitkovém roce (2009) výnos u obou hybridů výrazně klesl, u hybridu Felina byl 7,03 t.ha⁻¹ a u hybridu Perseus 4,48 t.ha⁻¹. Rozdíl ve výnosech hybridů je průkazný.

Tento vegetační půlrok byl hodnocen jako mimořádně teplý a srážkově normální. Jestliže se ale zaměříme na hodnocení jednotlivých měsíců, zjistíme, že měsíc duben byl mimořádně teplý a mimořádně suchý, napršelo 11 % srážkového normálu. Špatné podmínky na začátku vegetace se odrazily v nízkém výnosu v první sklizni. Další měsíce byly teplotně i srážkově mírně nadprůměrné a druhá sklizeň ve výšce výnosu nahradila sklizeň první. V měsících srpnu a září spadlo zhruba 40 % srážkového normálu, což se opět za spolupůsobení teplot odrazilo ve špatném výnosu třetí sklizně. Podobné závěry lze vyčíst i z druhého cyklu pokusu sklizeného v letech 2009 a 2010, zejména z prvního užitkového roku 2009 /6/ neboť rok 2010 byl ve vegetaci silně vlhký.

Z těchto závěrů vyplývá, že festucoidní hybrid je do suchých poloh vhodnější, protože se dokáže lépe vyrovnat s nedostatkem vody než hybrid loloidní. Tyto závěry podporují doporučení šlechtitelské firmy, že hybrid Felina je vhodný do sušších a teplých poloh /1/. Jiná práce z této lokality se zabývá zkoušením srhy laločnaté a je také zaměřena na výnosy v podmínkách sucha. Jako kontrola byl zvolen hybrid Felina.

Pokusy byly založeny v roce 2011 a zkoušené trávy byly pěstovány samostatně a ve směsích s vojtěškou nebo jetelem. Rok 2012 byl prvním rokem sklizňovým. Jarní měsíce v tomto roce byly mimořádně až silně suché, letní měsíce teplé, až silně teplé. Průběh počasí ovlivnil výnos a z výsledků vyplývá, že je vhodné v takových klimatických podmínkách pěstovat buď samostatnou vojtěšku s celkovým výnosem $9,33 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ nebo vojtěškotravní směsi s výnosem $8,19 - 9,33 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$. Jetel luční dal výnos $3,44 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$, směsi jetele s travami $3,55 - 4,72 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$. Srha laločnatá poskytla výnos $1,25 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ a hybrid Felina $1,11 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$.

Ze závěru je jasné, že samostatné trávy, jetel luční a jeho směsi s travami nejsou do suchých podmínek vhodné, protože mají nízký hospodářský výnos. Pro srovnání jsou zde uvedeny výnosy vojtěšky a vojtěškotravních směsí se stejného pokusu z roku 2013, který byl teplotně normální, a s výjimkou mimořádně suchého července byly vegetační měsíce vlhké.

Celkový výnos vojtěšky byl $18,60 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$, výnos vojtěškotravních směsí byl v průměru $17 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$. Výnos jetele byl $8,59 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$, výnos jetelotravních směsí v různém zastoupení komponent se pohyboval od $7,95 - 9,11 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$. To jsou běžné výnosy v normálních letech, ale zařazením jetelotravních směsí do osevních postupů nelze riskovat nízké výnosy v letech suchých /9/.

O rapidním snížení výnosů sortimentu jetelů lučních v suchém roce 2012 podrobně podávají zprávu i jiní autoři ve své práci z výsledků pokusů na troubské lokalitě /13/. Další výsledky z výše uvedeného pokusu, které hodnotí konkurenceschopnost trav a zastoupení jednotlivých komponent ve směsích s vojtěškou nebo jetelem v návaznosti na sucho uvádí, že srha laločnatá je, podobně jako hybrid Felina, vhodná do vojtěškotravních směsí v suchých lokalitách /7/.

Z jiné publikace, která se zabývá hodnocením vytrvalostí směsí a jednotlivých komponent v tomto pokusu je patrné, že jetel luční, vlivem nedostatku vody, z porostu mizí a do směsí s travami do suchých lokalit nepatří. Vojtěškotravy v suchých oblastech, pokud nejsou pravidelně přihnojovány základními živinami (NPK), je vhodné je pěstovat na jednom stanovišti maximálně po tři užitkové roky. Potom dochází k zaplevelení a úbytku na výnosech /10/. Další výsledky tohoto pokusu doplňují nevhodnost jetelotravních směsí do suchých oblastí na základě kvality sklizené píce. Jetel luční, vlivem nedostatku vody dříve stárne a nevhodně zvyšuje podíl vlákniny ve sklizené píci. Ten může navíc zvyšovat i hybrid Felina svým přirozeně zvýšeným obsahem vlákniny.

Zhoršená kvalita píce se projevila na parametru NEL (netto energie laktace) [$\text{MJ}\cdot\text{kg}^{-1}$], kdy došlo k průkaznému snížení obsahu energie u jetelotravních směsí /11/. Na rozdílné klimatické podmínky svými výnosy a kvalitou píce zásadním způsobem reagují i hybridy silážních kukuřic. Z prvních výsledků z pokusů v roce 2012 na lokalitě Troubsko, kde bylo hodnoceno 22 hybridů kukuřic, je vidět propad ve výnosech. Autoři uvádějí, že se jedná, vlivem mimořádně až silně suchých a teplých jarních měsíců, o nejnižší výnosy za posledních deset let. Průměrný výnos řezanky všech hybridů byl $13,21 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ při jednotné sušině $\pm 32 \%$. Srážkově normální (ale silně teplé) letní měsíce již nedokázaly vyrovnat způsobené ztráty v produkci nadzemní biomasy.

Identické pokusy byly založeny na lokalitě Praha – Uhřetěves s normálním srážkovým úhrnem a s teplým průběhem jarních i letních měsíců. Průměrný výnos řezanky všech hybridů byl $25,66 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ při uvedené sušině. Kvalita řezanky v důležitých parametrech (obsah cukrů, škrobu a stravitelnost neutrálně detergentní vlákniny) je na troubské lokalitě horší než v Praze, což se prakticky projeví u dojnic na produkci mléka. Při příjmu 10 kg sušiny takového

řezanky dojde k poklesu produkce mléka o 1 l /8/. V jiném zdroji autoři uvádějí, že na lokalitě v Praze – Uhřetěvesi jsou výnosy rekordní a je patrné, že mírně nadnormální teploty s dostatkem srážek kukuřici svědčí.

Rok 2013 byl na lokalitě Troubsko ve srovnání s rokem 2012 srážkově i teplotně vyrovnanější, kromě měsíce července, který byl silně teplý a mimořádně suchý. S tímto výkyvem se dokázaly hybridy vyrovnat a průměrné výnosy byly na obou lokalitách srovnatelné na úrovni 19 t.ha⁻¹ sušiny i přesto, že na lokalitě Praha spadlo od května do srpna o 124,6 mm více dešťových srážek než na lokalitě Troubsko /12/.

V roce 2014 měl průběh počasí na troubské lokalitě velmi kolísavý charakter a výnosy jednotlivých hybridů se od sebe výrazně lišily. Výnosy sušiny se pohybovaly v intervalu od 17,1 do 23,0 t.ha⁻¹. Úspěch ve výnosu silážních kukuřic v nevyrovnaných klimatických podmínkách závisí na dobré volbě hybridu. Vzhledem ke značnému množství měnících se hybridů na trhu s osivy je pěstitel odkázán na znalost a doporučení osivářů, popřípadě na své zkušenosti.

ZÁVĚR

Objemné pícniny jsou nezastupitelné ve výživě skotu, protože výrazným způsobem ovlivňují proces trávení a kvalitu mléka. Sucho ale výrobu kvalitní objemné píce komplikuje, protože ne každá jetelovina a pícní tráva snáší nepříznivé podmínky. Do suchých oblastí je vhodná z bílkovinných pícnin vojtěška. Samotná se ale těžko senážuje, protože obsahuje vysoké množství dusíkatých látek, které proces konzervace brzdí. Navíc po pokosení pomalu zavadá a dochází ke ztrátám živin prodýcháním. Proto je vhodné přidat do porostu vojtěšky travní komponent. Pícní trávy jsou náročné na přísun vody, ale přesto se v nabídce osivářských firem najdou druhy, které jsou schopny se lépe vyrovnávat s nedostatkem vody. Jedná se například o kostřavovitý hybrid Felina, nebo o srhu laločnatou. Srha je ranějšího charakteru a proto je potřeba do směsi s vojtěškou využít pozdní odrůdy, aby se fáze optimální pro sklizeň obou komponent setkaly v jednom čase a dosáhlo se kvalitní píce. V suchých obdobích má vojtěška na travu synergický účinek projevující se tak, že hustý porost vojtěšky zadržuje vyšší vlhkost, čehož dokáže využít travní komponent a dosahuje vyšších výnosů, než samostatně rostoucí. Výnosy vojtěškotravních směsí jsou v období sucha nižší, stále však hospodářsky významné. Jetel, ani jetelotravní směsi do sucha nepatří, protože nedávají dobré výnosy a jetel vlivem sucha z porostu rychle mizí. Víceleté pícniny na orné půdě jsou vícesečné, což může zvyšovat ekonomické náklady na sklizeň, ale zároveň mohou snížit riziko nízkého výnosu jako je tomu u jednosečných pícnin, kam patří například silážní kukuřice. Ta poměrně dobře snáší přísušky a do suchých oblastí může být vhodná. Je citlivá na dlouhodobější nedostatek vody hlavně v období dlouhivého růstu do kvetení lat. Vhodnost je dána výběrem správného hybridu, protože ne každý hybrid poskytne v suchých podmínkách dobrý výnos a kvalitní krmivo. Kukuřice je důležitou energetickou složkou krmných dávek, ale nemůže nahradit klasické objemné pícniny s dostatkem obsahu vlákniny.

LITERATURA

- /1/ DLF Hladké Žitovice: Naše odrůdy [on-line] 2013. [cit. 2013-09-05].
Dostupné z: <http://www.dlf.cz/upload/fl_-_felina.pdf>
- /2/ Hakl, J., Fuksa, P., Konečná, J., Páček, L., Tlustoš, P.: Effect of applied cultivation technology and environmental conditions on lucerne farm yield in the Central Europe. *Plant, Soil and Environment* Vol. 60, 2014, No. 10: 475–480. ISSN 1214-1178.
- /3/ Houdek, I.: Jak nejlevněji vyrobit kvalitní píci pro dojnice ke konzervaci. *Náš chov* 3, 2009, str. 54, 55. Praha: ProfiPress, 2009.
- /4/ Kohoutek A., Komárek P., Nerušil P., Odstrčilová V., Němcová P.: Kvalita píce trav, jetelovin a jetelovino-travních směsí z obnovených TTP v letech 2009–2010. In: *Kvalita píce z travních porostů a*

- chov skotu. Sborník z celostátní vědecké konference, s. 37-50. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha 6-Ruzyně, Výzkumná stanice Jevíčko 2010. ISBN: 978-80-7427-043-7.
- /5/ Kožnarová, V., Klabzuba, J.: Doporučení WMO pro popis meteorologických, resp. Klimatologických podmínek definovaného období. Rostlinná výroba 2002: roč. 48, č. 4, s. 190 – 192.
- /6/ Lang, J., Novosádová I.: A comparison of different nitrogen application systems for intergenetic grass hybrids with regard to forage production and quality. In: sborník 15th Conference on Environment and Mineral Processing & Exhibition. VSB – Technical University of Ostrava, 8.6. 2011.
- /7/ Lang, J.: Srha laločnatá v jetelovinotravních směsích. Úroda 12, 2013 vědecká příloha, s. 86-91. ISSN 0139-6013
- /8/ Lang, J., Jambor, V., Vosynková, B., Nedělník, J., Loučka, R., Třináctý, J., Kučera J., Tyrolová, Y.: Hodnocení výnosů a kvality silážních hybridů kukuřice. Zpravodaj Svazu chovatelů českého strakatého skotu 1/2013, s. 10-13. ISSN: 1214-8016.
- /9/ Lang, J.: Výnosy jetelovinotravních směsí pěstovaných na orné půdě ve srážkově rozdílných letech. Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin. Sborník mezinárodní konference pořádané Ústavem ekologie lesa Slovenskej akadémie vied, Zvolen, 10-11.9.2014, ISBN 978-800-89408-17-7
- /10/ Lang, J.: Vytrvalost jetelovinotravních směsí na orné půdě v teplotně a srážkově nevyrovnaných podmínkách Jižní Moravy. Úroda 12-2015, vědecká příloha, s. 93-98. ISSN 0139-6013.
- /11/ Lang, J.: Kvalita píce jetelovinotravních směsí na orné půdě ve srážkově rozdílných letech. In: Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2015. Praha, 16-17.9.2015, ISBN 978-80-813-2567-8. s. 258-261.
- /12/ Nedělník, J., Lang, J., Jambor, V., Tyrolová, Y., Třináctý, J., Kučera J.: Hybridy kukuřice a kvalita siláže. Agromanuál 11-12, s. 45-52. ISSN 1801-7673
- /13/ Pelikán, J., Knotová, D., Raab, S.: Výnosy zelené hmoty a sena českých a slovenských odrůd diploidního jetele lučního. Úroda 12, 2013 vědecká příloha. Praha 2013. s. 174-177. ISSN 0139-6013.

Poděkování

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1718.

Přednášky

**ŤAŽKÉ KOVY V PŘÍHLAVE DVOJDOMEJ (*URTICA DIOICA*) A
NETÝKAVKE MALOKVETEJ (*IMPATIENS PARVIFLORA*)
Z LOKALÍT V MALÝCH KARPATÁCH ZAŤAŽENÝCH STAROU
BANSKOU ČINNOSTÍ**

***HEAVY METALS IN COMMON NETTLE (*URTICA DIOICA*) AND SMALL BALSAM
(*IMPATIENS PARVIFLORA*) FROM LOCATIONS IN MALÉ KARPATY MOUNTAINS
LOADED WITH MINING ACTIVITY***

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 krajinnej ekológie, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava 4, Slovenská republika, lehotska@fns.uniba.sk

Summary

Due to the extensive mining activity in the Malé Karpaty Mts., there are old mining sites near Pernek and Pezinok, where antimony was mined in the past. Also higher content of arsenic and lead in the geological base were observed and could represent environmental hazard for biota. In this work, we studied the presence of toxic (As, Cd, Pb and Sb) and essential (Cu and Zn) metals in common nettle (*Urtica dioica*), small balsam (*Impatiens parviflora*), and respectively Indian balsam (*I. glandulifera*). These plants we harvested on the upper and lower streams of the streams of Trniansky, Stoličný and Gidra. For the increased concentrations of arsenic, antimony and lead measured in the nettle leaves, it is not appropriate to collect this plant in the Gidra basin and upper Trniansky stream for consumption or its use in traditional medicine.

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

Súhrn

V dôsledku rozsiahlej banskej činnosti v Malých Karpatoch sa v okolí Perneku a Pezinku nachádzajú staré banské diela, v ktorých sa v minulosti ťažil antimón. Tiež sa v geologickom podloží nachádza zvýšený obsah arzénu a olova a môžu predstavovať environmentálne riziko pre biotu. V práci sme študovali prítomnosť toxických (As, Cd, Pb a Sb) a esenciálnych (Cu a Zn) prvkov v príhlave dvojdomej (*Urtica dioica*), netýkavke malokvetej (*Impatiens parviflora*), resp. netýkavke žliazkatej (*I. glandulifera*). Tieto rastliny sme zbierali na hornom a dolnom toku potokov Trniansky, Stoličný a Gidra. Pre zistené zvýšené koncentrácie arzénu, antimónu a olova v listoch príhlavy nie je vhodné zbierať túto rastlinu v povodí Gidry a na hornom toku Trnianskeho potoka na konzumáciu, prípadne na jej využitie v tradičnej medicíne.

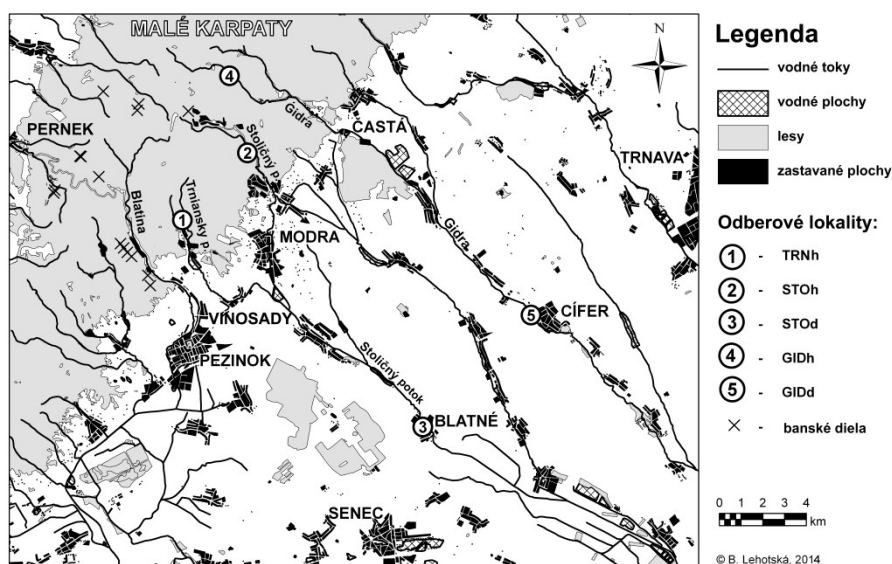
Kľúčové slová: ťažké kovy, staré bane pri Pezinku, akumulácia, rastliny, translokačný index (Ti)

ÚVOD

Pezinok a Pernek sa nachádzajú v Malých Karpatoch na území so zvýšenými koncentraciami As, Cd, Sb, Pb, ako aj pre rastliny esenciálnymi prvkami – Cu a Zn, ktoré sa nachádzajú prirodzene v geologickom podloží, pôde i sedimentoch /1/. Na týchto lokalitách sú viaceré už nevyužívané banské diela (napr. Kolársky Vrch so štôľňou Sirková) /2, 3/, kde ešte pred druhou svetovou vojnou prebiehala intenzívna ťažba antimónu /4/. Uvedené banské diela preto predstavujú potenciálne environmentálne riziko pre organizmy na týchto lokalitách. Významné znečistenie arzénom a antimónom sa potvrdilo niekoľko kilometrov pozdĺž potoka Blatina (obr. 1), ktorý tečie v okolí Pezinka /4/. Z týchto prvkov práve arzén zostáva v pôde dlho (až 3000 rokov), pričom pravidelne obohacuje vrchný pôdny horizont prostredníctvom vegetácie, zrážok a pod. /5, 6/. Študovali sme tri lokality priamo v pohorí Malých Karpát (horný tok potokov Trniansky, Stoličný a Gidra) a dve lokality na ich dolných tokoch blízko obcí Blatné a Cífer (obr. 1). Keďže v blízkosti prameňa Stoličného potoka je nepomenovaná štôľňa č. 8 (krížik na mape na obr. 1), predpokladáme na tejto lokalite vyššiu akumuláciu As a Sb v rastlinách.

MATERIÁL A METÓDA

V Malých Karpatoch sme študovali lokality v blízkosti potokov Trniansky, Stoličný a Gidra (obr. 1).



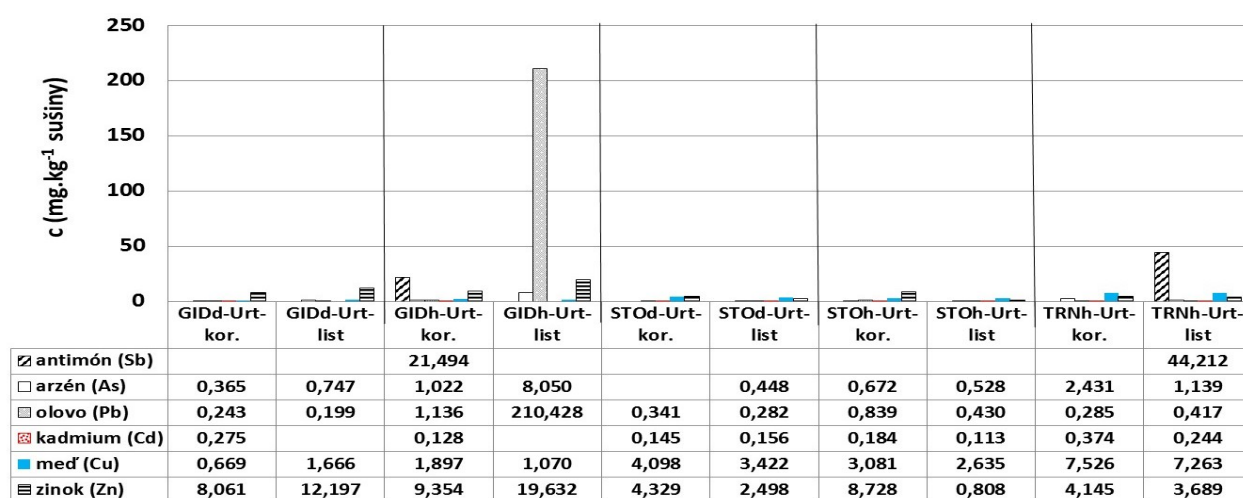
Obr. 1: Mapa odberových miest v Malých Karpatoch. Legenda: ① TRNh – horný tok Trnianskeho potoka v Kučišdorfskej doline blízko Pezinka, ② STOh – horný tok Stoličného potoka pri Modre-Harmónii, ③ STOd – dolný tok Stoličného potoka pri Blatnom, ④ GIDh – horný tok Gidry pri Píle, a ⑤ GIDd – dolný tok Gidry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

Trniansky potok sa za obcou Vinosady 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 v júni 2011 vybrali rastliny, ktoré sa nachádzajú na všetkých lokalitách: pŕhľava dvojdomá (*Urtica dioica* L.) a netýkavka malokvetá (*Impatiens parviflora* DC.). Na lokalite dolného toku Gidry (GIDd) sme našli iba netýkavku žliazkatú (*Impatiens glandulifera* Royle). Po zbere boli rastliny prenesené v chlade do laboratória, umyté vo vodovodnej a destilovanej vode, a po oddelení koreňov a listov usušené pri 55 °C. Minimálne 11 mg sušiny sa rozkladalo v 5 ml konc. HNO₃:H₂O₂ (4:1) cez noc pri laboratórnej teplote. Na ďalší deň sa vzorka v autoklávoch ZA-1 (Česká

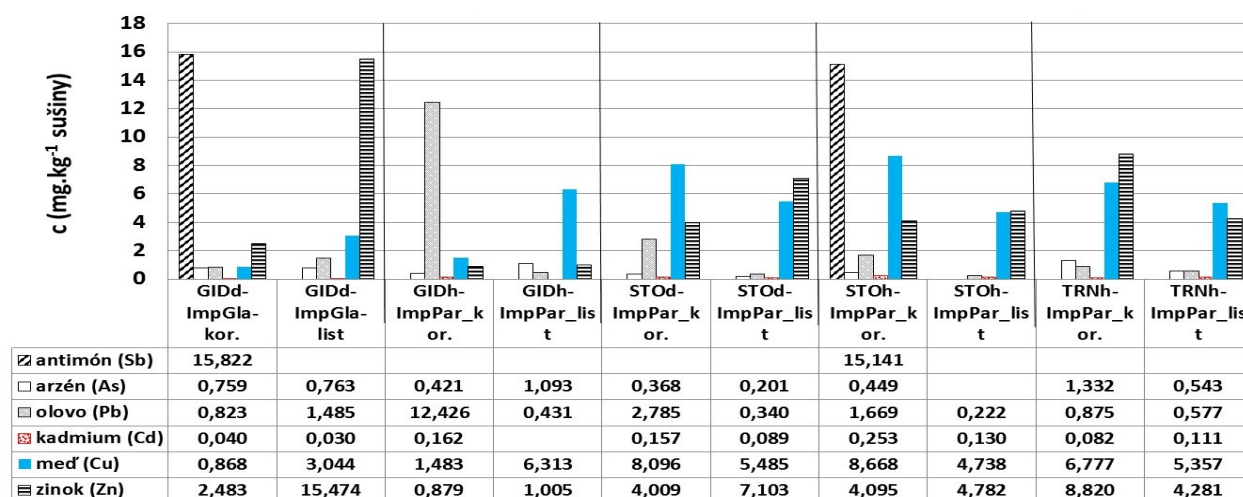
republika) mineralizovala pri 180 °C po dobu 1 hod /7/. Po ochlazení sa zmes doplnila na objem 25 ml destilovanou vodou a obsah vybraných kovov sa elektrochemicky zmeral na prístroji EcaFlow 150 GLP (Istran, Slovenská republika). Táto metóda je porovnateľná s metódou AAS /8/. Translokáciu kovov z koreňov do výhonkov sme vyjadrili tzv. *translokačným indexom* (Ti) /9/: $Ti = (\text{koncentrácia kovu v liste}) / (\text{koncentrácia kovu v koreni})$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Prítomnosť Sb sme potvrdili len v *U. dioica* v koreňoch na GIDh (obr. 2) a v listoch na TRNh (obr. 2). V koreňoch netýkavky sa Sb akumuloval iba na lokalite GIDd a STOh (obr. 3). Predpoklad o zvýšenej koncentrácii Sb na základe prítomnosti štôlne č. 8 pri prameni Stoličného potoka nemal teda negatívny dopad na jeho akumuláciu v listoch prhl'avy, kým As sa akumuloval rovnakou mierou ako v koreňoch tak aj listoch tejto rastliny (obr. 2).



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



Obr. 3: Koncentrácia študovaných kovov v koreňoch (kor.) a listoch (list) *Impatiens sp.* na sledovaných lokalitách (n = 3). Legenda: ako na obr. 1; ImpPar – *I. parviflora*, ImpGla – *I. glandulifera*.

I keď najvyššia koncentrácia Pb bola na hornom toku Gidry stanovená v listoch prhl'avy (obr. 2), v netýkavke z tej istej lokality bola najvyššia koncentrácia Pb stanovená v koreňoch

(obr. 3). Najvyššie koncentrácie Cd a Cu sa pozorovali v koreňoch prhl'avy na TRNh (obr. 2), kým v koreňoch netýkavky boli tieto hodnoty najväčšie na rastlinách rastúcich na STOh (obr. 3). I keď sme spomedzi všetkých sledovaných lokalít namerali najvyššie koncentrácie As v koreňoch netýkavky na TRNh (obr. 3), zároveň sme v tomto prípade zistili aj najvyššiu koncentráciu Zn, ktorý je súčasťou viacerých reparačných aj antioxidačných enzýmov, čo môže poukazovať na zvýšenú toxicitu As pre rastlinu na tejto lokalite.

V tab. 1 sme tučným písmom zvýraznili hodnoty vyššie ako 1,00; ktoré predstavujú zvýšenú translokáciu sledovaného prvku z koreňa do výhonku a jeho akumuláciu v listoch. Pb zostávalo v koreňoch netýkavky najmä na lokalitách GIDh, STOh a STOd, TRNh (tab. 1).

Tab. 1: Translokačné indexy (*Ti*) pre študované kovy v rastlinách na sledovaných lokalitách

rastlina	<i>Urtica dioica</i>					<i>Impatiens parviflora (GIDd - I. glandulifera)</i>				
	GIDd	GIDh	STOd	STOh	TRNh	GIDd	GIDh	STOd	STOh	TRNh
Ti (As)	2,05	7,88	-	0,79	0,47	1,01	2,60	0,55	-	0,41
Ti (Pb)	0,82	185,24	0,83	0,51	1,47	1,80	0,03	0,12	0,13	0,66
Ti (Cd)	-	-	1,08	0,61	0,65	0,77	-	0,56	0,52	1,36
Ti (Cu)	2,49	0,56	0,84	0,86	0,97	3,51	4,26	0,68	0,55	0,79
Ti (Zn)	1,51	2,10	0,58	0,09	0,89	6,23	1,14	1,77	1,17	0,49

Vyrovnaná koncentrácia As sa zistila v netýkavke na GIDd (tab. 1, obr. 3). *Urtica* sp. a *Impatiens* sp. obsahujú fenolové zložky a flavonoidy /10, 11/, ktoré ich môžu svojím antioxidačným účinkom chrániť pred škodlivým účinkom ťažkých kovov vyvolávajúcich priamo či nepriamo poškodenia prostredníctvom zvýšeného oxidačného stresu. Zvýšené koncentrácie As a Pb sa pozorovali v listoch prhl'avy na oboch sledovaných lokalitách rieky Gidry (tab. 1, obr. 2), čo poukazuje na ich výraznú akumuláciu a preto by nebolo vhodné v povodí rieky Gidra túto rastlinu zbierať pre konzumáciu alebo na jej využitie v ľudovej medicíne. Z esenciálnych prvkov lepšie akumulovala Zn v listoch netýkavka na všetkých sledovaných lokalitách okrem TRNh (tab. 1), kým Cu len na lokalitách toku Gidry. Vyššia akumulácia Cd v listoch bola potvrdená na TRNh v netýkavke ($Ti = 1,36$ v tab. 1) ako aj prhl'avy na STOd lokalite (tab. 1, obr. 2, 3).

LITERATÚRA

- /1/ Veselský, J., Forgáč, J., Mejeed, S.Y.: Kontaminácia pôdy a aktívnych riečnych sedimentov Malých Karpát (oblasť 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/ Fláková, R., Ženišová, Z., Sracek, O., Krčmár, O., Ondřejková, I., Chovan, M., Lalinská-Voleková, B., Fendeková, M.: The behavior of arsenic and antimony at Pezinok mining site, southwestern part of the Slovak Republic. *Environmental Earth Sciences*, 66, 2012: 1043 – 1057.
- /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: 1 – 348.

- /6/ Alloway, B.J.: Heavy Metals in Soils, Chapman and Hall: Glasgow, UK, 1990: 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: 1 – 112.
- /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/ Carvalho, A.R., Costa, G., Figueirinha, A., Liberal, J., Prior, J.A.V., Lopes, M.C., Cruz, M.T., Batista, M.T.: *Urtica* spp.: Phenolic composition, safety, antioxidant and anti-inflammatory activities. Food Research International, 99, 2017: 485 – 494.
- /11/ Szewczyk, K., Zidron, C., Biernasiuk, A., Komsta, Ł., Granica, S.: Polyphenols from *Impatiens* (*Balsaminaceae*) and their antioxidant and antimicrobial activities. Industrial Crops and Products, 86, 2016: 262 – 272.

PodĎakovanie

Výskum bol podporený VEGA 1/0332/18, KEGA 029UK-4/2016 a Grantom UK/4/2018.

DLHODOBÉ UDRŽIAVANIE EMBRYOGÉNNYCH PLETÍV HYBRIDNÝCH JEDLÍ V PODMIENKACH *IN VITRO*

LONG-TERM MAINTENANCE OF HYBRID FIRS EMBRYOGENIC TISSUES UNDER IN VITRO CONDITIONS

Terézia Salaj, Katarína Klubicová, Miroslav Perniš, Ján Salaj
Plant Science and Biodiversity Centre SAS, Institute of Plant Genetics and Biotechnology,
Akademická 2, Nitra

Summary

Embryogenic tissues of hybrid firs (*Abies alba* x *A. cephalonica*, *Abies alba* x *A. numidica*) have been initiated from juvenile explants on nutrient medium supplemented with benzyladenine (4.4 μ M) as sole plant growth regulator. The tissues have been maintained under *in vitro* condition by regular transfers in 3 weeks intervals for more than 20 years. The present work describes the tissues characteristics in respect of their growth, structural aspects of somatic embryos as well as maturation capacity.

Key words: somatic embryogenesis, cell lines, Abies alba x *A. cephalonica*, *Abies alba* x *A. numidica*

Súhrn

U hybridných jedlí (*Abies alba* x *A. cephalonica*, *Abies alba* x *A. numidica*) embryogénne pletivá sa indukovali z juvenilných explantátov na živnom médiu s obsahom 4.4 μ M benzyladenínu ako jediného rastového regulátora. Pletivá sa udržiavali v *in vitro* podmienkach po dobu viac ako 20 rokov. Predložená práca podáva charakteristiku pletív ako je rast, štruktúra somatických embryí a ich maturácia.

Kľúčová slova: somatická embryogenéza, bunkové línie, Abies alba x *A. cephalonica*, *Abies alba* x *A. numidica*

INTRODUCTION

In recent years somatic embryogenesis has become a valuable method for *in vitro* vegetative propagation of conifer trees and in many studies it was demonstrated this system is available for biotechnological studies as well as application. The *in vitro* system of somatic embryogenesis involves several steps, as initiation of embryogenic tissues, maintenance of tissues, maturation and plantlet (somatic seedling) regeneration. The advantage of somatic embryogenesis is the mass production of plants in short time and the regenerated somatic seedling are capable of growth and development in soil.

Somatic embryogenesis has also been initiated in hybrids *Abies alba* x *A. cephalonica* and *Abies alba* x *A. numidica* [6]. The embryogenic tissues have been maintained under *in vitro* conditions and some of initiated cell lines survived long period of maintenance, more than 20 years. The objective of this study was characterization of survived cell lines in respect of growth, structural features and maturation capacity.

MATERIAL AND METHODS

Initiation and maintenance: For the initiation of embryogenic tissues in hybrid firs *Abies alba* x *A. cephalonica* and *Abies alba* x *A. numidica* juvenile explants have been used /details in 6/. SH medium /7/ supplemented with 6-benzyladenine (4.4 μ M BA) as a sole plant growth regulator has been used. The long-term *in vitro* cultivation of embryogenic tissues occurred on Medium DCR /2/ with 4.4 μ M BA. In experiments cell lines AC2, AC4, AC13 (*Abies alba* x *A. cephalonica*) and AN72 (*Abies alba* x *A. numidica*) have been included.

Growth characteristics: fresh and dry mass of tissues have been investigated at day 0 and 14 of growth as follows: at day 8 of growth cycle 0.5 g of fresh mass has been transferred to fresh media. After 14 days of cultivation the fresh mass of tissues was recorded and the tissues were dried in an oven until the constant dry mass was reached.

Structural observation: small pieces of well growing tissues have been placed on glass and stained with acetocarmine (2%), squashed and investigated under light microscope Axioplan 2 (Carl Zeiss, Germany).

Maturation of somatic embryos: 1 g of well growing tissues has been resuspended in DCR medium (without organic compounds) and aliquote of 100-120 mg of tissue has been pipetted on filter paper disc to absorb the liquid. The filter paper discs with cell were transferred to maturation medium. Basal DCR maturation in medium containing abscisic acid (ABA 38 μ M) and 7.5% polyethylene glycol-4000 (PEG) has been used.

The tissues were growing in culture room at 23 °C in dark. Transfer of proliferating tissues to fresh media occurred regularly in 3-weeks intervals.

RESULTS AND DISCUSSION

The investigated cell lines have been initiated from juvenile explants as immature zygotic embryos (cell line AN72, *Abies alba* x *A. numidica*), mature zygotic embryos (AC2, AC4 *Abies alba* x *A. cephalonica*) or from cotyledon explants (AC13 *Abies alba* x *A. cephalonica*). Their long-term maintenance occurred by regular transfers in 3-week intervals on medium DCR containing BA (4.4 μ M) as sole plant growth regulator. After the long period of *in vitro* growth the tissues show features typical for conifer embryogenic tissues as mucilaginous consistence and white color (Fig. 1). Fresh mass increase at day 14 of growth cycle reached 404 to 492% depending on cell line. At day 0 the dry mass of tissues reached values 19.75 to 24.11 mg and at day 14 the dry mass increased to 66.51-75.67 mg.

The proliferating tissues were characterized by various cell compositions. Bipolar structures -somatic embryos, characterized by meristematic embryonal part and long suspensor - were present in all the investigated cell lines (Fig. 2). Besides these structures also huge polyembryonal complexes were also observable.

The maturation of somatic embryos is being tested on medium containing ABA and PEG-4000. Preliminary results suggest the maturation is limited in some extent. Precotyledonary somatic embryos developed in cell lines AC4, but their further development toward cotyledonary stage has been stopped. Cell lines AN72 and AC13 produced fully developed cotyledonary somatic embryos but abnormally shaped structures e.g. with fused cotyledons were also frequently observed. In cell line AC2 no developing embryos were observable.

Somatic embryogenesis in *Abies* species or hybrids has been initiated mostly from immature zygotic embryos /1, 3, 4/. An interesting feature of initiation in *Abies* is the production of embryogenic tissues on nutrient medium containing cytokinin as sole plant hormone. It is explained by sufficient production of auxins necessary for initiation and subsequent growth of tissues /4/. The *in vitro* long-term maintenance of embryogenic tissues holds the risk of genetic changes (somaclonal variation). In embryogenic tissues of *Abies alba*

trisomy associated with loss of maturation capacity has been observed /5/. In the light of these observations, investigation on genetic background of our cell lines maintained under *in vitro* conditions is also necessary. The limited maturation capacity or its loss could be the consequence of long-term *in vitro* cultivation. On the other hand two cell lines are still producing cotyledonary somatic embryos. These investigations indicated the cell line dependent behavior of hybrid firs embryogenic tissues during long-term *in vitro* culture.

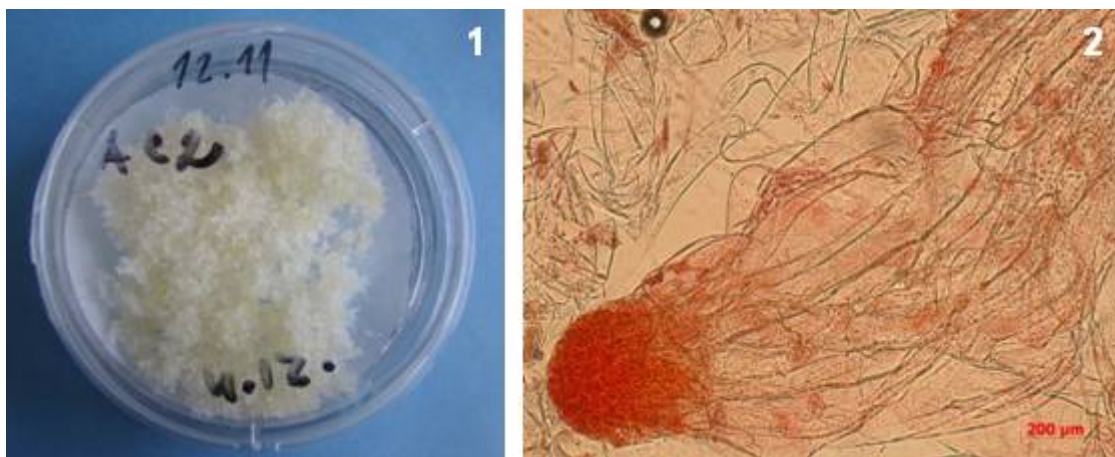


Fig. 1: Embryogenic tissue (cell line AC2). Fig. 2: Bipolar somatic embryo observable in proliferating embryogenic tissues (cell line AN72).

LITERATURE

- /1/ Gajdošová, A., Vooková, B., Kormuťák, A., Libiaková, G., Doležel, J.: Induction, protein composition and DNA ploidy level of embryogenic calli of silver fir and its hybrids. *Biologia Plantarum* 37, 1995: 169-176.
- /2/ Gupta, P.K., Durzan, D.J.: Shoot multiplication from mature trees of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugar pine (*Pinus lambertiana*). *Plant Cell Reports* 4, 1985: 177-179.
- /3/ Krajňáková, J., Gömöry, D., Häggman, H.: Somatic embryogenesis in Greek fir. *Canadian Journal of Forest Research* 38, 2008: 760-769.
- /4/ Nörsgaard, J.V., Krogstrup, P.: Cytokinin induced somatic embryogenesis from immature embryos of *Abies nordmanniana*. *Plant Cell Reports* 9, 1991: 509-513.
- /5/ Roth, R., Ebert, I., Schmidt, j.: Trisomy associated with loss of maturation capacity in a long-term embryogenic culture of *Abies alba*. *Theoretical and Applied Genetics* 95, 1997: 353-358.
- /6/ Salajová, T., Salaj, J., Jásik, J., Kormuťák, A., Hakman, I.: Embryogenic culture initiation and somatic embryo development in hybrid firs (*Abies alba* x *Abies cephalonica* and *Abies alba* x *Abies numidica*). *Plant Cell Reports* 15, 1996: 527-530.
- /7/ Schenk, R.U., Hildebrandt, A.C.: Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Canadian Journal of Botany* 50, 1972:199-204.

Acknowledgemnet

This work was supported by Slovak Grant Agency VEGA, project No. 2/0056/18.

FYZIOLOGICKÉ CHARAKTERISTIKY CHMELE PĚSTOVANÉHO V REŽIMU EKOLOGICKÉHO ZEMĚDĚLSTVÍ

THE PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF HOPS GROWN IN ORGANIC AGRICULTURE

Helena Hniličková¹, František Hnilička¹, Josef Ježek², Tomáš Vild¹, Kamil Kraus¹

¹ Česká zemědělská univerzita v Praze, Katedra botaniky a fyziologie rostlin, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 – Suchbátka, Česká republika, hnilickova@af.czu.cz

² Chmelařský institut s.r.o., Kadaňská 2525, Žatec 438 46, Česká republika

Summary

At present, there is an increasing demand for organic farming products, where this trend has not been avoided even with hop cones. The effect of cultivation mode on the rate of photosynthesis F_v/F_m and chlorophyll content was monitored. The results show the influence of the year, especially the rate of photosynthesis, when higher average values were measured in 2014 for conventional plants ($16.1 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) and 2015 for organically grown plants ($5.3 \mu\text{mol of CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Differences were observed for F_v/F_m and pigment content where higher values were established for conventional plants. Higher yields were in both years for conventionally grown plants.

Key words: Humulus lupulus L., organic farming, photosynthesis, chlorophyll content, chlorophyll fluorescence

Souhrn

V současné době se zvyšuje poptávka po produktech z ekologického zemědělství, kdy tento trend se nevyhnul ani chmelovým hlávkám. Byl sledován vliv režimu pěstování na rychlost fotosyntézy, F_v/F_m a obsah chlorofylu. Z výsledků je patrný vliv ročníku, především rychlost fotosyntézy, kdy vyšší průměrné hodnoty byly naměřeny v roce 2014 u konvenčních rostlin ($16,1 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) a v roce 2015 u ekologicky pěstovaných rostlin ($5,3 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Rozdíly byly u F_v/F_m a obsahu pigmentů, kdy vyšší hodnoty byly stanoveny u konvenčních rostlin. Vyšší výnosy byly dosaženy v obou letech u konvenčně pěstovaných rostlin.

Klíčová slova: Humulus lupulus L., ekologické zemědělství, fotosyntéza, obsah chlorofylů, fluorescence chlorofylů

ÚVOD

Pěstování chmele má v našem zemědělství významné postavení. Česká republika patří tradičně mezi největší světové producenty chmele a v současné době zaujímá čtvrtou pozici. Chmel patří mezi nejnáročnější technické plodiny, pěstované v našem zemědělství. Zároveň jsou na něj, jako na vývozní plodinu a pivovarskou surovinu, kladeny značné požadavky. Tyto nároky se daří v současné době plnit díky propracované agrotechnice, letitým zkušenostem, široké nabídce prostředků na ochranu rostlin před škodlivými činiteli a výživových prostředků. Dá se tedy říci, že intenzivní pěstování chmele má již vcelku propracovaný systém hospodaření. Ne příliš prozkoumané je však pěstování chmele v ekologickém režimu hospodaření. V České republice se chmel pěstuje ekologicky teprve od roku 2009 a poptávka po informacích o chmelu vypěstovaném v ekologickém zemědělství neustále roste.

Cílem této práce je přinést nové poznatky o případných rozdílech ve fyziologických parametrech v závislosti na režimu hospodaření.

MATERIÁL A METODA

Experiment se uskutečnil na chmelnicích účelového hospodářství Stekník u Žatce. Pokusnými rostlinami se staly rostliny chmele (*Humulus lupulus* L.) pěstované na certifikované ekologické chmelnici o rozloze 1,29 ha. Kontrolní měření bylo provedeno na chmelnici v konvenčním režimu hospodaření o rozloze 2,09 ha. Pokusným rostlinným materiálem byla odrůda Premiant. Rostlina chmele odrůdy premiant jsou mohutného vzrůstu válcovitého tvaru. Aroma je definováno jako příjemné chmelové. Odrůda je středně odolná k padlí chmelovému (*Podosphaera macularis*) a středně odolná k perenospoře chmelové (*Pseudoperonospora humuli*).

Měření byly základní fyziologické ukazatele: rychlost fotosyntézy, fluorescence a obsah chlorofylů v listech. Pokus probíhal ve 4 etapách ontogeneze (1. pazochování, 2. kvetení, 3. tvorba osýpky a 4. zrání chmelových hlávek) v roce 2014 a 2015.

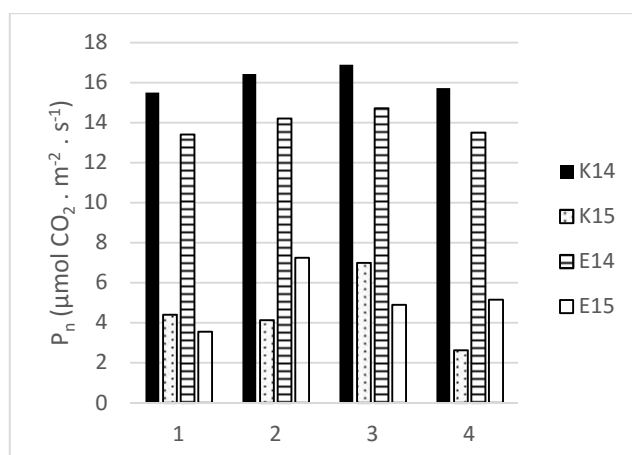
K měření rychlosti fotosyntézy byl použit přenosný přístroj LCpro+ (ADC BioScientific Ltd.). Měření se uskutečnilo na vybraném listu 3 různých chmelových rostlin z ekologické a 3 rostlin z konvenční chmelnice po 15 opakováních na každém listu. Teplota komůrky se během měřících cyklů pohybovala kolem $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ a hustota ozáření byla $565\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$. Parametry fluorescence chlorofylů byly měřeny přenosným fluorometrem s technologií pulzní modulační ADC:OSI 1 FL (Opti-Sciences Inc.). Sledovaným parametrem byl poměr F_v/F_m ($F_m - F_0/F_v$). Měření se uskutečnilo pomocí listové komůrky po 20 min. temnotní adaptace na listech stejných 3 chmelových rostlin z každé chmelnice, na kterých probíhalo měření rychlosti výměny plynů. Obsah fotosyntetických pigmentů byl stanoven pomocí ručního chlorofylmetru Opti-Sciences CCM-200 (Opti-Sciences, Inc.).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Graf č. 1 znázorňuje průběh rychlosti fotosyntézy sledovaných rostlin na ekologické i konvenční chmelnici ve vybraných ontogenetických fázích. Byly naměřeny průkazné rozdíly v rychlosti fotosyntézy u sledovaných led, kdy v roce 2014 bylo dosaženo vyšších hodnot. Průměrné hodnoty P_n v roce 2014 na konvenční ploše byly $16,1\text{ }\mu\text{mol CO}_2\text{ m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ a na ekologické $13,9\text{ }\mu\text{mol CO}_2\text{ m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ (HSD; $p=0,01$), v roce 2015 byla průměrná rychlost fotosyntézy na konvenční ploše $4,7\text{ }\mu\text{mol CO}_2\text{ m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ a na ekologické $5,3\text{ }\mu\text{mol CO}_2\text{ m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ (HSD; $p=0,01$). V obou pokusných letech byly rozdíly mezi variantami statisticky průkazné.

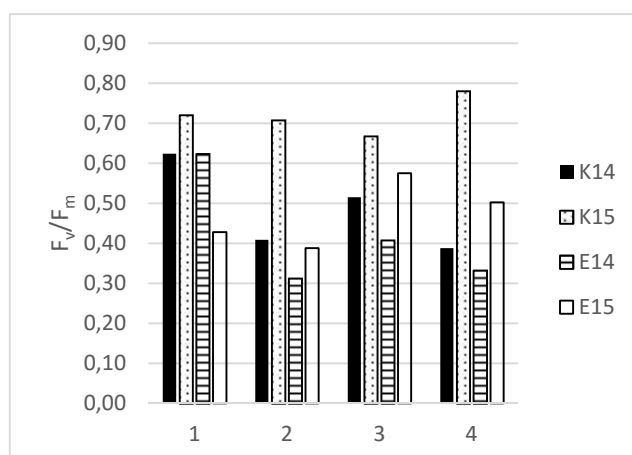
Maximální hodnoty rychlosti fotosyntézy byly naměřeny v období tvorby osýpky u obou variant v roce 2014 a konvenční varianty 2015, u ekologického porostu v tomto roce již ve fázi kvetení. V období zrání hlávek již fotosyntéza klesá, stejně tak na počátku ontogeneze jsou měřeny nižší hodnoty rychlosti fotosyntézy. Postupné zvyšování rychlosti fotosyntézy od zavedení chmelových rostlin až do období kvetení a její pokles směrem k technologické a biologické zralosti rovněž uvádí Hniličková et al. (2008)/1/. Hodnoty rychlosti fotosyntézy v polních podmínkách pro chmel jsou uváděny v průměru $16,2\text{ }\mu\text{mol CO}_2\text{ m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ /2/, $4,9 - 8,59\text{ }\mu\text{mol CO}_2\text{ m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ /3/ a $4,35 - 7,95\text{ }\mu\text{mol CO}_2\text{ m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ /4/.

Hodnoty maximálního kvantového výtěžku PSII F_v/F_m jsou považovány za obecný indikátor stresových faktorů, přičemž za stresový faktor lze považovat výživové nedostatky, napadení chorobami a škůdci apod. Eliminace těchto faktorů může být do určité míry rozdílná v konvenčním a ekologickém režimu pěstování.



Graf 1: Rychlosti fotosyntézy ($\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) v závislosti na termínu měření (K14, K15 – konvenční plocha; E14, E15 – ekologická plocha ve sledovaných letech)

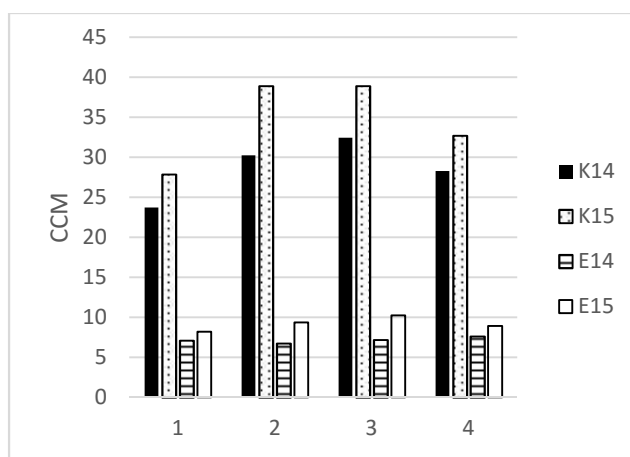
Obecně za optimální hodnotu je uváděn poměr F_v/F_m na úrovni cca 0,8. V grafu 2 jsou uvedeny hodnoty F_v/F_m ve vybraných ontogenetických fázích. V obou letech byly v průměru naměřeny vyšší hodnoty F_v/F_m u konvenčních rostlin. V roce 2014 s neprůkaznými rozdíly u konvenčně 0,44 a u ekologicky pěstovaných rostlin 0,42 (HSD, $p=0,01$). V roce 2015 byly hodnoty průkazně rozdílné u konvenčně 0,72 a u ekologicky pěstovaných 0,47 (HSD, $p=0,01$).



Graf 2: Maximální kvantový výtěžek fotosystému PSII v závislosti na termínu měření (K14, K15 – konvenční plocha; E14, E15 – ekologická plocha ve sledovaných letech)

Hodnoty obsahu celkového chlorofylu v listech sledovaných rostlin na ekologické a konvenční chmelnici jsou uvedeny na grafu 3. Průměrné hodnoty obsahu celkového chlorofylu byly v roce 2014 na konvenční ploše 28,9 a na ekologické 7,1 (HSD; $p=0,01$), v roce 2015 na konvenční ploše 34,6 a na ekologické 9,2 (HSD; $p=0,01$). V obou pokusných letech byly rozdíly mezi variantami statisticky průkazné.

U konvenčně pěstovaných rostlin se obsah chlorofylů zvyšoval během ontogeneze, s maximem v období květu a tvorby osýpky chmelových hlávek, tj. období maximální rychlosti fotosyntézy. U ekologicky pěstovaných rostlin obsah chlorofylu stagnoval během celého vegetačního období.



Graf 3: Obsahu celkového chlorofylu ($\mu\text{g.ml}^{-1}$) v závislosti na termínu měření

Rozdíly mezi formou hospodaření byly dosaženy rovněž ve výnosu hlávek. V roce 2014 byl v ekologickém režimu výnos hlávek $1,36 \text{ t.ha}^{-1}$. V konvenčním režimu hospodaření dosáhl výnos hlávek hodnoty $2,40 \text{ t.ha}^{-1}$. Rozdíl ve výnosech obou variant byl o $1,0 \text{ t.ha}^{-1}$. Na ekologické chmelnici bylo tedy dosaženo výnosu o 42,4 % nižšího než na chmelnici konvenční. Uvedené hodnoty jsou za rok 2014. Stejný trend byl i v roce 2015, kdy v ekologickém režimu byl výnos hlávek $0,62 \text{ t.ha}^{-1}$ a v konvenčním režimu $1,97 \text{ t.ha}^{-1}$. Nižší výnosy v tomto roce byly zapříčiněny vysokými teplotami a nízkým úhrnem srážek.

Z uvedených výsledků je patrný vliv ročníku na základní fyziologické parametry, především rychlost fotosyntézy, což je výrazná polyfaktoriální charakteristika. Přičemž její měření v polních podmínkách a zvláště u rostlin chmel (vysoký habitus rostliny) je velmi komplikované. Rozdíly mezi režimem pěstování byly zaznamenány u parametru F_v/F_m a obsahu pigmentů, kdy vyšší hodnoty byly stanoveny u konvenčních rostlin. Nicméně jednoznačné konstatování faktoru, který tyto rozdíly zapříčinil, by vyžadovalo další sledování. Výrazný výnosový rozdíl je tak základní prvek, který zároveň rozhoduje o ekonomice pěstování chmele, eliminace tohoto faktoru pro pěstitele je možná pouze poptávkou pivovarníků a konzumentů.

LITERATURA

- /1/ Hniličková H., Hnilička F., Krofta K.: The effect of weather on the hops's photosynthesis and transpiration rate. *Cereal Research Communications*, 36, 2008: 887-890.
- /2/ Kenny S. T.: Photosynthetic measurements in hop (*Humulus*). *Acta Horticulturae*, 668, 2005: 241-247.
- /3/ Pokorný J., Pulkrábek J., Štranc P., Bečka D.: Photosynthetic activity of selected genotypes of hops (*Humulus lupulus* L.) in critical periods for yield formation. *Plant Soil and Environment*, 57, 2011: 264-270.
- /4/ Hejnák V., Hniličková H., Hnilička F.: Effect of ontogeny, heterophylly and leaf position on the gas exchange of the hop plant. *Plant Soil and Environment*, 60, 2014: 525-530.

Poděkování

Příspěvek byl podpořen S projektem MŠMT ČR.

FUNKČNÁ ANALÝZA CYTOSKELETU V KOMPLEXE VZŤAHOV PARAZIT-HOSTITEĽ

FUNCTIONAL ANALYSIS OF THE CYTOSKELETON IN THE PARASITE-HOST INTERACTION

Peter Kaštier¹, Yuliya A. Krasylenko², Alžbeta Blehová¹

¹ Fyziológia rastlín, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, kastier.peter@gmail.com

² Buněčná biologie, Centrum regionu Haná pro biotechnologický a zemědělský výzkum, Šlechtitelů 241/27, 783 71 Olomouc

Summary

Dodders (*Cuscuta* spp.), common holoparasitic weeds, are completely dependent on a host for support and photosynthetic assimilates. Generally, this is the first report about the organization of microtubules and actin cytoskeleton in parasitic plants during germination, without the contact with the host, but also during the formation of prehaustorium. It is shedding more light on dodder attachment to the host, and to the penetration mechanics. In contrast to shoot apical meristem, in root-like structure, a temporary anchorage organ, no mitotic arrays were found during early germination. Practical impact of our results is a better understanding of the cellular and cytoskeletal rearrangements leading haustoria formation, which could be helpful in the development of efficient and low-cost control measures for *Cuscuta*.

Key words: actin filaments, Cuscuta, microtubules, prehaustorium, root-like structure, shoot apical meristem

Súhrn

Kukučiny (*Cuscuta* spp.), bežné holoparazitické rastliny, sú kompletne závislé od hostiteľa a príjmu fotosyntetických asimilátov. Táto práca je zameraná na štúdium organizácie mikrotubulov a aktínových filamentov v parazitických rastlinách nie len počas klíčenia ale aj pri vývine prehaustória. Vnáša viac svetla na mechanizmus prichytenia parazitickej rastliny a jej penetrácie do hostiteľa. Na rozdiel od apikálneho meristému stonky, v dočasnom orgáne koreňu podobnej štruktúry sme nepozorovali žiadne mitoticky aktívne bunky. Praktickým dôsledkom našich výsledkov je lepšie porozumenie bunkových a cytoskeletárnych reorganizácii pri vývine haustória, ktoré by mohli pomôcť pri vývoji účinných a lacných stratégií v boji proti parazitickým rastlinám rodu *Cuscuta*.

Kľúčová slová: aktínové filamenty, apikálny meristém stonky, Cuscuta, koreňu podobná štruktúra, mikrotubuly, prehaustorium

ÚVOD

Stonkové parazity rodu *Cuscuta* predstavujú z hľadiska devastácie kultúrnych plodín významný ekonomický faktor. Preventívne opatrenia ako striedanie plodín, výsadba rezistentných a geneticky modifikovaných rastlín nie sú účinné. Preto je nevyhnutné študovať nie len anatómiu a morfológiu týchto druhov parazitických rastlín, ale spolu s molekulárnymi štúdiami a štúdiom organizácie a funkcie cytoskeletu v ich bunkách, môže prispieť k vypracovaniu efektívnych stratégií na ich elimináciu.

Dynamika mikrotubulov a aktínových filamenotv je jednou z hlavných vlastností cytoskeletu, nevyhnutou pre delenie, predlžovanie a diferenciaciu buniek /1/ ako aj v reakcii rastlín na biotický stres /2/. Cytoskelet sa svojou funkciou a schopnosťou reorganizácie podieľa pri prichytení a tvorbe infekčných/symbiotických štruktúr /3/. Hoci cytoskelet v parazitických rastlinách ešte nebol opísaný, predpokladá sa, že mikrotubuly a aktínové filamenty budú vo veľkej miere zapojené do imunitných odpovedí hostiteľa /4/. Preto sme sa zamerali na vizualizáciu zložiek cytoskeletu v skorých ontogenetických štádiách vývinu kľúčnych rastlín a pri formovaní prehaustória v *C. europaea* a *C. monogyna* pomocou imunohistochemických techník.

MATERIÁL A METÓDY

Úlohu cytoskeletu v kľúčnych rastlinách *C. europaea* L. a *C. monogyna* Vahl. sme sledovali pri aplikácii cytoskeletárnych jedov taxolu (10 μ M), oryzalínu (10 μ M), latrunkulínu B (10 μ M) a cytochalazínu D (100 μ M) v podmienkach *in vitro* po dobu 7 dní (Sigma-Aldrich). Kontrolný variant neobsahoval v $\frac{1}{2}$ MS médiu (Murashige & Skoog) žiadne prídavné látky. Na vplyv cytoskeletárnych jedov pri vývine prehaustória sme použili 5 dňové kľúčne rastliny (4–5 cm), ponorené do $\frac{1}{2}$ tekutého MS média s rovnakou koncentráciou jedov, ako v experimente vyššie, a umiestnili v blízkosti kompatibilného hostiteľa *Nicotiana benthamiana* Domin. po dobu 2 dní.

Nepriamou imunofluorescenčnou technikou sme vizualizovali mikrotubulovú a aktínovú zložku cytoskeletu v kľúčnych rastlinách kukučín a pri vývine prehaustória. Na značenie α -tubulínovej zložky mikrotubulov sme použili „whole mount“ techniku (upravené podľa /5/), a aktínovej zložky pomocou Atto 488 faloidín (Sigma-Aldrich) /6/. Prehaustória sme fixovali a zalievali do Steedmanovho vosku (upravené podľa /7/). Rezy hrubé 40 μ m sme inkubovali v primárnych protilátkach rat anti- α -tubulín (YOL 1/34, Serotec) a rabbit anti-aktín (AS16, Agrisera) a v sekundárnych protilátkach FITC-anti-rat a Alexa-Fluor 555 (Invitrogen). Vzorky sme skenovali pomocou konfokálneho mikroskopu LSM710 (Carl Zeiss, Jena, Germany).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

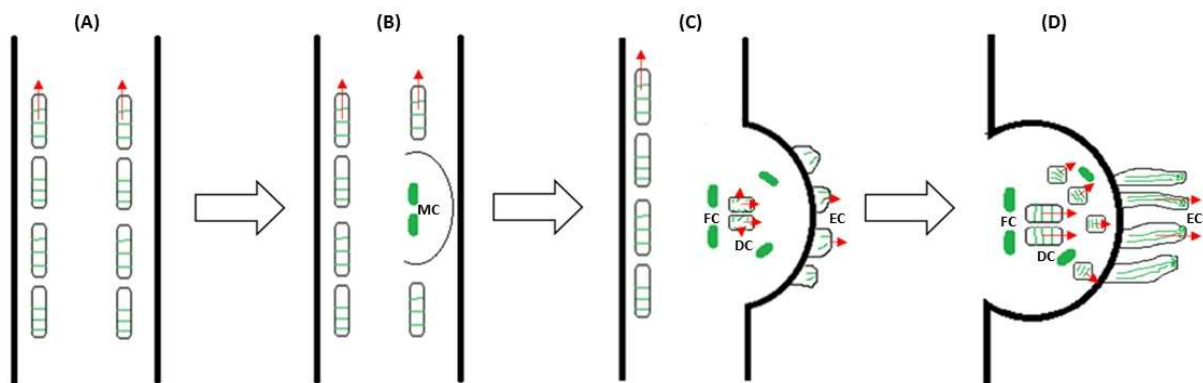
Cytoskelet predstavuje integrovaný vnútrobunkový systém, ktorý sa dynamicky mení v jednotlivých fázach ontogenetického vývinu parazitických rastlín. Je odlišný v bunkách rudimentálneho koreňa od aktívne sa deliacich buniek apikálneho meristému stonky (SAM). V mitoticky aktívnych bunkách (SAM) ale aj v predĺžených bunkách stonky kľúčnych rastlín, je zastúpená tak kortikálna ako aj endocytoplazmatická zložka cytoskeletu, pričom ich vzájomný pomer a organizácia varírujú v závislosti od fázy bunkového cyklu /8/. Jednotlivé zložky cytoskeletu v bunkách, ktoré sa práve nedelia, sú organizované do štruktúr typických pre interfázne bunky /8/.

Z našich doterajších pozorovaní je zrejmé, že senescencia koreňu podobnej štruktúry v prípade *C. europaea* začína už na tretí deň od klíčenia a ku kompletnej degradácii celej štruktúry dochádza na 14. deň /9/. Napriek absencii mitotických mikrotubulov boli v koreňových bunkách prítomné priečne kortikálne siete predtým, ako začali degradovať. Po 3. dni mikrotubuly menili svoju organizáciu a spolu s ich fragmentáciou a následnou depolymerizáciou sme v posledný deň kultivácie nepozorovali žiadne vlákna. Tieto výsledky korešponujú aj s prácou, kde zaznamenali nízku hladinu α -tubulínu v koreni *C. pentagona* v porovnaní so stonkou /10/. Súčasne v prvých štádiách vývinu tejto štruktúry (1.–4. deň po klíčení) cytoplazma kortikálnych buniek obsahovala hustú sieť F-aktínových zväzkov. V priebehu niekoľkých nasledujúcich dní sa aktínová sieť fragmentovala a degradovala zároveň s bunkami koreňovej štruktúry. Destabilizácia cytoskeletu vedie k zníženej

schopnosti kontrolovať delivý a predĺžovací rast, a preto táto štruktúra v skorých fázach klíčenia hrubne a postupne degraduje /10/.

Sadu cytoskeletálnych jedov, ovplyvňujúcich mikrotubuly a aktínové filanty, sme použili pri sledovaní morfológických zmien a organizácii cytoskeletu v klíčnych rastlinách obidvoch druhov kukučín. Väčšina z nich spôsobila výrazné zhrubnutie nie len koreňovej štruktúry ale aj rastového vrcholu stonky, pretože napríklad taxol naruša predĺžovanie buniek a podporuje ich vakuolizáciu /11/, čo vysvetľuje ich guľovitý tvar a umiestnenie jadra na ich periférii. Tento opuch nebol taký výrazný po ošetrení cytochalazínom D ako pri použití taxolu a oryzalínu, čo sa odzrkadlilo aj na čiastočnom zablokovaní fyziologických vývinových zmien spojených s degradáciou koreňovej štruktúry. Navyše, v prípade taxolu boli kortikálne mikrotubuly čiastočne stabilizované v apikálnom meristéme stonky a vo fyziologicky plazmolizovaných bunkách koreňa boli mikrotubuly stále prítomné aj na 7. deň kultivácie, v porovnaní s kontrolou. Aktínové filanty boli po ošetrení cytochalazínom D depolymerizované v SAM a v bunkách stonky výrazne fragmentované. Narušenie aktínových filamenotov súvisí so zníženým predĺžovacím rastom buniek a vedie tak k tzv. „bonsajovému“ fenotypu rastlín /12/, ktorý sme nepozorovali ani v jednom variante pri depolymerizácii aktínovej zložky cytoskeletu. Možným vysvetlením slabého účinku napríklad latrunkulínu B, ktorý sme pozorovali na kukučínach, môže byť druhovo špecifický, pričom aj rôzne fyziologické procesy v rámci jednej rastliny môžu vyžadovať odlišnú koncentráciu.

Vplyv cytoskeletárnych jedov sme pozorovali aj pri vývine prehaustória *C. europaea*. Zatiaľ čo v neošetrených klíčnych rastlinách sa na miestach kontaktu s hostiteľskou stonkou začali formovať prehaustória počas prvých 24 hodín, pri ošetrení cytoskeletárnymi jedmi, kukučiny neboli schopné navinutia okolo hostiteľa o 360 °. Okrem toho, taxol a oryzalín spôsobili výrazné zhrubnutie rastového vrcholu stonky, čím inhibovali jeho rast. Tento fakt bol v súlade s inhibíciou rastu klíčnych rastlín.



Obr. 1: Model vývinu prehaustória *C. europaea* (↑ označuje smer rastu), s orientáciou mikrotubulov (zelenou farbou) v stonke (A) a prehaustóriu (B–D). MC – meristematické centrum, FC – „file cells“, DC – „digitate cells“, EC – epidermálne bunky.

Stonky kukučín vykazujú veľkú mieru plasticity v dôsledku prítomnosti funkčného apikálneho meristému a neskôr endogénne sa zakladajúceho diskovitého meristému (obr. 1B), ktorého mitotická aktivita je potrebná pre diferenciaciu haustória /13/. Za aktívne deliacimi sa meristematickými bunkami „file cells“ nasledujú predĺžené „digitate cells“ s prominentnými jadrami /13/. V prípade vyvíjajúceho sa prehaustória kukučiny sa bunky, lokalizované distálne od cievnych zväzkov stonky parazita, delili ojedinele. Rozhodujúcim faktorom, ktorý určoval smer ich delenia, bol pravdepodobne tlak expandujúcich „digitate cells“ (obr.1 C, D).

V predlžujúcich sa bunkách prehaustória boli kortikálne mikrotubuly orientované paralelne k vodivým elementom kukučiny. V neskorších štádiách prevažovala transverzálna organizácia pre rapidne predlžovanie buniek podobne ako v rastovom vrchole koreňa neparazitických rastlín /12/. Aktínové filamenty vytvárali silné perinukleárne zväzky okolo jadier „digitate cells“. Takúto organizáciu aktínovej zložky cytoskeletu spájame s výraznou syntetickou a sekrečnou aktivitou týchto buniek. V tom istom čase, v mieste kontaktu parazit-hostiteľ, sa epidermálne bunky prehaustória začali výrazne predlžovať (obr. 1D), pričom organizácia cytoskeletu v týchto bunkách bola usporiadaná podobne ako v bunkách s vrcholovým rastom /11/. Tieto bunky by mohli byť prekursori vyhl'adávajúcich hýf, dôležitých v poslednej fáze vývinu haustória, ktorých pôvod sa pripisoval bunkám „digitate cells“ /14/.

LITERATÚRA

- /1/ Wasteneys, G. O., Ambrose, J. Ch.: Spatial organization of plant cortical microtubules: close encounters of the 2D kind. *Trends in Cell Biology*, 19, 2009: 62–71.
- /2/ Takemoto, D., and Hardham, A. R.: The cytoskeleton as a regulator and target of biotic interactions in plants. *Plant Physiol*, 136, 2009: 3864–3876.
- /3/ Lapin, D., and Van den Ackerveken, G.: Susceptibility to plant disease: more than a failure of host immunity. *Trends Plant Science*, 18, 2013: 546–554.
- /4/ Yoder, J. I., and Scholes, J. D.: Host plant resistance to parasitic weeds; recent progress and bottlenecks. *Current Opinion in Plant Biology*, 13, 2010: 478–484.
- /5/ Šamajová, O., Komis, G., and Šamaj, J.: Immunofluorescent localization of MAPKs and colocalization with microtubules in *Arabidopsis* seedling whole-mount probes, in *Plant MAP Kinases Methods in Molecular Biology*. Humana Press, New York, NY, 2014: 107–115.
- /6/ Panteris, E., Apostolakis, P., and Galatis, B.: Cytoskeletal asymmetry in *Zea mays* subsidiary cell mother cells: A monopolar prophase microtubule half-spindle anchors the nucleus to its polar position. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 63, 2006: 696–709.
- /7/ Vitha, S., Baluška, F., Jasik, J., Volkmann, D., and Barlow, P. W.: Steedman's wax for F-actin visualization, in *Actin: A Dynamic Framework for Multiple Plant Cell Functions Developments in Plant and Soil Sciences*. Springer, Dordrecht, 2000: 619–636.
- /8/ Baluška, F., Šamaj, J., Volkmann, D., and Barlow, P. W.: Impact of taxol-mediated stabilization of microtubules on nuclear morphology, ploidy levels and cell growth in maize roots. *Biology of the Cell*, 89, 1997: 221–231.
- /9/ Kaštier, P., Martinčová, M., Fiala, R., and Blehová, A.: Transient expression of green fluorescent protein in parasitic dodder as a tool for studying of cytoskeleton. *Nova Biotechnologica et Chimica*, 16, 2017: 20–25.
- /10/ Sherman, T. D., Bowling, A. J., Barger, T. W., and Vaughn, K. C.: The vestigial root of dodder (*Cuscuta pentagona*) seedlings. *International Journal of Plant Sciences*, 169, 2008: 998–1012.
- /11/ Bibikova, T. N., Blancaflor, E. B., and Gilroy, S.: Microtubules regulate tip growth and orientation in root hairs of *Arabidopsis thaliana*. *The plant journal for cell and molecular biology*, 17, 1999: 657–665.
- /12/ Baluška, F., Jasik, J., Edelman, H. G., Salajová, T., and Volkmann, D.: Latrunculin B-induced plant dwarfism: plant cell elongation is F-actin-dependent. *Developmental Biology*, 231, 2001: 113–124.
- /13/ Svubova, R., Lukacova, Z., Kastier, P., and Blehova, A.: New aspects of dodder–tobacco interactions during haustorium development. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39, 2017: 66.
- /14/ Alakonya, A., Kumar, R., Koenig, D., Kimura, S., Townsley, B., Runo, S., Garces, H. M., Kang, J., Yanez, A., David-Schwartz, R. et al.: Interspecific RNA interference of Shoot Meristemess-Like disrupts *Cuscuta pentagona* plant parasitism. *The Plant Cell*, 24, 2012: 3153–3166.

Pod'akovanie

Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-16-0051 a grantom Univerzity Komenského pre mladých vedeckých pracovníkov č. UK/213/2018.

FENOTYPOVÁ PLASTICITA PRIEDUCHOVÝCH A LISTOVÝCH PARAMETROV *FAGUS SYLVATICA*

PHENOTYPIC PLASTICITY OF STOMATA AND LEAF PARAMETERS OF FAGUS SYLVATICA

Peter Petřík, Anja Petek, Alena Konôpková, Peter Fleischer, Daniel Kurjak
Technická Univerzita vo Zvolene, Katedra integrovanej ochrany lesa a krajiny, T. G. Masaryka 24,
96001 Zvolen, peterpetrik94@gmail.com

Summary

Is the original genotype creating static normative morphology or are individual provenances responsive and plastic to the new environment? In this paper, we measured variety of stomatal and leaf characteristics: stomatal density (SD), length of guard cell (LA), width of guard cell (WA), Stomatal Pore Index (SPI), leaf area (Sleaf), dry mass of leaf (mleaf), specific leaf area (SLA). We are evaluating data from two provenance sites located in Slovakia and Czech Republic. The relations between leaf parameters and climatic values of provenance origin places were examined. The final part was assessment of phenotypic plasticity of individual provenances. We used Phenotypic Plasticity Index (PIv) and Relative Distance Plasticity Index (RDPI).

Key words: European beech, Fagus sylvatica, provenance, stomatal traits, leaf traits, phenotypic plasticity

Súhrn

Vytvára pôvodný genotyp statické normatívne morfológické znaky, alebo jednotlivé proveniencie reagujú plasticky na nové prostredie? V tejto práci sme stanovovali listové a prieduchové parametre: hustota prieduchov (SD), dĺžka zatvárackej bunky (LA), šírka zatvárackej bunky (WA), prieduchový index (SPI), plocha listu (Sleaf), sušina listu (mleaf), špecifická plocha listu (SLA). Analyzovali sme dáta pochádzajúce z dvoch provenienčných plôch, ktoré sa nachádzajú v Slovenskej republike a v Českej republike. Skúmali sme možný vplyv klimatických faktorov v mieste pôvodu proveniencií na merané parametre. Poslednou časťou práce je určenie fenotypovej plasticity meraných parametrov jednotlivých proveniencií. Použili sme index fenotypovej plasticity (PIV) a index plasticity so zakomponovanou relatívnou vzdialenosťou (RDPI).

Kľúčové slová: buk lesný, Fagus sylvatica, proveniencia, prieduchové parametre, listové parametre, fenotypová plasticita

ÚVOD

Buk lesný je najrozšírenejšou drevinou v strednej Európe /1/ a taktiež najzastúpenejšou drevinou na území Slovenskej republiky /2/. Klimatické modely pre strednú Európu predpovedajú zvýšenie priemerných teplôt, ktoré následne vyvolajú intenzívne letné suchá /3/. Kombinácia teplotného stresu a stresu zo sucha môže zapríčiniť zníženie stability lesných ekosystémov. Populácie buka lesného, ktoré majú listové a prieduchové parametre zvyšujúce odolnosť voči teplotnému stresu a stresu zo sucha, budú mať teda evolučnú výhodu /4/. Jedným zo spôsobov ako zmierniť vplyv globálnej klimatickej zmeny, môže byť použitie nepôvodných proveniencií v lesníckej praxi. Analýza meraných parametrov nám poskytne

informácie, z ktorých môžeme určiť, do akej miery sú jednotlivé proveniencie potenciálne odolné voči stresu zo sucha.

MATERIÁL A METÓDA

Vzorky boli odoberané na dvoch klimaticky kontrastných provenienčných plochách buka lesného (*Fagus sylvatica* L.): Tále v Slovenskej republike (48°38'SŠ, 19°02'VD 810 m n.m.) a Zbraslav v Českej republike (49°57'SŠ, 14°22'VD, 360 m n.m.). Pre každú provenienciu sme odoberali listy z troch jedincov v dvoch blokoch a urobili dva otláčky na jedinca, čo je spolu dvanásť odtlačkov na provenienciu. Z každého odtlačku sme urobili 12 fotografií pomocou mikroskopu Motic BA210 s integrovanou kamerou (Motic Electric, Austria). Taktiež sme merali plochu a hmotnosť sušiny listov. Z nameraných parametrov boli odvodené parametre: prieduchový index /5/, SLA, a indexy plasticity /6, 7/.

Na štatistickú analýzu sme použili softvérové štatistické produkty Statistica 12 (Stat Soft. Inc, USA), R (R Core Team) a XLstat (Addinsoft). Na dvojfaktorovú analýzu variancie bol použitý softvér R. Vzťahy meraných parametrov a klimatických faktorov v mieste pôvodu boli modelované pomocou analýzy hlavných komponentov (PCA) v programe Statistica. Analýza hlavných komponentov bola urobená z kovariančných matíc. Táto matica bola vytvorená z transformovaných dát pomocou plug-inu XLstat. Nakoniec sme vyhodnotili cluster analýzu vychádzajúcu z euklidovskej vzdialenosti pre plasticitu proveniencií v softvére Statistica.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky dvojfaktorovej analýzy variancie sú uvedené v tabuľke 1. V tejto analýze sú faktormi proveniencie, provenienčné plochy a ich kombinovaný vplyv (interakcia). Vo všetkých prípadoch sa u meraných parametrov preukázali štatisticky významné rozdiely medzi provenienciami a aj provenienčnými plochami. Potvrdil sa teda vplyv dedičnosti testovaných znakov, ktoré formovali podmienky pôvodu, ako aj aklimácia stromov na rozdielne podmienky v mieste výsadby.

Prostredie s nižšou vlhkosťou indukuje zníženie hustoty prieduchov u listov a tvorbu kratších zatváracích buniek prieduchov /8, 9, 10/. Potvrdili sme podobné výsledky pri porovnaní proveniencií zo slovenskej aj českej provenienčnej plochy. Vo všetkých prípadoch bola hustota prieduchov a dĺžka zatváracích buniek nižšia u proveniencií rastúcich na českej ploche.

Tab. 1: Výsledky dvojfaktorovej analýzy variancie

faktor	parameter	L _A	SD	W _A	S _{leaf}	m _{leaf}
Proveniencia	F	57,95	17,65	6,19	10,83	3,79
	P	***	***	***	***	**
Plocha	F	1771,5	457,4	204,16	21,58	31,348
	P	***	***	***	***	***
Proveniencia × Plocha	F	18,09	4,642	29,23	3,92	2,72
	P	***	***	***	***	*

označenie významnosti vzťahu: *** = 0,001; ** = 0,01; * = 0,05

Vstupným dátovým súborom pre analýzu hlavných komponentov bola kovariačná matica 74 faktorov a štyroch hlavných parametrov (L_A, SD, SPI, SLA). Náš model s tromi hlavnými komponentami kumulatívne vysvetľuje 97,06% variancie. Hlavnými zložkami týchto vektorov sú: suma zrážok počas vegetačnej sezóny, minimálna teplota počas vegetačnej sezóny, priemerná teplota počas vegetačnej sezóny, zemepisná dĺžka, izotermalita

a sezónnosť teplôt. Všetky komponenty sú štatisticky významné vo vzťahu ku modelovaným parametrom (Tab. 2). Dostupnosť vody je podľa /11/ hlavný selekčný faktor u buka lesného a pôdna a geo-topografické faktory nehrajú u buka tak významnú rolu pri selekcii ako pôdna vlhkosť. Význam sumy zrážok za vegetačné obdobie pre formovanie priduchových charakteristík sa potvrdil aj v našej štúdií.

Tab. 2: Vlastné hodnoty (eigenvalues) a hodnota variancie, ktorú komponenty vysvetľujú

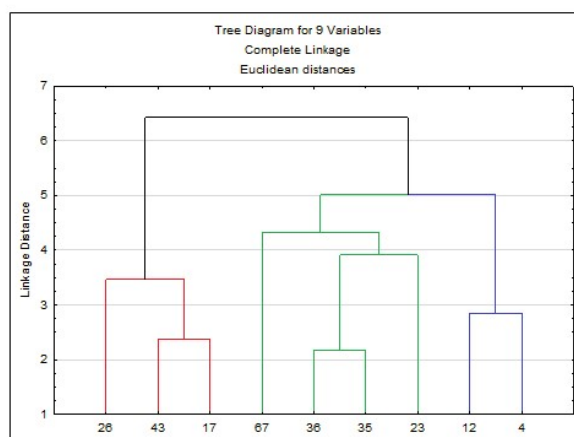
	komponent 1	komponent 2	komponent 3
Eigenvalue	0,519571	0,075959	0,016106
Variancia %	82,45729	12,05483	2,55609
Cumulatívna variancia %	82,45729	94,51212	97,06821
Signifikancia	S	S	S

Tab. 3: Indexy plasticity vypočítané z rozdielov medzi hodnotami parametrov zo slovenskej a českej provenienčnej plochy

prov.	PI_{LA}	PI_{SD}	PI_{SPI}	PI_{SLA}	$RDPI_{LA}$	$RDPI_{SD}$	$RDPI_{SPI}$	$RDPI_{SLA}$
FR4	0,18	0,34	0,55	0,34	0,10	0,21	0,38	0,68
LUX12	0,18	0,18	0,45	0,24	0,10	0,18	0,32	0,50
GB17	0,14	0,30	0,48	0,25	0,07	0,10	0,27	0,15
SWE23	0,09	0,25	0,38	0,39	0,15	0,25	0,35	0,17
DEN26	0,10	0,14	0,30	0,28	0,05	0,07	0,18	0,17
AU35	0,12	0,34	0,48	0,07	0,06	0,20	0,32	0,08
AU36	0,11	0,38	0,50	0,36	0,06	0,23	0,35	0,18
PL43	0,14	0,19	0,40	0,01	0,07	0,11	0,24	0,02
PL67	0,06	0,32	0,39	0,49	0,03	0,19	0,24	0,38

PI_{LA} – index plasticity dĺžky zatváracích buniek, PI_{SD} – index plasticity hustoty prieduchov, PI_{SPI} – index plasticity prieduchového indexu, PI_{SLA} – index plasticity špecifickej listovej plochy, $RDPI_{LA}$ – Index plasticity so zakomponovanou relatívnou vzdialenosťou dĺžky zatváracích buniek, $RDPI_{SD}$ – Index plasticity so zakomponovanou relatívnou vzdialenosťou hustoty prieduchov, $RDPI_{SPI}$ – Index plasticity so zakomponovanou relatívnou vzdialenosťou prieduchového indexu, $RDPI_{SLA}$ – Index plasticity so zakomponovanou relatívnou vzdialenosťou špecifickej listovej plochy

Cluster analýza rozdelila proveniencie do troch samostatných skupín. Proveniencie GB17, DEN26 a PL43 z prvej skupiny sú mierne plastické iba v parametri prieduchový index a vykazujú nízku plasticitu v ostatných parametroch. Proveniencie SWE23, AU35, AU36 a PL67 z druhej skupiny sú mierne plastické vo viacerých parametroch, menovite: prieduchový index, hustota prieduchov a špecifická listová plocha. Proveniencie FR4 a LUX12 z tretej skupiny sú vysoko plastické v parametri špecifická listová plocha a mierne plastické pri hustote prieduchov a prieduchovom indexe. Žiadna proveniencia nebola plastická v dĺžke zatváracích buniek (Tab. 3, Obr. 1). Podobné výsledky plasticity sa nachádzajú aj v práci ktorá analyzuje proveniencie na srbskej provenienčnej ploche /5/.



Obr. 1 Diagram cluster analýzy pre fenotypovú plasticitu

LITERATÚRA

- /1/ Ellenberg, H.: Vegetation Mitteleuropas mit den Alpen, 5, 1996: 1095–1097
- /2/ Kovats, R.S., Valentini R., Bouwer L.M, Georgopoulou E., Jacob D., Martin E., Rounsevell M., Soussana F.: Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part B: Regional Aspects. Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, 2015: 1267–1326
- /3/ Moravčík, M., Kovalčík, M., Bednářová, D., Halvoň, L., Kaštíer, P., Kunca, A., Longauerová, V., Miková, A., Oravec, M., Pajčík, J., Pavlenda, P., Sarvašová, Z., Schwarz, M.: Stav a vývoj lesov. Zelená správa, 2017: 10–11
- /4/ Geßler, A., Keitel, C., Kreuzwieser, J., Matyssek, R., Seiler, W., and Rennenberg, H.: Potential risks for European beech (*Fagus sylvatica* L.) in a changing climate. *Trees*, 21, 2006: 1–11
- /5/ Stojnić, S., Orlović, S., Trudić, B., Živković, U., von Wuehlich, G., and Miljković, D.: Phenotypic plasticity of European beech (*Fagus sylvatica* L.) stomatal features under water deficit assessed in provenance trial. *Dendrobiology* 73, 2015: 163–173
- /6/ Valladares, F., Wright, S.J., Lasso, E., Kitajima, K., and Percy, R.W.: Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a panamanian rainforest. *Ecology*, 81, 2000: 1925–1936
- /7/ Valladares, F., Sanchez-Gomez, D., and Zavala, M.A.: Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology*, 94, 2006: 1103–1116
- /8/ Bakker, J.C.: Effects of humidity on stomatal density and its relation to leaf conductance. *Scientia Horticulturae*, 48, 1991: 205–212
- /9/ Casson, S., and Gray, J.E.: Influence of environmental factors on stomatal development. *New Phytologist*, 178, 2008: 9–23
- /10/ Jordan, G.J., Carpenter, R.J., Koutoulis, A., Price, A., and Brodribb, T.J.: Environmental adaptation in stomatal size independent of the effects of genome size. *New Phytologist*, 205, 2015: 608–617
- /11/ Frank, A., Pluess, A.R., Howe, G.T., Sperisen, C., and Heiri, C.: Quantitative genetic differentiation and phenotypic plasticity of European beech in a heterogeneous landscape: Indications for past climate adaptation. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 26, 2017: 1–13

Pod'akovanie

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory APVV-0135-12 a APVV-0744-12.

VLIV NÍZKÝCH TEPLŮT NA VÝMĚNU PLYNŮ JUVENILNÍCH ROSTLIN MÁKU SETÉHO (*PAPAVER SOMNIFERUM* L.)

*THE CHANGES OF GAS EXCHANGE BY JUVENILIE PLANST OF OPIUM POPPY (*PAPAVER SOMNIFERUM* L.) UNDER LOW TEMPERATURE STRESS*

František Hnilička¹, Margita Kuklová², Jiří Kudrna¹, Ivica Pivková², Helena Hniličková¹, Ján Kukla², Katarína Sládeková²

¹ Česká zemědělská univerzita v Praze, Katedra botaniky a fyziologie rostlin, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 – Suchbátka, Česká republika, hnilička@af.czu.cz

² Ústav ekológie lesa SAV, L. Štúra 2, 960 53 Zvolen, SR, kuklova@ife.sk

Summary

The object of this thesis is to study the effect of low temperatures, gas exchange in a selected range of 18 varieties of opium poppy. Plants were grown under controlled conditions in grow chamber Conviron E8. Before starting the experiment and after regeneration, the temperature was at 10 ° C during day and 5 ° C over night. The experiment was initiated in phase of rosette development. At this developmental stage were the plants exposed to temperatures -5 ° C over night and 10 ° C during the day. The obtained results show that the influence of low temperature causes increase of rate of gas exchange. The genotypes Buddha and Opex non significant reduced the rate of photosynthesis, but the genotypes Orbis and Akvarel significant reduced photosynthesis rate under low temperature. The genotypes Tatranský, Maraton and Albín reduced the transpiration rate under low temperature stress. Control winter-crop variety Zeno increased the gas exchange under stress conditions. After regeneration were affected all genotypes of poppy increased the rate exchange. Most sensitive to low temperature were varieties Orfeus, Postomi, Akvarel, Orbis, Sokol and Marianne. As less sensitive to stress caused by low temperature seems to be spring varieties Opex, Buddha, Korneuburger Weisser, Albín.

Key words: opium poppy; Papaver somniferum; genotype; low temperature; photosynthesis; transpiration

Souhrn

Cílem práce bylo studium vlivu mrazové teploty (mrazové) na rychlost výměny plynů u 18 odrůd máku setého. Rostliny byly pěstovány v řízených podmínkách klimaboxu Conviron E8. Před zahájením experimentu a v době regenerace byla teplota ve dne 10 °C a v noci 5 °C. Pokus byl zahájen ve fázi přizemní růžice listů. V této vývojové fázi byly rostliny vystaveny teplotě -5 °C v noci a 10 °C ve dne. Ze získaných výsledků vyplývá, že vlivem působení nízké teploty dochází u všech jarních odrůd máku ke snížení výměny plynů. Neprůkazně snížily rychlost fotosyntézy odrůdy Buddha a Opex. Naopak průkazně snížení rychlosti fotosyntézy bylo stanoveno u odrůd Orbis a Akvarel. Snížení transpirace bylo zaznamenáno u odrůd Tatranský, Maraton a Albín. V případě ozimé odrůdy Zeno se rychlost výměny plynů i v nízkých teplotách zvyšovala. Na regeneraci reagovaly všechny odrůdy zvýšením fotosyntézy a transpirace, přičemž u odrůd, které citlivě reagovaly na nízkou teplotu, nebylo dosaženo hodnot z počátku pokusu. Jako tolerantní na nízkou teplotu se jeví odrůdy Albín, Opex, Buddha, Korneuburger Weisser a ozimá odrůda máku Zeno a jako citlivé odrůdy Orfeus, Marianne, Postomi, Orbis, Akvarel a Sokol.

Klíčová slova: mák setý; Papaver somniferum; genotypy; nízká teplota; fotosyntéza; transpirace

ÚVOD

Mák setý (*Papaver somniferum* L.) je starou kulturní rostlinou, která se pěstuje nejenom jako farmaceuticky významná plodina, ale také jako potravinářská plodina. V produkci makového semene patří Česká republika společně s Čínou, Indií a Tureckem k největším světovým producentům /1, 2/, i přestože pěstování máku je regulováno legislativními opatřeními /3/. Podle /4/ se totiž v České republice spotřebuje ročně cca 3,5 tisíce tun makového semene, přičemž roční produkce se pohybuje kolem 17 tisíc tun.

V České republice se smí pěstovat jen odrůdy se sníženým obsahem morfinu (cca 0,5 % morfinu v sušině tobolek), přičemž se jedná především o jařiny, neboť v sortimentu povolených odrůd jsou ozimy zastoupeny pouze odrůdami Zeno a Zeno plus. Vzhledem k tomu, že se mák poměrně brzy vysévá, tak existuje reálný předpoklad odolnosti juvenilních rostlin k nízkým teplotám. Vašák a kol. (2010) /5/ uvádí, že do nástupu rychlého růstu snášejí jarní mák nízké teploty. Během vzcházení rostlinky máku krátkodobě odolávají teplotám -6 °C až -8 °C.

Poté dle /6/ zvyšují rostliny svou odolnost proti nízkým teplotám. Toto období trvá do fáze vytvoření listové růžice, vývinu 8 - 10 listů. Jakmile však začne dlouhivý růst lodyhy, což bývá po 45-60 dnech od vzejití, tato odolnost se velmi výrazně snižuje a rostliny hynou již při -2 až -3 °C.

Na základě těchto údajů bylo cílem této práce stanovit nejenom vliv genotypu na změnu rychlosti výměny plynů juvenilních rostlin máku po působení nízkou teplotou, ale také stanovit její vliv na tyto fyziologické parametry.

MATERIÁL A METODIKA

Jako pokusný materiál bylo zvoleno 18 odrůd máku setého (*Papaver somniferum* L.) s rozdílným obsahem morfinu a rozdílnou barvou semen: Akvarel, Albín, Aplaus, Buddha, Florián, Korneuburger Weisser, Lazur, Major, Maratón, Marianne, Opál, Opex, Orbis, Orfeus, Postomi, Sokol, Tatranský a Zeno. Osivo sledovaných odrůd máku bylo dodáno z GB Oseva Pro s r.o., o. z. VÚO Opava a z firmy Český mák.

Rostliny máku setého byly po jedné pěstovány v nádobách o velikosti 7,5 x 7,5 cm, jako pěstební medium byla zvolena směs zahradního substrátu A s křemičitým pískem v poměru 2:1. Pěstební nádoby byly umístěny do řízených podmínek klimaboxu Conviron E8.

Před zahájením pokusu byla teplota ve dne 10 °C a v noci 5 °C. Při zahájení pokusu, když byly rostliny ve fázi tvorby přízemní růžice listů, byla nastavena teplota v noci na -5 °C a ve dne na 10 °C. Vlivu mrazové teplotě byly rostliny vystaveny po dobu jednoho týdne. Po uplynutí této doby byla teplota v noci opět zvýšena na +5 °C. Světelný režim (fotoperioda) po celou dobu pokusu byl 13 hodin světla a 11 hodin tmy. Maximální hodnota ozáření byla 800 μmol.

U juvenilních rostlin máku byla ve dvou denních intervalech měřena rychlost fotosyntézy a transpirace. Rychlost výměny plynů byla měřena přenosným infračerveným analyzátozem plynů LCpro+ (ADC BioScientific Ltd.). Teplota v měřící komůrce byla během měřících cyklů 15 °C ± 2 °C a hustota ozáření 800 μmol m⁻² s⁻¹.

Statistická analýza dat se uskutečnila pomocí softwaru STATISTICA, verze 11 (StatSoft Inc.).

VÝSLEDKY A DISKUSE

V tabulce 1 je uvedena rychlost vybraných odrůd máku setého v závislosti na působení nízké teploty. Z uvedené tabulky vyplývají rozdíly v rychlosti fotosyntézy jednotlivých odrůd máku setého. Průkazně nejnižší rychlost fotosyntézy ze sledovaných odrůd máku setého v juvenilní fázi vývoje vykazovaly např. odrůdy Marianne (4,48 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), Buddha (4,51 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) a Opál (4,70 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Naopak nejvyšší průměrná fotosyntéza byla zjištěna u odrůd Florián (5,68 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), Orfeus (5,70 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) a Zeno (6,65 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Rozdíly v rychlosti fotosyntézy v závislosti na genotypu uvádí např. /7/ pro rýži, /8/ pro pšenici, /9/ pro řepku.

Před zahájením pokusu byla fotosyntéza juvenilních rostlin máku nejnižší u odrůd Buddha (4,61 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) a Marianne (4,88 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), zatímco u odrůd Zeno (6,26 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) a Orfeus (6,06 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) nejvyšší. Po dvou dnech působení teploty $-5 \text{ }^\circ\text{C}$ bylo u většiny sledovaných odrůd máku zaznamenáno snížení fotosyntézy v porovnání s předcházejícím měřením v průměru o 0,21 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (3,93 %).

Neprůkazné zvýšení rychlosti fotosyntézy po dvou dnech působení nízké teploty bylo zaznamenáno u odrůdy Zeno a u odrůdy Opex se rychlost fotosyntézy nesnížila. U zbývajících odrůd se naopak rychlost fotosyntézy snížila. Nejnižší snížení fotosyntézy vykazovaly odrůdy Buddha a Lazur, u nichž byla rychlost fotosyntézy 4,52 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ a 4,95 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Nejvyšší snížení fotosyntézy bylo stanoveno u odrůd Marianne (4,49 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) a Opál (4,69 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), jak dokládá tab. 1.

Tab. 1.: Rychlost fotosyntézy ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) juvenilních rostlin máku setého v závislosti na délce působení mrazové teploty $-5 \text{ }^\circ\text{C}$ a následné regeneraci.

odrůda	Den pokusu			
	0. den	2. den	6. den	11. den
Orfeus	6,06 ± 0,25	5,70 ± 0,21	5,21 ± 0,33	5,82 ± 0,40
Marianne	4,88 ± 0,19	4,49 ± 0,18	4,15 ± 0,27	4,39 ± 0,31
Postomi	5,66 ± 0,25	5,38 ± 0,25	4,98 ± 0,43	5,32 ± 0,41
Orbis	5,38 ± 0,33	5,06 ± 0,27	4,47 ± 0,37	4,90 ± 0,43
Akvarel	5,36 ± 0,24	5,24 ± 0,24	4,40 ± 0,29	4,77 ± 0,19
Sokol	5,57 ± 0,25	5,46 ± 0,17	4,85 ± 0,26	5,12 ± 0,28
Tatranský	5,69 ± 0,16	5,00 ± 0,15	5,29 ± 0,29	5,41 ± 0,33
Maraton	5,15 ± 0,28	5,15 ± 0,28	4,74 ± 0,18	4,84 ± 0,52
Aplaus	5,24 ± 0,25	4,98 ± 0,24	4,77 ± 0,35	4,82 ± 0,34
Lazur	5,05 ± 0,21	4,95 ± 0,21	4,70 ± 0,39	4,75 ± 0,23
Major	5,36 ± 0,26	5,04 ± 0,24	4,82 ± 0,29	4,93 ± 0,42
Opál	5,10 ± 0,19	4,69 ± 0,18	4,44 ± 0,40	4,59 ± 0,38
Florián	5,47 ± 0,26	5,31 ± 0,21	5,09 ± 0,44	6,84 ± 0,43
Albín	5,52 ± 0,36	5,46 ± 0,29	5,30 ± 0,44	5,41 ± 0,21
Opex	4,89 ± 0,24	4,89 ± 0,31	4,79 ± 0,31	4,79 ± 0,27
Buddha	4,61 ± 0,26	4,52 ± 0,19	4,43 ± 0,37	4,47 ± 0,53
Korneuburger Weisser	4,95 ± 0,32	4,80 ± 0,14	4,70 ± 0,43	4,85 ± 0,24
Zeno	6,26 ± 0,36	6,32 ± 0,24	6,57 ± 0,35	7,45 ± 0,51

Z ní dále vyplývá, že na konci mrazového období se dále rychlost fotosyntézy u většiny sledovaných odrůd snižovala. Výjimku tvoří ozimá odrůda Zeno, u níž se naopak rychlost fotosyntézy v porovnání se začátkem pokusu zvýšila o 0,31 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Z testovaného sortimentu odrůd neprůkazně snížily rychlost fotosyntézy odrůdy Buddha a Opex. Naopak průkazné snížení rychlosti fotosyntézy bylo stanoveno u odrůd Orbis a Akvarel.

Na regeneraci reagovaly všechny odrůdy zvýšením fotosyntézy, přičemž u odrůd, které citlivě reagovaly na nízkou teplotu, nebylo dosaženo hodnot z počátku pokusu. Pouze u odrůd Florián a Zeno se rychlost fotosyntézy průkazně zvýšila na hodnoty $6,84 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ a $7,45 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Snížení rychlosti fotosyntézy v závislosti na působení nízkou teplotou v důsledku poklesu vodního potenciálu a následně uzavíráním průduchů /10/. Podle /11, 12/ je rychlost fotosyntézy ovlivněna teplotou. Tento závěr byl potvrzen, neboť u mrazové teploty bylo zaznamenáno snížení fotosyntézy ve srovnání s teplotou nad bodem mrazu. Shodně s výsledky /13/ je možné konstatovat, že velmi důležitá je také doba, po kterou nízká teplota působí. Rozdílná reakce rostlin na stres je potvrzena pracemi /14, 15/. Podle /13/ se fotosyntéza vrátí na původní úroveň tím dříve, čím kratší dobu byly rostliny vystaveny nízkým teplotám. Tento závěr nebyl potvrzen.

Změny rychlosti transpirace juvenilních rostlin máku v závislosti na působení nízké teploty a následné regenerace jsou zaznamenány v tabulce 2. Z uvedené tabulky je patrné, že transpirace se na počátku pokusu pohybovala v intervalu hodnot od $0,29 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Zeno) do $0,56 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Tatranský), přičemž průměrná hodnota transpirace je $0,41 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Tab. 2.: Rychlost transpirace ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) juvenilních rostlin máku setého v závislosti na délce působení mrazové teploty $-5 \text{ }^\circ\text{C}$ a následné regeneraci.

odrůda	Den pokusu			
	0. den	2. den	6. den	11. den
Orfeus	$0,42 \pm 0,03$	$0,36 \pm 0,04$	$0,43 \pm 0,08$	$0,47 \pm 0,06$
Marianne	$0,34 \pm 0,02$	$0,30 \pm 0,02$	$0,22 \pm 0,04$	$0,44 \pm 0,03$
Postomi	$0,38 \pm 0,06$	$0,32 \pm 0,03$	$0,29 \pm 0,02$	$0,35 \pm 0,04$
Orbis	$0,42 \pm 0,03$	$0,31 \pm 0,04$	$0,28 \pm 0,07$	$0,37 \pm 0,03$
Akvarel	$0,44 \pm 0,05$	$0,41 \pm 0,03$	$0,28 \pm 0,03$	$0,29 \pm 0,03$
Sokol	$0,41 \pm 0,02$	$0,31 \pm 0,06$	$0,29 \pm 0,02$	$0,35 \pm 0,05$
Tatranský	$0,56 \pm 0,04$	$0,44 \pm 0,18$	$0,29 \pm 0,06$	$0,38 \pm 0,02$
Maraton	$0,45 \pm 0,05$	$0,28 \pm 0,06$	$0,21 \pm 0,04$	$0,31 \pm 0,04$
Aplaus	$0,43 \pm 0,16$	$0,29 \pm 0,02$	$0,26 \pm 0,03$	$0,35 \pm 0,12$
Lazur	$0,46 \pm 0,11$	$0,30 \pm 0,06$	$0,25 \pm 0,19$	$0,36 \pm 0,02$
Major	$0,32 \pm 0,04$	$0,28 \pm 0,13$	$0,26 \pm 0,03$	$0,29 \pm 0,18$
Opál	$0,32 \pm 0,13$	$0,29 \pm 0,04$	$0,24 \pm 0,16$	$0,26 \pm 0,03$
Florián	$0,47 \pm 0,05$	$0,45 \pm 0,04$	$0,31 \pm 0,09$	$0,43 \pm 0,03$
Albín	$0,52 \pm 0,06$	$0,33 \pm 0,12$	$0,28 \pm 0,16$	$0,31 \pm 0,05$
Opex	$0,39 \pm 0,08$	$0,31 \pm 0,16$	$0,27 \pm 0,03$	$0,29 \pm 0,03$
Buddha	$0,35 \pm 0,02$	$0,31 \pm 0,09$	$0,29 \pm 0,11$	$0,26 \pm 0,08$
Korneuburger Weisser	$0,38 \pm 0,04$	$0,30 \pm 0,04$	$0,30 \pm 0,02$	$0,26 \pm 0,04$
Zeno	$0,29 \pm 0,03$	$0,42 \pm 0,05$	$0,44 \pm 0,06$	$0,65 \pm 0,06$

Po dvou dnech působení mrazové teploty $-5 \text{ }^\circ\text{C}$ bylo u všech sledovaných odrůd zaznamenáno statisticky průkazné snížení rychlosti transpirace ve srovnání s předcházejícím termínem měření. Nejvýraznější snížení transpirace bylo zjištěno např. u odrůd: Orbis (snížení o $0,11 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), Sokol (snížení o $0,10 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) a Tatranský (snížení o $0,12 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Na straně druhé nejnižší pokles transpirace na počátku působení nízké teploty bylo naměřeno u odrůd Florián ($0,45 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), Akvarel ($0,41 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) a Marianne ($0,30 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Výjimku z tohoto trendu vykazuje odrůda Zeno, u níž se naopak rychlost transpirace zvýšila o $0,13 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ na hodnotu $0,42 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Obdobně jako v případě rychlosti fotosyntézy byl

potvrzen genotypový rozdíl také v rychlosti transpirace. Uvedený závěr potvrzují např. práce /16, 17/, /18/ pro čiroky a /8/ pro pšenice.

Z tabulky 2 je dále patrné, že na konci působení mrazové teploty (6. den) se rychlost transpirace u téměř všech sledovaných odrůd máku snižovala. U odrůd Zeno a Orfeus se rychlost transpirace zvýšila o $0,07 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ a $0,02 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Uvedené zvýšení bylo průkazné pouze u odrůdy Orfeus. Průkazné snížení rychlosti transpirace bylo zjištěno u odrůd Tatranský, Maraton a Albín. Po opětovném navození teploty $5 \text{ }^\circ\text{C}$ se rychlost transpirace zvyšovala, ale nedosáhla hodnot na počátku pokusu. Pouze u odrůd Orfeus, Marianne a Zeno byla transpirace na konci pokusu vyšší nežli na jeho počátku, jak dokládá tab. 2. Vliv teploty na rychlost transpirace potvrzují např. /11, 16/. Tento závěr byl potvrzen, neboť u mrazové teploty bylo zaznamenáno snížení transpirace v porovnání s teplotami vyššími. Obdobně jako v případě fotosyntézy dochází ke snížení transpirace vlivem poklesu vodního potenciálu v buňkách a následnému postupnému uzavírání průduchů /10/. Rozdílná reakce rostlin na stres je potvrzena pracemi /15, 17/. Obdobně jako v případě fotosyntézy je návrat transpirace na původní úroveň závislá na délce působení stresu, jak uvádí /13/. Tento závěr opět nebyl potvrzen, neboť většina sledovaných odrůd máku měla rychlost transpirace v době regenerace nižší než na počátku pokusu. Pouze u odrůd Orfeus, Marianne a Zeno byla transpirace vyšší.

Závěrem je možné konstatovat, že jako tolerantní na nízkou teplotu se jeví odrůdy Albín, Opex, Buddha, Korneuburger Weisser a ozimá odrůda máku Zeno. Naopak jako citlivé na nízkou teplotu se jeví odrůdy Orfeus, Marianne, Postomi, Orbis, Akvarel a Sokol.

LITERATURA

- /1/ Özcan, M., M., Atalay, C.: Determination of seed and oil properties of some poppy (*Papaver somniferum* L.) varieties. *Grasas y aceites*, 57, 2006: 169-174.
- /2/ FAO, 2014: dostupné z www.faostat3.fao.org
- /3/ Zákon č. 167/1998 Sb. – Zákon o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů. 1998.
- /4/ Cihlář, P., Vašák, J., Kosek, Z.: Technologie máku setého pro dvoutunové výnosy. In: Bechyně, M., Vincenc, J. (Eds.) Řepka, Mák, Hořčice, 2003: 134-141
- /5/ Vašák, J. a kol.: Mák. Praha. Powerprint s.r.o., 2010: 352 s. ISBN 978-80-904011-8-1
- /6/ Fábry, A. a kol.: Olejniný. Praha. Mze ČR, 1992: 420 s. ISBN 80-7084-043-9.
- /7/ Ohsumi, A., Hamasaki, A., Nakagawa, H., Yoshida, H., Shiraiwa, T., Horie, T.: A Model Explaining Genotypic and Ontogenetic Variation of Leaf Photosynthetic Rate in Rice (*Oryza sativa*) Based on Leaf Nitrogen Content and Stomatal Conductance. *Annals of Botany*, 99, 2007: 265-273.
- /8/ Hnilička, F., Petr, J., Hnilíčková, H., Bláha, L.: The effect of abiotic stresses on rate of photosynthesis and formation of dry matter in winter wheat plants. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 36, 2005: 1-9.
- /9/ Prášil, I., Zámečník, J.: The use of a conductivity measurement method for assessing freezing injury. I. Influence of leakage time, segment number, size and shape in a sample on evaluation of the degree of injury. *Elsevier*, 40, 1998: 1-10.
- /10/ Ashraf, M., Harris, P.: Abiotic stresses: plant resistance through breeding and molecular approaches. Food Products Press. New York. Crop science, 2006: 725 s.
- /11/ Larcher, W.: Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups. Springer. Berlin, 2003: 513 s.
- /12/ Kirschbaum, M. U. F.: Direct and indirect climate change effects on photosynthesis and transpiration. *Plant Biology*, 6, 2004: 242-253
- /13/ Hasselt van P. R., Wijk van C. K.: Plant-Breeding and Seed Science. 1997: 41.
- /14/ Sharkey, T. D., Seemann, J. R.: Mild water stress effects on carbon-reduction-cycle intermediates, ribulose biphosphate carboxylase activity, and spatial homogeneity of photosynthesis in intact leaves. *Plant Physiology*, 89, 1989: 1060-1065.
- /15/ Munns, R.: Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*, 25, 2002: 239-250.
- /16/ Siosemardeh, A., Ahmadi, A., Poustini, K., Ebrahimzadeh, H.: Stomatal and nonstomatal limitations to photosynthesis and their relationship with drought resistance in wheat cultivars. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, 35, 2004: 93-106.

- /17/ Flexas, J., Bota, J., Loreto, F., Cornic, G., Sharkey, T. D.: Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology*, 6, 2004: 269-279.
- /18/ Choudhary, S., Sinclair, T. R.: Hydraulic conductance differences among sorghum genotypes to explain variation in restricted transpiration rates. *Functional Plant Biology*, 41, 2013: 270-275.

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory S grantu MŠMT ČR.

ALTERNATÍVNE PRÍSTUPY BOJA SO SUCHOM

ALTERNATIVE APPROACH TO THE FIGHT AGAINST DROUGHT

Marcel Golian¹, Oleg Paulen², Miroslav Šlosár¹

¹ Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FZKI, Katedra zeleninárstva, Tr. Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika, marcel.golian1@gmail.com, +421 915 158 677

² Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Katedra ovocinárstva vinohradníctva a vinárstva, Tr. Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika

Summary

The work summarizes scientific knowledge about drought as continuously increasing problem in cultivation of agricultural crops. Less used though notorious knowledge about alternative possibilities and approaches to fight drought are presented that may contribute a lot keeping productive growths in satisfying condition.

Key words: drought, agriculture, rhizobacteria

Súhrn

Práca sumarizuje vedecké poznatky o suchu, ako stále narastajúcom probléme pri pestovaní poľnohospodárskych plodín. Prezentuje známe, avšak málo používané poznatky o alternatívnych možnostiach a prístupoch boja proti suchu, ktoré môžu do značnej miery pomôcť udržať produkčné porasty v postačujúcej kondícii.

Kľúčové slová: sucho, poľnohospodárstvo, rizobaktérie

ÚVOD

Sucho je popri iných, jedným z hlavných limitujúcich obmedzení poľnohospodárskej produkcie na celom svete a pravdepodobne bude ďalej narastať. Rôzne druhy rizobaktérií podporujúcich rast rastlín (PGPR) by mohli hrať významnú úlohu pri zmierňovaní stresu rastlín spôsobeného suchom. Tieto užitočné mikroorganizmy kolonizujú rizosféru / endorizosféru rastlín a podporujú toleranciu voči suchu tým, že produkujú exolysacharidy (EPS), fytohormóny, deaminázu 1-aminocyklopropán-1-karboxylátu (ACC), prchavé zlúčeniny indukujúce akumuláciu osmolytov, antioxidantov, regulujú prebúdzanie alebo zhášanie génov reagujúcich na stres a spôsobujú zmeny koreňovej morfológie pri získavaní tolerancie voči suchu. Termín indukovaná systémová tolerancia (IST) bol vytvorený pre fyzikálne a chemické zmeny indukované mikroorganizmami v rastlinách, vedúce k zvýšeniu tolerancie voči stresu zo sucha /1/. Rizobaktérie podporujúce rast rastlín zvyčajne uľahčujú ich rast buď priamo formou získavania živín (dusík, fosfor a základné minerály), produkciou rastlinných hormónov alebo nepriamo znížením inhibičných účinkov rôznych patogénov na rast a vývoj rastlín. Užitočné rizobaktérie môžu znížiť globálnu závislosť od nebezpečných poľnohospodárskych chemikálií, ktoré destabilizujú agroekosystémy /2/.

MATERIÁL A METÓDA

Príspevok je rešeršou aktuálnych vedeckých poznatkov z oblasti alternatívnych prístupov pri riešení problémov so stále sa zvyšujúcim vodným deficitom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Autori /3, 4/ uvádzajú, že mikroorganizmy obývajúce koreňovú zónu rastlín formujú zložitú ekologickú komunitu. Zmeny v rozložení baktérií boli pozorované pri endosfére (vo vnútri koreňa), rizosfére a okolitej pôde v porovnaní s neobrábanou pôdou pri pestovaní papriky (*Capsicum annuum* L.) citlivej na sucho v púštnych podmienkach. Skutočnosť naznačuje selektívny tlak na štruktúru mikrobiálneho spoločenstva určený aktivitou rastliny. V podobnej štúdií vykazovali rastliny papriky inokulované bakteriálnymi izolátmi z púští vyššiu toleranciu k nedostatku vody v porovnaní s kontrolou. Očkovanie spôsobilo nárast objemu koreňového systému (až o 40%), čo zlepšilo schopnosť rastlín absorbovať vodu /5/. Zistilo sa, že táto interakcia medzi rastlinou a mikróbom je iba obmedzene špecifikovaná druhovo a baktérie podporujúce rast rastlín fungujú aj pri iných druhoch ako bol druh z ktorého koreňovej sféry boli izolované. Baktérie izolované z pôd s vyššou salinitou preukázali toleranciu proti rôznym druhom stresu a boli schopné rôznymi vzťahmi podporovať rast rastlín. To naznačuje že majú potenciál podporovať rast rastlín aj v zasolených pôdach a podmienkach stresu zo sucha /6/.

Stres so sucha je vážnym environmentálnym obmedzením poľnohospodárskej produktivity. Interakcia medzi rastlinou a PGPR v podmienkach sucha ovplyvňuje nielen rastlinu, ale tiež mení vlastnosti pôdy. Vývoj odrôd plodín odolných voči suchu prostredníctvom genetického inžinierstva a šľachtenia rastlín je nevyhnutný, ale je to časovo náročný proces, zatiaľ čo inokulácia PGPR na zmiernenie stresu v rastlinách otvára novú kapitolu v aplikácii mikroorganizmov v poľnohospodárstve suchých pôd. Vzhľadom na to, že sú k dispozícii súčasné vedecké informácie, je potrebný zosúladený budúci výskum, pokiaľ ide o identifikáciu správneho druhu mikroorganizmov a riešenie otázky systémov dodávania a vyhodnocovania potenciálnych organizmov v teréne /1/.

Mechanizmy pôsobenia mikroorganizmov na korene s cieľom zmiernenia stresu rastlín sú rôzne. Priamo podporujú príjem mikroelementov a ovplyvňujú hormonálnu rovnováhu rastliny (produkcia kyseliny abscisovej (ABA), kyseliny gibberelovej, kyseliny indolyloctovej), nepriamo stimulujú odolnosť proti fytopatogénom, rozkladajú prekursor etylénu ACC čím znižujú hladinu etylénu v koreňoch stresovaných rastlín (aj v iných častiach), indukujú systémovú toleranciu rôznymi zlúčeninami produkciou exopolysacharidov /7, 8, 9, 10, 11/. Vybrané druhy baktérií (*Acinetobacter*, *Pseudomonas*) v podmienkach stresu zo sucha podporili aktivitu letorastov, biomasy listov a fotosyntetickú aktivitu. PGR sú schopné prenikať cez kôru koreňa do cievnych zväzkov, ktorými sú rozvádzané do rôznych častí rastliny a žijú ako endofyty /12/. Baktérie stimulujú rast rastlín mobilizáciou živín v pôde, produkujú rad regulátorov rastu rastlín, chránia rastliny pred fytopatogénmi tým, že ich kontrolujú alebo inhibujú, zlepšujú štruktúru pôdy a bioremediujú znečistené pôdy izoláciou toxických skupín ťažkých kovov a degradovaním xenobiotických zlúčenín (napr. pesticídy) /13, 14, 15, 16/. V súčasnosti získavajú biologické prístupy na zlepšenie pestovania plodín silné postavenie medzi agronómami a ekológmi. V tejto súvislosti existuje celosvetový prebiehajúci výskum s cieľom preskúmať širokú škálu rizobaktérií, ktoré majú nové vlastnosti ako detoxikačné činitele ťažkých kovov /17, 18/, degradácia/tolerancie pesticídov /19/, tolerancia zasolenosti /20/21/, biologická kontrola patogénov a hmyzu /22, 23/ súčasne s normálnymi vlastnosťami podporujúcimi rast rastlín a teda produkujú látky ako sú fytohormóny /24, 25/, siderofor /26, 27/, 1-aminocyklopropan-1-karboxylovej kyseliny, kyanovodík (HCN), amoniak /28/ a tiež fosfáty rozpúšťajúcich baktérií /29/ a ďalšie. Práve z tohto dôvodu sú rozmanité symbiotické (*Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*) a nesymbiotické baktérie (*Pseudomonas*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Azomonas*) a rizobaktérie po celom svete používané ako biopreparáty na podporu rastu a vývoja rastlín.

Je známe, že chemikálie, ktoré sú vylučované koreňmi rastlín do pôdy, sú všeobecne nazývané ako koreňové exudáty. Exudácia širokého spektra chemických zlúčenín upravuje chemické a fyzikálne vlastnosti pôdy a tak reguluje štruktúru pôdnej mikrobiálnej komunity v bezprostrednej blízkosti koreňového povrchu /30/. V skutočnosti niektoré exudáty pôsobia ako repelenty proti mikroorganizmom, zatiaľ čo iné pôsobia ako ich atraktanty. Zloženie týchto exudátov závisí od fyziologického stavu a druhu rastlín a mikroorganizmov /31/. Navyše tieto exudáty podporujú symbiotické interakcie medzi rastlinami a inhibujú rast konkurenčných rastlinných druhov /1, 32/.

Endofytické baktérie indukujú odolnosť až toleranciu abiotického stresu, a to nielen stresu zo sucha, ale aj chladového stresu a stresu so zvýšenej salinity prostredia /33/. Trojitá mutualistická symbióza zahrnujúca vírus, endofytickú hubu a kolonizovanú rastlinu pri vyvolaní tolerancie vysokých teplôt ukázala, že keď bola huba zbavená vírusu nebola schopná vyvolať teplotnú toleranciu, ale po opätovnom introdukovaní vírusu sa znova dostavila tolerancia vysokej teploty /34/.

Mechanizmy PGPR zmierňujúce toleranciu stresu zo sucha

- PGPR sú schopné syntetizovať hormóny stimulujúce rast a delenie buniek a rastliny sú vďaka tomu tolerantné proti environmentálnym stresom. IAA pochádzajúca z PGPR podporuje tvorbu koreňov a koreňových vláskov /35/
- Tvorba prchavých látok nastáva, keď sú rastliny vystavené veľkému množstvu stresov /36, 37/. Tieto sú signálmi pre spustenie primárnych a systémových reakcií v rámci tej istej ale aj v susedných rastlín, ktoré ich majú chrániť pred stresom – napríklad zmenšiť straty vody uzatvorením prieduchov /38, 39, 40/.
- Rizobaktérie produkujú látky upravujúce elasticitu bunkových stien a zlepšujúce stabilitu membrán buniek aktiváciou antioxidantného obranného systému. Uvedeným sa zvyšuje tolerancia na rastlín na sucho /41/.
- Za stresových podmienok rastlinný hormón etylén endogénne reguluje úroveň homeostázy, čo vedie k zníženiu rastu koreňov a výhonkov. Prekurzor etylénu ACC sa zachytáva a degraduje pomocou baktérií produkujúcich ACC deaminázu aby sa umožnilo zásobovanie dusíkom a energiou /42/. Baktérie tak znižujú škodlivý účinok etylénu, zmierňujú stres rastlín a podporujú ich rast. Rizobaktérie pochádzajúce z miest, kde sa opakujú suché obdobia sú pravdepodobne viac prispôbené stresu a viac podporujú rast rastlín ako baktérie izolované z miest s dostatkom vlhky.
- Adaptácia rastlín na stres zo sucha je spojená s metabolickými zmenami, ktoré vedú k hromadeniu niekoľkých kompatibilných solí / osmolytov, ako je prolín, cukry, polyamíny, betaíny, kvartérne amóniové zlúčeniny, viacmocné alkoholy a ďalšie aminokyseliny a vodné stresové proteíny) /43/. PGPR vylučujú osmolity v reakcii na stres zo sucha, ktoré pôsobia synergicky s rastlinnými produktmi a stimulujú rast rastlín /44/. Všeobecne zvýšená akumulácia rozpustných látok vyvoláva reakciu rastlín, ktorá ich chráni proti strate vody spôsobenej osmotickým stresom.
- Produkcia exopolysacharidov (EPS) mikróbmami ich chráni pred nehostinnými podmienkami a umožňuje ich prežitie /45/. EPS sa uvoľňujú do pôdy ako kapsulárne a slizové materiály, vytvárajú ochranné kapsuly okolo agregátov pôdy /46, 47/. Tvorí mikroprostredie, ktoré zadržiava vodu a vysychá pomalšie ako okolité prostredie, čím chráni baktérie a korene rastlín. V rizosfére slnečnice inokulovanej rizóbnym kmeňom produkujúcim EPS, v podmienkach sucha bol pozorovaný významný nárast priľnavosti pôdy ku koreňom, čo vedie k zvýšenému príjmu vody a živín z pôdy
- Molekulárne štúdie na zmierňovanie stresu sucha zo strany PGPR - na základe pokusov sa predpokladá, že bakteriálna inokulácia môže aktivovať signalizačné gény závislé od kyseliny abscisovej, ktoré poskytujú rezistenciu proti suchu /48/.

Mikrobiální syntéza fytohormonového auxínu (kyselina indolyl-3-octová / kyselina indolyl-octová / IAA) je známa už dlho. Uvádza sa, že 80% mikroorganizmov izolovaných z rhizosféry rôznych plodín má schopnosť syntetizovať a uvoľňovať auxíny ako sekundárne metabolity /49/. Táto IAA vylučovaná rhizobaktériami zasahuje do mnohých rastlinných vývinových procesov. IAA zohráva veľmi dôležitú úlohu v interakciách medzi rizobaktériami a rastlinami. Súvisí tiež s obrannými mechanizmami rastlín proti množstvu fytopatogénnych baktérií /50/.

LITERATÚRA

- 1/ Vurukonda, S.S.K.P, Vardharajula, S., Shrivastava, M., Skz, A.: Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting *Rhizobacteria*. Microbiological Research, Volume 184, 2016, Pages 13-24, ISSN 0944-5013, <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.12.003>.
- 2/ Ahemad, M., Kibret, M.: Mechanisms and applications of plant growth promoting *Rhizobacteria*: Current perspective. Journal of King Saud University - Science, 2014, Volume 26, Issue 1, Pages 1-20, ISSN 1018-3647, <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>.
- 3/ Lugtenberg, B., Kamilova, F.: Plant-growth-promoting rhizobacteria, 2009, doi:10.1146/annurev.micro.62.081307.162918
- 4/ Schmidt, M., Janse Van Rensburg, P. J., De Meyer, H., Meyer, W. E., Auret, F. D.: Observation of low-temperature annealing of a primary defect in gallium nitride. Physica B: Condensed Matter, 2004, 439, 64-66. doi:10.1016/j.physb.2013.11.008
- 5/ Marasco R, Rolli E, Ettoumi B, Vigani G, Mapelli, F.: A Drought Resistance-Promoting Microbiome Is Selected by Root System under Desert Farming. 2012, PLOS ONE 7(10): e48479. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048479>.
- 6/ Mapello, F., Marasco, R., Rolli, E., Barbato M., Chérif, H., Gues, H.: Potential for plant growth promotion of rhizobacteria associated with *Salicornia* growing in Tunisian hypersaline soils. Biomed. Res. Int., 248078 (2013).
- 7/ Yang, J., Kloepper, J. W., Ryu, C.: Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. Trends in Plant Science, 2009, 14(1), 1-4. doi:10.1016/j.tplants.2008.10.004
- 8/ Dimpka, C. , Weinand, T., Asch, F.: Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. Plant, Cell & Environment, 2009, 32: 1682-1694. doi:10.1111/j.1365-3040.2009.02028.x
- 9/ Timmusk, S., Nevo, E.: Plant root associated biofilms. Bacteria in Agrobiolgy, 2011, 3, 285-300
- 10/ Kim, Y.C, Glick, B., Bashan, Y., Ryu, C.: Enhancement of plant drought tolerance by microbes. *R. aroca* (Ed.), Plant Responses to Drought Stress. 2013, Springer Verlag, Berlin,.
- 11/ Timmusk, S., El-Daim, I.A., Copolovici, L., Tanilas, T., Kännaste, A.: Drought-Tolerance of Wheat Improved by Rhizosphere Bacteria from Harsh Environments: Enhanced Biomass Production and Reduced Emissions of Stress Volatiles. 2014, PLOS ONE 9(5): e96086. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096086>
- 12/ Rolli, E. , Marasco, R. , Vigani, G. , Ettoumi, B. , Mapelli, F. , Deangelis, M. L., Gandolfi, C. , Casati, E. , Previtali, F. , Gerbino, R. , Pierotti Cei, F. , Borin, S. , Sorlini, C. , Zocchi, G., Daffonchio, D.: Root bacteria protect plants from drought. 2015, Environ Microbiol, 17: 316-331. doi:10.1111/1462-2920.12439
- 13/ Ahemad, M., Malik, A.: Bioaccumulation of heavy metals by zinc resistant bacteria isolated from agricultural soils irrigated with wastewater. 2011, Bacteriol J, 2(1), 12-21.
- 14/ Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., Ahmed, I.: Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: A review. Annals of Microbiology. 2010, 60(4), 579-598. doi:10.1007/s13213-010-0117-1
- 15/ Rajkumar, M., A, N., Prasad, M. N. V., Freitas, H.: Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. Trends in Biotechnology. 2010, 28(3), 142-149. doi:10.1016/j.tibtech.2009.12.002
- 16/ Braud, A., Jézéquel, K., Bazot, S., Lebeau, T.: Enhanced phytoextraction of an agricultural cr- and pb-contaminated soil by bioaugmentation with siderophore-producing bacteria. Chemosphere. 2009, 74(2), 280-286. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.09.013
- 17/ Ma, Y., Rajkumar, M., Luo, Y., Freitas, H. : Inoculation of endophytic bacteria on host and non-host plants-effects on plant growth and ni uptake. Journal of Hazardous Materials. 2011, 195, 230-237. doi:10.1016/j.jhazmat.2011.08.034
- 18/ Wani, P. A., Khan, M. S.: Bacillus species enhance growth parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in chromium stressed soils. Food and Chemical Toxicology. 2010, 48(11), 3262-3267. doi:10.1016/j.fct.2010.08.035

- 19/ Ahemad, M., Khan, M. S.: Ecological assessment of biotoxicity of pesticides towards plant growth promoting activities of pea (*Pisum sativum*)-specific rhizobium sp. strain MRP1. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 2012, 24(4), 334-343.
- 20/ Tank, N., Saraf, M.: Salinity-resistant plant growth promoting rhizobacteria ameliorates sodium chloride stress on tomato plants. *Journal of Plant Interactions*. 2010, 5(1), 51-58. doi:10.1080/17429140903125848
- 21/ Mayak, S., Tirosh, T., Glick, B. R.: Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2004, 42(6), 565-572. doi:10.1016/j.plaphy.2004.05.009
- 22/ Hynes, R. K., Leung, G. C. Y., Hirkala, D. L. M., Nelson, L. M.: Isolation, selection, and characterization of beneficial rhizobacteria from pea, lentil, and chickpea grown in western Canada. *Canadian Journal of Microbiology*. 2008, 54(4), 248-258. doi:10.1139/W08-008
- 23/ Murphy, J. F., Zehnder, G. W., Schuster, D. J., Sikora, E. J., Polston, J. E., Kloepper, J. W. Plant growth-promoting rhizobacterial mediated protection in tomato against tomato mottle virus. *Plant Disease*. 2008, 84(7), 779-784. doi:10.1094/PDIS.2000.84.7.779
- 24/ Ahemad, M., Khan, M. S.: Evaluation of plant-growth-promoting activities of rhizobacterium *Pseudomonas putida* under herbicide stress. *Annals of Microbiology*. 2008, 62(4), 1531-1540. doi:10.1007/s13213-011-0407-2
- 25/ Tank, N., Saraf, M.: Salinity-resistant plant growth promoting rhizobacteria ameliorates sodium chloride stress on tomato plants. *Journal of Plant Interactions*. 2010, 5(1), 51-58. doi:10.1080/17429140903125848
- 26/ Jahanian, A., Chaichi, M. R., Rezaei, K., Rezayazdi, K., Khavazi, K.: The effect of plant growth promoting rhizobacteria (pgpr) on germination and primary growth of artichoke (*Cynara scolymus*). *Int J Agri Crop Sci*. 2012, 4, 923-929.
- 27/ Tian, F., Ding, Y., Zhu, H., Yao, L., Du, B.: Genetic diversity of siderophore-producing bacteria of tobacco rhizosphere. [Diversidade genética de Bactérias de rizosfera de tabaco produtoras de sideróforos] *Brazilian Journal of Microbiology*. 2009, 40(2), 276-284. doi:10.1590/S1517-83822009000200013
- 28/ Khan, A. G.: Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2005, 18(4), 355-364. doi:10.1016/j.jtemb.2005.02.006
- 29/ Ahemad, M., Khan, M. S.: Evaluation of plant-growth-promoting activities of *Rhizobacterium pseudomonas putida* under herbicide stress. *Annals of Microbiology*. 2012, 62(4), 1531-1540. doi:10.1007/s13213-011-0407-2
- 30/ Dakora, F. D., Phillips, D. A.: Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. *Plant and Soil*. 2002, 245(1), 35-47. doi:10.1023/A:1020809400075
- 31/ Kang, B. G., Kim, W. T., Yun, H. S., Chang, S. C.: Use of plant growth-promoting rhizobacteria to control stress responses of plant roots. *Plant Biotechnology Reports*. 2010, 4(3), 179-183. doi:10.1007/s11816-010-0136-1
- 32/ Nardi, S., Concheri, G., Pizzeghello, D., Sturaro, A., Rella, R., Parvoli, G.: Soil organic matter mobilization by root exudates. *Chemosphere*. 2000, 41(5), 653-658. doi:10.1016/S0045-6535(99)00488-9
- 33/ Theocharis, A., Bordiec, S., Fernandez, O., Paquis, S., Dhondt-Cordelier, S., Baillieux, F., Barka, E. A.: Burkholderia phytofirmans PsJN primes *Vitis vinifera* L. and confers a better tolerance to low nonfreezing temperatures. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2012, 25(2), 241-249. doi:10.1094/MPMI-05-11-0124
- 34/ Márquez, L. M., Redman, R. S., Rodriguez, R. J., Roossinck, M. J.: A virus in a fungus in a plant: Three-way symbiosis required for thermal tolerance. *Science*. 2007, 315(5811), 513-515. doi:10.1126/science.1136237
- 35/ Cassán, F., Maiale, S., Masciarelli, O., Vidal, A., Luna, V., Ruiz, O.: Cadaverine production by *Azospirillum brasilense* and its possible role in plant growth promotion and osmotic stress mitigation. *European Journal of Soil Biology*. 2009, 45(1), 12-19. doi:10.1016/j.ejsobi.2008.08.003
- 36/ Loreto, F., Schnitzler, J.: Abiotic stresses and induced BVOCs. *Trends in Plant Science*. 2010, 15(3), 154-166. doi:10.1016/j.tplants.2009.12.006
- 37/ Holopainen, J. K., Gershenzon, J.: Multiple stress factors and the emission of plant VOCs. *Trends in Plant Science*. 2010, 15(3), 176-184. doi:10.1016/j.tplants.2010.01.006
- 38/ Heil, M., Bueno, J. C. S.: Within-plant signaling by volatiles leads to induction and priming of an indirect plant defense in nature. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007, 104(13), 5467-5472. doi:10.1073/pnas.0610266104
- 39/ Choudhary, D. K., Johri, B. N., Prakash, A.: Volatiles as priming agents that initiate plant growth and defence responses. *Current Science*. 2008, 94(5), 595-604.
- 40/ Niinemets, U.: Mild versus severe stress and BVOCs: Thresholds, priming and consequences. *Trends in Plant Science*. 2010, 15(3), 145-153. doi:10.1016/j.tplants.2009.11.008

- 41/ Creus, C. M., Sueldo, R. J., Barassi, C. A.: Water relations and yield in azospirillum-inoculated wheat exposed to drought in the field. *Canadian Journal of Botany*. 2004, 82(2), 273-281. doi:10.1139/b03-119
- 42/ Glick, B. R.: Bacterial ACC deaminase and the alleviation of plant stress. 2004, doi:10.1016/S0065-2164(04)56009-4
- 43/ Close, T. J.: Dehydrins: Emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins. *Physiologia Plantarum*. 1996, 97(4), 795-803. doi:10.1034/j.1399-3054.1996.970422.x
- 44/ Paul, M. J., Primavesi, L. F., Jhurrea, D., Zhang, Y.: Trehalose metabolism and signaling. 2008, doi:10.1146/annurev.arplant.59.032607.092945
- 45/ Konnova, S. A., Brykova, O. S., Sachkova, O. A., Egorenkova, I. V., Ignatov, V. V.: Protective role of the polysaccharide-containing capsular components of azospirillum brasilense. *Microbiology*. 2001, 70(4), 436-440. doi:10.1023/A:1010434227671
- 46/ Tisdall, J. M., Oades, J. M.: Organic matter and water-stable aggregates in soils. *Journal of Soil Science*. 1982, 33(2), 141-163. doi:10.1111/j.1365-2389.1982.tb01755.x
- 47/ Sandhya, V., Z., A. S., Grover, M., Reddy, G., Venkateswarlu, B.: Alleviation of drought stress effects in sunflower seedlings by the exopolysaccharides producing *Pseudomonas putida* strain GAP-p45. *Biology and Fertility of Soils*. 2009, 46(1), 17-26. doi:10.1007/s00374-009-0401-z
- 48/ Belimov, A. A., Dodd, I. C., Hontzeas, N., Theobald, J. C., Safronova, V. I., Davies, W. J.: Rhizosphere bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase increase yield of plants grown in drying soil via both local and systemic hormone signalling. *New Phytologist*. 2009, 181(2), 413-423. doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02657.x
- 49/ Patten, C. L., Glick, B. R.: Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Canadian Journal of Microbiology*. 1996, 42(3), 207-220. doi:10.1139/m96-032
- 50/ Spaepen, S., Vanderleyden, J.: Auxin and plant-microbe interactions *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2011, 0.1101/cshperspect.a001438

PodĎakovanie

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory výskumného projektu VEGA 1/0087/17

INOVACE PĚSTITELSKÉ TECHNOLOGIE V TRAVÁCH NA SEMENO

INNOVATION OF TECHNOLOGY IN GROWING GRASSES FOR SEED

Jan Frydrych, Pavla Volková, Milena Pikulová

OSEVA vývoj a výzkum s. r. o., Hamerská 698, 756 54 Zubří, frydrych@oseva.cz

Summary

Innovation of technology in growing grasses for seed and the transfer of new research results into farming practice allows growers to achieve stable seed yields and the required seed quality in current growing technologies. At the site in 2015 and 2016 in Zubří, field trials with *Lolium multiflorum* subsp. *italicum* in the following variants of soil technology: 1 – classic preparation (control), 2 – reduced preparation (discing, soil preparation + sowing) and 3 – non-ploughing sowing were established. Both in the years 2015 and 2016, the experiment was influenced by the meteorological conditions, especially in the autumn of the experimental period, the emergence and involvement of the growth of *Lolium multiflorum* subsp. *italicum*. The highest seed yield of *Lolium multiflorum* subsp. *italicum* and straw yield in the two harvesting years 2016 and 2017 the variant was based on classical ploughing technology. Variants based on reduced soil preparation and in particular the by the non-ploughing sowing, have been strongly influenced by meteorological conditions. The results confirm as an optimal variant for the establishment of a *Lolium multiflorum* subsp. *italicum* for seed through soil preparation technology.

Key words: innovation, grasses grown for seed, Lolium multiflorum subsp. italicum, soil utilization technology, seed yield

Souhrn

Inovace pěstitelské technologie v travách na semeno a předávání nových výsledků výzkumu do zemědělské praxe umožňuje pěstitelům dosahovat stabilní výnosy semene a požadovanou kvalitu osiva v současných pěstitelských technologiích. Na stanovišti v letech 2015 a 2016 v Zubří byly založeny polní pokusy s jíllem mnohokvětým v následujících variantách technologie zpracování půdy: 1 – klasická příprava (kontrola), 2 – redukováná příprava (diskování, příprava půdy + setí) a 3 – bezorebné setí. V obou letech 2015 a 2016 byl pokus ovlivněn meteorologickými podmínkami zejména na podzim v období po zasetí pokusu, vzejití a zapojení porostu jílků mnohokvětého. Nejvyšší výnos semen jílků mnohokvětého a výnos slámy dosáhla ve dvou sklizňových letech 2016 a 2017 varianta jílků založená klasickou technologií orbou. Varianty založené redukovanou přípravou půdy a zejména bezorebným setím byly silně ovlivněny meteorologickými podmínkami. Výsledky potvrzují jako optimální variantu pro zakládání jílků mnohokvětého na semeno technologii přípravy půdy orbou.

Klíčová slova: inovace, trávy pěstované na semeno, jílek mnohokvětý Lolium multiflorum subsp. italicum, technologie zpracování půdy, výnos semen

ÚVOD

V současnosti řeší OSEVA vývoj a výzkum s.r.o. v Zubří společně se Zemědělským výzkumem, spol s r.o. v Troubsku, Mendelovou zemědělskou univerzitou v Brně a Sdružením

pěstitelů travních a jetelových semen v Zubří projekt Inovace postupů zakládání, ošetřování a ochrany semenářských porostů víceletých pícnin. Projekt řeší problematiku semenářství víceletých pícnin, které jsou nepostradatelné pro udržitelný rozvoj zemědělství. Osiva trav a jetelovin jsou významným exportním artiklem, který snižuje zápornou bilanci českého agrárního obchodu se zahraničím. V současnosti se plochy trav a jetelovin snižují. Příčinou je nižší konkurenceschopnost ve srovnání s hlavními tržními plodinami (obiloviny, řepka) a nevyřešené postupy ochrany vůči aktuálnímu spektru škodlivých činitelů. Projekt je navržen tak, aby řešil aktuální problematiku travního a jetelového semenářství a aby praxe dostala odpověď na otázky, které kladou výzkumným pracovníkům při polním poradenství a na seminářích pro odbornou veřejnost. Cílem projektu je navrhnout optimální postup při zakládání víceletých pícnin a dále navrhnout či zlepšit některé stávající prvky integrované ochrany víceletých pícnin na orné půdě a na trvalých travních porostech. Řešení projektu bude zaměřeno především na moderní rostlinolékařská opatření vedoucí ve svém důsledku ke zvýšení kvality sklizených produktů (osivo, objemné krmivo) při vyšší ekonomické efektivitě pro konečného uživatele. Inovace pěstitelské technologie v travách na semeno umožňuje řešit slabé články technologických postupů s tím, že výsledky výzkumu jsou předávány do zemědělské praxe a umožňují pěstitelům dosahovat stabilní výnosy semene a požadovanou kvalitu osiva v současných pěstitelských technologiích. V současných tržních podmínkách s důrazem na ekonomiku je velký zájem o získávání a uplatňování nových poznatků výzkumu promítajících se zejména do snižování finančních nákladů prostřednictvím zlepšování technologie pěstování trav na semeno. Výzkum nových prvků v ochraně rostlin a pěstitelské technologii k tomuto aspektu ekonomiky jednoznačně přispívá. Výsledky jsou pěstiteli žádány a realizovány. V současnosti, kdy se mění podmínky hospodaření na půdě a vznikají nové technologie, vznikají také nové skutečnosti a problémy z toho vyplývající v návaznosti na pěstitelské postupy. Otázka minimalizačních technologií nabývá na významu u všech plodin. V travách na semeno nebyly minimalizační metody alespoň u nás dostatečně propracovány, a proto je zatím pěstitelům nelze doporučit. Tyto metody vyžadují zvýšenou chemickou ochranu, která má u trav jako minoritních plodin svá omezení. Při současně vysokých nárocích na kvalitu produkce, by je bylo možno použít pouze ve výjimečných případech, na pozemcích prostých trávovitých a vytrvalých plevelů a po dvouděložných předplodinách. Cílem výzkumu v letech 2015 a 2016 bylo ověřit možnosti zakládání jílku mnohokvětého minimalizačními technologiemi.

MATERIÁL A METODA

Na stanovišti v letech 2015 a 2016 v Zubří byly založeny polní pokusy s jílkem mnohokvětým. Pokus obsahoval následující varianty: 1 – klasická příprava (kontrola), 2 – redukováná příprava (diskování, příprava půdy + setí), 3 – bezorebné setí. Hnojení a ošetřování pokusných ploch bylo u všech variant technologie zpracování půdy stejné. Pokusy byly založeny po stejné předplodině (ozimé pšenici). Byly vyhodnoceny tyto parametry: polní vzcházivost, zapojenost, zaplevelení, výnos semen a výnosotvorné prvky (počet plodných stébel, počet obilek v klase, HTS). Na stanovišti v Zubří byl založen polní pokus s různými způsoby založení semenářských porostů jílku mnohokvětého odrůdy Lolita. Jílek byl založen na přelomu srpna a září v letech 2015 a 2016. Před setím bylo hnojeno dávkou 400 kg NPK na hektar (40 kg dusíku na hektar). Na jaře byl jílek přihnojen dávkou 80 kg dusíku na hektar. V průběhu vegetace byl jílek ošetřen přípravkem Moddus v dávce 0,8 l na hektar ve fázi BBCH 31 proti poléhání a přípravkem Amistar v dávce 1 l.ha⁻¹ ve fázi BBCH 32 proti listovým skvrnitostem v letech 2016 i 2017. Pokusy s jílkem mnohokvětým byly sklizeny v červenci 2016 a 2017. Pokusy byly sklizeny parcelní sklízecí mlátičkou Wintersteiger přímou sklizní. Vymláčené osivo bylo dosušeno na standardní vlhkost 14 %. Po vysušení bylo osivo nejprve předčištěno a poté vyčištěno na soustavě laboratorních čističek.

Byl stanoven hrubý a čistý výnos semen osiva z parcely. Z osiva byly odebrány vzorky na HTS. Před přímou sklizní parcel byly z každé parcely odebrány rostlinné vzorky (0,25 m²). U rostlinných vzorků byla stanovena hmotnost celého vzorku v g z 0,25 m², hmotnost celého vzorku v g, délka stébla po klas v cm, délka klasu, počet fertálních stébel na 0,25 m² a 1 m², hmotnost semen na 0,25 m² a 1 m², počet semen na 0,25 m² a počet semen na latu. Výnos slámy byl stanoven z rostlinného vzorku. Velikost jedné pokusné parcely pro sklizeň byla 10 m².

VÝSLEDKY A DISKUSE

Jílek mnohokvětý založený 1. 9. 2015

Stav jítku mnohokvětého byl nejhorší na parcelách založených bezorebně (stav 5-7), zde byl také nejnižší zápoj porostu (77,5 %). U klasické a redukované přípravy byl stav porostu hodnocen hodnotou 8 a zapojení bylo 90-95 %.

Tab. 1: Stav a zapojenost porostů jítku mnohokvětého 20. 11. 2015

Stanoviště	Způsob založení	Stav porostu (9-1)	Zápoj (%)
Zubří	1 – klasická příprava	8	92,50
	2 – redukovaná příprava	8	91,25
	3 – bezorebné setí	6	77,50

Na jaře 23. 3. 2016 byl nejlepší stav porostu u jítku mnohokvětého (8,5) a nejlepší zápoj 95,75 % u klasické přípravy, u redukované přípravy byl stav porostu (8) a zápoj 93,75 %. Nejhorší stav porostu (7) a zápoj (86,25 %) byl u bezorebné přípravy půdy.

Tab. 2: Stav a zapojenost porostů jítku mnohokvětého 23. 3. 2016

Stanoviště	Způsob založení	Stav porostu (9-1)	Zápoj (%)
Zubří	1 – klasická příprava	8,5	95,75
	2 – redukovaná příprava	8	93,75
	3 – bezorebné setí	7	86,25

Tab. 3: Výnos semene jítku mnohokvětého a slámy 7. 7. 2016

Stanoviště	Způsob založení	Výnos semene kg.ha ⁻¹	Výnos slámy t.ha ⁻¹
Zubří	1 – klasická příprava	1711	10,97
	2 – redukovaná příprava	1385	8,61
	3 – bezorebné setí	1073	6,93

Nejlepších průměrných hodnot u výnosu semene v kg.ha⁻¹ a výnosu slámy v t.ha⁻¹ (Tab. 3) dosáhla varianta založená klasickým způsobem přípravy půdy. Nižší hodnoty sledovaných znaků byly u redukované přípravy půdy a nejnižší výsledky byly u bezorebného způsobu setí jítku mnohokvětého.

Jílek mnohokvětý založený 29. 8. 2016

Pokus v Zubří byl založen 29. 8. 2016. Jílek vzešel 6. 9. 2016. Dva dny po zasetí napršelo 10,6 mm srážek a 5. 9. 2016 a 6. 9. 2016 spadlo 45,1 mm srážek. Dostatek vláhy po zasetí příznivě ovlivnil vzejití porostu jítku mnohokvětého u všech variant založení semenářského pokusu.

Tab. 4: Stav a zapojenost porostů jítku mnohokvětého 21. 11. 2016

Stanoviště	Způsob založení	Stav porostu (9-1)	Zápoj (%)
Zubří	1 – klasická příprava	8,00	93,75
	2 – redukováná příprava	7,25	91,25
	3 – bezorebné setí	7,00	90,00

Stav i zapojení porostu jítku mnohokvětého (Tab. 4) bylo v roce 2016 vyrovnané rovněž u všech zkoušených variant. Zapojení bylo nejnižší u varianty s bezorebným setím 90 %. V roce 2015 bylo zapojení u klasické přípravy 92,5 %, redukováné přípravy 91,25 % a bezorebné přípravy 77,5 %. Stav porostu před zimou dosahoval u klasické přípravy hodnoty 8, redukováné přípravy hodnoty 8 a bezorebné přípravy hodnoty 6. Na jaře roku 2017 (Tab. 5) byl nejlepší stav porostu u jítku mnohokvětého 7,25 a nejlepší zápoj 95,75 % u klasické přípravy, u redukováné přípravy byl stav porostu 6,75 a zápoj 93,75 %. U bezorebné přípravy byl stav porostu 6,5 a zápoj 92,50 %. Na jaře v roce 2017 nebyly tak významné rozdíly mezi jednotlivými způsoby založení porostů jako v roce 2016. Nejnižší zapojení i stav porostu byl na variantě založené bezorebným setím, v roce 2017 byly všechny varianty vyrovnanější.

Tab. 5: Stav a zapojenost porostů jítku mnohokvětého 13. 3. 2017

Stanoviště	Způsob založení	Stav porostu (9-1)	Zápoj (%)
Zubří	1 – klasická příprava	7,25	95,75
	2 – redukováná příprava	6,75	93,75
	3 – bezorebné setí	6,50	92,50

Tab. 6: Výnos semene jítku mnohokvětého a slámy 10. 7. 2017

Stanoviště	Způsob založení	Výnos semene kg.ha ⁻¹	Výnos slámy t.ha ⁻¹
Zubří	1 – klasická příprava	1509	9,60
	2 – redukováná příprava	1366	8,27
	3 – bezorebné setí	1463	8,66

V roce 2017 byl dosažen u jítku mnohokvětého nejvyšší výnos semene u varianty založené orbou 1509 kg na hektar. V roce 2016 byl rovněž nejvyšší výnos dosažen u klasické přípravy orbou u jítku mnohokvětého 1711 kg na hektar. Nejnižší výnos u jítku mnohokvětého byl zaznamenán v roce 2016 u bezorebné přípravy a to 1073 kg na hektar, u redukováné přípravy byl výnos 1385 kg na hektar. Nejnižší výnos semen byl zaznamenán v roce 2017 u redukováné přípravy 1366 kg na hektar. Výnosy slámy byly nejvyšší v roce

2017 u klasické přípravy orbou $9,60 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$, potom u bezorebného setí $8,66 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ a redukované přípravy $8,27 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$.

Tab. 7: Statistické vyhodnocení výnosu semene jílku mnohokvětého v letech 2016 a 2017

Stanoviště	Způsob založení	Výnos $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ semene v roce 2016 – průkaznost		Výnos $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ semene v roce 2017 – průkaznost	
Zubří	1 – klasická příprava	1711		1509	
	2 – redukovaná příprava	1385	--	1366	00
	3 – bezorebné setí	1073	--	1463	00

Rok 2016 – ANOVA *md* 0,05: 145,274

md 0,01: 219,987

Rok 2017 – ANOVA *md* 0,05: 278,866

md 0,01: 422,282

-- – vysoce průkazný rozdíl 00 – neprůkazný rozdíl

Nejvyššího výnosu semen v roce 2016 i 2017 dosáhla varianta jílku mnohokvětého založená klasickým způsobem orbou. V roce 2016 měly varianty s redukovanou přípravou půdy a s bezorebným setím vysoce průkazně nižší rozdíl ve výnosu semene oproti variantě založené klasickou přípravou orbou. V roce 2017 byl mezi variantami neprůkazný rozdíl vlivem meteorologických podmínek na podzim v roce založení jílku 2016, kdy porosty byly ovlivněny srážkami zejména v měsíci říjnu $118,8 \text{ mm}$ oproti dlouhodobému normálu $50,3 \text{ mm}$.

Vliv meteorologie v období zakládání pokusů na vývoj a zapojení porostů u jednotlivých variant technologii přípravy půdy jílku mnohokvětého

Pokusy byly ovlivněny meteorologickými vlivy zejména na podzim v období založení v obou letech 2015 i 2016. Podzimní měsíce roku 2015 září, říjen a listopad jsou charakterizovány vyšší průměrnou teplotou vzduchu (září – skutečnost $14,8 \text{ }^\circ\text{C}$, normál $13 \text{ }^\circ\text{C}$, říjen – skutečnost $8,5 \text{ }^\circ\text{C}$, normál $8,4 \text{ }^\circ\text{C}$, listopad – skutečnost $5,5 \text{ }^\circ\text{C}$, normál $3,3 \text{ }^\circ\text{C}$) a nižšími srážkami oproti dlouhodobému normálu (září – skutečnost $57,4 \text{ mm}$, normál $62,5 \text{ mm}$, říjen – skutečnost 23 mm , normál $50,3 \text{ mm}$, listopad – skutečnost $49,8 \text{ mm}$, normál $66,2 \text{ mm}$). První sníh napadl 29. listopadu a sněhová pokrývka trvala jeden den. Měsíc prosinec byl bez sněhové pokrývky s množstvím srážek $25,1 \text{ mm}$ oproti dlouhodobému normálu $58,3 \text{ mm}$ a průměrné teplotě vzduchu $3,3 \text{ }^\circ\text{C}$ oproti dlouhodobému normálu $-0,9 \text{ }^\circ\text{C}$. V roce 2016 v měsíci září byla suma srážek $58,9 \text{ mm}$ oproti normálu $62,5 \text{ mm}$. Průměrná teplota vzduchu za měsíc září byla $16,2 \text{ }^\circ\text{C}$ oproti normálu $13 \text{ }^\circ\text{C}$. V měsíci říjnu byly srážky nadnormální $118,8 \text{ mm}$ oproti dlouhodobému normálu $50,3 \text{ mm}$ za měsíc říjen. Průměrná teplota byla $8 \text{ }^\circ\text{C}$ o $0,4 \text{ }^\circ\text{C}$ nižší oproti dlouhodobému normálu $8,4 \text{ }^\circ\text{C}$. V listopadu byly srážky $49,9 \text{ mm}$ oproti normálu $66,2 \text{ mm}$ a teplota vzduchu $4,5 \text{ }^\circ\text{C}$ vyšší o $1,2 \text{ }^\circ\text{C}$ oproti dlouhodobému normálu $3,3 \text{ }^\circ\text{C}$. Srážky byly v prosinci roku 2016 podnormální $31,3 \text{ mm}$ oproti normálu $58,3 \text{ mm}$. Teplota vzduchu $-0,7 \text{ }^\circ\text{C}$ byla vyšší oproti normálu $-0,9 \text{ }^\circ\text{C}$. První sníh napadl 10. listopadu 2016. Počet dnů se souvislou sněhovou pokrývkou v listopadu 2016 byl 8. Průměrná pokrývka za dny se souvislou sněhovou pokrývkou byla $1,4 \text{ cm}$. Počet dnů se souvislou sněhovou pokrývkou byl v prosinci 9 a průměrná sněhová pokrývka za dny se souvislou sněhovou pokrývkou byla $2,2 \text{ cm}$. Podzim v roce 2015 byl charakterizován nižšími srážkami v měsících září, říjen a listopad. V tomto období vzcházení a zapojování porostu u jílku mnohokvětého se více projeví rozdíly mezi jednotlivými variantami zakládání porostu různými technologiemi orbou, redukovanou přípravou a bezorebným setím. Rozdíly se projeví zejména při zapojení a stavu porostu již na podzim 2015 i při jarním hodnocení stavu a zápoje porostu. Tento stav i zapojení porostu ovlivnil i výnos semen u jednotlivých

variant v roce 2016 a významné rozdíly mezi variantami zejména variantou založenou orbou a bezorebným setím. V roce 2016 na podzim výrazně ovlivnily porosty jílku mnohokvětého srážky zejména v měsíci říjnu. V měsíci říjnu byly srážky nadnormální 118,8 mm oproti dlouhodobému normálu 50,3 mm za měsíc říjen. Průměrná teplota byla 8 °C o 0,4 °C nižší oproti dlouhodobému normálu 8,4 °C. Na podzim 2016 a na jaře 2017 nebyly již tak významné rozdíly mezi jednotlivými variantami založení v zapojení a stavu porostu jako v roce 2015 a 2016. V roce 2017 se neprojevil výrazný rozdíl ve výnosu semen mezi variantou založenou orbou a bezorebným setím jako v roce 2016. Nejvýnosnější varianta byla v roce 2017 varianta založená orbou a bezorebným setím, nejmenší výnos byl u varianty založený redukovanou přípravou půdy.

ZÁVĚR

Inovace pěstitelské technologie v travách pěstovaných na semeno a nové poznatky ve výzkumu výrazně ovlivňují ekonomiku pěstování trav se zaměřením na zvýšení výnosu a kvality výsledného osiva. Výsledky výzkumu jsou předávány prostřednictvím poradenství pěstitelům přímo v zemědělské praxi při jarních prohlídkách porostů. Výzkum minimalizační technologie v jílku mnohokvětém založeném v roce 2015 a 2016 se sklízí v letech 2016 a 2017 prokázal nejvyšší výnos semene a slámy u varianty založené klasickou přípravou tzn. orbou. Pokus byl výrazně ovlivněn meteorologickými vlivy v roce 2015 i 2016 při zakládání jílku mnohokvětého. Varianty založené redukovanou přípravou půdy a zejména bezorebným setím byly silně ovlivněny meteorologickými podmínkami. Výzkum prokázal možnosti založení semenářských porostů trav pěstovaných na semeno minimalizační technologií a bezorebným způsobem setí, která je výrazně ovlivněna meteorologickým podmínkami v době založení porostu.

LITERATURA

- /1/ Cagaš, B. et al.: Trávy pěstované na semeno. 1. vyd. Olomouc: Vydavatelství Ing. Petr Baštan, 2010. 276 s. ISBN 978-80-87091-11-1.
- /2/ Hůla, J., Procházková, B. et al: Minimalizace zpracování půdy. 1. vyd. Praha. Vydavatelství Profi Press, s.r.o., 2008. 248 s. ISBN 978-80-86726-28-1.

Poděkování

Publikace je realizována na základě podpory projektu NAZV ČR QJ1510121 Inovace postupů zakládání, ošetřování a ochrany semenářských porostů víceletých pícnin.

Postery

VPLYV NÍZKOTEPLOTNEJ PLAZMY NA KLÍČENIE HOSPODÁRSKY VÝZNAMNÝCH PLODÍN

EFFECT OF LOW-TEMPERATURE PLASMA ON GERMINATION OF AGRICULTURALLY IMPORTANT CROPS

Renáta Švubová¹, Valéria Kročková¹, Ján Renčko¹, Ľudmila Slovákova¹, Anna Záhoranová²

¹ Katedra fyziológie rastlín, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Ilkovičová 6, 842 15 Bratislava, Slovenská republika

² Katedra experimentálnej fyziky, Fakulta matematiky, fyziky a informatiky, Univerzita Komenského v Bratislave, Mlynská dolina F1, 842 48 Bratislava, Slovenská republika

Summary

Seed germination is the first and really critical time in the life cycle of each plant. It is heavily influenced by external factors, whether abiotic (eg. temperature, water) or biotic (eg. colonization of testa by pathogenic microorganisms). Our results show that the influence of low-temperature plasma on germination and further development of young seedlings is highly species-specific. While maize grains are relatively well suited even at high doses of NTP, germination of barley and pea is negatively affected.

Key words: barley, corn, germination, low-temperature plasma, pea

Súhrn

Klíčenie semien je prvým a naozaj kritickým obdobím v životnom cykle každej rastliny. Je vo veľkej miere ovplyvnené faktormi vonkajšieho prostredia, či už abiotickými (teplota, voda), tak aj biotickými (napr. kolonizácia osemenia patogénnymi mikroorganizmami). Z našich výsledkov vyplýva, že vplyv nízkoteploj plazmy na klíčenie a ďalší vývin klíčnych rastlín je výrazne druhovo špecifický. Kým zrná kukurice relatívne dobre klíčia aj pri vysokých dávkach NTP, klíčenie jačmeňa a hrachu je negatívne ovplyvnené.

Kľúčové slová: hrach, jačmeň, klíčenie, kukurica, nízkoteplojná plazma

ÚVOD

S narastajúcou populáciou obyvateľstva na svete a znižujúcimi sa zdrojmi potravín narastá dopyt po nových prístupoch v poľnohospodárstve. Zdá sa, že jednou zo sľubných metód by mohlo byť využitie nízkoteploj plazmy (NTP) v poľnohospodárskej praxi. Bežne sa používa pri úprave vzduchu, odpadových vôd, palív, pri výrobe vodíka alebo aktivácii povrchu a úprave rôznych materiálov. NTP má tiež veľký potenciál v biomedicínskej sfére a v oblasti plazmovej medicíny, napr. pri bakteriocídnej sterilizácii a sterilizácii termolabilných materiálov /1, 2/. NTP nachádza svoje uplatnenie aj v potravinárskom a obalovom priemysle /3/. Aplikácii NTP v poľnohospodárstve sa v súčasnosti venuje veľká pozornosť. Z dostupných prác môžeme konštatovať, že plazma v priamom kontakte s osivom môže stimulovať jeho klíčenie a rast klíčnych rastlín /4, 5, 6, 7/ a tým výrazne zvýšiť celkovú produkciu /8/. Je známe, že spôsobuje zmeny v enzymatických aktivitách pri klíčení semien /9, 10/ a inaktivuje a eliminuje fytopatogénnu mikroflóru, ktorá bežne kolonizuje povrch semien /11/. Plazma modifikuje povrch semien a tým výrazne mení ich afinitu k vode, čo môže byť veľmi prospešné. Napríklad, NPT generovaná vo vzduchu výrazne oplyvnila, v dôsledku oxidácie povrchu, zmáčavosť a rýchlosť imbibície zrn pšenice, ovsu, šošovice a fazule /12/, čo viedlo k signifikantnému urýchleniu klíčenia. Je však veľmi dôležité poznať

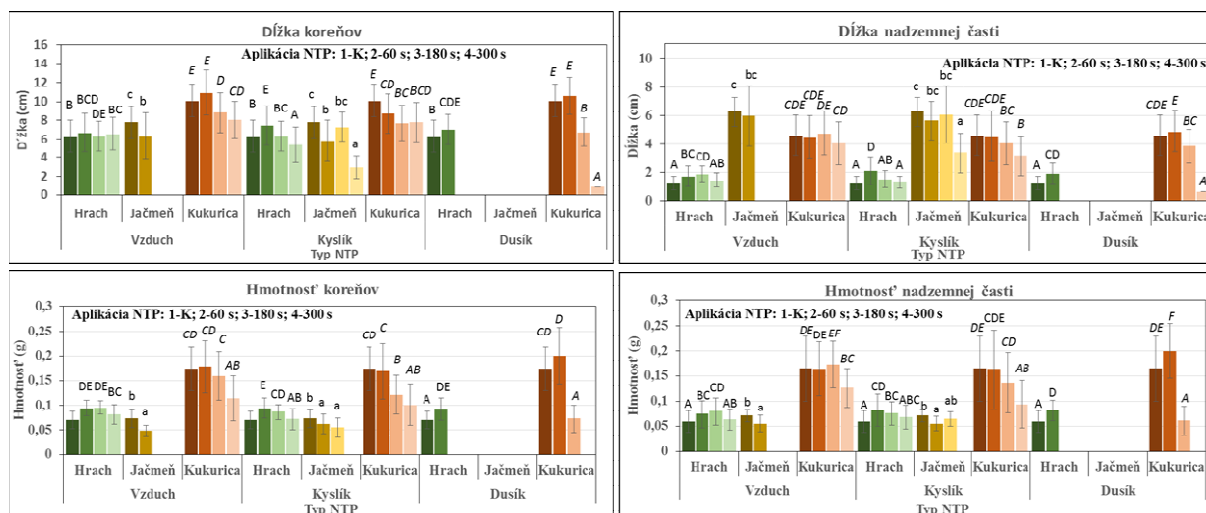
správný čas expozície plazmy, pretože dlhšia expozícia môže viesť k inhibícii a môže negatívne ovplyvniť klíčenie a ďalší vývin klíčnych rastlín /7/.

MATERIÁL A METÓDA

Ako rastlinný materiál sme používali semená hrachu (*Pisum sativum* L., kultivar Prophet) a zrná kukurice (*Zea may* L., hybrid Ronaldíno) a sladovníckeho jačmeňa (*Hordeum sativum* L., odroda Malz). Osivo na experimenty nám poskytol Ústredný kontrolný a skúšobný ústav poľnohospodársky v Bratislave (ÚKSÚP). Suché semená hrachu a zrná kukurice a jačmeňa (50 ks pre každý variant) sme pred založením experimentu ošetrili nízkoteplotnou plazmou (NTP) generovanou v rôznych typoch plynov (vzduch, kyslík, dusík) po dobu 60 s, 180 s a 300 s. Ako zdroj plazmy nám slúžil difúzny, koplanárny, povrchový barierový výboj (Diffuse Coplanar Surface Barrier Discharge - DCSBD). Následne sme sledovali vplyv NTP generovanej v rôznych typoch plynov, ako aj dĺžku aplikačnej dávky (expozičnej doby) na klíčenie semien hrachu a zrn kukurice a jačmeňa ako aj rastové parametre klíčnych rastlín a výsledky sme porozvňávali s kontrolou (t.j. osivo bez ošetrenia NTP). Klíčivosť sme počítali na 3., 4. a 5. deň od zabalenia semien a zrn do roliek. Následne sme odvážili hmotnosť koreňov a nadzemných častí, merali sme dĺžky nadzemných častí a koreňov a údaje sme použili na výpočet indexu vitality zrn/semien a klíčencov (%) ako aj index dĺžky klíčencov (%). Experimenty sme opakovali 3x a výsledky sme štatisticky vyhodnotili s použitím štatistického programu Statgraphics Centurion XV.I.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z výsledkov našich experimentov vyplýva, že klíčivosť semien hrachu a zrn kukurice a jačmeňa je výrazne ovplyvnená atmosférou, v ktorej je NTP generovaná a tiež dĺžkou jej pôsobenia. Môžeme konštatovať, že aplikačná dávka 300 s (tab. 1, O300, V300, N300) negatívne ovplyvnila, prípadne úplne inhibovala klíčenie semien hrachu a zrn kukurice a jačmeňa v porovnaní s kontrolou.



Graf 1: Priemerná dĺžka a hmotnosť primárnych seminálnych koreňov/koreňov a priemerná dĺžka a hmotnosť nadzemných častí klíčnych rastlín hrachu, kukurice a pšenice po ovplyvnení NTP generovanou vo vzduchu, kyslíku alebo dusíku. Poradie stĺpcov pre každý variant je: kontrola, ošetrovanie po dobu 60 s, ošetrovanie po dobu 180 s, ošetrovanie po dobu 300 s. Rozdielne písmená nad stĺpcami poukazujú na hladiny významnosti rozdielov pri $p < 0.05$.

Tieto výsledky korelujú s predchádzimi zisteniami /10/. Po kratšej aplikácii (60 a 180 s) zrná kukurice a jačmeňa klíčili porovnateľne s kontrolou (neošetrené zrná). V prípade semien hrachu sme zaznamenali vyššie % klíčivosti, index klíčivosti a index vitality semien a klíčencov pri ošetrení plazmou generovanou v atmosfére vzduchu a dusíka. Stimulačný efekt plazmy, generovanej v rôznom prostredí, na klíčenie semien a následný vývin klíčencov sa potvrdil aj pri iných hospodársky významných plodinách /7, 11/.

Tab. 1: Vplyv rôznych aplikačných dávok (60 s, 180 s, 300s) NTP generovanej v rôznych plynoch (vzduch: V60,180, 300; kyslík: O60, 180, 300; dusík: N60, 180, 300) na klíčenie semien hrachu a zrn kukurice a jačmeňa.

	Aplikácia NTP (s)	Klíčivosť (%)	Potenciál klíčivosti (%)	Index klíčivosti (%)	Index vitality zrn (semie %)	Index vitality klíčencov (%)	Index dĺžky klíčencov (%)
HRACH	K	83,82	79,77	9,68	77,50	0,114	83,09
Atm. O ₂	O60	83,82	79,77	9,68	82,82	0,140	88,03
	O180	83,66	79,62	9,55	77,62	0,142	68,63
	O300	55,06	44,89	5,53	39,20	0,068	44,33
Atm. vzduch	V60	87,14	82,39	10,07	92,06	0,145	83,28
	V180	85,16	83,12	9,77	87,76	0,151	89,87
	V300	66,06	57,79	7,28	46,50	0,095	53,17
Atm. N ₂	N60	86,48	83,12	9,92	85,13	0,158	89,65
	N180	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000	0,00
	N300	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000	0,00
JACHMEŇ	K	97,50	98,00	13,64	130,15	0,142	177,96
Atm. O ₂	O60	86,50	66,00	8,58	75,13	0,075	93,91
	O180	24,50	16,00	2,00	16,02	0,000	20,03
	O300	15,00	10,00	1,25	5,73	0,000	7,16
Atm. vzduch	V60	39,50	34,00	5,25	49,91	0,029	62,38
	V180	11,33	6,00	0,75	0,00	0,000	0,00
	V300	8,00	9,00	1,38	0,00	0,000	0,00
Atm. N ₂	N60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000	0,00
	N180	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000	0,00
	N300	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000	0,00
KUKURICA	K	96,31	94,95	11,96	143,85	0,313	178,43
Atm. O ₂	O60	93,97	92,31	11,67	124,44	0,297	154,23
	O180	67,00	67,00	8,38	78,51	0,168	98,13
	O300	66,00	63,67	8,13	73,92	0,111	90,77
Atm. vzduch	V60	94,33	93,00	11,79	145,66	0,308	182,08
	V180	68,77	68,10	8,54	94,61	0,210	117,46
	V300	48,33	46,25	5,92	58,02	0,125	70,91
Atm. N ₂	N60	93,94	87,22	11,58	148,38	0,390	182,46
	N180	66,00	63,00	8,25	70,02	0,117	87,52
	N300	27,84	20,88	3,50	5,76	0,000	7,20

Priemerné hmotnosti ako aj dĺžky koreňov a nadzemných častí korelovali s % klíčivosti semien/zrn (graf. 1). S využitím plazmy, generovanej v rôznom prostredí, sa mnohým

autorským kolektívom podarilo dosiahnuť stimulačný efekt na klíčenie, ďalší vývin mladých klíčencov a produkciu biomasy v prípade rôznych hospodársky významných plodín /5, 6, 10, 12/. Mnohí autori sa však zhodujú v názore, že fyziologická odpoveď na ošetrovanie plazmou je ovplyvnená nie len konkrétnym druhom, ale dokonca aj odrodou, hybridom, či kultivarom a dôležitým faktorom je zvoliť vhodnú aplikačnú dávku a typ plazmy. Naše výsledky tieto zistenia jednoznačne potvrdzujú a dopĺňajú (tab. 1, graf 1).

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

Uvedená práca bola podporená agentúrou na podporu výskumu a vývoja, grantovým projektom č. APVV-16-0216.

INTERAKCIA NÍZKOTEPLOTNEJ PLAZMY S RASTLINNÝMI BUNKAMI

INTERACTION OF NON-THERMAL PLASMA WITH PLANT CELLS

Ľudmila Holubová¹, Stanislav Kyzek¹, Ivana Ďurovcová¹, Jana Špačková¹, Veronika Medvecká², Andrea Ševčovičová¹, Eliška Gálová¹

¹ Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra genetiky, Mlynská dolina, 842 15 Bratislava, Slovenská republika; ludka.holub@gmail.com

² Univerzita Komenského v Bratislave, Fakulta matematiky, fyziky a informatiky, Katedra experimentálnej fyziky, Mlynská dolina, 842 48 Bratislava, Slovenská republika

Summary

Non-thermal plasma (NTP) has a potential to be used in a wide variety of areas, for example in industry, medicine and also in agriculture. We confirmed that treatment of maize seeds with NTP has beneficial effects on germination, especially for exposure time 30 and 60 s. Longer treatment times (120 and 180 s) led to the loss of this effect. We also observed that level of Hsp70 protein in 3-days old seedlings increased with increasing exposure time of NTP treatment, which means that the effect of plasma is visible even four days after the treatment. Amount of Hsp70 after additional heat stress was higher in NTP-treated seedlings than that in non-treated seedlings. This suggest that NTP treatment could elicit adaptive response.

Key words: maize, non-thermal plasma, Hsp70, heat stress

Súhrn

Nízkoteplotná plazma (NTP) má potenciálne široké využitie v rôznych oblastiach, od priemyslu cez poľnohospodárstvo až po medicínu. V poľnohospodárstve by bolo možné NTP využívať na ošetrovanie semien pred klíčením ako náhradu chemického morenia. V tejto práci sme potvrdili, že ošetrovanie semien kukurice NTP má pozitívny účinok na klíčenie, a to v dávkach 30 a 60 s. Pri vyšších expozičných časoch sa pozitívny efekt strácal. So zvyšujúcou sa dávkou NTP stúpalo aj množstvo proteínu Hsp70 v trojdňových klíčencoch kukurice. Efekt ošetrovania NTP je teda viditeľný aj minimálne po štyroch dňoch. Po pôsobení ďalšieho, teplotného stresu bolo množstvo Hsp70 vyššie v klíčencoch ovplyvnených NTP v porovnaní s neovplyvnenými. To naznačuje, že NTP mohla vyvolať adaptívnu odpoveď.

Kľúčové slová: kukurica, nízkoteplotná plazma, Hsp70, teplotný stres

ÚVOD

Plazma je jedno zo štyroch skupenstiev hmoty. Za normálnych podmienok sa na zemskom povrchu prirodzene nevyskytuje často, ale predpokladá sa, že je to najrozšírenejšia forma hmoty vo vesmíre. S umelo vytvorenou plazmou sa stretávame častejšie, či už v podobe neónových svetiel alebo plazmových televízorov. Vo väčšine prípadov sa využíva nízkoteplotná plazma (NTP), ktorá vzniká elektrickým výbojom v plyne [1].

NTP obsahuje zmes reaktívnych neutrálnych častíc, nabitých častíc (ióny, elektróny), elektrické pole a UV žiarenie. Presnejšie zloženie plazmy varíruje v závislosti od plynu, ktorý je použitý na jej generovanie, od podmienok ošetrovania a v neposlednom rade od typu

prístroja, ktorý plazmu generuje. Mieru vplyvu NTP na živé organizmy určuje zloženie plazmy, dĺžka pôsobenia a podmienky, pri ktorých vzniká plazma. Zvyčajne sa však v NTP vyskytujú reaktívne formy kyslíka a dusíka (RONS) /2/.

Tento reaktívny potenciál NTP má za dôsledok rôzne efekty pri interakcii so živými organizmami. Čo sa týka interakcie so semenami rastlín, viaceré práce poukazujú na rýchlejšie klíčenie a rast rastlín ovplyvnených NTP v porovnaní s kontrolnými rastlinami. Mikroskopické analýzy odhalili jemné praskliny na povrchu semien po ovplyvnení NTP. Tiež dochádza k inaktivácii mikroorganizmov na povrchu semien /3, 4, 5/.

NTP nemá efekt len na povrchu ošetrovaných vzoriek, ale pôsobí aj v bunkách a organizmoch, kde spôsobuje rôzne zmeny, ktoré súvisia so stresom /4, 6/. Miera vzniknutého stresu je závislá od dávky NTP. S menším stresom si väčšinou vedia organizmy poradiť, dokonca to môže mať pre nich pozitívny efekt v podobe adaptívnej odpovede (*priming-u*), keď sú pripravené čeliť ďalšiemu stresoru. Princípom *priming-u* je, že pôsobenie miernej dávky stresu, ktorú organizmus dokáže zvládnuť, „pripraví“ tento organizmus na prípadné ďalšie, silnejšie pôsobenie stresu, ktoré by mal prekonať s menšími následkami ako „nepripravené“ organizmy. Pravdepodobne najlepší účinok *priming* vyvoláva v ranných štádiách vývinu /7/.

Pri súčasnom trende zvyšovania priemernej teploty bude nevyhnutné pestovať rastliny odolné voči zvýšeným teplotám. Vyššie spomínaný *priming* semien by mohol byť jednou z možností, ako tento problém riešiť. Preto sme sa rozhodli otestovať, aký vplyv má predovplyvnenie semien kukurice NTP na následný teplotný stres, a to sledovaním hladiny *heat-shock* proteínu Hsp70.

MATERIÁL A METÓDA

Pri práci sme používali zrná kukurice (*Zea mays* L., odroda Ronaldinio), ktoré boli ošetrované NTP generovanou zo vzduchu počas 30, 60 a 120 sekúnd pri príkone 400W, použitím koplanárneho povrchového bariérového výboja. Výbojka bola umiestnená na trepačke s rotačnou rýchlosťou 270 ot./min, ktorá zabezpečovala otáčanie semien a ich rovnomerné opracovanie plazmou.

Zrná sme po 24 hodinách od ošetrenia NTP nechali päť hodín imbibovať, následne sme ich vysadili na Petriho misky a nechali ich klíčiť v tme pri 23 °C. Trojdňové klíčence sme podrobili teplotnému stresu pri 42 °C počas dvoch hodín. Následne sme izolovali proteíny. Po dvoch hodinách, kedy sa klíčence zotavovali pri teplote 23 °C, sme znova izolovali proteíny. Hladiny proteínu Hsp70 sme získali pomocou Western blotu.

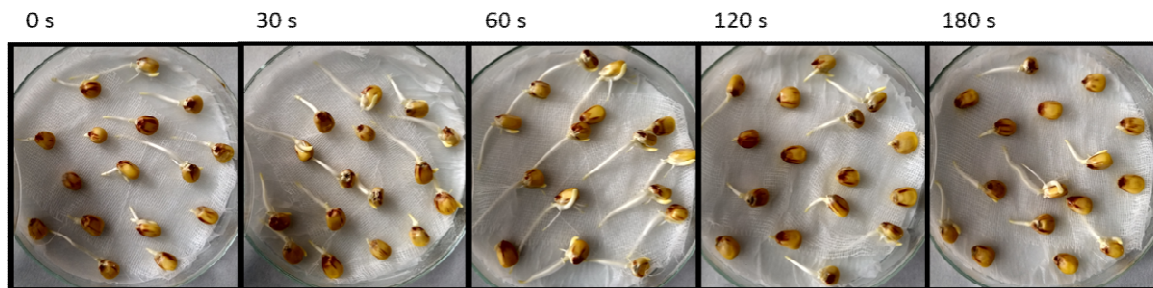
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Podobne ako vo viacerých publikáciách sme pozorovali, že zrná ošetrované NTP mali v porovnaní s negatívnou kontrolou (0 s) zlepšené klíčenie. To vidíme na obrázku 1, hlavne pri časoch ošetrenia 30 a 60 s. Pozitívny efekt NTP na klíčenie sa však vytráca so stúpajúcou dávkou NTP ako vidíme pri čase 120 s a 180 s (Obr. 1). V porovnaní s *Pisum sativum*, však na *Z. mays* vyššie dávky NTP (nepublikované výsledky) pôsobia inhibujúco. Dôvodom môže byť tvar a veľkosť semena, a tiež poloha embrya v rámci semena.

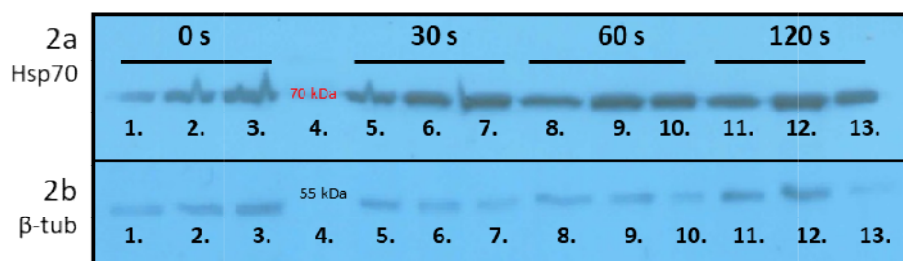
Hsp70 majú v bunke veľa funkcií, od skladania proteínov, transportu proteínov cez membrány, regulácie degradácie proteínov až po prevenciu agregácie proteínov /8/ a z toho vyplýva ich dôležitá funkcia pri strese, hlavne však pri teplotnom strese.

Vo vzorkách, ktoré boli ošetrované NTP (Obr. 2, dráhy 5, 8 a 11) je zvýšené množstvo proteínu Hsp70 v porovnaní so vzorkou bez ošetrenia NTP (Obr. 2, dráha 1). Na obrázku 2 si môžeme všimnúť aj mierne sa zvyšujúce množstvo Hsp70, ktoré koreluje so zvyšujúcou sa dávkou NTP (30, 60 a 120 s). To naznačuje, že pôsobenie plazmy je možné pozorovať aj štyri dni po ovplyvnení zrn NTP, a tiež, že veľkosť tohto stresu je závislá od dávky plazmy.

Teplotný stres počas 2 h pri 42 °C, ktorému boli trojdňové klíčence vystavené, spôsobil, že hladina Hsp70 výrazne stúpla (Obr. 2). Intenzita bandov prislúchajúcich Hsp70 sa zvyšuje úmerne so zvyšujúcou sa dávkou NTP. To však súvisí s hladinou proteínu pred pôsobením teplotného stresu, ktorú sme spomínali v predchádzajúcom odseku.



Obr. 1: Trojdňové klíčence *Z. mays* zo zrn ovplyvnených NTP počas 30 – 180 s alebo neovplyvnených NTP (0 s).



Obr. 2: Detekcia množstva proteínu Hsp70 (2a) v koreňoch 3-dňových klíčencov kukurice, ktorých semená boli predovplyvnené NTP počas 30, 60 a 120 s alebo neboli predovplyvnené (0 s). Množstvo Hsp70 bolo sledované pred teplotným stresom (bez HS) dráhy 1, 5, 8 a 11; bezprostredne po ňom (HS+0 h) dráhy 2, 6, 9 a 12; a 2 h po strese (HS+2 h) dráhy 3, 7, 10 a 13. Kontrola nanášky bola vykonaná detekciou β -tubulínu (2b). Dráhy: 0 s: 1. bez HS, 2. HS+0, 3. HS+2; 4. proteínový marker; 30 s: 5. bez HS, 6. HS+0, 7. HS+2; 60 s: 8. bez HS, 9. HS+0, 10. HS+2; 120 s: 11. bez HS, 12. HS+0, 13. HS+2.

Zvýšené množstvo Hsp70 vo vzorkách predovplyvnených NTP by mohlo zodpovedať teórii o adaptívnej odpovedi, keď väčšie množstvo Hsp70 by mohlo rýchlejšie eliminovať riziko spojené s akumuláciou poškodených proteínov.

LITERATÚRA

- /1/ Piel, A.: Plasma physics: An introduction to laboratory, space and fusion plasmas. Springer International Publishing AG, 2017, ISBN 978-3-319-63427-2.
- /2/ Chen, C., Liu, D. X., Liu, Z. C., Yang, A. J., Chen, H. L., Shama, G., Kong, M. G.: A model of plasma-biofilm and plasma-tissue interactions at ambient pressure. Plasma Chemistry and Plasma Processing, 34, 2014: 403-441.
- /3/ Zahoranová, A., Henselová, M., Hudecová, D., Kaliňaková, B., Kováčik, D., Medvecká, V., Černák, M.: Effect of cold atmospheric pressure plasma on the wheat seedlings vigor and on the inactivation of microorganisms on the seeds surface. Plasma Chemistry and Plasma Processing, 2015, DOI 10.1007/s11090-015-9684-z.
- /4/ Henselová, M., Slováková, Ľ., Martinka, M., Zahoranová, A.: Growth, anatomy and enzyme activity changes in maize roots induced by treatment of seeds with low-temperature plasma. Biologia, 67, 2012: 490-497.
- /5/ Ling, L., Jiafeng, J., Jiangang, L., Minchong, S., Xin, H., Hanliang, S., Yuanhua, D.: Effects of cold plasma treatment on seed germination and seedling growth of soybean. Scientific Reports, 4, 2014: 5859, DOI: 10.1038/srep05859.

- /6/ Zhou, R., Zhou, R., Zhang, X., Zhuang, J., Yang, S., Bazaka, K., Ostrikov, K.: Effects of atmospheric-pressure N₂, He, air and O₂ microplasmas on mung bean seed germination and seedling growth. *Scientific Reports*, 6, 2016: 32603, DOI: 10.1038/srep32603.
- /7/ Bateson, P., Barker, D., Clutton-Brock, T., Deb, D., D'Udine, B., Foley, R. A., Gluckman, P., Godfrey, K., Kirkwood, T., Lahr, M. M., McNamara, N. B., Monaghan, P., Spencer, H. G., Sultan, S. E.: Developmental plasticity and human health. *Nature*, 430, 2004: 419-421.
- /8/ Su, P-H., Li, H.: Arabidopsis stromal 70-kD heat shock proteins are essential for plant development and important for thermotolerance of germinating seeds. *Plant Physiology*, 146, 2008: 1231-1241.

Pod'akovanie

Táto práca bola realizovaná vďaka grantom APVV-16-0216 a VEGA 1/0410/18.

MORFOLOGICKO-ANATOMICKÉ ZMENY EXPLANTÁTOVEJ KULTÚRY *MAGNOLIA X SOULANGIANA* V PODMIENKACH NADBYTKU IÓNOV Al^{3+} A Ca^{2+}

MORPHOLOGICAL-ANATOMIC CHANGES OF EXPLANTATE CULTURE OF *MAGNOLIA X SOULANGIANA* IN CONDITIONS OF ELEVATED Al^{3+} AND Ca^{2+}

Angela Filová, Jana Konôpková, Dominika Bošiaková

Ústav ekologie lesa, Slovenská akadémia vied, Arborétum Mlyňany, Vieska nad Žitavou 178, 951 52
Slepčany, Slovensko, angela.filova@savba.sk

Summary

The study of reactions and changes in the structure of plant organs grown under adverse conditions has always been based on the knowledge of the basic physiological characteristics of the organs. The aim of this work was the screening of culture media, identification of a concentration gradient of 5, 10, 20 mg $Al^{3+} \cdot l^{-1}$ and 400, 800 and 1200 mg $Ca^{2+} \cdot l^{-1}$ for detecting the primary effects of ions on the morphogenesis of explante culture *Magnolia x soulangiana* possibly eliminating the toxic effects of aluminum on calcium. Aluminum ions effect the morphological-anatomical and physiological responses of explante culture *Magnolia x soulangiana* heterogeneous. We have confirmed that calcium, which we consider to be an aluminum antagonist. The concentration of 400 and 800 mg.l⁻¹ Ca^{2+} stimulates the growth and weight of the terminals, the number of leaves and the state of health of the top explants. Aluminum retardation effects on the growth and development of explants can be eliminated with Ca^{2+} (10 mg.l⁻¹ Al^{3+} + 800 mg.l⁻¹ Ca^{2+}), with positive and ameliorating effects in prolongation and mass growth, acceleration of organogenesis and improvement in explant health.

Key words: Magnolia x soulangiana Soul.-Bod., phytotoxicity, Al^{3+} , Ca^{2+} , in vitro conditions

Súhrn

Štúdium reakcií a zmien štruktúry orgánov rastlín pestovaných v nepriaznivých podmienkach sa vždy opieralo o poznanie základných fyziologických charakteristík orgánov. Cieľom práce bol screening kultivačných médií, identifikácia koncentračného gradientu 5, 10, 20 mg $Al^{3+} \cdot l^{-1}$ a 400, 800 a 1200 mg $Ca^{2+} \cdot l^{-1}$ pre detekciu primárnych účinkov iónov na morfogénu explantátov *Magnolia x soulangiana* s možnou elimináciou toxických účinkov hliníka vápnikom. Ióny hliníka ovplyvňujú morfológicko-anatomické ako aj fyziologické reakcie explantátov *Magnolia x soulangiana* Soul.-Bod. heterogénne. Potvrdilo sa, že vápnik, ktorý považujeme za antagonistu hliníka v koncentráciách 400 a 800 mg.l⁻¹ Ca^{2+} stimuluje rast a hmotnosť terminálov, počet listov a zdravotný stav vrcholových explantátov. Retardačné účinky hliníka na rast a vývin explantátov je možné eliminovať iónmi Ca^{2+} (10 mg.l⁻¹ Al^{3+} + 800 mg.l⁻¹ Ca^{2+}), pričom pozitívne efekty sa prejavujú v predĺžovacom a hmotnostnom raste, v urýchlení organogenézy a zlepšení zdravotného stavu explantátov .

Kľúčové slová: Magnolia x soulangiana Soul.-Bod., fytotoxicita, Al^{3+} , Ca^{2+} , in vitro podmienky

ÚVOD

Medzi negatívne abiotické stresy, ktoré výrazne znižujú kvalitu poľnohospodárskych a lesníckych pôd, patrí kyslá pôdna reakcia a s ňou súvisiaci zvýšený obsah voľných iónov Al^{3+} , ktoré sa v týchto podmienkach z pôdnych štruktúr uvoľňujú. Okysľovanie pôd najmä vplyvom neustáleho pôsobenia tzv. kyslých dažďov a fyziologicky kyslo pôsobiacich priemyselných hnojív je neustále pokračujúcim procesom. Na Slovensku je viac ako 30 % kyslých pôd s hodnotou pôdnej reakcie pH pod 5,5. Uvedené výmery sú dostatočným dôvodom na to, aby sa hľadali cesty ako čeliť týmto negatívnym faktorom prostredia /3/.

Pri mnohých druhoch drevín dochádza vplyvom zhoršeného životného prostredia a antropickej činnosti k poklesu ich adaptačnej a reprodukčnej schopnosti. V posledných rokoch sa venuje preto veľká pozornosť využitiu *in vitro* metód v rozmnožovaní kriticky ohrozených taxónov drevín, resp. i okrasných drevín ako sú napr. magnólie a rododendrony. Podmienky *in vitro* sú originálnym prostredím pre štúdium pôsobenia negatívnych faktorov na rast, diferenciáciu, regeneráciu, či morfogénu. Systém umožňuje vytvoriť modelové prostredie pre jednotlivé stupne rastového a vývinového procesu a hľadať možnosti ich regulácie. *In vitro* metódy sa zaoberajú špecifickou problematikou minerálnej výživy rastlín, ktoré poskytujú nové metodické možnosti pre štúdium príjmu a distribúcie látok v rastline.

Do rodu *Magnolia* zaraďujeme skupinu veľmi atraktívnych drevín, o pestovanie ktorých je v súčasnosti veľký záujem. *Magnolia x soulangiana*, významný zástupca tohto druhu, už čoskoro na jar púta pozornosť veľkými bieloruzovými kvetmi. Jej vegetatívne rozmnožovanie sa stretáva so značnými problémami. Z hľadiska efektívnosti pestovania možno považovať za veľmi perspektívne využitie metód *in vitro*. Predpokladáme, že tieto metódy budú mať uplatnenie aj pri množení ďalších dekoratívnych hybridov alebo kultivarov magnólií, vhodných na vysádzanie do záhrad a parkov. V prirodzenom prostredí sú druhy rodu *Magnolia* L. vystavené mnohým stresovým faktorom, z ktorých najmä prítomnosť ťažkých kovov obmedzuje ich základné fyziologické funkcie. Magnólie sa považujú za dreviny odolné voči znečisteniu prostredia, hoci sú náročné na pôdne podmienky /6/. Prítomnosť dvoj a trojmocných kationov kovov limituje príjem makro a mikroelementov, mení pH, brzdí delenie a predlžovanie buniek. Každá reakcia bunky, štruktúrna aj funkčná, je podmienená jej snahou ubrániť sa pred škodlivým účinkom stresu. Keď sú však všetky ochranné možnosti a energia na ich zabezpečenie vyčerpané, dochádza k poškodeniu štruktúrnych komponentov a ich funkcií v bunke. Pod iónovým stresom sa rozumie aktivita iónu, ktorého priamym účinkom je akákoľvek zmena normálnej iónovej rovnováhy živej bunky /2/. Môže sa realizovať na povrchu bunky – na membránach, alebo preniká do cytoplazmy. Podobne ako pri iných stresoch, aj pod iónový stres môžeme zahrnúť stres z nadbytku aj nedostatku iónov. Abdel-Basset et al. /1/, Horst /5/ a Chen /4/ dokumentujú, že prítomnosť iónov kovov mení rýchlosť biosyntézy rastových hormónov, ich distribúciu a závislosť tvorby endogénneho etylénu na koncentračnom gradiente iónov Ca^{2+} . Princíp tolerancie rastlín k iónom Al^{3+} nie je doposiaľ známy. Predpokladá sa, že primárne účinky Al^{3+} sa spájajú s redukciou akumulácie Ca^{2+} (s porušením symplastického homeostázy iónov Ca^{2+}).

Štúdium reakcií a zmien štruktúry orgánov rastlín pestovaných v nepriaznivých podmienkach sa vždy opieralo o poznanie základných fyziologických charakteristík orgánov. Cieľom práce bol screening kultivačných médií, identifikácia koncentračného gradientu Al^{3+} a Ca^{2+} pre detekciu primárnych účinkov iónov na morfogénu explantátov *Magnolia x soulangiana* Soul.-Bod. s možnou elimináciou toxických účinkov hliníka vápnikom.

MATERIÁL A METÓDA

Kultivačné médium (WPM) podľa Lloyda - Mc Cowna /7/, ktoré je určené pre mikropropagáciu magnólii sme modifikovali prítomnosťou chloridu hlinitého (AlCl_3) s rôznou koncentráciou 5, 10, 20 mg Al^{3+} . I⁻¹ Ďalej prítomnosťou iónov CaCl_2 v nasledovných

koncentraciách : 400, 800 a 1200 mg Ca²⁺ . l⁻¹. Treťou modifikáciou bol sledovaný účinok Al³⁺ a Ca²⁺ v určitom pomere pri zachovaní vyššie uvedených koncentracii. Kontrolné prostredie pozostávalo zo základného média bez prítomnosti iónov Al³⁺ a Ca²⁺ . Pokus bol rozdelený do dvoch etáp morfogénézy. Kultúru kontinuálne tvoriacu axilárne výhonky možno dlhodobo pestovať na multiplikačnom médiu s 0,3 mg.l⁻¹ BAP a 0,1 mg . l⁻¹ NAA, 20 000 mg.l⁻¹ sacharózy, a 7 000 mg.l⁻¹ agaru. Na stimuláciu rizogénézy médium obsahovalo polovičnú dávku koncentrácie makrosolí, obohatené o stimulačnú látku IBA (kyselina indolyl-3-maslová) v koncentrácii 4 mg. l⁻¹ a 0,3 % aktívneho uhlia. Doba medzi jednotlivými pasážovaniami (prenesenie explantátu na nové kultivačné médium) bola 35 dní (4 - 6 týždňov). V prvej etape sme pre našu prácu použili primárne explantáty *Magnolia x soulangiana* Soul.-Bod. odobraté zo stabilnej sterilnej kultúry, pričom sme odobrali nodusy stoniek a vrcholové meristémy vo vynikajúcom zdravotnom stave. Segmenty sme preniesli na modifikované kultivačné médium obohatené o jednotlivé prvky. Tieto sme si zvolili za účelom stimulácie tvorby axilárnych výhonov. Do každého experimentu sme zaradili po 20-30 explantátov v 10 opakovaníach. V druhej etape pokusu sme si zvolili ako materiál nodusy stoniek explantátov magnólie odobraté zo sterilnej kultúry za účelom stimulácie rizogénézy. Po 4 týždňoch pestovania sme pri vyhodnocovaní pozorovali vznik koreňov. Podmienky kultivácie boli zvolené nasledovne: teplota 22°C / deň a 20°C / noc, hustota ožiarenia pri tvorbe axilárnych výhonov 35 – 40 $\mu\text{mol. m}^{-2} . \text{s}^{-1}$ so 16 hodinovou fotoperiódou, biele svetlo, hustota ožiarenia pri stimulácii rizogénézy 15–30 $\mu\text{mol. m}^{-2} . \text{s}^{-1}$ so 16 hodinovou fotoperiódou. V týždenných intervaloch v jednotlivých variantoch sme vizuálne hodnotili tieto ukazovatele: priemerná dĺžka explantátu, celkový zdravotný stav explantátov, počet novovytvorených púčikov na explantáte, počet novovytvorených výhonov, koreňov, prítomnosť fenolov v médiu (kvalitatívne hodnotenie), stupeň infekcie.

Stanovenie etylénu sme determinovali plynovým chromatografom CHROM 5 so sklenenou kolónou (1500x 3,2 mm) naplnenou PORAPAK N (100/120 mesh), nitrogenovým nosičom, plameň ionizačného detektora (FID), s teplotou 50°C, a detektor s teplotou 70°C. Množstvo etylénu sme vyjadrili v ml.g⁻¹ .h⁻¹ čerstvej hmoty explantátu. Všetky získané výsledky boli vyhodnotené metódami popisnej štatistiky a analýzy rozptylu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Ióny hliníka (Al³⁺) ovplyvňujú morfológicko-anatomické ako aj fyziologické reakcie explantátov *Magnolia x soulangiana* Soul.-Bod. heterogénne. Nízke koncentrácie hliníka (5 mg.l⁻¹ Al³⁺) stimulujú predĺžovací a hmotnostný rast orgánov a pozitívne vplyvajú na zdravotný stav explantátov, bez ohľadu na ich pôvod. Koncentrácia 10 mg.l⁻¹ Al³⁺ inhibuje rastové reakcie, najmä predĺžovací rast orgánov, mení morfológický tvar nadzemných orgánov a koreňov, spôsobuje nekrózy a odumieranie listov. Koncentrácia 20 mg.l⁻¹ Al³⁺ retarduje rast a vývin explantátov, spôsobuje zmeny tvaru rizodermálnych buniek koreňa a ich poškodenie. V konečnom dôsledku vedie k deformáciám tvarov orgánov a k poškodeniu kultúr.

Potvrdilo sa, že vápnik (Ca²⁺), ktorý považujeme za antagonistu hliníka, ak je prítomný v koncentračnej škále 400– 800 mg.l⁻¹Ca²⁺ , ovplyvňuje rast orgánov *Magnolia x soulangiana* špecificky, v závislosti od pôvodu explantátu. Koncentrácia 400 mg.l⁻¹Ca²⁺ výrazne stimuluje predĺžovací rast explantátov. Koncentrácia 800 mg.l⁻¹Ca²⁺ výrazne stimuluje predĺžovací a hmotnostný rast nodusov, počet výhonkov a listov, a zdravotný stav nodálnych explantátov. Koncentrácia 400 a 800 mg.l⁻¹Ca²⁺ stimuluje rast a hmotnosť terminálov, počet listov a zdravotný stav vrcholových explantátov (tabuľka 1).

Tab. 1: Morfológicko-anatomické parametre explantátovej kultúry *Magnolia x soulangiana* Soul.-Bod. ovplyvnené zvýšenou koncentráciou iónov Al^{3+} a Ca^{2+} v kultivačnom médiu v procese multiplikácie

Variant	dĺžka výhonku (mm)	počet výhonkov	počet listov	čerstva hmotnosť (mg)	hmotnosť sušiny (mg)
KONTROLA	21.5±1.5b	5.5±0.5a	10.5±0.6d	275±1.1d	105±0.5b
WPM + 5 mg Al^{3+} . I^{-1}	25.5±0.5a	4.5±1.5b	12.5±0.4d	308±0.8c	115±0.5b
WPM + 10 mg Al^{3+} . I^{-1}	15.3±1.9b	3.1±0.5a	8.8±0.2a	227±0.7c	104±0.6c
WPM + 20 mg Al^{3+} . I^{-1}	10.5±1.5b	1.5±0.9c	4.5±0.5e	186±1.9d	85±0.2a
WPM + 400 mg Ca^{2+} . I^{-1}	22.2±1.5b	6.5±0.2a	9.9±0.3b	283±0.5b	125±0.5b
WPM + 800 mg Ca^{2+} . I^{-1}	23.5±0.5a	7.9±0.4a	13.1±0.4d	321±0.8d	119±0.6b
WPM + 1200 mg Ca^{2+} . I^{-1}	20.0±1.4b	5.9±0.9c	10.1±0.4d	214±0.4b	108±0.5b
WPM+ 5 mg Al^{3+} . I^{-1} + 400 mg Ca^{2+} . I^{-1}	23.3±1.2b	6.1±0.5a	10.0±0.6d	242±0.4b	95±0.5b
WPM+ 10 mg Al^{3+} . I^{-1} + 800 mg Ca^{2+} . I^{-1}	24.6±1.8b	5.9±0.4a	8.0±0.6d	255±0.9d	80±0.9c
WPM+ 20 mg Al^{3+} . I^{-1} + 1200 mg Ca^{2+} . I^{-1}	15.4±1.1b	4.9±0.6c	6.5±1.1d	204±1.2d	75±0.5b

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

Retardačné účinky hliníka na rast a vývin explantátov je možné eliminovať iónmi Ca^{2+} (10 mg.l⁻¹ Al^{3+} + 800 mg.l⁻¹ Ca^{2+}), pričom pozitívne efekty sa prejavujú v predĺžovacom a hmotnostnom raste, v urýchlení organogenézy a zlepšení zdravotného stavu explantátov. Reakcie explantátov sú závislé na pôvode primárneho explantátu. Počet multiplikovaných výhonkov pri jednotlivých variantoch pokusu potvrdilo náš predpoklad, že nízke koncentrácie Al^{3+} a Ca^{2+} pozitívne ovplyvnia multiplikáciu axilárnych výhonkov magnólie a vyššie dávky vápnika (800, a 1200 mg .l⁻¹ Ca^{2+}) eliminujú fytotoxický účinok Al^{3+} .

Potvrdili sa tiež interakčné účinky iónov Al^{3+} na poškodenie orgánov a produkciu fytohormónu etylén. Jeho množstvo je závislé od koncentrácie Al^{3+} v kultivačnom médiu a je v korelácii so stupňom poškodenia explantátov. Interakčné účinky boli zistené v procese multiplikácie výhonkov, aj v procese rizogenézy (tabuľka 2).

Príčina toxicity hliníka spočíva v rade faktorov. Časť tohto prvku sa dostáva do cytoplazmy, kde sa viaže na nukleové kyseliny, v dôsledku čoho sa znižuje delenie buniek v apikálnom meristéme koreňa, čím je inhibovaný rast a rozvoj koreňovej sústavy/9/. V konečnom dôsledku sa tento toxický vplyv hliníka prejaví skracovaním a hrubnutím koreňov, čím sa obmedzuje možnosť prijímať živiny a tiež vodu a rastliny viac trpia i na sucho/3/.

V prostredí s vápnikom, sme závislosť tvorby etylénu na jeho koncentrácii v kultivačnom médiu zaznamenali len v procese rizogenézy (tabuľka 3). Vplyv Al^{3+} na tvorbu etylénu je možné eliminovať iónmi vápnika najúčinnšie v kombinácii: 5 mg.l⁻¹ Al^{3+} + 400 mg.l⁻¹ Ca^{2+} , menej účinné v kombinácii 20 mg.l⁻¹ Al^{3+} + 1200 mg.l⁻¹ Ca^{2+} . Morfológické symptómy poškodenia koreňov magnólie Soulangovej vyvolané stúpajúcimi koncentraciami iónov Al^{3+} sa výrazne prejavili v zmene architektúry koreňového systému explantátov v porovnaní s kontrolnými regenerantami. Štruktúrne adaptácie koreňových buniek na nepriaznivé podmienky prostredia sa odohrávajú aj v bunkových stenách. Najčastejšie dochádza k zhrubnutiu bunkových stien. Nepravidelné zhrubnutia bunkových stien sú

výsledkom akumulácie sekundárnych metabolitov, napr. kalóza pri toxickom účinku hliníka /8/.

Tab. 2: Morfológicko-anatomické parametre explantátovej kultúry *Magnolia x soulangiana* Soul.-Bod. ovplyvnené zvýšenou koncentráciou iónov Al^{3+} a Ca^{2+} v kultivačnom médiu v procese multiplikácie

Variant	dĺžka výhonku (mm)	počet výhonkov	počet listov	dĺžka koreňa (mm)	počet koreňov	čerstva hmotnosť (mg)	hmotnosť sušiny (mg)
KONTROLA	40.5±1.1d	5.5±0.5a	12.5±1.2d	25.5±0.5b	3.0±0.5a	455±10.1d	195±10.5d
WPM + 5 mg Al^{3+} , I^{-1}	45.5±0.5a	6.5±1.0b	16.5±0.5b	35.5±0.5a	3.5±0.5b	349±10.8c	165±5.5b
WPM + 10 mg Al^{3+} , I^{-1}	25.5±1.5d	3.5±0.5a	9.8±0.3a	20.5±1.0c	2.5±0.5b	327±8.5c	154±4.5b
WPM + 20 mg Al^{3+} , I^{-1}	21.5±0.9b	1.5±0.6a	4.5±0.5e	10.5±1.5b	1.5±0.6a	186±10.9d	105±5.5b
WPM + 400 mg Ca^{2+} , I^{-1}	44.0±1.4b	6.5±0.2a	10.2±0.5b	22.0±0.5b	4.5±0.2a	436±15.5b	145±5.5b
WPM + 800 mg Ca^{2+} , I^{-1}	43.5±0.5a	8.1±0.5a	14.2±0.8d	23.5±0.4a	4.1±0.5a	421±16.6d	115±8.8c
WPM + 1200 mg Ca^{2+} , I^{-1}	40.5±1.2d	5.9±0.9c	11.1±0.6d	20.0±1.4b	4.0±0.9c	324±9.5b	125±6.5b
WPM + 5 mg Al^{3+} , I^{-1} + 400 mg Ca^{2+} , I^{-1}	25.9±1.5d	6.5±0.5a	10.0±0.8d	23.0±0.6b	3.5±0.5a	342±10.3b	105±10.5d
WPM + 10 mg Al^{3+} , I^{-1} + 800 mg Ca^{2+} , I^{-1}	23.9±1.0b	5.9±0.4a	8.5±0.8d	24.0±0.8b	3.0±0.5a	355±6.5c	118±5.9b
WPM + 20 mg Al^{3+} , I^{-1} + 1200 mg Ca^{2+} , I^{-1}	21.5±0.9b	4.8±0.5b	6.9±1.0d	15.0±0.6b	2.5±0.6b	310±11.2d	105±10.5d

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

Tab. 3: Vplyv zvýšenej koncentrácie iónov Al^{3+} a Ca^{2+} na produkciu etylénu v explantátovej kultúre *Magnolia x soulangiana* Soul.-Bod. v procesoch multiplikácie a rizogenézy

Varianty	Priemerné množstvo etylénu vyprodukované explantátovou kultúrou <i>M. x soulangiana</i>	
	v procese multiplikácie v $ml \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	v procese rizogenézy v $ml \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$
KONTROLA	8,10 . 10 ⁻⁴	12,60 . 10 ⁻⁴
WPM + 5 mg Al^{3+} , I^{-1}	10,05 . 10 ⁻⁴	36,05 . 10 ⁻⁴
WPM + 10 mg Al^{3+} , I^{-1}	37,75 . 10 ⁻⁴	55,55 . 10 ⁻⁴
WPM + 20 mg Al^{3+} , I^{-1}	78,90 . 10 ⁻⁴	88,99 . 10 ⁻⁴
WPM + 400 mg Ca^{2+} , I^{-1}	12,95 . 10 ⁻⁴	18,45 . 10 ⁻⁴
WPM + 800 mg Ca^{2+} , I^{-1}	8,20 . 10 ⁻⁴	21,15 . 10 ⁻⁴
WPM + 1200 mg Ca^{2+} , I^{-1}	18,50 . 10 ⁻⁴	20,50 . 10 ⁻⁴
WPM + 5 mg Al^{3+} , I^{-1} + 400 mg Ca^{2+} , I^{-1}	34,15 . 10 ⁻⁴	35,50 . 10 ⁻⁴
WPM + 10 mg Al^{3+} , I^{-1} + 800 mg Ca^{2+} , I^{-1}	36,15 . 10 ⁻⁴	45,05 . 10 ⁻⁴
WPM + 20 mg Al^{3+} , I^{-1} + 1200 mg Ca^{2+} , I^{-1}	37,25 . 10 ⁻⁴	55,45 . 10 ⁻⁴

Na toxicitu hliníka najcitlivejšie reagujú najmladšie bunky koreňového apexu, kým dospelé, diferencované bunky sa zdajú byť nezmenené. S ohľadom na polohu buniek voči zdroju stresovej záťaže sú najcitlivejšie pokožkové bunky koreňa, kým bunky centrálného valca si nezmenené štruktúrne vlastnosti zachovávajú dlhšie /2/.

LITERATÚRA

- /1/ Abdel-Basset, R., S. Ozuka, T. Demiral, T. Furuichi, I. Sawatani, T. I. Baskin, H. Matsumoto & Y. Yamamoto: Aluminium reduces sugar uptake in tobacco cell cultures: a potential cause of inhibited elongation but not of toxicity. *Journal of Experimental Botany*, 61, 2010:1597-1610.
- /2/ Cai, M. Z., S. N. Zhang, C. H. Xing, F. M. Wang, N. Wang & L. Zhu : Developmental characteristics and aluminum resistance of root border cells in rice seedlings. *Plant Science*, 180, 2011: 702-708.
- /3/ Čiamporová, M., Dekánková,, K.,: Effects of chilling on root system morphogy and anatomy of the sensitive plants. *Biologia* 53, 1998.
- /4/ Chen, Y. M., T. M. Tsao, C. C. Liu, K. C. Lin & M. K. Wang: Aluminium and nutrients induce changes in the profiles of phenolic substances in tea plants (*Camellia sinensis* CV TTES, No. 12 (TTE). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 2011: 1111-1117.
- /5/ Horst, W. J., Y. X. Wang & D. Eticha : The role of the root apoplast in aluminium-induced inhibition of root elongation and in aluminium resistance of plants: a review. *Annals of Botany*, 106, 2010: 185-197.
- /6/ Kamenická, A., Valka, J.: Cultivation and propagation of magnolias. Technical University Publishers, Zvolen, 1997: p. 16-17.
- /7/ 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.
- /8/ López-Serreno, M.: Ca and Mg ions counteract the reduction by fosetyl-Al (aluminumtriethylphosphonate) of peroxidase activity from suspension-cultured grapevine cells. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 47, 1997: p. 207-212.
- /9/ Panda, S.K., Baluska, F., Matsumoto, H: Aluminium stress signalling in plants *Plant Signaling & Behavior* 4:7, 2009: 592-597.

Pod'akovanie

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory projektu VEGA 2/0072/16 Biologicky aktívne látky vo vybraných druhoch okrasných drevín rodu *Magnolia*.

DĚŤKOVÝ POLYMORFIZMUS RETROTRANSPOZÓNU SUKKULA V GENÓME PŠENICE S RÓZNOU ODOLNOSTÓU VOČI SUCHU

THE RETROTRANSPOSON SUKKULA LENGHT POLYMORFISM IN WHEAT GENOME WITH VARIOUS DROUGHT RESISTANCE

Matúš Kysel', Jana Žiarovská, Veronika Štefúnová, Katarína Ražná
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FAPZ, Katedra genetiky a šľachtenia rastlín, Tr. A.
Hlinku 2, 949 76 Nitra, mat.kysel@gmail.com

Summary

Genomic length polymorphism of wheat with different drought-resistance was monitored on the varieties Aladin, Seladon, and Dagmar after application of PEG 6000 to the culture medium. Responses to this were detected by the IRAP analysis at DNA level and cDNA level. Primer derived from the Sukkula element identified 122 fragments with 81 – 92 % polymorphism at the DNA level and 59 – 73 % polymorphic fragments at the cDNA level in the wheat genome. The copy number variation and the primer binding sites in the genome increased under culture conditions not just right in time but also with the increasing concentration of PEG 6000.

Key words: retrotransposon Sukkula, wheat, drought resistance, IRAP polymorphism

Súhrn

Celogenómový polymorfizmus pšenice s rôznou odolnosťou voči suchu bol sledovaný na odrodách Aladin, Seladon a Dagmar po aplikácii PEG 6000 do kultivačného média. Prejavy odpovede na suchu boli sledované na úrovni DNA a cDNA analýzou IRAP. Prajmerom odvodeným od elementu *Sukkula* bolo rozpoznaných v genóme pšenice 122 fragmentov s polymorfizmom 81 – 92 % na úrovni DNA a 59 fragmentov s polymorfizmom 73 – 81 % na úrovni cDNA. Variabilný počet kópií a počet väzbových miest pre prajмеры v genóme sa v kultivačných podmienkach zvyšuje nielen v čase, ale aj s rastúcou koncentráciou PEG 6000.

Kľúčové slová: retrotranspozón Sukkula, pšenica, suchovzdornosť, IRAP polymorfizmus

ÚVOD

Pšenica je jedna z potravinársky významných a neoceniteľných komodít. V meniacich sa klimatických podmienkach je nevyhnutné, aby výskum v oblasti rastlinnej odpovedi na stresové podmienky dokázal reagovať intenzívne a efektívne. Webová lokalita <https://www.wheatgenome.org/> prezentuje výsledky projektu identifikácie a priradenia pozícií jednotlivým zložkám genómu v referenčnom genóme pšenice kultivaru čínska jarná /1/. V genóme sa nachádzajú aj neautonómne mobilné elementy v dôsledku absencie génov zodpovedných za ich vlastnú transpozíciu. Element *Sukkula* [sook-koo-la], vo finštine „kyvadlová doprava“, patrí k hybridným retrotranspozónovým rodinám a je najpohyblivejším mobilným elementom a zároveň najpočetnejším elementom skupiny veľkých derivátov retrotranspozónov (LARD) v jačmeni /2/. Tak ako ostatné LARD má vysoký stupeň konzervativity sekvencie LTR a oblastí primárnej a sekundárnej štruktúry RNA. Vnútorňý región tiež zahŕňa konzervatívnejšie oblasti na základe čoho je odhadovaná až 50-percentná konzervativita /2, 3/. Fluorescenčnou hybridizáciou za použitia prajmerov odvodených od

sekvencií *Sukkula* a LTR sa zistilo, že *Sukkula* sa vyskytuje v najväčšom počte v tých istých častiach chromozómov ako *BARE-1* /2/. Fyziologická charakteristika pšenice je v súčasnosti predmetom spracovania spoluriešiteľského pracoviska. Cieľom tejto práce je participovať na genomickej charakterizácii odpovede na sucho a rozpoznať príznaky expresných zmien alwbo genomickej prestavby.

MATERIÁL A METÓDA

Biologický materiál predstavujú odrody pšenice letnej Seladon (ako náchylné na sucho) a odrody Aladin a Dagmar (odolné sucho) poskytnuté spoluriešiteľským pracoviskom VÚRV, Piešťany. Protokol sterilizácie semien etanolom, kultivácie v médiu podľa Murashige a Skoog obohateného o PEG 6000 (0, 5 a 10 %), 24-hodinová inkubácia a prenos do kontrolovaných podmienok bol prevzaný od autorského kolektívu /5/.

Tab. 1: Parametre PCR analýzy

PCR zmes			Režim PCR analýzy		
Zložka	Koncentrácia	Objem	Kroky (2. – 4.) opakované 44x	Teplota	Čas
dH ₂ O	-	4,8 uL	1.Denaturácia	95 °C	300 s
DNA/cDNA	30 ng	1,2 uL	2.Amplifikácia	95 °C	60 s
2x MyTaq™ Mix (Bioline, Meridian Life Science® Company)	1 U polymerázy	7,5 uL	3.Anealing	50 °C	60 s
			4.Polymerácia	72 °C	120 s
			5.Renaturácia	72 °C	600 s
Prajmer HV-Sukkula (Microsynth)	200 nM	1,5 uL	6.Uchovanie	12 °C	∞
			Objem PCR	15 uL	

Na extrakciu DNA/RNA metodikou podľa autorov /6/ sa použili mladé listy a semená 6 týždňových rastlín. Pred následnou amplifikáciou bola RNA prepísaná do cDNA pomocou protokol Tetro cDNA Synthesis Kit (Bioline, Life Science® Company). PCR zmesi pri reakčných podmienkach (Tab. 1) úspešne vygenerovali amplifikačné produkty (MJ Mini Personal Thermal Cycler, Biorad), ktoré boli kontrolované horizontálnou agarózovou elektroforézou (1,5 %). Tá prebehala pri konštantnom napätí 80 V a prúde 30 mA v rozpätí 2 – 4 hodiny. Rozdelené fragmenty vizualizované v transiluminátore (Transiluminator UVP) a hodnotené na základe amplifikačných produktov analýzou čierno-bielých výstupov analytickým softvérom GeneSnap (dokumentačný systém G-Box, Syngene) a komerčne dostupným softvérom GelAnalyzer 2010 (GelAnalyzer.com).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Markérovací systém IRAP sleduje polymorfizmy v inzerčných miestach medzi retrotranspozónmi. Mutačné zmeny vyvolané vplyvom stresových podmienok sa prejavujú hlavne v blízkosti kódujúcich oblastí, kde manifestujú v podobe expresných zmien a genomickej prestavbe /7/. Limitujúcim faktorom retrotranspozónových markérov je nutnosť sekvenovania koncových úsekov retrotranspozónov – dlhých tandemových repetícií (LTR) pre voľbu alebo návrh prajmerov /8, 9/.

Prajmer sekvencie 5'-TGTGACAGCCCGATGCCG-3' odvodený od elementu *Sukkula* bol schopný rozpoznať v genóme pšenice 122 fragmentov na úrovni DNA a 59 fragmentov na úrovni cDNA (Tab. 2). Len jeden fragment na každej úrovni možno považovať za monomorfný (240 bp na úrovni DNA a 20 bp na úrovni cDNA) ako ukázali dáta po úprave molekulárnych veľkostí fragmentov získaných programom GelAnalyzer. Opakované amplifikácie potvrdili, že genóm odrody Dagmar vytvára menej reprodukovateľné

profily na úrovni DNA a z toho dôvodu bola amplifikácia triplikovaná zatiaľ čo pri odrodách Aladin a Seladon iba duplikovaná. Amplifikácia na úrovni cDNA nebola reprodukována čo sa prejavilo v celkovom počte fragmentov (Tab. 2).

Tab. 2: Parametre fragmentov amplifikovanej DNA a cDNA markérom IRAP

Úroveň DNA					Úroveň cDNA				
Profil	Počet	Rozsah (bp)	Priemer (bp)	GTS (%)	Profil	Počet	Rozsah (bp)	Priemer (bp)	PIC (%)
1/0	11	18>1169	454,27	91,55	1/0	8	81>798	341,38	76,92
1/5	13	18>1189	360,38	88,73	1/5	6	81>558	252,67	76,92
1/10	14	18>1279	353,29	85,92	1/10	7	80>530	214,71	80,77
2/0	11	19>402	217,27	85,92	2/0	7	82>537	278,57	80,77
2/5	11	19>400	194,09	85,92	2/5	6	82>551	242,33	76,92
2/10	11	19>417	205,55	85,92	2/10	5	73>551	209,00	80,77
3/0	18	20>725	195,83	81,69	3/0	5	74>562	211,60	80,77
3/5	17	19>1224	398,76	90,14	3/5	8	75>551	186,38	73,08
3/10	16	20>780	183,69	81,69	3/10	7	71>530	182,86	73,08
Sum	122	18>1279	284,79		Sum	59	71>798	235,50	

Označenie profilov: 1/0, 1/5 a 1/10 – odroda Aladin; 2/0, 2/5 a 2/10 – odroda Seladon; 3/0, 3/5 a 3/10 – odroda Dagmar; 1/0, 2/0 a 3/0 – bez PEG 6000; 1/5, 2/5 a 3/5 – s 5 % PEG 6000 a 1/10, 2/10 a 3/10 – s 10 % PEG 6000. GTS (Stabilita genomického templátu) vyjadrené ako $100 - (100 \times a/n)$, kde a je počet polymorfných fragmentov a n je celkový počet fragmentov.

Tabuľkové vyobrazenie elektroforetogramov s odhadovými hodnotami rozsahu veľkostí fragmentov a priemernej veľkosti fragmentu na príslušný profil DNA dokumentuje interakciu medzi rastúcou koncentráciou PEG v kultivačnom médiu a variabilným počtom kópií (CNV) elementu *Sukkula* v genóme pšenice. Jav bol sledovaný na úrovni DNA aj cDNA a potvrdzuje reakciu elementu *Sukkula* na navodený stres. Každá z odrôd pšenice reagovala na úrovni DNA na stres zvýšením aktivity retrotranspozónov (odrody Aladin a Dagmar) alebo zmenou amplifikovaného profilu (odrody Seladon a Dagmar) (Tab. 2). Naopak na úrovni cDNA všetky odrody vykazujú rovnakú reakciu so znižujúcou sa priemernou veľkosťou fragmentov o 2 – 35 % ku 5-percentnej koncentrácii PEG a o 15 – 59 % ku 10 % koncentrácii PEG. Celkový polymorfizmus v genóme pšenice sa pohybuje medzi 81 – 92 % v DNA a 73 – 81 % v cDNA. Štúdia elementu *Sukkula* na kultúrach starnúcich kalusových materiálov jačmeňa ukazujú polymorfizmus 61 – 70 % /10/. Na druhej strane najnovšia štúdia zaoberajúca sa elementom *Sukkula* vyčíslila jeho polymorfizmus na 8 – 100 % v rozsahu 350 – 1500 bp v ľudskom genóme 12 mužov a 12 žien /11/. Posledné výskumy ukazujú, že CNV sa v kultivačných podmienkach v čase zvyšuje čím dochádza k rozširovaniu genómu /12/ následkom čoho sa zvyšuje počet väzbových miest pre prajmery v genóme a znižuje veľkosť amplifikačných produktov. Suchovzdornosť je na natoľko komplexný znak, ktorý potrebuje mať definovanú odpoveď na všetkých úrovniach rastlinného organizmu od DNA až po biologickú niku. Až potom je možné formulovať stanoviská v kontexte celistvého rastlinného organizmu a jeho interakcie s okolím.

LITERATÚRA

- /1/ IWGSC (International Wheat Genome Sequencing Consortium): A chromosomebased draft sequence of the hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum*) genome. *Science*, 345 (6194), 2014: 1251788.
- /2/ Kalendar, R., Vicient, C. M., Peleg, O., Anamthawat-Jonsson, K., Bolshoy, A., Schulman, A. H.: Large Retrotransposon Derivatives? Abundant, Conserved but Nonautonomous Retroelement of Barley and Related Genomes. *Genetics*, 166 (3), 2004: 1437 – 1450.

- /3/ Shirasu, K., Schulman, A. H., Lahaye, T., Schulze-Lefert, P.: A Contiguous 66-Kb Barley DNA Sequence Provides Evidence for Reversible Genome Expansion. *Genome Research*, 10 (7), 2000: 908 – 915.
- /5/ Nawaz, S., Ahmed, N., Iqbal, A., Khaliq, I.: Optimization of regeneration protocols for wheat under drought and salt stress. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 50 (4) 2013: 663 – 670.
- /6/ Rogers, S. O., Bendich, A. J.: Extraction of total cellular DNA from plants, algae and fungi. *Plant Molecular Biology Manual*, Springer Netherlands, 1994: 183 – 190.
- /7/ Salazar, M., González, E., Casaretto, J. A., Casacuberta, J. M., Ruizlara, S.: The promoter of the TLC1. 1 retrotransposon from *Solanum chilense* is activated by multiple stress-related signaling molecules. *Plant Cell Reports*, 26 (10), 2007: 1861 – 1868.
- /8/ Kalendar, R., Grob, T., Regina, M., Suoniemi, A., Schulman, A. H.: IRAP and REMAP: Two New Retrotransposon-Based DNA fingerprinting Techniques. *Theoretical and Applied Genetics*, 98 (5), 1999: 704 – 711.
- /9/ Kalendar, R., Antonius, K., Smýkal, P., Schulman, A. H.: iPBS: A Universal Method for DNA Fingerprinting and Retrotransposon Isolation. *Theoretical and Applied Genetics*, 121 (8), 2010: 1419 – 1430.
- /10/ Kartal-Alacam, G., Yilmaz, S., Marakli, S., Gozukirmizi, N.: Sukkula retrotransposon insertion polymorphism in barley. *Russian Journal of Plant Physiology*, 61 (6), 2014: 828 – 833.
- /11/ Cakmak, B., Marakli, S., Gozukirmizi, N.: Sukkula retrotransposon movements in the human genome. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 31 (4), 2017: 756 – 760.
- /12/ Gozukirmizi, N.: Retrotransposon Based Markers And Their Applications In Barley (*Hordeum Vulgare* L. Cvs.) Tissue Culture. *International Symposium On Sustainable Development*. 2014: 1 – 7.

Pod'akovanie

Riešenie práce bolo finančne podporené projektom APVV-15-0156 Genomická selekcia obilnín na suchovzdornosť. Autori by radi vyjadrili poďakovanie p. Helene Csámpaiovej za kultiváciu rastlín a Ing. Beate Kováčovej za technickú asistenciu.

PORASTY BORIEVKY OBYČAJNEJ V ROZDIELNYCH NADMORSKÝCH VÝŠKACH

STANDS OF JUNIPER AT A RANGE OF ALTITUDES

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 aim of research was to review botanical and soil characteristics as well as the quality of grassland at the sites where the high incidence of juniper (*Juniperus communis* L.) was found. The following research sites with different altitude were monitored: Donovaly (960 m a.s.l.), Kráľová pri Zvolene (650m a.s.l.), Priechod (578m a.s.l.), and Horné Lazy (656m a.s.l.). The following research sites were monitored: Donovaly (960 m), Kráľová pri Zvolene (650 m), Priechod (578 m) and Horné Lazy (656 m). The botanical composition of grassland and quality (E_{GQ}) was determined. The results of monitoring showed the valuable to the less-valuable grassland (E_{GQ} 58.63 – 61.38) at all the sites. The best value of grassland was found at the sites of Horné Lazy and Kráľová pri Zvolene, although the soil acidity was very high at the Kráľová site. At the other sites, the soil was characterized by a neutral soil reaction, with a high content of humus and nitrogen (N), a low to very low content of phosphorus (P), a good to a high content of potassium (K) and a very high content of magnesium (Mg).

Key words: grassland, Juniperus communis L., altitude, botanical composition, soil reaction

Súhrn

Cieľom výskumu bolo posúdiť botanické a pôdne charakteristiky a kvalitu trávneho porastu na lokalitách hromadného výskytu borievky obyčajnej (*Juniperus communis* L.). Boli monitorované lokality v rozdielnych nadmorských výškach: Donovaly (960 m), Kráľová pri Zvolene (650 m), Priechod (578 m) a Horné Lazy (656 m). Botanické zloženie trávneho porastu a kvalitu sme stanovili pomocou metódy projektívnej dominancie a bonitácie trávneho porastu (E_{GQ}). Výsledky monitorovania ukázali hodnotný až menej hodnotný trávny porast (E_{GQ} 58.63 – 61.38) na všetkých lokalitách. Najlepšie hodnotený trávny porast bol na lokalitách Horné Lazy a Kráľová pri Zvolene, na ktorom bola pôdna reakcia silne kyslá. Na ostatných lokalitách bola pôda charakterizovaná neutrálnou pôdnou reakciou, s vysokým obsahom humusu a dusíka (N), nízkym až veľmi nízkym obsahom fosforu (P), dobrým až vysokým obsahom draslíka (K) a veľmi vysokým obsahom horčíka (Mg).

Kľúčové slová: trávny porast, Juniperus communis L., nadmožská výška, botanika, pôdna reakcia

ÚVOD

V súčasnosti sa v podmienkach miernej klímy borievka obyčajná nachádza najčastejšie na ťažko prístupných lokalitách, pričom v minulosti sa vyskytovala na využívaných a prístupných pasienkoch. Pri zavedení agrolesníckych systémov s borievkovými pasienkami sa zlepšil využívanie trávnych porastov hospodárskymi zvieratami a zároveň sa zabezpečí produkcia plodov borievky /1/. Borievka obyčajná je málo konkurenčný ihličnatý vždyzelený ker s tvrdými, pichľavými ihlicami v trojpočetných praslencoch. Vyskytuje sa tam kde je

dostatok svetla, je nenáročná na pôdu a vlahu. Je to dvojdómá rastlina, s produkciou plodov na samičích jedincoch raz za dva až tri roky. Na jednom kríku sa môžu vyskytnúť zelené bobuľky a dozrievajúce modré bobuľky s voskovým nádychom. Plody borievky obyčajnej sú nevyhnutné pre výrobu destilátov, likérov, sirupov a iných produktov a v súčasnosti sa zabezpečujú výlučne dovozom z Albánska a Macedónska. Dovážajú sa prevažne plody borievky červenoplodej (*Juniperus oxycedrus* L.) s väčším obsahom cukru, ale s nižším obsahom aromatických látok v porovnaní s plodmi borievky obyčajnej. Okrem toho sa borievka využíva aj v kozmetickom, potravinárskom a farmaceutickom priemysle. Jej domáca produkcia je minimálna, aj keď je na Slovensku dostatok vhodných pôdnoklimatických podmienok na jej intenzívne pestovanie. Cieľom tohto príspevku je zhodnotenie floristického zloženia a pôdných podmienok výskytu borievky obyčajnej v rôznych nadmorských výškach.

MATERIÁL A METÓDA

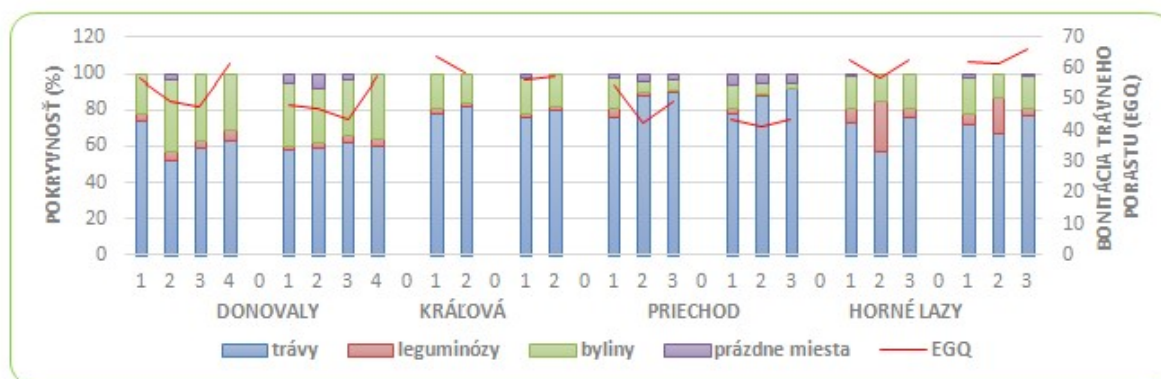
Monitoring výskytu borievok na trávnom poraste sme realizovali v rokoch 2015 - 2017 na štyroch lokalitách v rozdielnych nadmorských výškach – Donovaly (960 m), Kráľová pri Zvolene (650 m), Priechod (578 m) a Horné Lazy (656 m). Analyzovali sme botanické zloženie pomocou redukovanej projektívnej dominancie podľa Malocha /3/. Na základe podielov rastlín a kŕmnych hodnôt jednotlivých druhov sme určili bonitáciu trávneho porastu E_{GQ} podľa /5/. Pôdne vzorky sme odoberali v jesennom období (október) z hĺbky 0 - 150 mm. Z odobratých pôdných vzoriek sme stanovili pH v KCl, C_{ox} , N, P, K a Mg, z ktorých sme určili štatistickú významnosť rozdielu jednotlivých lokalít metódou analýzy rozptylu ANOVA pomocou Tukeyovho testu na hladine významnosti 0,05 v programe STATGRAPHIC Centurion XVI.I.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Porasty borievky obyčajnej sa nachádzali v rozdielnych nadmorských výškach od 578 – 960 m n. m na Slovensku. Výskyt borievky obyčajnej na Kopaoniku bol v nadmorských výškach od 420 m – 1420 m /7/. Na lokalite *Donovaly* bol skupinovitý výskyt borievky obyčajnej. *Kráľová pri Zvolene* s hlúčikovitým výskytom, *Priechod* s plošnou a *Horné Lazy* s ostrovčekovitou formou výskytu borievky obyčajnej.

Lokalitu *Donovaly* sme monitorovali na jar a jeseň na štyroch stanovištiach. Porasty boli využívané lesnou zverou. Na začiatku vegetačného obdobia dominovali trávy od 52 – 74 % a byliny 22 – 40 % (graf 1). Leguminózy mali 4 – 6 %-né zastúpenie s prevahou *Anthyllis vulneraria* L. (2 %) a *Trifolium montanum* L. (2 %). Z tráv prevládali *Arrhenatherum elatius* L. (19 %), *Bromus inermis* L. (8 %) a *Briza media* L. (6 %) a z bylín *Calamintha alpina* L. (3 %), *Salvia verticillata* L. (2 %), *Thymus pulegioides* L. (1 %). Ku koncu vegetácie sa zastúpenie tráv mierne znížilo a zvýšil sa podiel bylín. Bonitácia trávneho porastu na jar mala hodnoty E_{GQ} 47,50 – 61,50, čo znamená menejhodnotný až hodnotný trávny porast, ktorý bol aj na jeseň.

Lokalita *Kráľová pri Zvolene* bola v dolnej časti využívaná pasením oviec a hovädzieho dobytky. V poraste na začiatku vegetácie dominovali najmä trávne druhy (*Arrhenatherum elatius* L. - 19 %, *Trisetum flavescens* (L.) P. Beauv. - 13 % a *Poa pratensis* L. - 8 %) a byliny (*Cruciata glabra* L. - 2 %, *Galium verum* L. - 2 %, *Hypericum perforatum* L. - 1 %). Na jeseň mierne stúplo zastúpenie bylín a výskyt prázdnych miest (2 %) z dôvodu odstraňovania borievok pod elektrickým vedením. Pokryvnosť leguminóz bola nízka (2 %) s výskytom *Trifolium repens* L. a *Trifolium pratense* L. Bonitácia trávneho porastu na jar mala hodnoty E_{GQ} 58,75 – 63,75, čo znamená menejhodnotný až hodnotný trávny porast. Ku koncu vegetačného obdobia boli hodnoty o niečo nižšie (E_{GQ} 56,25 – 57,75), ale s rovnakou kvalitou.



Graf 1: Floristické zloženie a bonitácia trávneho porastu

Na lokalite **Priechod** dominovali trávy a byliny. Z tráv na jar prevládali *Festuca rubra* L. (24 %), *Bromus ramosus* L. (15 %), *Arrhenatherum elatius* L. (14 %) a *Bothriochloa ischaemum* (L.) Keng. (9 %) a z leguminóz *Anthyllis vulneraria* L. (3 %) a *Medicago falcata* L. (2 %). Na konci vegetačného obdobia mierne stúpol podiel tráv a prázdnych miest (5–6 %), ktoré vznikli pre rozrytie porastu diviakmi. Zvýšil sa podiel trávnych druhov *Bromus ramosus* L. (17 %) a *Bothriochloa ischaemum* (L.) Keng (15 %). Bonitácia porastu na jar mala hodnoty E_{GQ} 42,50 – 54,38, čo znamená menejhodnotný až hodnotný trávny porast, ktorý bol aj na jeseň, no s nižšími hodnotami E_{GQ} . Porast bol využívaný pasením oviec. Na poraste v lokalite **Horné Lazy**, pasené mladým HD, dominovali trávy. Ich podiel ku koncu vegetácie mierne stúpol. Z trávnych druhov v poraste prevládali *Bromus inermis* L. (25 %), *Arrhenatherum elatius* L. (12 %) a *Briza media* L. (6 %). Na jar mali leguminózy vyššie zastúpenie (28 %) s dominanciou *Anthyllis vulneraria* L. (25 %), ktoré sa počas vegetácie znížilo. Pri hodnotení trávneho porastu pomocou bonitácie, bol porast menejhodnotný až hodnotný s hodnotami E_{GQ} od 57,00 do 66,13. Tieto hodnoty odpovedajú nižšiemu zastúpeniu vysokohodnotných druhov tráv s vysokou krmnou hodnotou /6/.

Pôdna reakcia na lokalite **Donovaly** bola neutrálna od 6,70 – 7,09. Obsah humusu bol stredný až veľmi vysoký, s nízkym obsahom fosforu a draslíka v pôde. Zásoba fosforu a draslíka bola nízka až dobrá. Obsah prijateľného horčíka sa zistil veľmi vysoký. Na lokalitách spásaných lesnou zverou bol vyšší obsah Mg, K a humusu. Reakcia pôdy na lokalite **Kráľová** bola silne kyslá s priemernou hodnotou pH 4,58, s vysokým obsahom humusu a dusíka. Nízke hodnoty pôdnej reakcie sa štatisticky preukazne potvrdili (tab. 1) voči ostatným lokalitám. Zásoba fosforu v pôde bola veľmi nízka s hodnotami len 1,88 - 1,94 $g \cdot kg^{-1}$. Veľmi vysoký bol obsah K, čo bolo aj signifikantne potvrdené ($P < 0,05$) voči ostatným lokalitám. Pôdna reakcia na lokalite **Priechod** bola neutrálna (6,67 – 6,92). Obsah humusu aj dusíka bol vysoký, zásoba P v pôde nízka a obsah prijateľného K dobrý až vysoký. Zaznamenala sa veľmi vysoká zásoba Mg s najväčšou priemernou hodnotou 1169,91 $mg \cdot kg^{-1}$, čo sa aj štatisticky preukazne potvrdilo. Lokalita **Horné Lazy** mala pôdnu reakciu neutrálnu (6,69 – 6,71), s veľmi vysokým obsahom humusu a dusíka. Obsah fosforu v pôde bol veľmi nízky, dobrý obsah draslíka a veľmi vysoký obsah prijateľného horčíka. Naše pôdy sú dobre zásobené horčíkom čo potvrdzujú aj naše zistenia /2/. Vysoký obsah humusu, prijateľného N, K a horčíka v pôde súvisí s pasením zvierat, čím sa ich zásoby živín zvyšujú. Dostupnosť živín v pôde sa môže meniť aj vplyvom zrážok, teploty, pôdneho typu a pôdnej reakcie /4/.

Tab 1: Priemerné hodnoty agrochemických vlastností pôdy

Lokalita	pH/KCl	Cox g.kg ⁻¹	N g.kg ⁻¹	P mg.kg ⁻¹	K mg.kg ⁻¹	Mg mg.kg ⁻¹
Donovaly	6,89 ^b	45,69 ^a	4,57 ^a	1,81 ^a	123,61 ^a	1098,11 ^{ab}
Kráľová	4,58 ^a	37,65 ^a	3,01 ^a	1,91 ^a	345,18 ^b	312,19 ^a
Priechod	6,78 ^b	41,71 ^a	3,98 ^a	1,56 ^a	241,08 ^{ab}	1169,91 ^b
Horné Lazy	6,73 ^b	54,33 ^a	4,83 ^a	1,42 ^a	171,67 ^a	1056,25 ^{ab}

Rozdielne indexy znamenajú štatisticky preukazné rozdiely medzi úrovňami faktorov (Tukey *t*-test, $P = 0,05$).

ZÁVER

Porasty borievky obyčajnej boli monitorované v rôznych nadmorských výškach (578 – 960 m) s rôznou formou výskytu. Na lokalite Donovaly bol skupinovitý výskyt, v Kráľovej pri Zvolene hlúčikovitý, v Priechode plošný a na Horných Lazoch s ostrovčekovitým výskytom. Lokality sa vyznačovali neutrálnou pôdnou reakciou, okrem lokality Kráľová pri Zvolene, kde bolo silne kyslé pH, čo bolo aj signifikantne potvrdené. Pôdy boli charakteristické vysokým obsahom humusu, dusíka, nízkym až veľmi nízkym obsahom prijateľného fosforu v pôde, s dobrým až vysokým obsahom draslíka a veľmi vysokým obsahom horčíka. Trávny porast pri výskyte borievky obyčajnej bol hodnotený ako hodnotný až menejhodnotný. Najlepšia kvalita trávneho porastu bola na lokalitách Horné Lazy a Kráľová pri Zvolene, kde boli tieto porasty využívané pasením mladého HD a ovcami. Naše zistenia potvrdili, že nadmorská výška a agrochemické vlastnosti pôdy nemajú vplyv na výskyt borievky obyčajnej. Jej pestovanie na produkciu plodov by malo byť manažované v súčinnosti s pasením hospodárskych zvierat (Silvopasture), tak ako je to na monitorovaných lokalitách. Uvedené lokality sú dobrým príkladom agrolesníctva, pri ktorom si farmári môžu svoju produkciu diverzifikovať a tým si zvýšiť príjmy.

LITERATÚRA

- /1/ Jankovič J *et al.* : Poznatky z mapovania borievkových porastov na Slovensku. In *Dlhodobý ekologický výskum a monitoring lesov. Súčasné poznatky a výzvy do budúcnosti* : zborník recenzovaných príspevkov z konferencie. Zvolen: NLC, 2017: 67-71.
- /2/ Kobza, J *et al.*: Aktuálny stav a vývoj obsahu fosforu, draslíka a horčíka v poľnohospodárskych pôdach Slovenska. In *Agrochémia*, 50 (1), 2010: 3-8.
- /3/ Maloch, M.: *Krmovinarstvo*. II. diel. Bratislava : SPN, 1953: 616.
- /4/ Maathuis, F.: Physiological function of mineral macronutrients. In *Current Opinion in Plant Biology*, 12 (3), 2009: 250-258.
- /5/ Novák, J.: Evaluation of grassland quality. In *Ekológia (Bratislava)*, 23, (2), 2004: 127-143.
- /6/ Novák, J. 08: *Pasienky, lúky a trávniky*. Prievidza : Patria I. spol. s r. o. , 2008: 708.
- /7/ Vasic P. *et al.*: The effect of altitude on the presence of plant species in stands for *Juniperus L.*, plant species on Kopaonik. In *The University Thought – Publication in Natural Sciences.*, 6, (2), 2016: 5-10.

Pod'akovanie

Príspevok bol spracovaný vďaka podpore projektu APVV-14-0843 „Výskum možností pestovania borievky (*Juniperus communis L.*) na produkciu plodov“.

AKUMULÁCIA A FYZIOLOGICKÉ ÚČINKY VYBRANÝCH ŤAŽKÝCH KOVOV NA RAST A VÝVIN BRUSNICE ČUČORIEDKOVEJ (*VACCINIUM MYRTILLUS* L.)

ACCUMULATION AND PHYSIOLOGICAL IMPACT OF SELECTED HEAVY METALS ON BLUEBERRY (*VACCINIUM MYRTILLUS* L.) GROWTH AND DEVELOPMENT

Natalia Maximová, Michaela Saganová, Ľudmila Slováková, Marek Vaculík
Univerzita Komenského v Bratislave, PriF UK, Katedra fyziológie rastlín, Ilkovičova 6, 842 15
Bratislava, vaculik@fns.uniba.sk

Summary

Using soil elements analysis we found out high accumulation of Pb in the soil from localities Vysoké Tatry (Litvorová dolina 110.4 mg kg⁻¹; Velická dolina 104.4 mg kg⁻¹) and Veľká Fatra (Křížna 88.09 mg kg⁻¹). Nevertheless, it was not recorded increased concentrations of Pb in the particular blueberry plant tissues. The highest Pb concentration was recorded in stems (1.14; 0.82; 0.77 mg kg⁻¹). Cd concentration on the monitored localities was relative low (0.8; 2.6; 0.88 mg kg⁻¹) which corresponded with its low accumulation in plants. In the laboratory experiments stress level of plants cultivated on Hoagland nutrient medium supplemented with by CdCl₂ (1 mg l⁻¹) a Pb(NO₃)₂ (30 mg l⁻¹) was manifested by significant decreasing of photosynthesis activities compared with control plants. Values of QY max (C – 0.76±0.02; Cd – 0.60±0.09; Pb – 0.62±0.06) a Φ PS II (C – 0.68±0.03; Cd – 0.53±0.05; Pb – 0.34±0.05) significantly decreased whereas values of NPQ (C – 0.19±0.04; Cd – 0.46±0.15; Pb – 0.49±0.06), expressing degree of stress, significantly increased.

Key words: blueberry plants, Vaccinium myrtillus, Pb and Cd accumulation, photosynthesis, stress

Súhrn

Analýzou prvkového zloženia pôdy z oblastí Vysoké Tatry (Litvorová dolina 110,4 mg kg⁻¹; Velická dolina 104,4 mg kg⁻¹) a Veľká Fatra (Křížna 88, 09 mg kg⁻¹) sme zistili vysokú koncentráciu Pb. Napriek tomu sme zvýšené koncentrácie Pb v jednotlivých častiach rastlín brusnice čučoriedkovej nezaznamenali. Najvyššia koncentrácia bola v stonkách (1,14; 0,82; 0,77 mg kg⁻¹). Koncentrácia Cd pôd sledovaných stanovišť bola nízka (0,8; 2,6; 0,88 mg kg⁻¹) a tomu zodpovedala aj nízka akumulácia do jednotlivých častí rastlín. Miera stresu pôsobením CdCl₂ (1 mg l⁻¹) a Pb(NO₃)₂ (30 mg l⁻¹) v živnom médiu v laboratórnych experimentoch sa prejavila preukazným znížením fotosyntetickej aktivity rastlín. Hodnoty QY max (K – 0,76±0,02; Cd – 0,60±0,09; Pb – 0,62±0,06) a Φ PS II (K – 0,68±0,03; Cd – 0,53±0,05; Pb – 0,34±0,05) preukazne klesali, zatiaľ čo hodnoty NPQ (K – 0,19±0,04; Cd – 0,46±0,15; Pb – 0,49±0,06), vyjadrujúce mieru stresu, preukazne stúpali.

Kľúčové slová: čučoriedka, Vaccinium myrtillus, Pb a Cd akumulácia, fotosyntéza, stres

ÚVOD

Hoci sú horské lokality polohou vzdialené od zdrojov znečistenia, patria do územia, intenzívne vystavenému kontaminácii atmosférickými polutantmi. Množstvo ťažkých kovov sa môže viazať s jemnými aerosólovými časticami, čo umožňuje ich transport na dlhé

vzdialenosti a depozíciu vo vysokých nadmorských výškách /1/. Rastliny sú schopné absorbovať ťažké kovy z pôdy a akumulovať ich v koreni alebo v nadzemných častiach. Zvýšené koncentrácie Pb, Cd a Zn v machoch korelujú s rastúcou nadmorskou výškou vo Vysokých Tatrách /2/. Región na hraniciach Slovenska, Poľska a Českej republiky predstavuje druhý "čierny trojuholník" v Európe s relatívne vysokou koncentráciou ťažkých kovov, ktorá je synonymom kontaminácie prostredia kyslými dažďami a vzdušnými emisiami /3/. Horské oblasti Tatier a Veľkej Fatry sú výbornými modelovými lokalitami pre štúdium distribúcie vzdušných polutantov. Vysoké Tatry zachytávajú vzdušné emisie ťažkých kovov zo sverozápadných zdrojov (Ostrava, Maľopol'ský okres na juhu Poľska a Moravskosliezsky kraj) /4/. Veľkú Fatru ovplyvňujú emisie z industriálnych zón v Martine, Žiline, Považskej Bystrici, Katowiciach a z Ostravska /5/. Čučoriedka obyčajná (*Vaccinium myrtillus* L.) je ker z čeľade Ericaceae. Tvorí rozsiahle porasty v rôznych lesných typoch v studenom a miernom klimatickom pásme. Má dôležitú úlohu v prirodzenej sukcesii a v regulácii toku živín lesných ekosystémov a v ich produktivite /6/. Vďaka rozsiahlemu výskytu a schopnosti akumulovať ťažké kovy sa využíva ako indikátor kontaminácie v environmentálnom monitoringu /6, 7/. Má vysokú rezistenciu voči znečisteniu, čím úspešne osídľuje kyslé a ťažkými kovmi kontaminované pôdy /6/.

Cieľom práce bolo porovnať akumuláciu vybraných ťažkých kovov a zistiť mieru kontaminácie vysokohorských oblastí Slovenska, sledovať schopnosť akumulácie ťažkých kovov a ich vplyv na fotosyntetickú aktivitu brusnice čučoriedkovej.

MATERIÁL A METÓDA

Kontamináciu pôd a rastlín brusnice čučoriedkovej (*Vaccinium myrtillus* L.) z troch rôznych lokalít (Litvorova dolina, Velická dolina – Vysoké Tatry, Krížna – Veľká Fatra; nadmorská výška 1500 – 1900 m.n.m) sme stanovili metódou emisnej spektrometrie s indukčne viazanou plazmou (ICP-OES). Kompozitná vzorka predstavovala plne vyzreté a zdravo vyzerajúce jedince zbierané v mesiacoch august a september. Rastliny pre zistenie vplyvu Cd a Pb na fotosyntetickú aktivitu sme vypestovali v laboratórnych podmienkach zo semien z prírody odobratých plodov. Dvoj-mesačné rastliny sme pestovali v kontajneroch 10x10 cm v perlite v kontrolovaných podmienkach (intenzita osvetlenia $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$, fotoperiódka 16/8, teplota 22-23 °C). Po dobu 2 mesiace sme rastliny 2x týždenne zalievali 100 ml $\frac{1}{2}$ Hoaglandovho /8/ živného roztoku – K a s pridaním CdCl_2 (1 mg l^{-1}) a $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (30 mg l^{-1}). Ovplyvnenie fotosyntetickej aktivity (maximálny kvantový výťažok – QY_{max} ; efektívny kvantový výťažok fotosystému II – ΦPSII ; nefotochemické zhášanie – NPQ) sme sledovali pomocou infračerveného analyzátora (Ciras-2, PP-Systém). Získané výsledky sme vyhodnotili analýzou variácií (Statgraphics Centurion XV v.15.2.05).

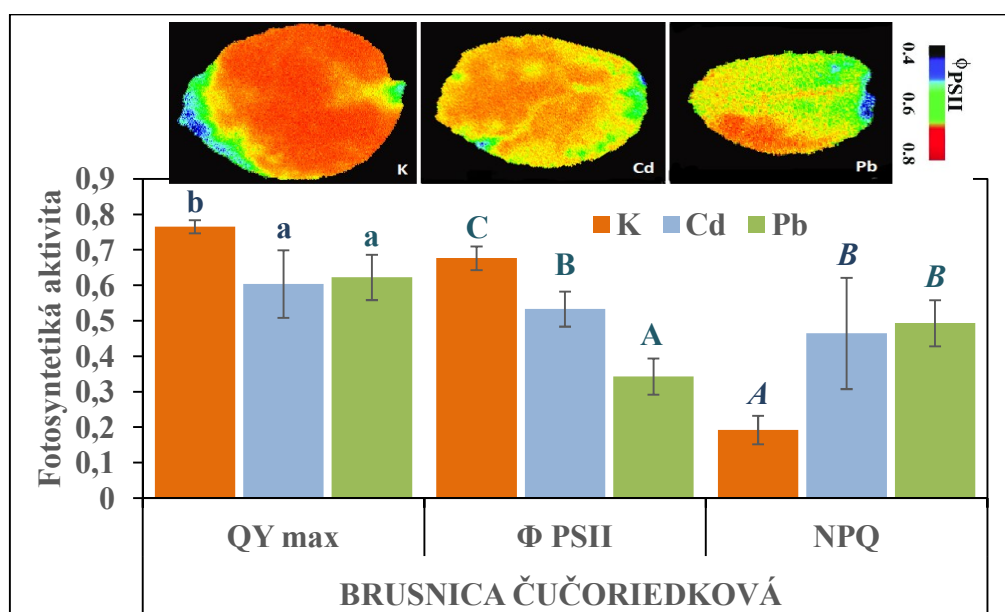
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Analýza distribúcie vybraných prvkov v jednotlivých orgánoch brusnice čučoriedkovej (korene, konáriky, listy) z troch študovaných lokalít (Velická dolina, Litvorová dolina a Krížna) ukázala (tab. 1), že najväčšia koncentrácia prvkov bola v pletivách koreňa a klesala od konárikov k listom. Výnimku tvoril Zn, ktorý dosahoval najvyššie koncentrácie v konárikoch. Pravdepodobne to spôsobil Zn viažuci sa na sekundárne bunkové steny xylému v zdrevnatených častiach. V prípade Hg sme zaznamenali najvyššiu koncentráciu v listoch (v priemere $0,027 \text{ mg kg}^{-1}$), kým koncentrácia Hg v koreňoch rastlín na študovaných lokalitách dosahovala cca. $\frac{1}{4}$ koncentrácie v listoch. Predpokladáme, že zdrojom Hg vo vysokohorskom prostredí Slovenska je atmosférická depozícia a čučoriedky ju prijímajú prednostne foliárnou cestou. Koncentrácia Hg však nedosiahla hodnotu typickú pre lesné druhy rastúce na našom území /9/. Zaznamenali sme zvýšené hodnoty koncentrácie Pb v pôdach vo všetkých lokalitách (priemerne 101 mg kg^{-1}). Priemerná hodnota Pb v nekontaminovaných pôdach je

přibližně 17 mg kg⁻¹ /10/. Je však známe, že Pb sa podobne ako Hg do pôd dostáva aj atmosférou /11/.

Tab. 1: Obsah a akumulácia toxických kovov v pôdach a častiach rastlín *Vaccinium myrtillus* L. z vysokohorských oblastí Vysokých Tatier a Veľkej Fatry.

		prvky	Mo	Cu	Pb	Zn	As	Cd	Sb	Cr	Hg
Litvorova dolina	pôda	mg kg ⁻¹	0,6	8,12	110,4	32,7	5,3	0,81	1,88	7,2	0,263
	listy		0,05	8,06	0,4	13,7	0,1	0,01	0,02	1,6	0,019
	stonky		0,02	7,8	1,14	82,3	0,3	0,08	0,02	1,5	0,012
	korene		0,05	8,54	3,67	15,4	0,1	0,14	0,03	2,8	0,005
Veľická dolina	pôda	mg kg ⁻¹	0,58	10,78	104,4	120	4,6	2,6	1,63	6,4	0,214
	listy		0,07	5,73	0,32	12	0,1	0,02	0,02	1,8	0,026
	stonky		0,03	5,99	0,82	97,8	0,1	0,11	0,02	1,8	0,013
	korene		0,05	7,45	0,72	21,7	0,1	0,02	0,02	2,4	0,005
Křížna	pôda	mg kg ⁻¹	0,49	32,25	88,09	147,5	16,5	0,88	6,75	9,9	0,139
	listy		0,05	9,14	0,36	13,1	0,3	0,04	0,02	1,7	0,018
	stonky		0,02	14,51	0,77	50,2	0,1	0,26	0,02	2,3	0,015
	korene		0,02	15,34	0,59	14,5	0,2	0,25	0,02	3,8	0,005



Graf 1: Vplyv Cd²⁻ (1 mg l⁻¹) a Pb²⁻ (30 mg l⁻¹) na parametre fotosyntetickej aktivity brusnice čučoriedkovej. Stĺpce vyjadrujú priemerné hodnoty dvoch opakovaní ± sd, n = min. 4. Rozdielne písmená nad stĺpcami poukazujú na hladinu významnosti rozdielov pri p<0.05.

Zvýšené koncentrácie Pb sme však v jednotlivých častiach rastlín nezaznamenali. Koncentrácia Cd pôd sledovaných stanovišť bola relatívne nízka a tomu zodpovedala aj nízka akumulácia do jednotlivých častí rastlín. Sledovaním čiastkových parametrov fotosyntetickej aktivity rastlín (graf 1) pestovaných v médiu s pridaním iónov Cd a Pb sme zaznamenali

preukazné zníženie ako maximálneho kvantového výťažku, tak aj efektívneho kvantového výťažku PSII oproti kontrole. Nefotochemické zhášanie, ako miera stresu, bolo preukazne vyššie v oboch prípadoch oproti kontrole. Ako vidno z obrázku v grafe 1, Pb v aplikovanej koncentrácii bolo pre rastliny brusnice čučoriedkovej väčším stresom ako Cd. Pôsobenie Cd a Pb vyvoláva v rastlinách oxidačný stres /12/, na ktorý citlivo reagujú znížením fotosyntetickej aktivity /13/.

LITERATÚRA

- /1/ Loewen M. D., Sharma, S., Tomy, G., Wang, F., Bullock, P., Wania, F.: Persistent organic pollutants and mercury in the Himalaya. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 8, 2005: 223 – 233.
- /2/ Šoltés, R., Gregušová, E., Šoltésová, A.: Bioindication of chemical elements deposition in the High Tatra Mts. (Slovakia) based on *Calluna vulgaris* (L.) Hull; comparative levels after the improvement of emissions. *Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences*, 9, 2014: 5 – 14.
- /3/ Markert, B., Herpin, U., Berlekamp, J., Oehlmann, J., Grodzinska, K., Mankovska, B., Suchara, I., Siewers, U., Weckert, V., Lieth, H.: A comparison of heavy metal deposition in selected Eastern European countries using the moss monitoring method, with special emphasis on the 'Black Triangle'. *Science of The Total Environment*, 193, 1996: 85 – 100.
- /4/ Rak, J., Závodský, D., Marečková, K., Sladká, M.: Znečistenie ovzdušia v oblasti Vysokých Tatier. Záverečná správa výskumnej úlohy. 1982, Uložené v knižnici Tatranského národného parku v Tatranskej Lomnici.
- /5/ Pastuszka, J. S., Okada, K.: Features of atmospheric aerosol particles in Katowice, Poland. *The Science of the Total Environment*, 175, 1995: 19 – 188.
- /6/ Mróz, L., Demczuk, M.: Contents of phenolics and chemical elements in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves from copper smelter area (SW Poland). *Polish Journal of Ecology*, 58, 2010: 475 – 486.
- /7/ Kukla, M., Kuklová, J.: Growth of *Vaccinium myrtillus* L. (Ericaceae) in spruce forest damaged by air pollution. *Polish Journal of Ecology*, 56, 2008: 149-155.
- /8/ Hoagland, D. R., Arnon, D. I.: The water-culture method for growing plants without soil: circular. *California Agricultural Experimental Station*, 347, 1950: 1 – 32.
- /9/ Maňkiovská, B.: Geochemický atlas Slovenskej republiky. Časť II. Lesná biomasa. GS SR Bratislava, 1996, 87 p.
- /10/ Steinnes, E.: Lead. In: Alloway BJ & Trevors JT, Eds. *Heavy Metals in Soils*. Springer Dordrecht, 2013: p. 395-411.
- /11/ Čurlík J., Jurkovič, E.: *Pedogeochemia*. Univerzita Komenského v Bratislave, 2012: 228 p.
- /12/ Kandziora-Ciupa, M., Nadgórska-Socha, A., Barczyk, G., Ciepał, R.: Bioaccumulation of heavy metals and ecophysiological responses to heavy metal stress in selected populations of *Vaccinium myrtillus* L. and *Vaccinium vitis-idaea* L *Ecotoxicology*, 26, 2017: 966 – 980.
- /13/ Dezhban, A., Shirvany, A., Attarod, P., Delshad, M., Matinizadeh, M., Khoshnevis, M.: Cadmium and lead effects on chlorophyll fluorescence, chlorophyll pigments and proline of *Robinia pseudoacacia*. *Journal of Forest Research*, 26, 2015: 323 – 329.

Pod'akovanie

Práca bola súčasťou riešenia grantu VEGA 1/0605/17.

VPLYV RÔZNYCH KONCENTRÁCIÍ KADMIA NA AKTIVITU CHITINÁZ VO VYBRANÝCH ODRODÁCH SÓJE

THE EFFECT OF VARIOUS CONCENTRATIONS OF CADMIUM ON THE ACTIVITY OF CHITINASES IN SELECTED SOYBEAN CULTIVARS

Michaela Lukáčová, 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 monitor the impact of various concentrations of cadmium on the activity of defense enzymes - chitinases, in five selected cultivars of soybean (Cardiff, Cordoba, Gallec, Kent, Mentor). Cadmium applied in concentrations of 0, 50 and 300 mg.l⁻¹ Cd²⁺ caused increased respectively reduced activity of chitinases. Activity of individual isoforms of chitinases was not united across all tested cultivars, by this we point out the complexity of the plant's response to stress. From our results we can conclude that there is not a correlation between the activity of the individual isoforms of chitinases and concentration of applied cadmium, generally valid to all soybean cultivars. Concurrently, we did not confirm any relationship between accumulation of individual isoforms of chitinases and sensitivity of selected cultivars of soybean.

Key words: soybean, heavy metals, PR-proteins, stress

Súhrn

Hlavným zámerom práce bolo monitorovať vplyv rôznych koncentrácií kadmia na aktivitu obranných enzýmov – chitináz, v klíčkoch piatich vybraných odrôd sóje fazuľovej (Cardiff, Cordoba, Gallec, Kent, Mentor). Kadmium, aplikovaný v koncentráciách 0, 50 a 300 mg.l⁻¹ Cd²⁺, indukoval zvýšenú resp. zníženú aktivitu chitináz. Aktivita jednotlivých izoforiem chitináz nebola jednotná naprieč všetkými testovanými odrodami, čím poukazujeme na komplexnosť obrannej odpovede rastliny voči stresu. Z našich výsledkov môžeme usúdiť, že neexistuje vzájomný vzťah medzi aktivitou jednotlivých izoforiem chitináz a koncentráciou aplikovaného kadmia, všeobecne platný pre všetky odrody sóje. Zároveň sme nepotvrdili žiadnu súvislosť medzi akumuláciou jednotlivých izoforiem chitináz a citlivosťou vybraných odrôd sóje.

Kľúčové slová: sója fazuľová, ťažké kovy, PR-bielkoviny, stres

ÚVOD

Chitinázy sú hydrolytické enzýmy patriace medzi PR-proteíny (z angl. „pathogenesis related“). V závislosti od organizmu, majú tieto enzýmy rôzne funkcie. Bakteriálne chitinázy sú zapojené predovšetkým do metabolických procesov. V kvasinkách a plesniach sa zúčastňujú morfogénny – zohrávajú úlohu pri remodelácii bunkovej steny, pri separácii dcérskej bunky. U rastlín a zvierat zohrávajú dôležitú úlohu v rastových a vývinových procesoch, ale sú tiež zapojené do obranných mechanizmov. Regulácia a expresia jednotlivých chitináz je vysoko citlivá na rôzne environmentálne podnety (patogén, infekcia, rana, sucho, chlad, ťažké kovy) a je zároveň pletivo- a orgán-špecifická /1,2/. Úloha chitináz počas stresu spôsobeného ťažkými kovmi ešte nebola úplne objasnená, predpokladá sa ich

účasť na obrane pri modifikácii vlastností bunkovej steny (zníženie priepustnosti pre kovy) alebo na tvorbe signálnych molekúl spúšťajúcich ďalšiu obrannú odpoveď /3, 4/.

MATERIÁL A METÓDY

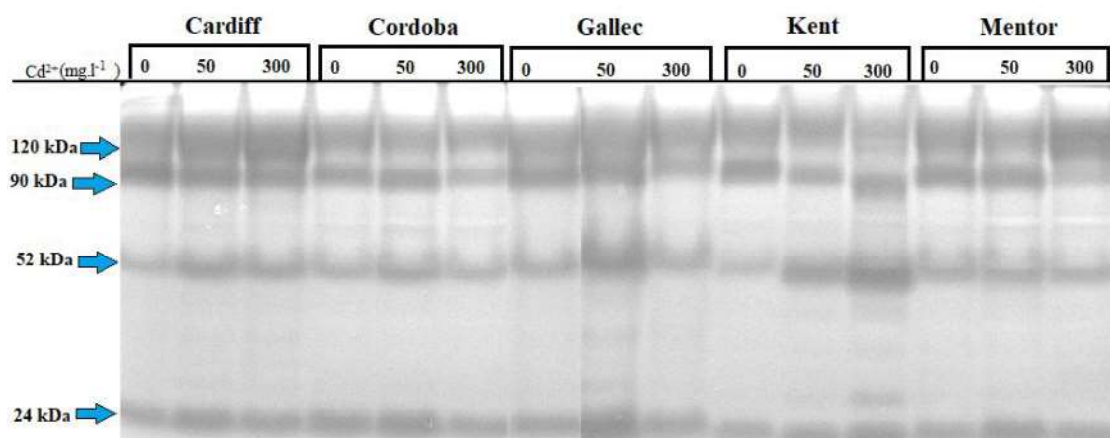
Korene testovaných odrôd sóje fazuľovej (*Glycine max* L. CARDIFF, CORDOBA, GALLEC, KENT, MENTOR) sme vystavili účinkom 0, 50, 300 mg.l⁻¹ Cd²⁺ kadmia aplikovaného vo forme roztokov CdCl₂.2H₂O po dobu 48 hodín. Aktivitu jednotlivých izoforiem celkových chitináz sme stanovili po elektroforetickej separácii hrubého proteínového extraktu z koreňov na denaturovaných polyakrylamidových géloch podľa /5, 6/. Intenzitu proteínových pásov (bandov) na polyakrylamidovom géle zodpovedajúcej miere akumulácie chitináz sme vizualizovali vo fotodokumentačnom prístroji UVP Bio Doc-It System (Ultra-Violet Products Ltd, UK) a vyhodnotili softvérom Scion Image 4.

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

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na klíčkoch koreňov 5 odrôd sóje sme testovali účinky rôznych koncentrácií kadmia, ktoré predstavovali rôznu mieru toxicity: i) prostredie bez kadmia = kontrola, ii) 50 mg.l⁻¹ Cd²⁺ = mierny stres pre rastlinu, iii) 300 mg.l⁻¹ Cd²⁺ = silný stres pre rastlinu. Schopnosť sóje prijať, akumulovať a následne tolerovať kadmium skúmali /7/ na 22 odrodách pestovaných v Európe. Niektoré odrody z ich výskumu sa zhodovali s nami skúmanými odrodami sóje. Ich výsledky dokumentujú, že tolerančný index (%) odrody Cardiff voči Cd je 86,10%, odrody Cordoba 98,97% a odrody Kent 97,35%. Z týchto výsledkov vyplýva, že Cordoba a Kent patria k tolerantnejším odrodám voči účinku kadmia a odroda Cardiff je menej tolerantná.

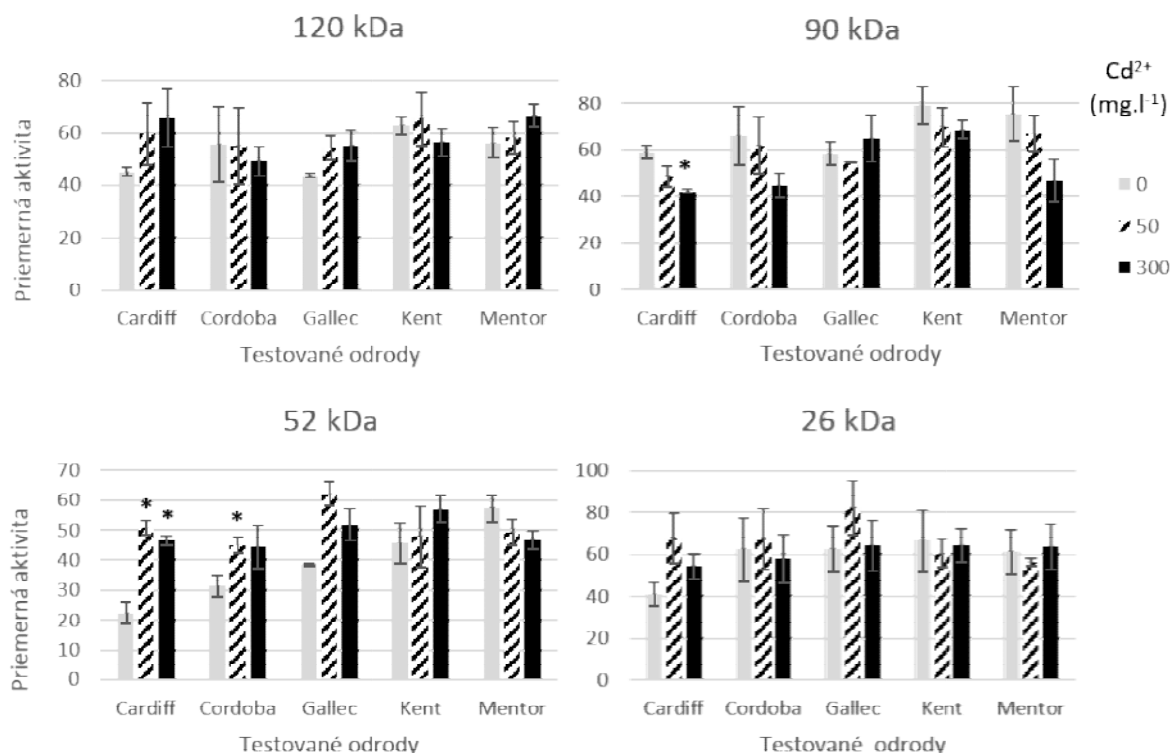
Hrubé proteínové extrakty vyizolované z testovaných odrôd sóje Cardiff, Cordoba, Gallec, Kent a Mentor, boli separované na denaturovaných polyakrylamidových géloch. V študovaných odrodách sme identifikovali prítomnosť 4 chitinázových izoforiem so stabilnou akumuláciou a molekulovými hmotnosťami cca. 120 kDa, 90 kDa, 52 kDa, 24 kDa (obr. 1).



Obr. 1: Detegované izoformy proteínov s celkovou chitinázovou aktivitou vo vybraných odrodách sóje fazuľovej po vystavení rôznym koncentráciám kadmia.

Každá izoforma bola detegovaná vo všetkých kontrolných aj v stresovaných rastlinách. Ich aktivita sa menila v dôsledku aplikovaných koncentrácií kadmia. V chitinázovom profile jednotlivých vzoriek sa objavovali aj ďalšie izoformy chitináz (obr. 1), ich akumulácia v

jednotlivých biologických opakovaníach však nebola stabilná, a daný experimentálny postup neumožnil ich presnú detekciu a kvantifikáciu.



Graf 1: Prehľad aktivít detekovaných izoforiem chitináz vo vybraných odrodách sóje fazuľovej vystavenej rôznym koncentráciám kadmia. Veľkosť stĺpcov (os Y = hustota v pixeloch) predstavuje priemernú hodnotu aktivity danej izoformy. Chybové úsečky znázorňujú strednú chybu priemeru z 3 opakovaní. Štatisticky významný rozdiel oproti kontrole je vyjadrený: * $P \leq 0,05$.

Fragment s hmotnosťou 120 kDa nepreukázal významné zmeny pri aplikácii rôznych koncentrácií kadmia v porovnaní s kontrolnou vzorkou ani v jednej zo sledovaných odrôd sóje (graf 1).

Pre chitinázovú izoformu s molekulovou hmotnosťou 90 kDa bola charakteristická všeobecne znížená aktivita pod vplyvom oboch testovaných koncentrácií kadmia, takmer vo všetkých testovaných odrodách (výnimku predstavuje odroda Gallec). Jediná štatisticky významná zmena bola preukázaná pri odrode Cardiff. Pri koncentrácii kadmia 300 mg.l⁻¹ nastal pokles aktivity o 28 % ($P \leq 0,05$) (graf 1).

Aktivita izoformy 52 kDa sa všeobecne zvyšovala pri strese kadmíom. Výnimkou bola odroda Mentor. Štatisticky preukázateľnú zvýšenú akumuláciu ($P \leq 0,05$) tejto izoformy sme zistili v odrode Cardiff pôsobením 50 mg.l⁻¹ Cd²⁺ o 126 % a vplyvom 300 mg.l⁻¹ Cd²⁺ o 106 %; a tiež v odrode Cordoba pri aplikácii 50 mg.l⁻¹ Cd²⁺, kedy jej aktivita stúpila o 43 % (graf 1).

Aktivita izoformy 24 kDa nebola štatisticky významne ovplyvnená testovanými koncentráciami kadmia ani v jednej zo študovaných odrôd (graf 1).

Aktivitu chitináz v rámci celej rastliny pozorovali [2]. Okrem fragmentov chitináz 66, 42, 21 odhalili aj izoformy 50 a 35 kDa v odrodách sóje Bólyi 44 a Cordoba. Prítomnosť alebo absencia izoformy závisela na type listu, no každá z nich bola prítomná v koreni. Pri daných podmienkach výskumu, chitinázy v koreňoch neboli ovplyvnené, až na jednu

výnimku – izoforma 21 kDa bola inhibovaná v tolerantnejšej odrode (Cordoba). Mohlo by sa uvažovať, že takáto supresia môže znížiť permeabilitu bunkovej steny pre ťažké kovy. Tento predpoklad sa zhodoval s nižším príjmom kovov cez korene, v porovnaní s druhou odrodou. Fragment s chitinázovou aktivitou o veľkosti 42 kDa bol najčastejšie indukovaný vplyvom kadmia vo všetkých typoch listov v senzitivnejšej odrode Bólyi 44. Zdá sa, že tieto 2 izoformy sú zapojené do obrany voči ťažkým kovom oveľa špecifickejšie a je preto opodstatnený ich ďalší výskum. Pri expozícii sóje arzénom, olovom aj kadmium /9/ vyizolovali niekoľko fragmentov chitináz - 66, 56, 42, 35, 32, 30, 25, 21 kDa – s rôznou aktivitou pri jednotlivých kovoch. 66, 42, 21 kDa izoformy boli prítomné v koreňoch, pričom iba fragment 42 kDa bol významne indukovaný v prítomnosti As a Cd. Akumulácia chitináz 56 a 25 kDa bola spustená len v prítomnosti určitého kovu, nie v prítomnosti ostatných. /8/ poukázal na to, že vyšší počet izoform chitináz môže poukazovať na vyššiu senzitivitu v rastline, a bohatý chitinázový profil vznikol v dôsledku evolučnej adaptácie rastliny na rôzne stresy. Z doterajších výsledkov mnohých renomovaných štúdií vyplýva, že jednotlivé odrody rastlín nemožno mechanicky zaradiť medzi tolerantné resp. citlivé iba na základe prítomnosti alebo aktivity určitej konkrétnej celkovej izoformy.

Podľa nami zvoleného experimentálneho postupu sme nezistili všeobecnú závislosť medzi akumuláciou izoform chitináz, citlivosťou testovaných odrôd a aplikovanou koncentraciou kadmia. Štatisticky významné zmeny akumulácie chitináz sme zistili na úrovni konkrétnej izoformy a len vo vybraných odrodách bez preukázania nejakej zákonitosti. Zároveň sme potvrdili prítomnosť chitináz v sóji, ktorá nie je vystavená stresovým podmienkam a teda fakt, že sa zúčastňujú procesov rastu a vývoja (v našom prípade klíčenia).

LITERATÚRA

- /1/ Kasprzewska, A.: Plant chitinases – regulation and function. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 8, 2003: 809-824.
- /2/ Gálusová, T., Rybanský, L., Mészáros, P. et al.: Variable responses of soybean chitinases to arsenic and cadmium stress at whole plant level. *Plant Growth Regulation*, 76, 2015: 147-155.
- /3/ 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.
- /4/ Mészáros, P., Rybanský, L., Hauptvogel, P. et al.: Cultivar-specific kinetics of chitinase induction in soybean roots during exposure to arsenic. *Molecular Biology Reports*, 40, 2013: 2127-2138.
- /5/ Pan, S.Q. et al.: A technique for detection of chitinase, beta-1,3-glucanase, and protein- patterns after a single separation using polyacrylamide-gel electrophoresis or isoelectrofocusing. *Phytopathology*, 81, 1991:970-974.
- /6/ Laemmli, U. K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227, 1970: 680-685.
- /7/ Socha, P. – Bernstein, N. – Rybanský, L. Et al.: Cd accumulation potencial as a marker for heavy metal tolerance in soybean. *Israel Journal of Plant Sciences*, 62, 2015: 160-166.
- /8/ Mészáros, P.: Genotypová variabilita v odpovedi koreňov sóje fazuľovej na ióny ťažkých kovov: dizertačná práca. Nitra: Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre, 2012, 117 s.
- /9/ Békésiová, B. – Hraška, Š. – Libantová, J. et al.: Heavy-metal stress induced accumulation of chitinase isoforms in plants. *Molecular Biology Reports*, 35, 2008: 579-588.

PodĎakovanie

Práca vznikla za finančnej podpory projektov VEGA 1/0415/18 a UGA VIII/14/2017.

REAKCE *PTERIS CRETICA* NA CHRONICKÝ STRES ARSENEM**REACTION OF *PTERIS CRETICA* TO CHRONIC STRESS BY ARSENIC**

Veronika Zemanová¹, Milan Pavlík¹, Daniela Pavlíková², František Hnilička³, Marek Popov⁴, Pavel Kotrba⁴

¹ Ústav experimentální botaniky AV ČR, v. v. i., Izotopová laboratoř, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4 - Krč, zemanova@ueb.cas.cz

² Česká zemědělská univerzita v Praze, FAPPZ, Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin, Kamýcká 129, 165 00 Praha 6 – Suchdol

³ Česká zemědělská univerzita v Praze, FAPPZ, Katedra botaniky a fyziologie rostlin, Kamýcká 129, 165 00 Praha 6 – Suchdol

⁴ Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Ústav biochemie a mikrobiologie, Technická 3, 166 28 Praha 6 – Dejvice

Summary

The pot experiment with fern *Pteris cretica* (L.) var. *Albo-lineata* was focused on changes of plant metabolism affected by As chronic stress. Soil used in experiment was spiked by 100 mg As/kg of soil. The plants were harvested after 122 days of cultivation. Chronic stress showed decrease of biomass yield of As variant - by 15 % in contrast to control and increase of As content in plant biomass. *P. cretica* accumulated more than 2000 mg As/kg in dry biomass. The content of 5-methylcytosine for determination of DNA methylation statues in As variant showed decline by 10 % in contrast to control. The contents of chlorophyll a and b were decreased by 34 % on average and reduction of the photosynthetic parameters - the net photosynthetic rate and the rate of transpiration – was found. The changes of macro- and microelements contents in relation to As content in plants were unambiguous.

Key words: epigenetics, hyperaccumulator, elements, stress metabolism, Pteridaceae

Souhrn

V nádobovém pokusu byla studována reakce na chronický stres vlivem As u kapradiny *Pteris cretica* (L.) var. *Albo-lineata*. Arsen byl aplikován v dávce 100 mg As/kg půdy a listy byly odebrány po 122 dnech vegetace. V listech byl stanoven obsah 5-metylcytosinu pro určení stupně metylace DNA. Dále byl změřen obsah prvků, fotosyntetických pigmentů a vybraných parametrů fotosyntézy. Listy *P. cretica* z As varianty akumulovaly více jak 2000 mg As/kg suché biomasy. Akumulace As snížila obsah 5-metylcytosinu o 10 %. Chronický stres vlivem As se projevil snížením výnosu biomasy o 15 %. Vlivem As byl zvýšen obsah mikro- a makroprvků v průměru o 35 a 26 % s výjimkou Fe a K. Obsah těchto prvků byl snížen. Také byl snížen obsah chlorofylu a a b v průměru o 34 %. Chronický stres vlivem As se projevil u fotosyntetických parametrů snížením rychlosti fotosyntézy a transpirace.

Klíčová slova: epigenetika, hyperakumulátor, prvky, stresový metabolismus, Pteridaceae

ÚVOD

Hyperakumulátory arsenu (As) jsou schopné v listech akumulovat více jak 1000 mg As/kg suché biomasy /1/. Prvním objeveným hyperakumulátorem As je *Pteris vittata* /2/. V současné době je známo přes 12 druhů hyperakumulátorů As z rodu *Pteridaceae* /3-5/. U hyperakumulátorů As je málo dostupných informací o interakci s dalšími prvky /3/. Toxicita As zvyšuje tvorbu reaktivních forem kyslíku, které reagují s lipidy, proteiny, pigmenty a

nukleovými kyselinami a způsobují peroxidaci lipidů, poškození membrán a inaktivaci enzymů, které ovlivňují životaschopnost buněk /5/. Akumulace As u rostlin může vést k inhibici fotosyntézy, růstu a vývoje /5, 6/.

MATERIÁL A METODA

Rostliny *Pteris cretica* L. var. *Albo-lineata* (*Pc-A*) byly pěstovány 122 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 v dávce 100 mg/kg půdy (As_{100} , roztok $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). Kontrolou byla půda bez aplikace As. Obsah prvků byl stanoven metodou ICP-OES po nízkotlakém mikrovlákném rozkladu. Sadou NucleoSpin Plant II molecular kit byla z listů extrahována DNA, která byla použita na stanovení DNA metylace 5-metylcytosinu (5mC) pomocí MethylFlash Methylated DNA Quantification Kit (Fluorometric). Fluorescence byla měřena na přístroji SpectraMax MiniMax 300 Imaging Cytometer při 530EX/590EM nm. Obsah fotosyntetických pigmentů byl stanoven fotometricky na přístroji Evolution 2000 UV-Vis. Na přístroji LCpro+ byly stanoveny fotosyntetické parametry: rychlost fotosyntézy (P_N), transpirace (E), koncentrace CO_2 v listech (C_i) a vodivost průduchů (g_s). Data byla vyhodnocena v programu Statistica 12.0 (neparametrický Kruskal-Wallisův test; lineární korelace).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Chronický stres As negativně ovlivnil výnos biomasy listů *Pc-A*. Vysoký obsah As v listech snížil výnos o 15 % oproti kontrole (tab. 1). U varianty As_{100} byl obsah As $>2000 \text{ mg/kg}$ suché biomasy. Obdobné výsledky zjistili Zhao et al. /7/. Akumulací As v listech se snížil obsah 5mC o 10 % v porovnání s kontrolou (tab. 1). Tento pokles nebyl statisticky průkazný. Snížení metylace DNA u *Pc-A* a lineární korelace mezi As a 5mC ($r=-0,58$; $p=0,048$) naznačují, že *Pc-A* je ovlivňována toxicitou As nepřímo přes epigenetické změny. U *Pc-A* se změna v metylaci DNA projevila snížením výnosu biomasy. Dle Shen et al. /8/ je zvýšená metylace DNA spojena s růstem rostlin a heterosis efektem.

Změny v obsahu pigmentů vlivem As ukazují významné snížení obsahu chlorofylu a o 40 % a chlorofylu b o 28 % (tab. 1). Statisticky neprůkazný byl pokles obsahu karotenoidů (tab. 1). Zvýšený obsah fotosyntetické pigmenty při dávce 200 mg As/kg půdy byl pozorován u *P. vittata* po 14 dnech vegetace /5/. Se zvyšující se dávkou As v půdě obsah pigmentů klesal. Mezi obsahem As a chlorofylem a a b byla prokázána negativní korelace ($r=-0,77$; $p=0,003$ a $r=-0,61$; $p=0,035$). Je prokázáno, že As nepříznivě ovlivňuje fotosyntetický aparát /9/. U *Zea mays* L. bylo pozorováno snížení P_N , E a g_s vlivem zvyšující se dávky As v půdě /10/. Také u hyperakumulátoru As *P. vittata* došlo k poklesu E vlivem vyšších dávek As (20 a 40 mg/L), zatímco nižší dávky As (5 a 10 mg/L) transpiraci zvyšovaly v porovnání s kontrolou /11/. Naše výsledky ukázaly, že v listech *Pc-A* varianty As_{100} byla statisticky významně snížena P_N a E o 6,5 a 4 %. Obsah As významně negativně koreloval s P_N ($r=-0,99$; $p=0,001$). Koncentrace CO_2 v listech byla u As_{100} zvýšena o 5 %, avšak statisticky neprůkazně (tab. 1). Výsledky g_s se statisticky nelišily (tab. 1). U vodního hyacintu byl zjištěn podobný trend - zvýšení C_i a snížení g_s již po krátkodobém (4 dny) vystavení As /12/.

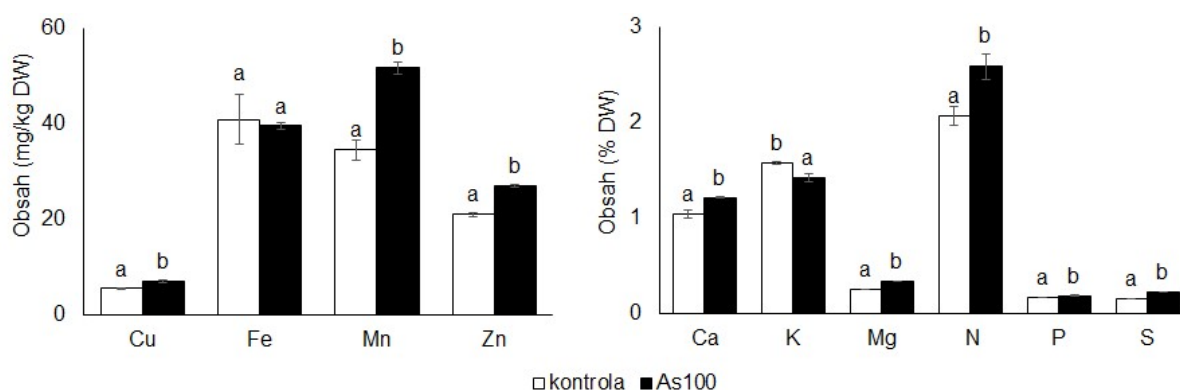
Obsah mikroprvků (Cu, Fe, Mn a Zn) a makroprvků (Ca, K, Mg, N, P a S) v *Pc-A* uvádí graf 1. Jak z grafu vyplývá, As zvyšoval obsah jednotlivých prvků s výjimkou Fe a K, jejichž obsah byl snížen o 3 a 9,5 % oproti kontrole. Pokles K vlivem As u *P. cretica* stanovili Srivastava et al. /4/. Arsen koreloval s většinou prvků pozitivně ($r=0,92-0,99$; $p<0,001$), ale negativně s K ($r=-0,92$; $p=0,001$). Obsah Fe nekoreloval s As. Stejný výsledek byl pozorován u *P. vittata* a *P. cretica* /3/. Tito autoři stanovili v listech *P. cretica* vysoký

obsah Fe (637-3369 mg/kg) a naznačují možnou roli Fe při toleranci a akumulaci As v hyperakumulátorech.

Tab. 1: Výnos biomasy, fotosyntetické parametry, obsah As, pigmentů a 5-metylcytosinu v listech *P. cretica* Albo-lineata po 122 dnech vegetace.

parametr	kontrola	As ₁₀₀
výnos (g/nádoba FW)	58,2 ± 0,7 ^b	49,1 ± 3,9 ^a
As (mg/kg DW)	12 ± 0,1 ^a	2034 ± 47 ^b
5mC (%)	25 ± 4,4 ^a	15 ± 5,6 ^a
chlorofyl a (nmol/ml)	2,6 ± 0,6 ^b	1,5 ± 0,4 ^a
chlorofyl b (nmol/ml)	2,6 ± 0,7 ^b	1,9 ± 0,4 ^a
karotenoidy (nmol/ml)	0,5 ± 0,2 ^a	0,3 ± 0,1 ^a
C _i (vpm)	308 ± 86 ^a	313 ± 64 ^a
E (mmol H ₂ O/m ² /s)	0,8 ± 0,1 ^b	0,7 ± 0,1 ^a
g _s (mol/m ² /s)	0,039 ± 0,01 ^a	0,037 ± 0,01 ^a
P _N (μmol CO ₂ /m ² /s)	7,7 ± 0,04 ^b	7,2 ± 0,03 ^a

Statisticky významný rozdíl ($\alpha < 0,01$) mezi variantami vyjadřují rozdílná písmena za průměry (\pm SD, $n=6$).



Graf 1: Obsah mikro- a makroprvků v listech *P. cretica* Albo-lineata po 122 dnech vegetace. Statisticky významný rozdíl ($\alpha < 0,01$) mezi variantami vyjadřují rozdílná písmena nad sloupci.

Po 122 dnech růstu v kontaminované půdě byl obsah Ca, Mg, N, P, S, Cu, Mn a Zn zvýšen o 17, 33, 25, 12, 44, 27, 50 a 28 %. Zvýšení obsahu Ca, K, P a Mn bylo pozorováno u *P. vittata* na půdách s vysokým obsahem As /3/. Naopak snížení obsahu Ca, Mg a P vlivem As a negativní korelace mezi As a Mg bylo zjištěno u *P. cretica* /4/. Vyšší akumulaci S a P v listech kontrolní varianty *Pc-A* stanovili Zhao et al. /8/, nepotvrdili však vliv As na obsah S a P ani korelaci mezi nimi. Z dalších prvků se statisticky lišil obsah Na, který byl u varianty AS₁₀₀ cca 4krát vyšší (1529 ± 7 mg/kg DW) v porovnání s kontrolou (389 ± 3 mg/kg DW). Byla vypočítána významná korelace mezi As a Na ($r=0,99$; $p=0,001$).

Akumulace prvků byla pravděpodobně zvýšena pro využití v antioxidačním systému hyperakumulátoru v důsledku stresového metabolismu vyvolaného As. Některé mikroprvky (Cu, Mn a Zn) a makroprvky (Mg a S) jsou důležitými kofaktory antioxidačních metaloenzymů nebo jsou součástí neenzymových antioxidantů /13, 14/. Obsah prvků v listech kontroly klesal v pořadí: N>K>Ca>Mg>P>S>Na>Fe>Mn>Zn>As>Cu. Vliv chronického stresu As změnil pořadí prvků: N>K>Ca>Mg>S>As>P>Na>Mn>Fe>Zn>Cu. Výsledky

ukazují, že i přes hyperakumulační schopnost a toleranci *Pc-A* dochází při dlouhodobém stresu vlivem As k narušení fyziologických a metabolických procesů u této kapradiny.

LITERATURA

- /1/ 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
- /2/ Kramer U: Metal hyperaccumulation in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 61, 2010: 517–534
- /3/ Wei CY, Wang C, Sun X, Wang WY: Arsenic accumulation by ferns: a field survey in southern China. *Environmental Geochemistry and Health*, 29, 2007: 169-177
- /4/ Srivastava M, Ma LQ, Santos JAG: Three new arsenic hyperaccumulating ferns. *Science of the Total Environment*, 364, 2006: 24-31
- /5/ Singh N, Raj A, Khare PB, Tripathi RD, Jamil S: Arsenic accumulation pattern in 12 Indian ferns and assessing the potential of *Adiantum capillus-veneris*, in comparison to *Pteris vittata*, as arsenic hyperaccumulator. *Bioresource Technology*, 101, 2010: 8960-8968
- /6/ Tu C, Ma LQ: Effects of arsenic concentrations and forms on arsenic uptake by the hyperaccumulator ladder brake. *Journal of Environmental Quality*, 31, 2002: 641-647
- /7/ Zhao FJ, Dunham SJ, McGrath SP: Arsenic hyperaccumulation by different fern species. *New Phytologist*, 156, 2002: 27-31
- /8/ Shen H, He H, Li J, Chen W, Wang X, Guo L, Peng Z, He G, Zhong S, Qi Y, Terzaghi W, Deng XW: Genome-wide analysis of DNA methylation and gene expression changes in two *Arabidopsis* ecotypes and their reciprocal hybrids. *Plant Cell*, 24, 2012: 875-892
- /9/ Pisani T, Munzi S, Paoli L, Backor M, Loppi S: Physiological effects of arsenic in the lichen *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr.. *Chemosphere*, 82, 2011: 963-969
- /10/ Mehmood T, Bibi I, Shahid M, Niazi NK, Murtaza B, Wang HL, Ok YS, Sarkar B, Javed MT, Murtaza G: Effect of compost addition on arsenic uptake, morphological and physiological attributes of maize plants grown in contrasting soils. *Journal of Geochemical Exploration*, 178, 2017: 83-91
- /11/ Wan XM, Lei M, Chen TB, Yang JX, Liu HT, Chen Y: Role of transpiration in arsenic accumulation of hyperaccumulator *Pteris vittata* L.. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 2015: 16631-16639
- /12/ Meneguelli-Souza AC, Vitoria AP, Vieira TO, Degli-Esposti MSO, Souza CMM: Ecophysiological responses of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms to As⁵⁺ under different stress conditions. *Photosynthetica*, 54, 2016: 243-250
- /13/ Cakmak I: Tansley review No. 111. Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. *New Phytologist*, 146, 2000: 185-205
- /14/ Fernández-Ocaña A, Chaki M, Luque F, Gómez-Rodríguez MV, Carreras A, Valderrama R, Begara-Morales JC, Hernández LE, Corpas FJ, Barroso JB: Functional analysis of superoxide dismutases (SODs) in sunflower under biotic and abiotic stress conditions. Identification of two new genes of mitochondrial Mn-SOD. *Journal of Plant Physiology*, 168, 2011: 1303-1308

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory projektu GA ČR č. 17-10591S.

PESTICIDY A STROMY POBŘEŽNÍHO PÁSMU LESA: BIOTRANSFORMACE TEBUKANAZOLU

PESTICIDES AND TREES OF RIPARIAN CORRIDORS: BIOTRANSFORMATION OF TEBUCONAZOLE

Radka Podlipná, Tereza Zunová, Petr Maršík

Laboratoř rostlinných biotechnologií, Ústav experimentální botaniky AV ČR, v.v.i., Rozvojová 263,
165 02 Praha 6, podlipna@ueb.cas.cz

Summary

Pesticides used in agriculture are transported to both surface and ground waters and so they endanger wildlife as well as human health. One possibility of stream protection are riparian corridors. Trees can act as hydraulic pumps and their dense root system is able to take large quantities of contaminated water. Thus, applications of these systems prevent spreading of contamination. Tebuconazole is a triazole fungicide used agriculturally to treat plant pathogenic fungi. Due to the potential for endocrine-disrupting effects, tebuconazole may still pose a risk. In our study we tested the uptake and biotransformation as well as Phytotoxicity of tebuconazole using the suspension culture of poplar (*Populus nigra*). The highest concentration of tebuconazole in cells was measured 24 hours later and further decreased. The presence of tebuconazole at a concentration of 1 mg/L induced increased activity of antioxidant enzymes and caused a reduction in biomass growth.

Key words: pesticides, tebuconazole, Populus nigra, cell suspension

Souhrn

Pesticidy používané v zemědělství jsou přepravovány jak do povrchových, tak do podzemních vod, a tak ohrožují volně žijící zvířata i lidské zdraví. Jednou z možností ochrany jsou pobřežní pásma lesa. Stromy mohou působit jako hydraulická pumpa a jejich rozsáhlý kořenový systém je tak schopen odebírat velké množství kontaminované vody. Aplikace těchto systémů tak zabraňují šíření kontaminace. Tebukonazol je triazolový fungicid používaný v zemědělství k léčbě rostlinných patogenních hub. Vzhledem k potenciálním účinkům narušujícím endokrinní funkci může tebukonazol stále představovat riziko. V naší studii jsme testovali vychytávání a biotransformaci, jakož i fytotoxicitu tebukonazolu s použitím suspenzní kultury topolu (*Populus nigra*). Nejvyšší koncentrace tebukonazolu v buňkách byla naměřena hned po 24hodinách a dále klesala. Přítomnost tebukonazolu v koncentraci 1 mg/L vyvolala zvýšenou aktivitu antioxidantních enzymů a způsobila redukcii v nárůstu biomasy.

Klíčová slova: pesticidy, tebukonazol, Populus nigra, buněčná suspenze

ÚVOD

Moderní zemědělství využívá velké množství různých pesticidů na ochranu zemědělských plodin před škůdci a na kontrolu plevelů což vede k rozvoji plošného (difúzního) znečištění vodních toků /1/. Difúzní znečištění představuje velký problém postihující více než 90% evropských povodí. Kontaminanty se do povrchových vod dostávají především splachem z okolní zemědělsky obdělávané půdy, případně aplikací roztřikem, atmosférickou depozicí a v neposlední řadě i přísunem znečištění z rozptýlených zdrojů splaškových vod (volné kanalizační výusti v obcích, zasakování nečištěných splaškových vod

do horninového prostředí). Plošným znečištěním dochází ke kontaminaci vod zejména dusíkem, fosforem a pesticidy. Jednou z možností ochrany vodních toků před difuzním znečištěním je tvorba pobřežní ch pásem lesa. Díky bohatému kořenovému systému dosahujícímu do velké hloubky stromy mohou působit jako účinná bariéra v šíření kontaminace.

Mezi pesticidy patří látky s rozmanitým chemickým složením i s různými účinky (herbicidy, fungicidy, insekticidy), avšak téměř vždy se jedná o látky perzistentní, které po vstupu do potravního řetězce ohrožují necílové organismy včetně člověka /1/ a /2/. Triazolové fungicidy, mezi které patří tebukonazol, sou v půdě velmi perzistentní a mají sklon tvořit dlouhodobě funkční residua, jejich typické hodnoty DT50 (poločas rozkladu se pohybují od 120 dnů do 1 roku. Různé rostlinné druhy se velmi liší v odolnosti na chemický stres v závislosti na schopnosti určitého druhu cizorodé látky přijímat, akumulovat či biotransformovat /3/ a /4/. Proto je pro efektivní fungování pobřežní bariéry velmi důležitý výběr vhodných dřevinných druhů.

MATERIÁL A METODA

1. Pěstování rostlinného materiálu a rozvržení pokusů.

Buněčné kultury byly odvozeny z hypokotylů *in vitro* kultivovaných topolů (*Populus nigra*) a jsou udržovány pravidelným pasážováním. Kultury byly inkubovány s tebukonazolem v koncentracích 0,1 a 1 mg/L (rozpuštěno v DMSO). Ke kontrolám bylo přidáno DMSO, ve stejné koncentraci. Vzorky buněčné suspenze byly odebrány ve třech intervalech - 1., 4. a 8. den.

2. Analýza obsahu sledovaných látek v rostlině

Ze suspenze byl odebrán 1g buněk a vysušen pomocí lyofilizace. Tebukonazol byl z homogenizovaného rostlinného materiálu extrahován metodou QuEChERS a SPE extrakcí (kolonky OASIS HLB). Kvantitativní stanovení v takto pročištěných extraktech bylo prováděno pomocí kapalinové chromatografie spojené s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS, Q-Trap 4000, AB Sciex) a jejich identifikace byla provedena porovnáním s dostupnými standardy a následnou analýzou přesné molekulové hmotnosti pomocí systému kapalinové chromatografie s hmotnostním spektrometrem s velmi vysokým rozlišením a vysokou přesností určení hmotnosti (LC-MS/MS-HRAM, Orbitrap Exactive, Thermo).

3. Měření aktivity antioxidantních proteinů.

Proteiny ze vzorku rostlinné tkáně (0,5g) byly extrahovány do 3ml fosfátového pufru, koncentrace proteinů byla stanovena spektrofotometricky dle Bradfordové. Aktivita enzymů byla měřena pomocí spektrofotometru TECAN Infinite N200 na mikrodestičkách. Sledovaným parametrem byla změna absorbance směsi vzorku a příslušného substrátu v závislosti na čase při 25 °C. Stanovovány byly následující enzymy: peroxidáza, kataláza, askorbát peroxidáza, superoxidismutáza.

VÝSLEDKY A DISKUSE

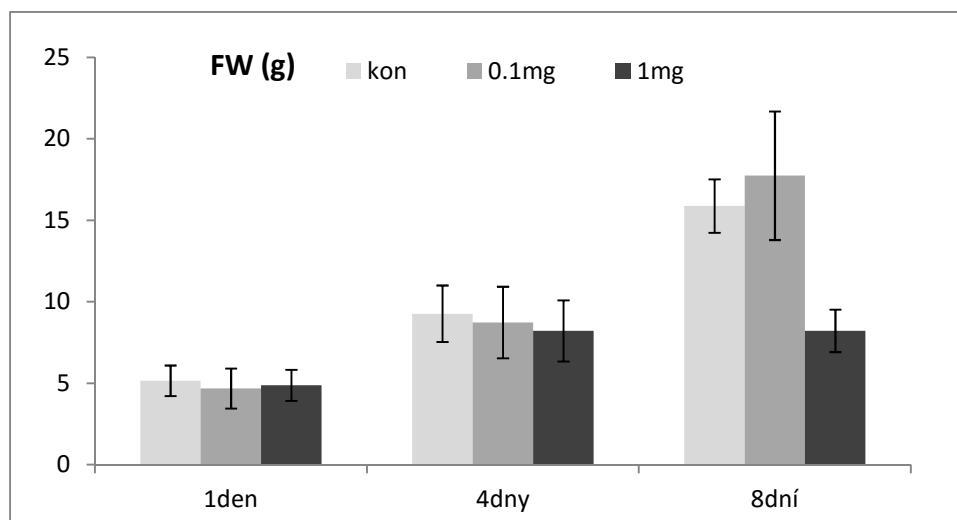
Vliv tebukonazolu na růst buněčné suspenze byl pozorován pouze u vyšší koncentrace (1mg/L), kdy byla zaznamenána zřetelná redukce v nárůstu suspenze po 8 dnech od aplikace. Hmotnost suspenzí byla poloviční oproti jak kontrole, tak suspenzím kultivovaným na médiu s přídatkem tebukonazolu v koncentraci 0,1 mg/L (graf 1). Snížený nárůst biomasy pod vlivem tebukonazolu (10 mg/L) byl popsán orobince a sítiny /5/.

Při aplikaci nízké koncentrace tebukonazolu (0,1 mg/L) bylo naměřeno nejvyšší množství tebukonazolu v buňkách za 24 hodin po aplikaci (0,18 µg/g FW), což bylo 18 % z celkového množství, koncentrace tebukonazolu v dalších dnech klesala (graf 2). Při použití počáteční koncentrace tebukonazolu 1mg/L byla naměřena nejvyšší koncentrace v buňkách opět hned po 1 dni (2,27 µg/g FW) což odpovídalo 27 % z celkového množství aplikovaného

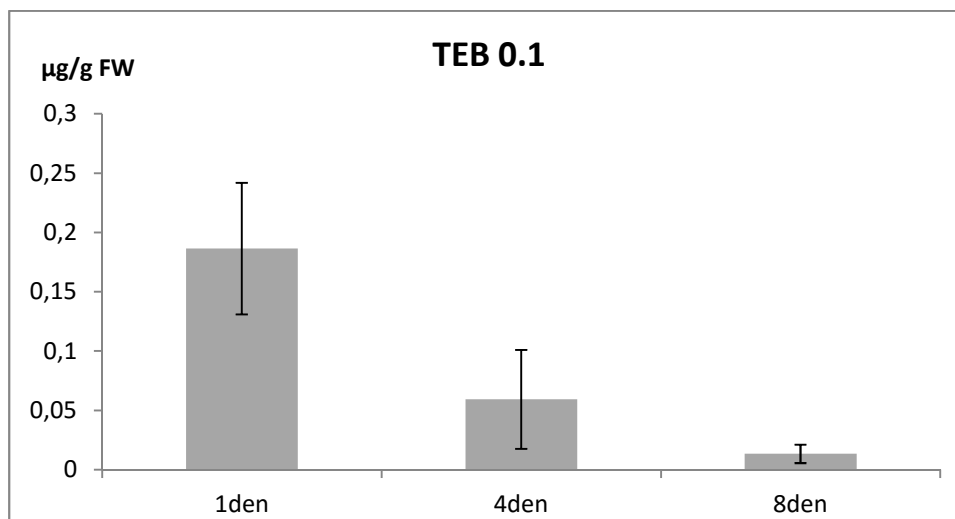
tebukonazolu (graf 3). Podobná kinetika příjmu tebukonazolu byla popsána u rákosí (*Phragmites australis*) /6/.

Dle literárních zdrojů např. /7/ tebukonazol u rostlin může vyvolat různé fyziologické změny; my jsme se zaměřili na změny v aktivitě antioxidantních enzymů. Na grafu 4 je vidět zvýšená aktivity peroxidázy v buněčné suspenzi po 1 a 4 u obou použitých koncentrací. Po 8 dnech kultivace se zvyšuje aktivita peroxidázy i u kontrolních rostlin, pravděpodobně z důvodu vyčerpání živin z média. Naproti tomu kataláza je mírně zvýšena u obou pokusných rostlin již po 1 dni a i nadále zůstává oproti kontrole zvýšená (graf 5.).

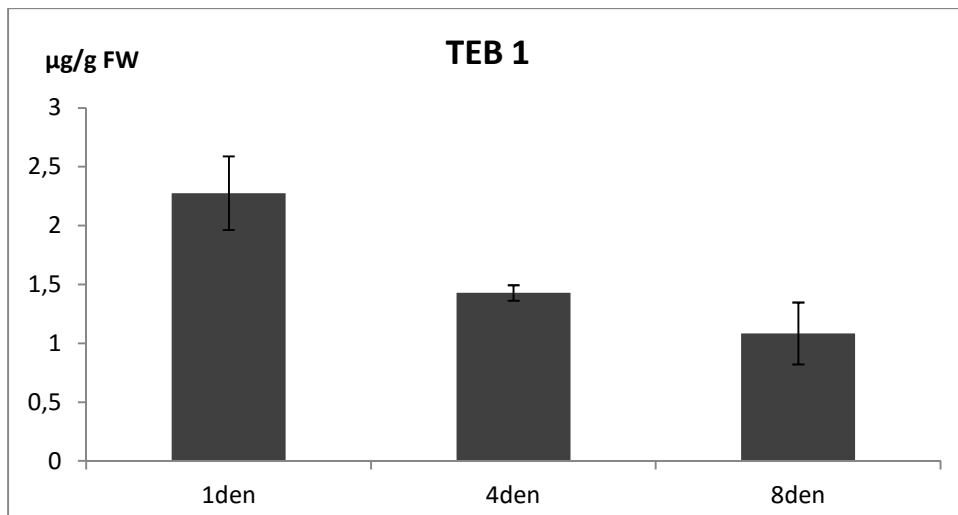
Závěrem lze konstatovat, že tebukonazol, který buněčné suspenze topolu ochotně přijímají, způsobuje u rostlin stres, který se při vyšší koncentraci projevil snížením růstu. Lze předpokládat, že tebukonazol podobný efekt vyvolá i u rostlin *in natura*.



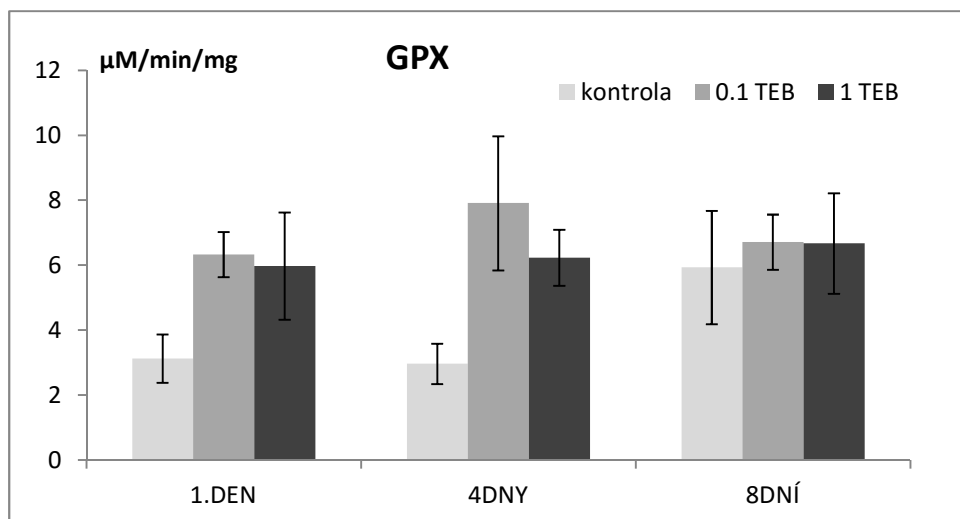
Graf 1: Hmotnost suspenze v den odběru vzorků.



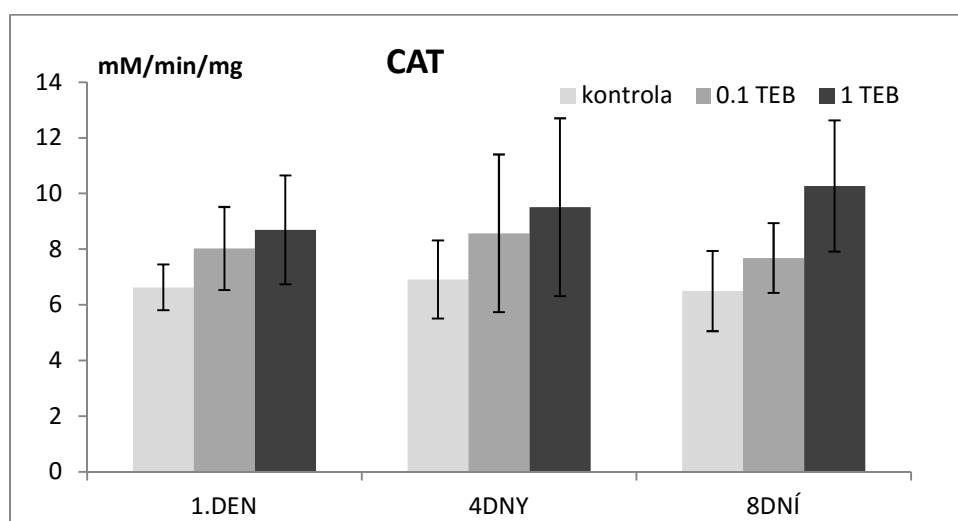
Graf 2: Obsah tebukonazolu v buňkách při aplikaci teb. v koncentraci 0,1 mg/L



Graf 3: Obsah tebukonazolu v buňkách při aplikaci teb.v koncentraci 1 mg/L



Graf 4: Aktivita peroxidázy po aplikaci tebukonazolu v koncentracích 0,1 a 1 mg/L.



Graf 5: Aktivita katalázy po aplikaci tebukonazolu v koncentracích 0,1 a 1 mg/L.

LITERATURA

- /1/ Helander, M., Saloniemi, I., Saikkonen, K.: Glyphosate in northern ecosystems. *Trends in Plant Science* 17, 2012: 569–574.
- /2/ Dévier, M. H., Mazellier, P., Ait-Aissa, S., Budzinski, H.: New challenges in environmental analytical chemistry: identification of toxic compounds in complex mixtures. *Comptes Rendus Chimie* 14, 2011: 766–779.
- /3/ Couée, I., Serra, A. A., Ramel, F., Gouesbet, G., Sulmon, C.: Physiology and toxicology of hormone-disrupting chemicals in higher plants. *Plant Cell Reports* 32, 2013: 933–941.
- /4/ Ramel, F., Sulmon, C., Serra, A. A., Gouesbet, G., Couée, I.: Xenobiotic sensing and signalling in higher plants. *Journal of Experimental Botany* 63, 2012: 3999–4014
- /5/ Lv, T., Zhang, Y., Casas, M. E., Carvalho, P. N., Arias, C. A., Besterm K., Brix, H.: Phytoremediation of imazalil and tebuconazole by four emergent wetland plant species in hydroponic medium. *Chemosphere*, 148, 2016: 459-466
- /6/ Lv, T., Carvalho, P. N., Casas, M. E., Bollmann, U. E., Arias, C. A., Brix, H., Bester, K.: Enantioselective uptake, translocation and degradation of the chiral pesticides tebuconazole and imazalil by *Phragmites australis*. *Environmental Pollution*, 229, 2017: 362-370
- /7/ Serra, A. A., Couee, I., Renault, D., Gouesbet, G., Sulmon, C.: Metabolic profiling of *Lolium perenne* shows functional integration of metabolic responses to diverse subtoxic conditions of chemical stress. *Journal of Experimental Botany*, 66, 2015: 1801-1816

Poděkování

Tato práce vznikla za podpory grantu MŠMT č. LTC 17033.

LÉČIVY INDUKOVANÉ ZMĚNY V RŮSTU A MORFOLOGII KOŘENŮ KUKUŘICE A HRACHU

PHARMACEUTICALS-INDUCED CHANGES IN ROOT GROWTH AND MORPHOLOGY IN MAIZE AND PEA PLANTS

Markéta Hájková¹, Marie Kummerová¹, Štěpán Zezulka¹, Kateřina Svobodová², Ján Šmeringai¹

¹ Masarykova univerzita Brno, Přírodovědecká fakulta, Ústav experimentální biologie – oddělení fyziologie a anatomie rostlin, Kotlářská 2, 611 37 Brno, hajkova.marketa@email.cz

² Laboratoř metabolomiky a izotopových analýz, Ústav výzkumu globální změny, AV ČR, v.v.i., Bělidla 4a, 603 00 Brno

Summary

Diclofenac (DCF) and paracetamol (PCT) (1 and 10 mg/L) negatively affected the growth and morphology of roots of two model plants – maize (*Zea mays* L.) and pea (*Pisum sativum* L.). Significant decrease in primary root length and dry weight of roots was found in both species, especially under 10 mg/L both DCF and PCT treatment. Pea took up more PCT, on the other hand maize took up more DCF.

Key words: Zea mays, Pisum sativum, diclofenac, paracetamol, root system

Souhrn

Diklofenak (DCF) a paracetamol (PCT) negativně ovlivnily růst a morfologii kořenů dvou modelových rostlin – kukuřice (*Zea mays* L.) a hrachu (*Pisum sativum* L.). Významné snížení délky primárního kořene a sušiny kořenového systému bylo zjištěno u obou druhů zejména při zatížení 10 mg/l jak DCF, tak PCT. Hrách přijal více PCT, kukuřice naopak více DCF.

Klíčová slova: Zea mays, Pisum sativum, diklofenak, paracetamol, kořeny

ÚVOD

Zvyšující se stupeň zatížení životního prostředí léčivy, významnými antropogenními polutanty, vyvolává nutnost analyzovat jejich vliv na necílové organismy včetně rostlin, které je mohou přijímat i akumulovat a jako primární producenti přenášet do vyšších trofických úrovní /1/. Ke kontaminaci půd dochází především v důsledku aplikace nedokonale vyčištěných odpadních vod a kalů a profylaktickou léčbou hospodářských zvířat /2/. Fytotoxicita léčiv závisí zejména na rostlinném druhu, stupni ontogeneze a na fyzikálně-chemických vlastnostech látky, koncentraci, délce expozice a environmentálních podmínkách. Vedle vody a živin kořeny přijímají, akumulují, transformují a transportují významná množství xenobiotik do nadzemních částí rostlin. Změny ve struktuře a funkci kořenového systému vyvolané přítomností léčiv se mohou projevit ovlivněním růstu rostlin a výnosu hospodářských plodin. Jedním z parametrů pro posouzení environmentálního stresu by proto mělo být i hodnocení růstových a morfologických změn kořenů rostlin.

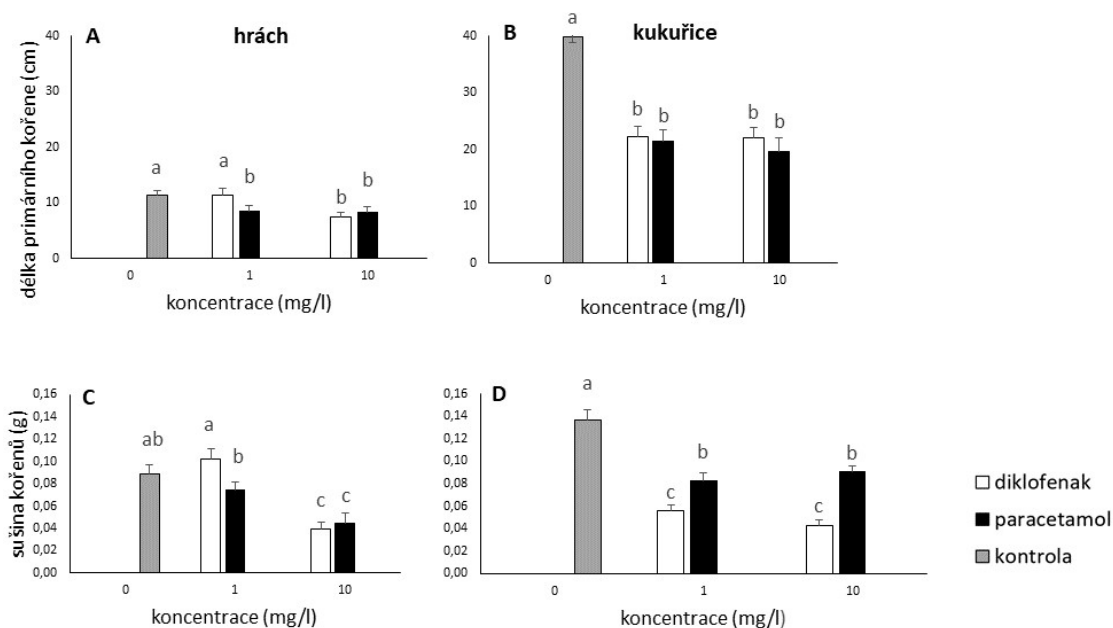
Cílem této studie bylo charakterizovat růst kořenového systému u hrachu a kukuřice kultivovaných v přítomnosti dvou nesteroidních léčiv – diklofenaku (DCF) a paracetamolu (PCT). Tato léčiva byla vybrána na základě dosavadních zjištění týkajících se jejich výskytu, toxicity a pseudoperzistence v životním prostředí /2/. Použité koncentrace DCF a PCT simulovaly běžné až vyšší zatížení prostředí (1 a 10 mg/l).

MATERIÁL A METODA

Rostliny hrachu setého (*Pisum sativum*, cv. Oskar) a kukuřice seté (*Zea mays*, cv. Agnan) byly kultivovány v Reid-York živném roztoku bez (kontrola) a s přídatkem léčiva. DCF a PCT byly rozpuštěny v acetonu (Labscan, Ireland) a dodány do živného roztoku ve finálních koncentracích 1 a 10 mg/l. Po 20 dnech kultivace v řízených podmínkách (teplota $20 \pm 2^\circ\text{C}$, relativní vzdušná vlhkost 60 %, ozáření $150\text{--}200 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$, fotoperioda 14/10; provzdušňování; výměna média po 7 dnech) byly u 5 rostlin z každého zatížení hodnoceny délka primárního kořene, hmotnost sušiny kořenového systému a zdokumentována jeho morfologie. V sušině kořenů byl metodou kapalinové chromatografie detekován obsah obou léčiv. Výsledky byly vyhodnoceny jednocestnou analýzou rozptylu (ANOVA) a Tukey HSD testem při $P < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Rostliny jsou od počátku své ontogeneze v přírodě vystaveny synergickému působení široké skupiny polutantů. Proces tvorby a růstu kořenového systému závisí na množství vzájemně propojených molekulárně-biologických, biochemických a fyziologických pochodů. Jeho ovlivnění přítomností stresoru se odrazí v morfologii kořene. DCF i PCT ovlivnily architekturu kořenového systému – jak délku primárního kořene, tak i tvorbu laterálních kořenů hrachu i kukuřice (Obr. 1). Inhibice primárního kořene vede ke zvýšené tvorbě laterálních kořenů, ale pouze do určité úrovně environmentálního zatížení (Obr. 1).



Obr. 2: Délka primárního kořene (A, B) a hmotnost sušiny kořenů (C, D) u hrachu a kukuřice po 20 dnech kultivace v Reid-York živném roztoku bez (kontrola) a s DCF nebo PCT (1 a 10 mg/l). Hodnoty reprezentují průměr z 5 opakování, chybové úsečky značí směrodatnou odchylku. Písmena značí statisticky významné rozdíly při $P < 0,05$ (ANOVA, Tukey HSD test).

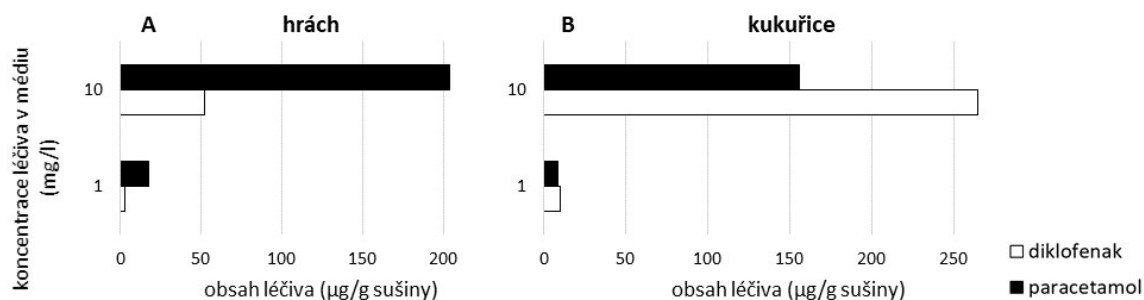
Inhibice iniciace tvorby kořenových primordií a redukováný růst laterálních kořenů jsou výsledkem redukce kořenového meristému, inhibice dělení buněk a jejich dlouhivého růstu /3/. Významná inhibice délky primárního kořene hrachu byla zjištěna při koncentraci 10 mg/l DCF (o 34 %) i PCT (o 27 %) (obr. 2A). Citlivější odezva byla zjištěna u kukuřice již při

koncentraci 1 mg/l DCF (o 44 %) (Obr. 2B). Přítomnost delších laterálních kořenů v blízkosti báze kořene u obou rostlinných druhů (Obr. 1) může souviset jak se stimulačním účinkem nižší koncentrace léčiv, tak i se zvýšeným transportem IAA k apikální části primárního kořene, ukazujícím na disbalanci hormonálního systému /4/. Růst primárního a laterálních kořenů je řízen různými mechanismy. Zvýšená délka laterálních kořenů patrná u rostlin zatížených nízkou koncentrací léčiv by mohla představovat adaptaci rostlin na nízkou kontaminaci. Tvorba laterálních kořenů je také spojena se schopností rostlin zvýšit hodnotu pH v rhizosféře, která je významná pro příjem iontů /5/.



Obr. 1: Kořeny rostlin hrachu (A) a kukuřice (B) kultivované 20 dnů při zvyšující se koncentraci PCT a DCF (1 a 10 mg/l). Měřítka = 8 cm.

Ovlivnění biochemických a fyziologických procesů léčiv, anebo produkty jejich transformace, je zřejmé z významně nižší hmotnosti sušiny kořenů (obr. 2C, 2D). Nízké koncentrace polutantů mohou dočasně stimulovat růst rostlin, což naznačuje vyšší hmotnost sušiny kořenů u hrachu při 1 mg/l DCF (Obr. 2C). Kukuřice reagovala citlivěji na přítomnost obou léčiv. Ve srovnání s hrachem byla hmotnost sušiny kořenů významně nižší, až o 69 % při 10 mg/l DCF a 39 % při 10 mg/l PCT vůči kontrole. Kořeny rostlin hrachu (dvouděložná rostlina) akumulovaly více PCT než rostliny kukuřice (o 24 %). Kořeny kukuřice (jednoděložná rostlina) oproti tomu akumulovaly více DCF než rostliny hrachu (o 80 %) (Obr. 3A,B), z čehož je patrná jejich rozdílná citlivost vůči vybraným xenobiotikům.



Obr. 3: Obsah DCF a PCT v kořenech hrachu a kukuřice po 20 dnech kultivace v Reid-York živném roztoku bez (kontrola) a s DCF nebo PCT (1 a 10 mg/l). Data reprezentují průměr ze dvou opakování.

Studie dokládá, že formování kořenového systému rostlin je ovlivněno nejen přímým toxickým účinkem léčiv na pletiva a buňky kořenů, ale i nepřímo v důsledku ovlivnění těchto biochemických a fyziologických procesů v nadzemních částech rostlin, které se podílí na tvorbě biomasy.

LITERATURA

- /1/ Christou, A., Antoniou, C., Christodoulou, C., Hapeshi, E., Stavrou, I., Michael, C., Fatta-Kassinos, D., Fotopoulos, V.: Stress-related phenomena and detoxification mechanisms induced by common pharmaceuticals in alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants. *Science of the Total Environment*, 557-558, 2016: 652-664.
- /2/ Bartrons, M. et Peñuelas, J.: Pharmaceuticals and personal-care products in plants. *Trends in plant science*, 22 (3), 2017: 194-203.
- /3/ Soukup, A., Votrubová, O., Čížková, H.: Development of anatomical structure of roots of *Phragmites australis*. *New Phytologist*, 153, 2002: 277-287.
- /4/ Reed, R. C., Brady, S. R., Muday, G. K.: Inhibition of Auxin Movement from the Shoot into the Root Inhibits Lateral Root Development in Arabidopsis. *Growth and Development*, 1998.
- /5/ Cheng, Y., Howieson, J. G., O'Hara, G. W., Watkin, E.L.J., Souche, G., Jaillard, B., Hinsinger, P.: Proton release by roots of *Medicago murex* and *Medicago sativa* growing in acidic conditions, and implications for rhizosphere pH changes and nodulation at low pH, *Soil Biology and Biochemistry*, 36 (8): 2004: 1357-1365.

Poděkování

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

ODEZVA ANTIOXIDAČNÍHO ENZYMATICKÉHO APARÁTU U *ARABIDOPSIS THALIANA* NA STRES ZPŮSOBENÝ KONTAMINACÍ NESTEROIDNÍMI ANTIFLOGISTIKY

ENZYMATIC ANTIOXIDANT DEFENCE MACHINERY IN ARABIDOPSIS THALIANA IN RESPONSE TO NSAIDS CONTAMINATION

Lenka Langhansová, Petr Maršík, Kateřina Mořková, Přemysl Landa, Radka Podlipná,
Tomáš Vaněk

Ústav experimentální botaniky AV ČR, v.v.i., Rozvojová 263, 165 02 Praha 6,
langhansova@ueb.cas.cz

Summary

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) belong to the remedies with the largest global sales volume and they are the third most used class of pharmaceuticals in the Czech Republic. Increasing amount of the NSAIDs and their metabolites in wastewater represents a significant risk to the environment. Under stress, plants activate either non-enzymatic or enzymatic antioxidant defence machinery. In our research we focus on response of *Arabidopsis thaliana* to ibuprofen and naproxen, related to photosynthetic pigments and antioxidant enzyme activity. Our results indicate slightly higher phytotoxicity of naproxen comparing to ibuprofen. The response was significant mostly in the increased content of photosynthetic pigments and increased activity of catalase.

Key words: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, phytoremediation, ibuprofen, naproxen, antioxidant enzymes

Souhrn

Nesteroidní antiflogistika (NSAIDs) patří mezi léčiva s největším globálním objemem prodeje a jsou třetí nejužívanější skupinou léčiv v České republice. Nárůst obsahu NSAIDs a jejich metabolitů v odpadních vodách představuje významné riziko pro životní prostředí. Rostliny v reakci na stres aktivují jak enzymatické, tak neenzymatické obranné antioxidační mechanismy. V naší studii jsme se zaměřili na odpověď *Arabidopsis thaliana* na ibuprofen a naproxen, v souvislosti se změnami v obsahu fotosyntetických pigmentů a v aktivitě antioxidačních enzymů. Výsledky prokázaly mírně vyšší toxicitu naproxenu v porovnání s ibuprofenem. Výrazná odpověď byla sledována zejména ve zvýšeném obsahu fotosyntetických pigmentů a zvýšené aktivitě katalázy.

Klíčová slova: Nesteroidní antiflogistika, fytofarmakologie, ibuprofen, naproxen, antioxidační enzymy

ÚVOD

Nesteroidní antiflogistika (NSAIDs) jsou pravděpodobně nejrozšířenějšími léčivy v celé historii lidstva. V České republice patří mezi třetí nejužívanější skupinu léčiv. Jejich celosvětová produkce každoročně narůstá úměrně se stárnutím populace a s nárůstem civilizačních onemocnění. Dle globálních trendů lze očekávat, že nárůst konzumace NSAIDs bude i nadále pokračovat. NSAIDs jsou léčiva inhibující produkci klíčových pro-zánětlivých

enzymů – prostaglandinů, které způsobují bolestivé reakce v organismu, horečky či otoky aj. /1/. Po užití jsou pouze částečně metabolizovány a inaktivovány v játrech a tyto metabolity jsou společně s intaktními NSAIDs vylučovány převážně v moči /2/. Dostávají se takto do odpadních vod, kde se stávají zdrojem budoucí kontaminace spodních vod /3/. Jejich přítomnost jak v nezměněné tak metabolizované formě byla detekována v téměř všech vodních zdrojích (řeky, rybníky, moře, komunální vody atd.) /4,5/. S nárůstem konzumace NSAIDs lze očekávat i jejich vyšší výskyt v odpadních vodách a následně v celém ekosystému. Podle literatury se obsah např. ibuprofenu v evropských řekách pohybuje mezi 5 až 150 ng/L /6/. Je proto důležité získávat hlubší znalosti o dopadu NSAIDs a jejich metabolitů v rostlinách, které jsou základní složkou potravního řetězce v ekosystému.

Fytoremediace jsou jedním z prostředků vedoucím k zvýšení dekontaminace NSAIDs v odpadních vodách. Více než 300 metabolitů ibuprofenu bylo identifikováno v suspensních kulturách *Arabidopsis thaliana* /7/. Z literatury vyplývá rostoucí pozornost na akumulaci farmaceutik v plodinách a jejich možný dopad na lidské zdraví /8/. Pro rostliny farmaceutika představují v menší či větší míře toxický stres způsobující akumulaci volných radikálů. Jedním z obecných indikátorů fyziologické kondice rostlin vystavených stresovým podmínkám, je kvalita fotosyntetických pigmentů (chlorofyl *a/b*, karotenoidy) /9/. Dalším mechanismem, kterým rostliny udržují equilibrium volných radikálů je zapojení antioxidačních enzymů jako kataláza, peroxidáza, askorbát peroxidáza či superoxid dismutáza /10/.

V naší studii jsme jako hlavní představitele NSAIDs vybrali ibuprofen, který je druhým nejprodávanějším léčivem v České republice; a dále naproxen, jehož vyšší výskyt v životním prostředí je způsoben nízkou úrovní odbourání v organismu. Téměř 90% zůstává v moči v nezměněné formě. Dvouděložná rostlina *Arabidopsis thaliana* byla vybrána jako standardní rostlinný model se známým genomem, jednoduchou a rychlou kultivací.

MATERIÁL A METODA

Buněčné suspense byly sukultivovány v týdenním intervalu ve 100 mL V4 média /11/ v 250 mL erlenmayerových baňkách na horizontálním míchadle (120 rpm) ve tmě při 24 °C. NSAIDs byly sterilně přidány do média v 5 a 50 μM koncentraci po dvou dnech od subkultivace a viabilita byla stanovena po 48 h po ošetření. Vliv NSAIDs byl dále sledován u rostlin pěstovaných v hydroponickém systému v kultivačních nádobách (Araponics SA, Belgie) v 25% roztoku podle Hoaglanda /12/. Čtyři týdny staré rostliny byly vystaveny působení NSAIDs v 5 a 50 μM koncentraci. Změna obsahu fotosynteticky aktivních pigmentů byla stanovena po 7 dnech a reakce antioxidačního enzymatického aparátu po 48 h kultivace s NSAIDs.

K orientačnímu a rychlému stanovení vlivu NSAIDs na viabilitu (životnost) buněk byla použita metoda redukce 2,3,5-trifenylyltetrazolium chloridu (TTC test) na červený formazán podle Pollarda a Walkera /13/. Absorbance redukovaného formazánu, zabarvujícího pouze živé buňky je měřena při vlnové délce 485 nm na přístroji Tecan Infinite M200 (Tecan Group, Switzerland).

Obsah fotosynteticky aktivních pigmentů v rostlinách byl stanoven spektrofotometrickou metodou z metanolového extraktu homogenizovaného materiálu /14/. Obsah chlorofylu *a*, chlorofylu *b* a celkový obsah karotenů byl vypočítán z naměřených hodnot absorbance při vlnových délkách 470, 653 a 666 nm podle Lichtenthalera /15/.

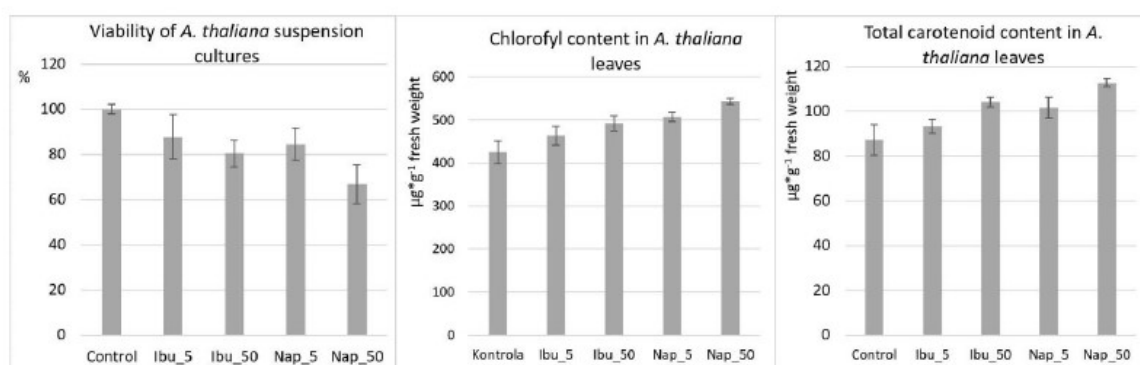
Antioxidační enzymy byly extrahovány z kořínků rostlin pěstovaných v hydroponických kulturách po ošetření NSAIDs pomocí 50 mM fosfátového pufru (pH 7). Koncentrace proteinů byla stanovena dle Bradfordové. Zaměřili jsme se na aktivitu několik základních antioxidačních enzymů, jako peroxidáza (POX), kataláza (CAT), askorbát peroxidáza (APX) a superoxid dismutáza (SOD). SOD byla stanovena pomocí xantine-

xantine oxidázového systému. POX byla stanovena v přítomnosti guaiakolu, APX v přítomnosti kyseliny askorbové a CAT v pufru bez substrátu. U všech enzymů byla sledována kinetika změny absorbance určující rychlost reakce nastartované peroxidem vodíku nebo xantinem v případě SOD /10/. Absorbance byla měřena pomocí spektrofotometru Tecan Infinite M200 (Tecan Group, Switzerland) na transparentních či UV transparentních (v případě CAT) mikroděstičkách.

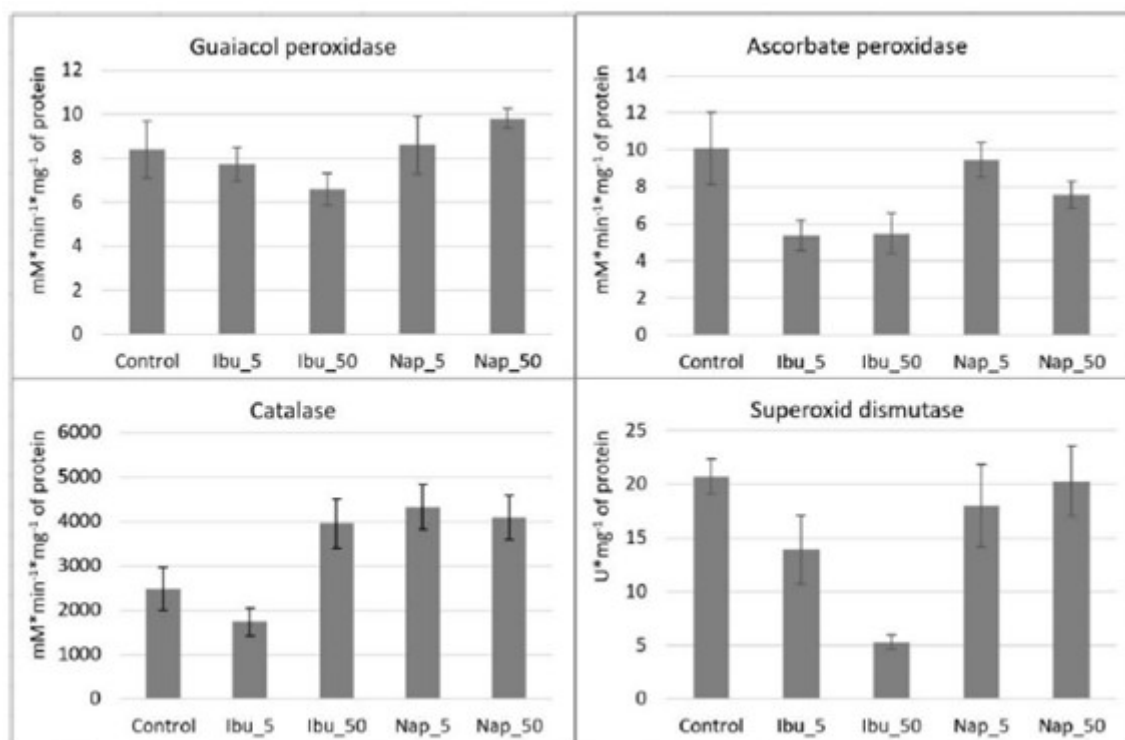
VÝSLEDKY A DISKUSE

Sledované indikátory fytoxicity NSAIDs (viabilita a obsah fotosyntetických pigmentů) naznačují, že jak ibuprofen, tak naproxen jsou pro *A. thaliana* mírně toxické, s tím, že rostliny jsou více citlivé na naproxen (Graf 1). U rostlin nebyla zpozorována statisticky významná změna poměru chlorofylu *a/b*, což je běžnější reakce rostlin na stress /9/. Nicméně celkový obsah chlorofylu i karotenoidů v listech byl zvýšen v lineární závislosti na koncentraci u obou sledovaných NSAIDs. Karotenoidy jsou nejen fotoprotektivní pigmenty fotosyntézy, ale také účinné antioxidanty, chránící rostliny vystavené při stresu před zvýšenou akumulací volných radikálů /16/.

Obecně farmaceutika mnohdy nepředstavují pro rostliny velký stres výrazně inhibující růst nebo klíčení /17/. Citlivost rostlin na farmaceutika neboli úroveň toxicity je nutno stanovit pomocí citlivějších indikátorů, jako je změna exprese RNA či změna v aktivitě antioxidantních enzymů. Předchozí studie již prokázaly transkriptomickou odezvu *A. thaliana* jak na ibuprofen /18/ tak naproxen (publikace v přípravě). Co se týká enzymatické odezvy rostlin, naše výsledky ukázaly, že jak naproxen tak ibuprofen působil u většiny testovaných antioxidantních enzymů spíše represivně (Graf 2). Pouze u CAT bylo pozorováno zvýšení aktivity o 60 – 70 %, a to při aplikaci 50 μM koncentrace ibuprofenu a obou testovaných koncentrací naproxenu. SOD je zapojena v první fázi obrany rostlin proti volným radikálům a primárně katalyzuje superoxid (O_2^-) na O_2 a peroxid vodíku (H_2O_2). H_2O_2 je konvertován dalšími antioxidantními enzymy. Spolupráce enzymů odbourávajících H_2O_2 (např. POX, CAT, APX) a SOD hraje klíčovou roli při odolnosti rostlin na environmentální stres. POX patří do skupiny cytosolárních enzymů (nejsou přítomné v chloroplastu) odbourávajících H_2O_2 . APX je jedním z nejdůležitějších antioxidantních enzymů odbourávajících H_2O_2 v rostlinách za pomoci askorbátu jako reduktantu. CAT je převážně spojena s odbouráváním H_2O_2 v peroxizomu, vznikajícího během fotorespirace. Zvýšená aktivita katalázy mohla být indukována H_2O_2 produkovaným SOD po aplikaci naproxenu, nikoli pak ibuprofenu, kde byla inhibována až o 74 %. Změna aktivity CAT a SOD může reflektovat dynamiku antioxidantního systému. Obecně je ale tato kooperace pozorována u POX a SOD /19/.



Graf 1: Vliv ibuprofenu (Ibu) a naproxenu (Nap) na životnost buněk a na obsah fotosyntetických pigmentů v listech *Arabidopsis thaliana*. Ibuprofen a Naproxen byly aplikovány do suspensních (viabilita) či hydroponických (fotosyntetické pigmenty v listech) kultur do kultivačních médií v koncentracích 5 a 50 μM . Viabilita je stanovena procentuálně jako poměr počtu živých buněk k celkovému počtu buněk v suspensi.



Graf 2: Vliv ibuprofenu (Ibu) a naproxenu (Nap) na aktivitu oxidačních enzymů. Ibuprofen a Naproxen byly aplikovány do hydroponického kultivačního roztoku v koncentracích 5 a 50 μM .

LITERATURA

- /1/ Martin, P., Leibovich, S. J.: Inflammatory cells during wound, repair: the good, the bad and the ugly. Trends in Cell Biology, 15, 2005: 599-607.
- /2/ Sanoh, S. a kol.: Predictability of metabolism of ibuprofen and naproxen using chimeric mice with human hepatocytes. Drug Metabolism and Disposition, 40, 2012: 2267-2272
- /3/ Verlicchi, P., Al Aukidy, M., Zambello, E: Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment—a review. Sci. Total Environ., 429, 2012: 123-155.
- /4/ Wang, C. a kol.: Investigation of pharmaceuticals in Missouri natural and drinking water using high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. Water Research, 45, 2011: 1818-1828
- /5/ Wiegel, S. a kol.: Determination of selected pharmaceuticals and caffeine in sewage and seawater from Tromsø/Norway with emphasis on ibuprofen and its metabolites. Chemosphere, 56, 2004: 583-592
- /6/ Jux, U. a kol.: Detection of pharmaceutical contaminations of river, pond and tap water from Cologne (Germany) and surroundings. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 205, 2002: 393-398
- /7/ Marsik, P. a kol.: Metabolism of ibuprofen in higher plants: A model *Arabidopsis thaliana* cell suspension culture system. Environmental Pollution, 220, 2017: 383-392
- /8/ Miller, E. L. a kol.: Root Uptake of Pharmaceuticals and Personal Care Product Ingredients. Environ Sci Technol., 19, 2016: 525-41.
- /9/ Lichtenthaler, H. K.: Fifty-five years of research on photosynthesis, chloroplasts and stress physiology of plants: 1958-2013. In: Lüttge U and Beyschlag W (eds) Progress in botany: genetics – physiology – systematics – ecology. Vol 76. Springer, Heidelberg, 2014: 3-42
- /10/ El-Shabrawi, H. a kol.: Redox homeostasis, antioxidant defense, and methylglyoxal detoxification as markers for salt tolerance in Pokkali rice, Protoplasma, 245, 2010: 85-96
- /11/ Heller, R.: Recherches sur la nutrition minérale des tissus végétaux cultivés in vitro. Ann. Sci. Nat. Bot. Biol. Veg., 14, 1953: 1-223
- /12/ Hoagland, D. R.: Optimum nutrient solutions for plants. Science, 52, 1920: 562-564
- /13/ Pollard, J. W., Walker, J. M.: Method in molecular biology: Plant cell and tissue culture. Clifton, New Jersey: Humana Press., 6, 1991.
- /14/ Rainha, N. a kol.: Antioxidant properties, total phenolic, total carotenoid and chlorophyll content of anatomical parts of *Hypericum foliosum*. Journal of Medicinal Plants Research., 5, 2011: 1930-1940.

- /15/ Lichtenthaler, H., Wellburn, A.: Determination of total carotenoids and chlorophylls A and B of leaf in different solvents. *Biochemical Society Transactions.*, 11, 1985: 591- 592.
- /16/ Larson, R. A.: The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, 27, 1988: 969-978
- /17/ Osma, E., Cigir, Y., Karnjanapiboonwong, A., Anderson, A. T.: Evaluation of selected pharmaceuticals on plant stress markers in wheat. *International Journal of Environmental Research.*, 12, 2018: 179-188
- /18/ Landa, P. a kol.: Transcriptomic response of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. roots to Ibuprofen. *International Journal of Phytoremediation*, 19, 2017: 695-700
- /19/ An, J., Zhou, Q., Sun, F., Zhang, L.: Ecotoxicological effects of paracetamol on seed germination and seedling development of wheat (*Triticum aestivum* L.) *Journal of Hazardous Material*, 169, 2009: 751-757

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory poskytnuté Grantovou agenturou České republiky (GAČR) projektů 14-22593S a 18-07724S.

INTERAKCE DIKLOFENAKU S ROSTLINAMI NA BUNĚČNÉ ÚROVNI: MODEL TABÁKOVÉ SUSPENZE BY-2

INTERACTION OF DICLOFENAC WITH PLANTS ON CELLULAR LEVEL: MODEL TOBACCO SUSPENSION BY-2

Lucie Svobodníková, Štěpán Zezulka, Marie Kummerová

Masarykova univerzita Brno, Přírodovědecká fakulta, Ústav experimentální biologie – oddělení fyziologie a anatomie rostlin, Kotlářská 2, 611 37 Brno, 423626@mail.muni.cz

Summary

Decrease in density and changes in morphology of tobacco suspension BY-2 were observed from 3rd day of cultivation under 1000 µg/l diclofenac (DCF). Decrease by up to 50% in density was found under 5000 and 10000 µg/l DCF. Acute toxicity to BY-2 cells was proved already after 1 hour of exposure at 100 µg/l DCF, after 2 hours the dead cell count correlated with the concentration range except for 1000 µg/l DCF. The obtained results show that cell viability should be monitored within the first 3 days of culture, and the density of the cell suspension within 5 days (the exponential phase).

Key words: pharmaceuticals; tobacco cell suspension BY-2; suspension density; cell morphology; cell viability

Souhrn

Pokles hustoty a změna morfologie tabákové suspenze BY-2 byly zaznamenány již od 3. dne kultivace při 1000 µg/l diklofenaku (DCF). Až 50% pokles hustoty byl zjištěn při 5000 a 10000 µg/l DCF. Akutní toxicita na BY-2 buňky byla prokázána po 1 hodině expozice při 100 µg/l DCF, po 2 hodinách počty mrtvých buněk korelovaly s koncentrační řadou s výjimkou 1000 µg/l DCF. Ze získaných výsledků vyplývá, že v prvních 3 dnech kultivace je vhodné hodnotit viabilitu buněk a v průběhu 5 dnů (exponenciální fáze) i hustotu buněčné suspenze.

Klíčová slova: léčiva; tabáková buněčná suspenze BY-2; hustota suspenze; morfologie buněk; viabilita buněk

ÚVOD

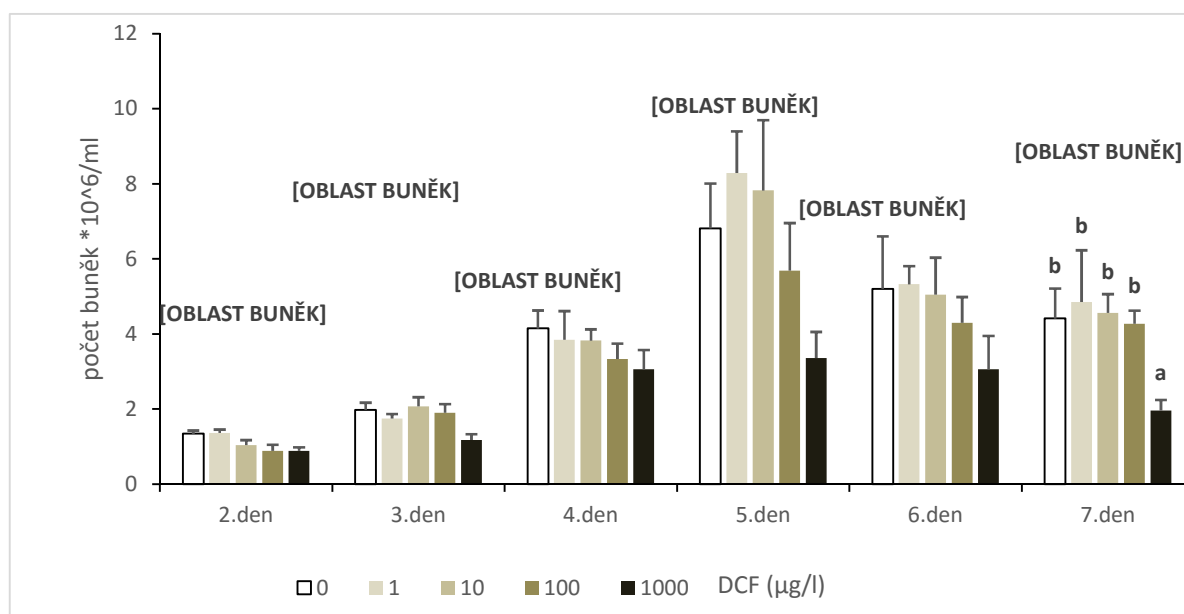
Vzhledem k celosvětově stále se zvyšující produkci a spotřebě léčiv a nedostatečně účinným technologiím jejich odstraňování jsou léčiva kontinuálně přiváděna do prostředí a dostávají se do kontaktu s necílovými organismy. Trend využívání odpadních kalů a vod kontaminovaných léčiv na hnojení a zavlažování zemědělských ploch rozšiřuje oblast zájmu i na zemědělské plodiny. Je známo, že rostliny léčiva přijímají, akumulují a transformují. Jejich vliv na biochemické a fyziologické procesy rostlin však dosud není dostatečně prozkoumán. Jedním z nejčastěji detekovaných léčiv ve vodním prostředí je diklofenak, nesteroidní protizánětlivý lék, který lze detekovat v jednotkách až stovkách µg/l /1/. Je otázkou, zda pro včasnou indikaci a sledování působení léčiv na rostliny lze využít tabákovou buněčnou suspenzní kulturu BY-2 /2/, která je využívána např. pro studium programované buněčné smrti, projevů genové exprese nebo biosyntetických drah. Koncentrační řada diklofenaku byla zvolena tak, aby simulovala nízké až vyšší zatížení prostředí. Cílem práce bylo prozkoumat interakce diklofenaku a buněčné suspenze tabáku BY-2 a vytipovat vhodný parametr pro včasnou indikaci účinku léčiva.

MATERIÁL A METODA

Buněčná suspenze BY-2 byla kultivována v LS médiu modifikovaném dle Nagaty et al. /2/ v Erlenmeyerových baňkách (100ml). Médium bylo obohaceno o 30 g/l sacharózy, 370 mg/l KH_2PO_4 , 1 mg/l thiamin HCl, 100 mg/l myo-inositolu a 0,2 mg/l 2,4-D. Buňky byly kultivovány v řízených podmínkách (tma, teplota 27°C, orbitální třepačka 120 RPM). Zásobní roztok DCF byl připraven jeho rozpuštěním v systému aceton-voda v poměru 1:1 (hm.: obj.) a přidáním k buněčné suspenzi byla připravena koncentrační řada 0, 1, 10, 100, 1000, 5000 a 10000 $\mu\text{g/l}$. Od 2. dne kultivace byla ve 24-hodinových intervalech hodnocena morfologie a hustota buněčné suspenze BY-2 mikroskopicky pomocí Fuchs-Rosenthalovy počítací komůrky. Akutní toxicita DCF byla hodnocena po 1 a 2 hodinách barvením suspenze fluorescein diacetátem. Data byla statisticky vyhodnocena v programu Statistica analýzou rozptylu (ANOVA) a Scheffého testem na hladině významnosti $P \leq 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSE

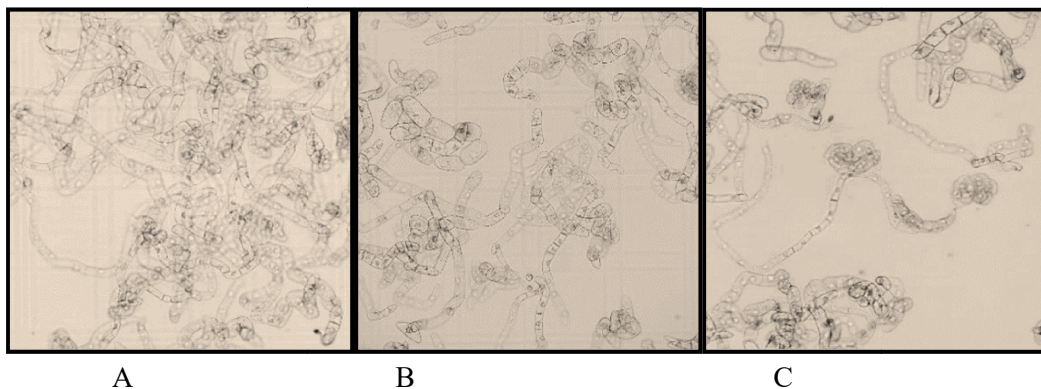
Vliv DCF na BY-2 buněčnou suspenzi byl hodnocen na základě hustoty suspenze a morfologie buněk. Z obr. 1 je patrný přibližně stejný tvar růstové křivky u kontroly a suspenzí zatížených 1, 10 a 100 $\mu\text{g/l}$ DCF. Nejnižší hustota buněk byla zaznamenána v exponenciální fázi, 3. - 5. den, při 1000 $\mu\text{g/l}$ DCF a to již od 3. dne kultivace. Podobně Gratao *et al.* /3/ zaznamenali po 3. dni kultivace stimulaci růstu BY-2 při 0,1 mM CdCl_2 a 0,075 mM NiCl_2 a významný pokles hustoty suspenze při vyšším zatížení (0,2 mM CdCl_2 a 0,75 mM NiCl_2). Negativní vliv na hustotu buněčné suspenze BY-2 během 3. dne kultivace zaznamenali i Poborilova *et al.* /4/ při 100 $\mu\text{g/ml}$ Al_2O_3 . Při 1000 $\mu\text{g/l}$ DCF nebyl pozorován typický sigmoidní tvar růstové křivky, mezi 3. a 4. dnem kultivace se mírně zvýšil počet buněk, avšak poté už růst suspenze stagnoval a 7. den se hustota suspenze snížila.



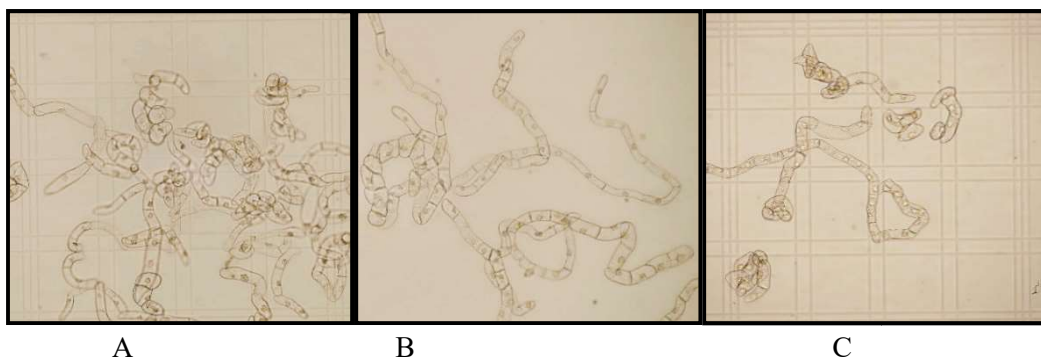
Obr. 1: Hustota BY-2 buněk při 0, 1, 10, 100 a 1000 $\mu\text{g/l}$ DCF během 7-denní kultivace. Data představují průměr z osmi opakování, chybové úsečky označují směrodatné odchytky. Písmena značí statisticky významné rozdíly při $P < 0,05$ (ANOVA, Schefféův test).

Z morfologického hlediska, u všech zatížení DCF byla zřejmá tvorba dlouhých řetízků v kombinaci s menšími shluky, a to i přes snižující se počet buněk. Tato skutečnost byla při zatížení 1000 $\mu\text{g/l}$ DCF pozorována již od 4. dne (obr. 2C) a při zatížení 1, 10 a 100 $\mu\text{g/l}$ DCF od 5. dne kultivace (obr. 3). Po 6. dni se u kontroly s klesajícím počtem buněk dlouhé řetízky

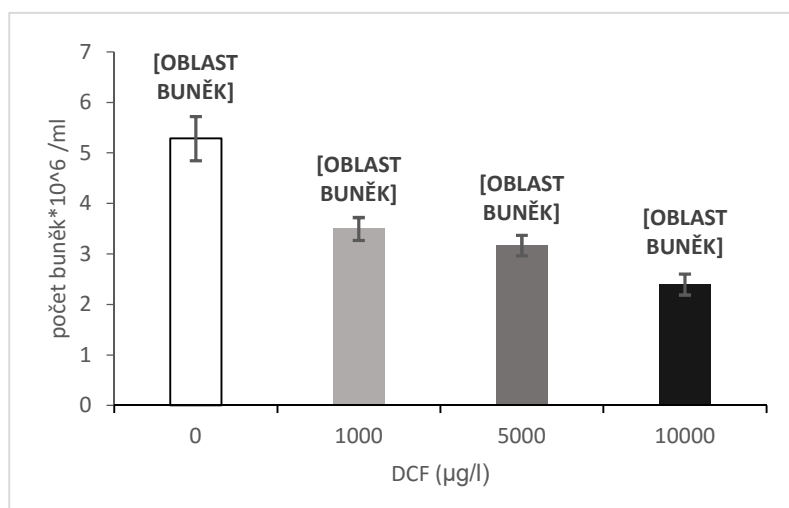
rozpadaly na kratší a případně se tvořily i větší shluky. Od 2. dne byl u všech zatížení DCF pozorován také výskyt atypických tvarů a abnormálních velikostí buněk včetně přetrvávající tvorby shluků (obr. 2 a 3).



Obr. 2: Morfologie BY-2 buněk 4.den kultivace, A= kontrola; B= 1 µg/l DCF; C= 1000 µg/l DCF; A a B zvětšení 100x; C zvětšení 200x; ředění 3x.



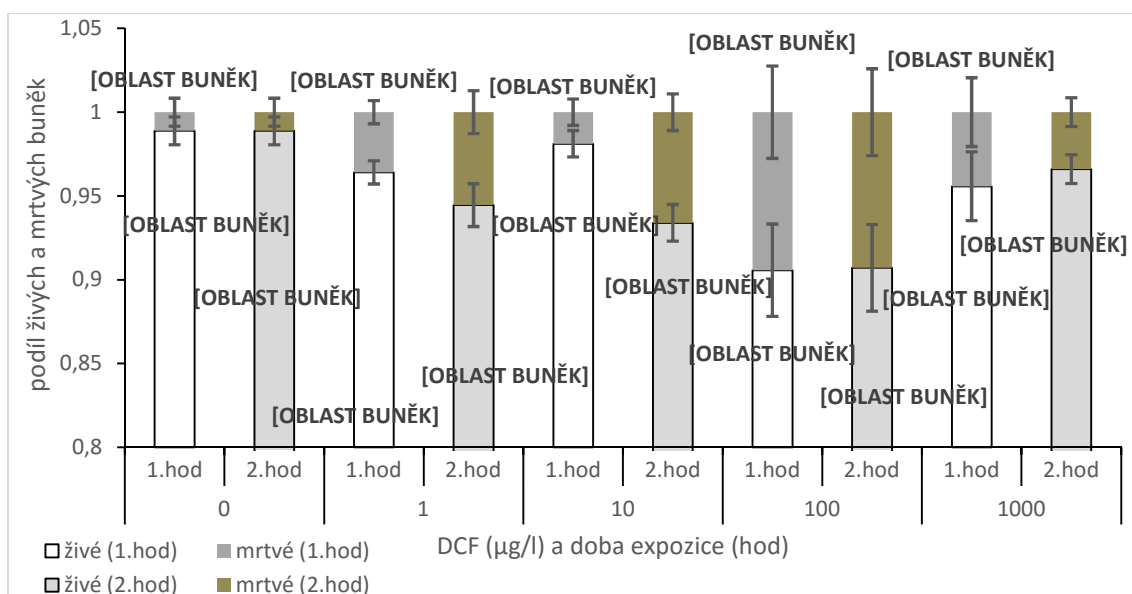
Obr. 3: Morfologie BY-2 buněk 5. den kultivace, A= kontrola; B= 1 µg/l DCF; C= 1000 µg/l DCF; zvětšení 100x; 10x ředění.



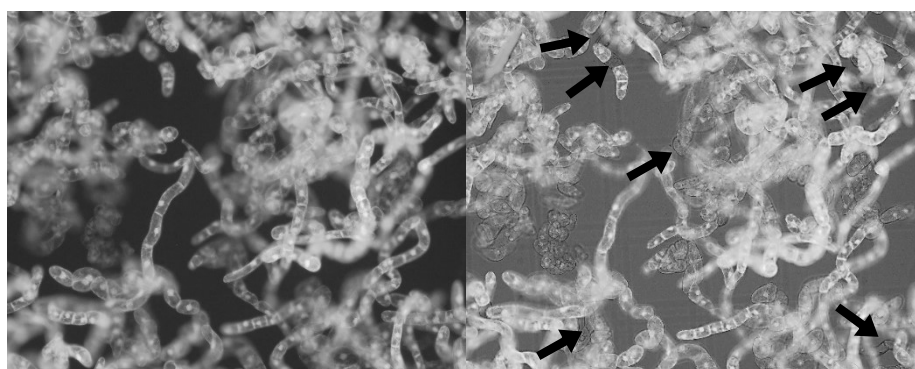
Obr. 4: Hustota BY-2 buněk při zvyšujícím se zatížení DCF (0, 1000, 5000 a 10 000 µg/l) po 4 dnech. Data představují průměr z deseti opakování. Směrodatné odchylky jsou označeny chybovými úsečkami. Písmena značí statisticky významné rozdíly při $P < 0,05$ (ANOVA, Schefféův test).

Vliv vyššího zatížení DCF (5000 a 10000 $\mu\text{g/l}$) na hustotu suspenze byl hodnocen 4. den kultivace. Z obr. 4 je zřejmý významný vliv DCF, při zatížení 10 000 $\mu\text{g/l}$ DCF byla hustota buněk BY-2 dokonce poloviční oproti kontrole.

Akutní toxicita DCF (0, 1, 10, 100 a 1000 $\mu\text{g/l}$) byla hodnocena po 1 a 2 hodinách expozice (obr. 5). Zatímco po 1 hodině byla patrná odezva buněk BY-2 pouze při zatížení 100 $\mu\text{g/l}$ DCF (obr. 6), po 2 hodinách podíl mrtvých buněk v suspenzích koreloval se zvyšujícím se zatížením s výjimkou 1000 $\mu\text{g/l}$ DCF. Po 2 hodinách expozice byl podíl mrtvých buněk při 1 a 10 $\mu\text{g/l}$ DCF prokazatelně vyšší oproti kontrole, nejvyšší pak u 100 $\mu\text{g/l}$ DCF. Oproti očekávání bylo u nejvyššího zatížení 1000 $\mu\text{g/l}$ DCF pozorováno menší procento výskytu mrtvých buněk než u ostatních zatížení. Uvedená skutečnost může souviset s rychlým odumřením a následným rozpadem buněk BY-2 (nemohly proto být započteny do podílu živých a mrtvých buněk). Při dlouhodobějším testování viability například i Poborilova *et al.* /4/ prokázali významný pokles po 24 hodinách při 100 $\mu\text{g/ml}$ Al_2O_3 , po 48 hodinách při 20 a 50 $\mu\text{g/ml}$ a v případě 10 $\mu\text{g/ml}$ až po 72 hodinách. Také Gratao *et al.* /3/ prokázali významný pokles viability při působení 0,2 mM CdCl_2 a 0,75 mM NiCl_2 po 36 hodinách kultivace.



Obr. 5: Viabilita BY-2 buněk při vlivu akutní toxicity DCF (0, 1, 10, 100 a 1000 $\mu\text{g/l}$ DCF) po 1 a 2 hodinách kultivace. Data představují průměr z šesti opakování. Směrodatné odchylky jsou označeny chybovými úsečkami. Písmenka značí statisticky významné rozdíly při $P < 0,05$ (ANOVA, Schefféův test).



Obr. 6: Viabilita BY-2 buněk při zatížení 100 $\mu\text{g/l}$ po 1. hodině (šipky ukazují polohu mrtvých neobarvených buněk); zvětšení 100x.

Zatímco na počátku expozice je tedy vhodné hodnotit viabilitu buněk, po delší době působení léčiva je spolehlivým ukazatelem i hustota buněčné suspenze.

LITERATURA

- /1/ Michelová, M.: Výskyt farmak v prostředí a jejich interakce s organismy. 2011. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta.
- /2/ Nagata, T., Nemoto, Y., Hasezawa, S.: Tobacco BY-2 cell line as the “HeLa” cell in the cell biology of higher plants. *International Reviews of Cytology – A Survey of Cell Biology*, 132, 1992: 1-30.
- /3/ Gratao, P.L., Pompeu, G.B., Capaldi, F.R., Vitorello, V.A., Lea, P.J., Azevedo, R.A.: Antioxidant response of *Nicotiana tabacum* cv. Bright Yellow 2 cells to cadmium and nickel stress. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 94, 2008: 1-73.
- /4/ Poborilova, Z., Opatrilova, R., Babula, P.: Toxicity of aluminium oxide nanoparticles demonstrated using a BY-2 plant cell suspension culture model. *Environmental and Experimental Botany*, 91, 2013: 1-11.

Poděkování

Práce byla podpořena projektem GAČR GF17-33746L.

HLOUBKA KOŘENŮ POLNÍCH PLODIN A ZELENIN A STANOVENÍ ZÁVLAHOVÉ HLOUBKY

ROOT DEPTH OF FIELD CROPS AND VEGETABLES AND DETERMINATION OF DEPTH OF IRRIGATION

Pavel Svoboda, Jan Haberle, Gabriela Kurešová

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i, oddělení produkční fyziologie a výživy rostlin, Drnovská 507, 161 06, Praha 6 - svoboda@vurv.cz

Summary

The root depth of plants is an important indicator for effective irrigation. Experimental data of root depths of selected field crops and vegetables were compared with values of effective depth of irrigation as defined by Czech norm ČSN 75 0434 and as used in irrigation rates calculation programme IRRIPROG.

Key words: water stress, water demand, soil texture, root distribution

Souhrn

Hloubka kořenů rostlin je důležitým ukazatelem pro efektivní zavlažování. Byly porovnány experimentální údaje o hloubce kořenů vybraných plodin a zelenin a hodnoty účinné hloubky navlažení podle ČSN 75 0434 a hloubky zavlažování v programu IRRIPROG.

Klíčová slova: stres suchem, potřeba vody, půdní druh, distribuce kořenů

ÚVOD

Zemědělství, především zavlažování plodin, představuje celosvětově dvě třetiny spotřebované vody. Změna klimatu a časté periody sucha, které způsobují až miliardové škody (naposledy v roce 2017), ukazují na rostoucí potřebu závlah i v našich klimatických podmínkách. Efektivní využití závlahové vody vyžaduje správnou dávku a hloubku zavlažení. Příliš vysoká dávka způsobuje ztráty průsakem mimo dosah kořenů dané plodiny, nízká dávka znamená dřívější vyčerpání vody v případě sucha a vyžaduje více aplikačních dávek.

Česká norma ČSN 75 0434 /1/ uvádí hodnoty účinné hloubky navlažení a pro výpočet směrodatné závlahové dávky se uvádí koeficient h_u přímo jako „účinná nebo maximální hloubka zakořenění dané plodiny v kritickém období“. V programu pro výpočet potřeby závlah IRRIPROG /3/ je maximální hloubka zavlažení počítána pro vrstvu půdy odpovídající (aktuální) hloubce kořenů. Tyto a ještě údaje o hloubce kořenů z hlediska využití půdního N v podorničí kořeny různých plodin /2/, jsou shrnuty v tab. 1. V příspěvku poukážeme i na vliv závlahy a stresu suchem na dosahovanou hloubku kořenů.

Cílem tohoto příspěvku bylo porovnat indikativní tabulkové údaje o hloubce zavlažení s experimentálními údaji o hloubce kořenů.

MATERIÁL A METODA

V polních pokusech VÚRV, v.v.i. a na pozemcích zemědělských podniků v různých agroklimatických regionech ČR byla v minulých letech sledována distribuce (hustota) a hloubka kořenů vybraných polních plodin a zelenin. Kořeny byly sledovány převážně po kvetení, v období zrání plodiny, kdy dosahují největší hloubky. Vzorky půdy byly odebírány

po vrstvách 10 cm až do hloubky bez výskytu kořenů, kořeny byly vyplaveny vodou, byla určena jejich celková délka podle Tennanta /7/ a vypočtena hustota kořenů (cm/cm^3).

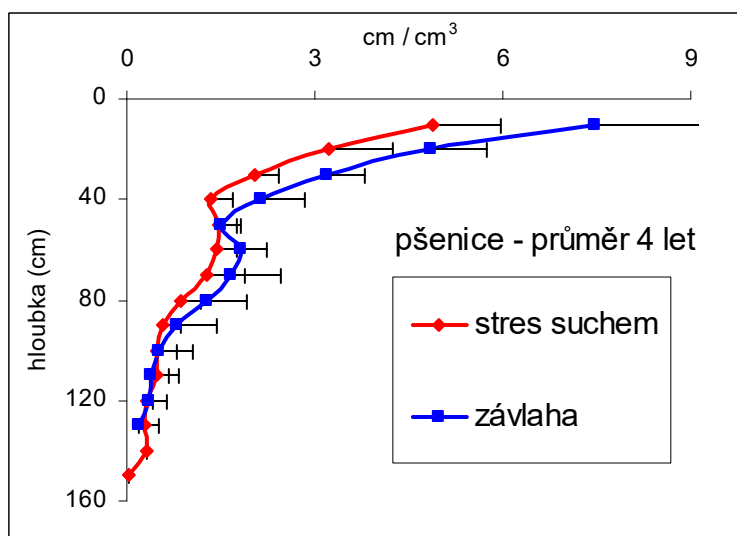
U ozimé pšenice byl sledován růst kořenů zavlažovaných a suchem stresovaných rostlin (nedostatek vody byl navozen po metání s pomocí mobilního krytu). U brambor byl sledován růst kořenů na zavlažovaném a na kontrolním nezavlažovaném porostu.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Pozorované **maximální hloubky kořenů** plodin se pohybovaly v určitém rozsahu, největší vliv na hloubku mělo zpravidla složení a mocnost půdních horizontů /6/. Hustota kořenů plodin s postupující hloubkou klesala a tak distribuce kořenů měla u středně i hlubokokořenících plodin zpravidla exponenciální průběh. Poněkud jiný průběh byl zaznamenán u slunečnice, kdy v ornici byla vyšší hustota jako u jiných plodin, ale v podorničních vrstvách byla přibližně stejná (nižší) hustota až do hloubky 180 cm /6/.

U širokořádkových plodin byla hustota kořenů v horních vrstvách půdy v meziřadí zpravidla menší. To se nejvíce projevilo u zelenin (graf 3), kukuřice, brambor (graf 2) a slunečnice. Nerovnoměrnost v hustotě kořenů plodin může mít negativní vliv na využití vody a živin.

Stres suchem ovlivnil hustotu kořenů pšenice ve všech 4 sledovaných ročnících. Na zavlažované variantě byla do hloubky až 90 cm vždy zaznamenána větší hustota kořenů než při suchu. Hloubka kořenů se mezi variantami průkazně lišila jen v jednom roce ze čtyř, kdy u stresovaných rostlin byla zjištěna hloubka kořenů 125 cm, oproti 100 cm na variantě s dostatečnou zásobou vody (graf 1).



Graf 1: Průměrná hustota a hloubka kořenů ozimé pšenice při závlaze a indukovaném stresu suchem (Ruzyně, průměr 4 let).

Závlaha brambor výrazně posílila růst kořenů v horní 20cm vrstvě půdy oproti nezavlažované kontrole a snížila délku (hustotu) kořenů v hlubších vrstvách půdy, zvláště ve větší vzdálenosti od rostliny; celková délka kořenů v celém půdním profilu byla na obou variantách podobná (graf 2).

U většiny druhů lze konstatovat **přibližnou shodu** mezi údaji z různých zdrojů, které vycházejí z hloubky kořenů, a experimentálními údaji alespoň na úrovni zařazení do skupin s různým dosahem kořenů. Pozorované maximální hloubky jsou většinou větší než hloubky stanovené pro účinnou závlahu, což odpovídá poznatkům o využití vody z hlubokých vrstev, kde je menší hustota kořenů (tab. 1).

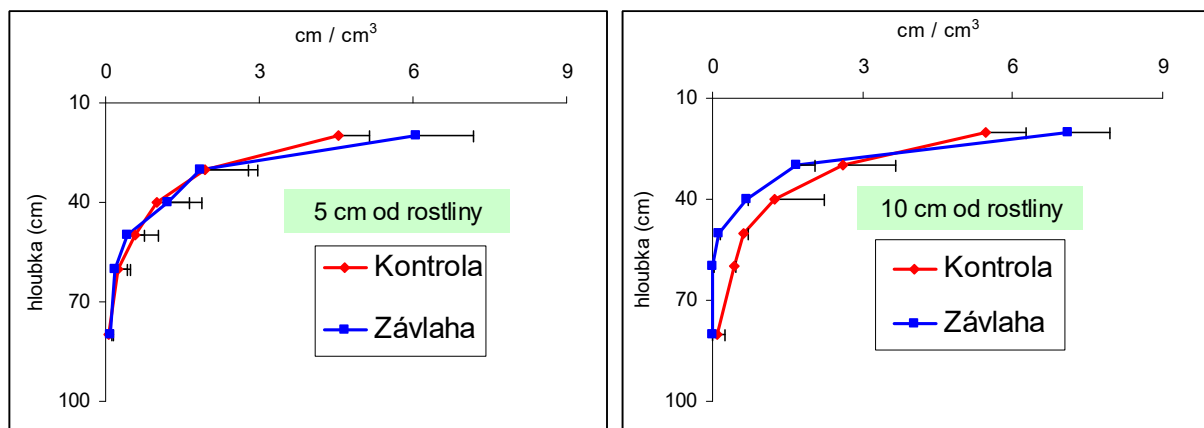
Tab. 1: Porovnání hloubky kořenů a hloubky zavlažení z různých zdrojů.

/1/: ČSN 75 0434. Meliorace; /2/: Fertiliser Manual (RB209); /3/: Metodika řízení závlahového režimu plodin výpočetním programem IRRIPROG; ČR: Získané experimentální údaje

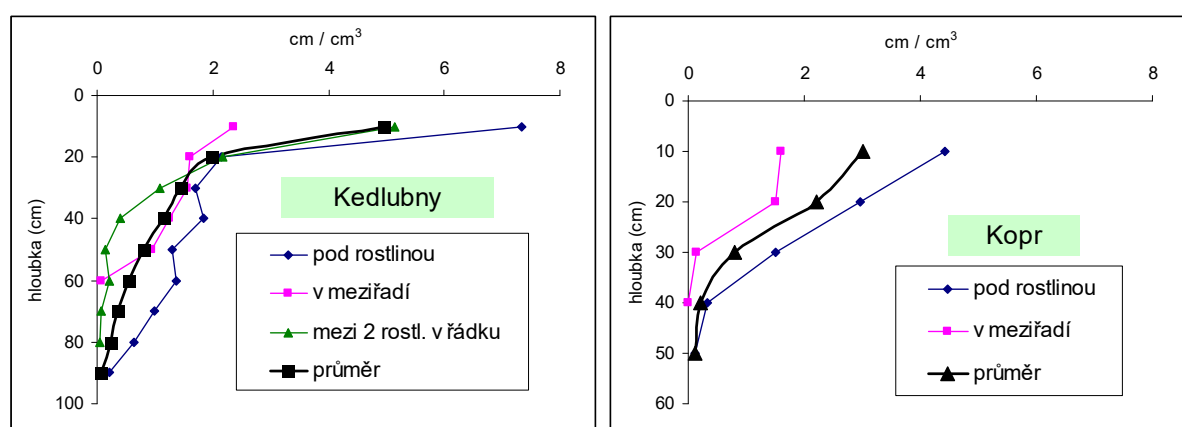
Zdroj:	různé zdroje:	/1/	/3/	/2/	ČR
Skupina plodin	Charakteristika hloubky kořenů	Účinná hloubka navlažení (cm)	Hloubka zavlažení (max.)	Hloubka kořenů (cm)	Experiment. údaje (cm)
salát, ředkvička	mělký		20	30	30
salát ledový	mělký		20	45	30-40
špenát			20		30
hrách na zeleno	mělký				50-60
luštěniny	mělký-střední	30-70	30		
hrách na zrno, soja		50			50-70
kopr	mělký				40
cibuloviny (cibule, česnek)	střední			60	40-60
cibule svazečková na zeleno	mělký			30	30
brambory rané, rychlené	mělký	40	40		40-50
brambory polorané	mělký-střední	50	50		50-60
brambory pozdní	střední	60	60		60-80
celer s natí	střední				50-70
celer (pro bulvy)	střední-hluboký		45	90	
červená řepa	střední-hluboký			60	60-80
mrkev	střední-hluboký		40	90	50-70
rajče	střední-hluboký		30	90	
tykvovité zeleniny	střední		30-35		
košťáloviny	střední-hluboký			75	
brokolice	střední-hluboký				80-90
brukev-kedlubna	střední		30		60-80
zelí (na uskladnění aj.)	hluboký		40		
květák (letní a zimní)	střední-hluboký		30		
listová kapusta	střední		40	45 - 60	
brukev žlutá, tuřín	střední			90	
petržel kořenová, pastinák	střední-hluboký				70-90
mák (ozimý)					60-80
jar. obiln. (ječm., pšen., oves)	střední-hluboký	60	60		60-100
jarní řepka, hořčice	střední-hluboký				65 - 75
oz. pšenice	hluboký	80	80		80-150
řepka ozimá	hluboký	60	60		80-120
kukuřice	hluboký	80	80		60-140
kukuřice na siláž			60		
slunečnice	velmi hluboký	80	80		90-180
cukrovka, krmná řepa	hluboký	80	80	100-180	
jednoleté píce	střední	60			
jetel červený, jetelotráva	hluboký	80			
vojtěška	velmi hluboký	80-100	80-100		

Výraznější rozdíl je vidět u košťálovin (kedlubna, brokolice), které mají jako další brukvovité druhy hlubší kořenový systém. Pozorované průměrné rozsahy hloubek kořenů daného druhu se v rámci odrůdové, ročníkové a stanovištní variability většinou pohybovaly v rozmezí 20 - 30 cm, což dává předpoklad, že průměrné hodnoty reprezentují daný druh nebo skupinu plodin.

Sledování byla prováděna na běžných půdách, bez výskytu výrazně nepříznivých faktorů, jako je utužení půdy, zamokření, nízké pH. Spolehlivější určení hloubky kořenů a závlahové hloubky by vyžadovalo určení půdních podmínek na daném pozemku, především případných faktorů omezujících růst kořenů, nebo přímé pozorování kořenů např. na stěně půdního profilu /4/. Údaje o hloubce kořenů jsou důležité nejen pro efektivní využití doplňkové závlahy, ale i z hlediska redukce rizika vyplavení nitrátů z kořenové zóny /5/.



Graf 2: Hustota a hloubka kořenů brambor při závlaze a na kontrole (Benátky n/J 2017)



Graf 3: Příklady distribuce a dosahované hloubky kořenů u zelenin (kedlubny a kopr).

LITERATURA

- /1/ ČSN 75 0434. Meliorace - Potřeba vody pro doplňkovou závlahu. 2017.
- /2/ Fertiliser Manual (RB209). DEFRA 2011. Dostupné na: <http://www.ahdb.org.uk/rb209>
- /3/ Spitz, P., Zavadil, J., Duffková, R., Korsuň, S., Nechvátal, M., Hemerka, I.: Metodika řízení závlahového režimu plodin výpočetním programem IRRIPROG. Certifikovaná metodika. VÚMOP, v.v.i., 2011
- /4/ Středa, T., Haberle, J., Klimešová, J., Svoboda, P., Středová, H., Khel, T.: Metodika odběru a hodnocení koř. systému polních plodin. Cert. metodika. Mendelova Univerzita v Brně, VÚRV, v.v.i. Praha, 2017.
- /5/ Svoboda, P., Kurešová, G., Neumannová, A., Haberle, J.: Riziko vyplavení nitrátů u zelenin a plodin s různou hloubkou kořenů. Úroda, 65, 2017: 493-496.
- /6/ Svoboda, P., Haberle, J.: Hloubka kořenů polních plodin. Úroda, 62, 2014, (CD).
- /7/ Tennant, D.: A test of a modified line intersect method of estimating root length, Journal of Ecology, 63, 1975: 995-1001.

Poděkování

Príspevek byl podpořen projekty MZe ČR QK1720285 a RO0418.

FLAVONOIDY A PRODUKČIA BIOMASY V PODMIENKACH SUCHA A MYKORÍZY

FLAVONOIDS AND BIOMASS PRODUCTION IN DROUGHT AND WITH MYCORRHIZA

Erik Chovanček, Marek Živčák, Marián Brestič, Katarína Olšovská, Lenka Botyanszká, Marek Kovár

Slovenská poľnohospodárska univerzita, FAPZ, Katedra fyziológie rastlín, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika, e.chovancek@gmail.com

Summary

The symbiosis of plant roots with arbuscular mycorrhizae fungi alleviates the level of abiotic and biotic stress in various agricultural and horticultural crops. It affects not only biomass production, but also the content of nutritionally valuable compounds, such as flavonoids. Flavonoids are strong antioxidants with a key role in plant defense mechanisms in response to various stressors. The dynamics of flavonoids can be efficiently screened by non-invasive fluorescence-based method using a portable non-contact sensor. The purpose of this study was to evaluate the effect of mycorrhizae fungi of the genus *Glomus* on the production of biomass of lettuce plants *Lactuca sativa* L. in normal and drought conditions, and on dynamics of flavonoids in the leaves of these plants. Our results confirm that the fast non-invasive fluorescence sensor can be used for phenotyping of plant-stress interactions as well as plant-microbial interactions.

Key words: mycorrhizae fungi, flavonoids, non-invasive methods, drought, lettuce

Súhrn

Symbióza koreňov rastlín s arbuskulárno-mykoríznyimi hubami znižuje úroveň abiotického a biotického stresu pri viacerých poľnohospodárskych a záhradníckych plodinách. Neovplyvňuje len produkciu biomasy, ale aj obsah nutrične hodnotných zlúčenín, ako sú napríklad flavonoidy. Flavonoidy sú silné antioxidanty, ktoré zohrávajú dôležitú úlohu v obranných mechanizmoch rastlín v ochrane pre rôznymi stresormi. Zmeny obsahu flavonoidov v rastlinách môžu byť zachytené pomocou nedeštrukčných metód založených na meraniach pomocou bezkontaktných svetelných senzorov. Cieľom tejto práce bolo zhodnotiť účinok mykoríznych húb rodu *Glomus* na produkciu biomasy šalátov *Lactuca sativa* L. pri bežnej zálievke a v podmienkach simulovaného sucha, a tiež na obsah flavonoidov v listoch šalátov. Naše výsledky potvrdzujú, že bezkontaktné fluorescenčné senzory môžu byť použité na fenotypovanie vplyvu abiotických stresorov a interakcií medzi rastlinami a mikroorganizmami.

Kľúčové slová: mykorízne huby, flavonoidy, nedeštrukčné metódy, sucho, šalát

ÚVOD

Rastliny rastú v určitom optimálnom rozmedzí environmentálnych faktorov, ako sú svetelná radiácia, teplota, vlhkosť vzduchu a pôdna zásoba vody. Aj slabá fluktuácia týchto faktorov ovplyvňuje rast a produktivitu. Zmeny fotoperiody, množstva radiácie a jej spektra, nutričnej zásobenosti, rýchlosti vetra, extrémne teploty a extrémny v zásobe vody, všetky tieto abiotické faktory pôsobia na rastliny ako stresový faktor /1/.

Sucho patří mezi významné abiotické stresové faktory, které negativně ovlivňují rast a metabolismus rostlin. Deficit vody v půdě může být chronický v regionech s nízkými vodnými zrážkami, alebo náhodný pri nepredvídateľných zmenách počasia. S rastúcim nedostatkom vody pod vplyvom klimatickej zmeny sa očakáva nárast vplyvu sucha na úrody pestovaných plodín, preto je výskum stresových procesov pod vplyvom sucha aktuálnou témou /2/.

Voda je limitujúcim faktorom rastlinnej produkcie a je jedným z hlavných faktorov regulujúcich distribúciu rastlinných druhov. Vyše 35 % zemskej súše patrí do aridných alebo semiaridných oblastí, ktoré sú kvôli nízkym zrážkam z poľnohospodárskeho hľadiska nepoužiteľné. Zrážky však nie sú rovnomerné ani v oblastiach vhodných pre poľnohospodárstvo. Aj poľnohospodárske oblasti bývajú vystavené periódam sucha, ktoré môžu znižovať úrodu až o 50 % /3/.

Flavonoidy sú veľkou a diverzifikovanou skupinou fenolických látok, ktoré sú prevažne produktami sekundárneho metabolismu. To značí, že ich produkcia priamo nesúvisí s rastom a vývinom rastlín. Ich funkcia nie je vždy známa, ale ich produkcia väčšinou súvisí s aklimáciou a adaptáciou k pôsobeniu rôznych environmentálnych stresov, či už abiotických alebo biotických. Zohrávajú úlohu pri pigmentácii (antokyany), zvyšovaní obranyschopnosti proti skrmovaniu zvieratami (taníny) a izoflavonoidy sú často súčasťou obranného mechanizmu rastlín, a to buď priamo alebo ako signálne molekuly /4/.

Mykorízne huby vytvárajú symbiotické vzťahy s koreňmi rastlín podobne ako nodujúce baktérie s leguminózami. Arbuskulárno-mykorízna symbióza je najčastejším typom mykorízy - viac ako 80 % cievnatých rastlín žije v symbióze s arbuskulárno-mykoríznyimi hubami (AMH). AMH sú obligátni mutualisti z kmeňa *Glomeromycota* s globálnym rozšírením, ktorí poskytujú hostiteľským rastlinám fosfor, dusík a dôležité minerály výmenou za uhlíkové zlúčeniny, na ktorých sú závislé. K výmene živín dochádza v štruktúrach nazývaných arbuskuly, ktoré sa tvoria prerastaním hýf húb do medzibunkového priestoru kortexu koreňov hostiteľských rastlín /5/.

Symbióza AMH s rastlinami sa neobmedzuje len na výmenu živín. Symbionti si navyše vzájomne zvyšujú aj možnosti prežitia a ekologického rozšírenia. AMH tiež spôsobujú, že hostiteľské rastliny majú vyššiu toleranciu na suchu. Predpokladá sa, že mechanizmy tohto pôsobenia prebiehajú na fyzikálnej, nutričnej, fyziologickej a bunkovej úrovni /6/.

MATERIÁL A METÓDY

Pre účely experimentu sme vybrali dve odrody šalátu: Tarzan - letný hlávkový ľadový od firmy Nohel Garden, Rosemary - celoročný červený kučeravý od firmy Nohel Garden. Semená boli vysiate do sadbovačov a pestované pri izbových podmienkach, t.j. teplota cca 24 °C, relatívna vzdušná vlhkosť cca 60 %, hojná zálievka a prirodzené denné osvetlenie. Keď mali priesady dva pravé listy, boli jednotené, a 35 dní od sejby boli presadené do samostatných kvetináčov so sterilizovanou pôdou určenou pre záhradkárské účely.

Polovina vzoriek bola inokulovaná prípravkom Symbivit® (výrobca: Symbiom) s obsahom 6 druhov mykoríznych húb (*Glomus mosseae*, *G. intraradices*, *G. cladoideum*, *G. microagregatum*, *G. caledonium* a *G. etunicatum*) a ďalej rozdelená, rovnako ako neinokulovaná, do dvoch variantov - kontrolného a variantu vystaveného simulovanému suchu. Maximálna saturácia pôdy vodou bola stanovená na začiatku pokusu rozdielom hmotností nasýtenej a vysušenej pôdy. Saturácia vzoriek bola potom stanovená a udržiavaná vážením vzoriek a následnou kalkuláciou, pričom cieľová úroveň vodného stavu kontrolného variantu bola 70 % a variantu vystavenému suchu 30 %, a bola dosahovaná vypočítanou zálievkou dvakrát do týždňa. Všetky vzorky boli uložené na okennú rímsu južnej strany univerzitnej budovy. Po ukončení priebežných meraní flavonoidov boli nadzemné časti rastlín oddelené, zvážené, pri teplote 80 °C vysušené v laboratórnych sušiarňach a znovu zvážené.

Stanovenie obsahu flavonoidov: Estimácia flavonolov a antokyanov bola realizovaná neinváznym *in vivo* spôsobom pri dennom svetle prístrojom Multiplex® (Force-A, Francúzsko). Multiplex je ručný prenosný prístroj, ktorý zabezpečuje excitáciu molekúl a následne zaznamenáva spektrum odrazenej optickej fluorescencie. Na prístroji sa nachádza šesť diód emitujúcich UV žiarenie s vlnovou dĺžkou 375 nm, tri LED-matrice emitujúce farebné svetelné žiarenie s tromi rôznymi vlnovými dĺžkami - 470 nm (modrá), 516 nm (zelená) a 635 nm (červená), a tri synchronizované diódy detekujúce fluorescenciu v troch oblastiach spektra - žltej, červenej (R - red) a vzdialenej červenej (FR - far-red). Rôzne kombinácie signálov R a FR fluorescencie pri rôznych excitačných pásmach indikujú prítomnosť rôznych zlúčenín, napríklad flavonolov a antokyanov /7/.

Indexy flavonolov a antokyanov môžeme vyjadriť meraním fluorescenčných signálov vzdialenej červenej (FRF), a to FRF excitovanom červeným svetlom (R - red) - FRF_R, FRF excitovanom zeleným (G - green) svetlom - FRF_G a FRF_UV, ktoré je excitované UV žiarením.

Flavonoly majú schopnosť pohlcovať UV žiarenie. Preto obsah flavonolov v listoch, alebo FLAV index, počítame pomocou dekadického logaritmu pomeru FRF signálu, ktorý bol excitovaný červeným (R) svetlom, a FRF signálu, ktorý bol excitovaný UV žiarením.

Obsah antokyanov, ANTH index, počítame dekadickým logaritmom pomeru FRF signálu, ktorý bol excitovaný červeným (R) svetlom, a FRF signálu, ktorý bol excitovaný zeleným (G) svetlom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Sucho je významným stresorom rastlín. Vplyv vodného deficitu ako stresoru na metabolizmus rastlín je však závislý nielen od jeho úrovne a trvania, ale aj od tolerancie druhu alebo odrody. Vodný deficit môže znižovať produkciu biomasy šalátu až o 39 %; na druhej strane, vodný deficit môže zvýšiť obsah fenolických látok v šalátoch o 11 % /8/.

Vodný deficit v našich podmienkach znížil produkciu biomasy oproti kontrolným vzorkám dobre zásobených vodou celkom v priemere o 59 %, o 56 % pri odrode Rosemary a 62 % pri odrode Tarzan. Odroda Tarzan produkuje v podmienkach sucha preukázateľne menej biomasy ako odroda Rosemary (ANOVA, $p = 0,05$), čo tiež značí, že odroda Tarzan bola vystavená pri rovnakých podmienkach vyššej úrovni stresu zo sucha a je menej rezistentná voči suchu.

Stres z vodného deficitu redukuje listovú plochu šalátov, čo je mechanizmus vyhýbania sa stresu zo sucha, pretože ovplyvňuje schopnosť rastlín udržať si vysoký vodný potenciál v pletivách v podmienkach sucha. V kombinácii s vysokými teplotami navyše sucho výrazne redukuje aj biomasu šalátov, aj keď listy oproti kontrolným hrubnú /9/.

O hrubnutí pletív pri vodnom deficite vypovedá nárast obsahu sušiny v podmienkach sucha. Nárast oproti dobre zásobeným variantom predstavoval pri odrode Rosemary 27 % a pri odrode Tarzan až 38 %. Nárast obsahu sušiny sa vysvetľuje vyššou akumuláciou asimilátov, ktoré sú potrebné k ochrane pred dehydratáciou. Týmito asimilátmi môžu byť karbohydráty a rôzne osmoprotektanty. Na druhej strane, vyšší nárast obsahu sušiny pri odrode Tarzan značí vyššiu produkciu hydrofóbných molekúl, ktoré môžu byť zložkami bunkových stien (napríklad lignín) /8/.

Sucho zvyšuje koncentráciu fenolických látok a ich antioxidačnú kapacitu, a to zvýšením aktivity enzýmu PAL (fenylalanín-lyáza/deamináza), na ktorý tiež významne vplyva intenzita a spektrum svetelného žiarenia /10/. Zvýšenie hladiny flavonolov vo vzorkách šalátov vystavených suchu sme však pozorovali len pri odrode Rosemary, kde rozdiel bol zrejmy najmä v posledných fázach experimentu. V deň zberu bol tento rozdiel 27 %.

Je známe, že symbióza rastlín s AMH zvyšuje prírastok biomasy a zlepšuje aklimáciu rastlín k niektorým stresovým faktorom, ako je napríklad sucho. Nie všetky druhy myko-

různých hub mají však rovnaký účinok na hostiteľské rastliny. Napríklad, kým sym-bióza šalátu s druhom *Glomus occultum* zvýšila prírastok biomasy 4-násobne, pri symbióze s druhom *Glomus deserticola* bol prírastok až 10-násobný; pri šalátoch vystavených stresu zo sucha bol prírastok ešte väčší /11/.

Kombinácia šiestich druhov mykoríznych hub prítomných v prípravku Symbivit zvýšila produkciu biomasy šalátov v našich pokusných podmienkach v prípade kontrolných vzoriek dobre zásobených vodou o 10 % pri odrode Rosemary a 4 % pri odrode Tarzan. Pri vzorkách vystavených suchu bol rozdiel oproti neinokulovaným vzorkám štatisticky významný (ANOVA, $p = 0,05$), 17 % pri odrode Rosemary a 25 % pri odrode Tarzan.

Mykoríza môže zvýšiť obsah fenolických zlúčenín v hostiteľských rastlinách /12/. Asociácia rastlín s AMH nemusí vždy v hostiteľských rastlinách zvyšovať produkciu sekundárnych metabolitov, ako sú flavonoidy /13/. Inokulácia mykorízny prípravkom Symbivit nemala počas sledovanej doby významný vplyv na obsah flavonolov ani antokyanov v listoch obidvoch odrôd šalátu. Celkovo sme pozorovali mierny a prechodný nárast hodnôt indexov krátko po inokulácii, s návratom do normálnych hodnôt v priebehu pokusu. Nemôžeme preto ani potvrdiť ani vyvrátiť vplyv mykorízy na koncentráciu flavonoidov v pletivách šalátu a obranyschopnosť inokulovaných rastlín vo všetkých fázach vývoja.

LITERATÚRA

- /1/ Rao, D. E., Chaitanya, K. V. Photosynthesis and antioxidative defense mechanisms in deciphering drought stress tolerance of crop plants. *Biologia Plantarum*, 60, 2015: 201-218.
- /2/ Harb, A., Krishnan, A., Ambavaram, M. M. R., Pereira, A. Molecular and physiological analysis of drought stress in *Arabidopsis* reveals early responses leading to acclimation in plant growth. *Plant Physiology*, 154, 2010: 1254-1271.
- /3/ Wood, A. J. Eco-physiological adaptations to limited water environments. In Jenks, M. A., Hasegawa, P. M. *Plant Abiotic Stress*. India, Blackwell Publishing, 2005: 1-13. ISBN 978-14051-2238-2
- /4/ Jones, R., Ougham, H., Thomas, H., Waaland, S. *The molecular life of plants*. USA, Wiley, 2013. ISBN 978-0-470-87012-9
- /5/ Siddiqui, Z. A., Pichtel, J. The molecular components of nutrient exchange in arbuscular mycorrhizal interactions. In Siddiqui, Z. A. a kol. *Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry*, USA, Springer, 2008: 1-35. ISBN 9781402087691
- /6/ Marulanda, A., Azcón, R., Ruiz-Lozano, J. M. Contribution of six arbuscular mycorrhizal fungi isolates to water uptake by *Lactuca sativa* plants under drought stress. *Physiologia plantarum*, 119 (4), 2003: 526-533.
- /7/ Ghozlen, N. B., Cerovic, Z. G., Germain, C., Toutain, S., Latouche, G. Non-destructive optical monitoring of grape maturation by proximal sensing. *Sensors*, 10 (11), 2010: 10040-10068.
- /8/ Eichholz, I., Förster, N., Ulrichs, C., Schreiner, M., Huyskens-Keil, S. Survey of bioactive metabolites in selected cultivars and varieties of *Lactuca sativa* L. under water stress. *J. of Appl. Bot. & Food Qual.*, 87, 2014.
- /9/ Galieni, A., Stagnari, F., Specia, S., Pisante, M. Leaf traits as indicators of limiting growing conditions for lettuce (*Lactuca sativa*). *Annals of Applied Biology*, 169 (3), 2016: 342-356.
- /10/ Oh, M., Carey, E., Rajashekar, C.B. 2010. Regulated water deficits improve phytochemical concentration in lettuce. *J. of the American Soc. for Hort. Science*, 135 (3), 2010: 223-229.
- /11/ Ruiz-Lozano, J. M., Azcon, R., Gomez, M. Effects of arbuscular-mycorrhizal *Glomus* species on drought tolerance: physiological and nutritional plant responses. *Appl. and Environ. Microbiol.*, 61, 1995: 456-460.
- /12/ Gabriele, M., Gerardi, C., Longo, V., Lucejko, J., Degano, I., Pucci, L., Domenici, V. The impact of mycorrhizal fungi on Snagiovese red wine production: phenolic compounds and antioxidant properties. *LWT- Food Sc. and Tech.*, 72, 2016: 310-316.
- /13/ Da Silva, F. A., Da Silva, F. S. B. Is the application of arbuscular mycorrhizal fungi an alternative to increase foliar phenolic compounds in seedlings of *Mimosa tenuiflora* (Wild.) Poir., Mimosoidae? In *Braz. J. of Botany*, 2016: 1-5.

Pod'akovanie

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

MULTISPEKTRÁLNA INDUKOVANÁ FLUORESCENCIA VYUŽITÁ PRI FENOTYPIZÁCIÍ STRESOVÝCH ÚČINKOV SUCHA V ODRODÁCH PŠENICE

MULTISPECTRAL INDUCED FLUORESCENCE USING IN THE FIELD PHENOTYPING OF DROUGHT STRESS EFFECTS OF WHEAT VARIETIES

Lenka Botyanszka¹, Marek Živčák¹, Marián Brestič¹, Erik Chovanček¹, 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

One of the challenges of phenotyping is to characterize the drought responses of numerous genebank accessions in the field. To examine this issue, we tested 25 winter wheat in the collection of National Genebank in Piestany (Slovakia) genebank accessions grown in field trials in two variants: the irrigated variant and the variant without irrigation. During the spring season, the plants were monitored weekly using fast non-invasive methods based multispectral measurements. In addition to field measurements, the leaf samples were taken and additional analysis in the laboratory were performed photosynthetic pigment analysis. Our results demonstrated that estimations of chlorophyll contents based on fluorescence excitation ratio were more reliable when done in laboratory conditions on detached leaves compared to field recordings. On the other hand, some of the numerous parameters derived from field measurements were able to recognize drought effects, even in the early stages of drought stress.

Key words: phenotyping, multispektral induced fluorescence, drought stress effects, wheat varieties

Súhrn

Jednou z úloh fenotypovania je charakterizovať reakcie na suchá z množstva prístupov genetických bánk v teréne. Na preskúmanie tohto problému sme testovali súbor 25 odrôd pšenice v zbierke Génovej banky NPPC-VÚRV Piešťany (Slovensko), ktoré boli pestované v poľných podmienkach v dvoch variantoch: zavlažovaný variant a variant bez zavlažovania. Počas jarnej sezóny boli rastliny monitorované týždenne pomocou rýchlych neinvazívnych metód založených na multispektrálnych meraniach. Vzorky listov sa zhromaždili aj v laboratóriu, kde boli vykonané analýzy fotosyntetického pigmentu. Naše výsledky preukázali, že odhady obsahu chlorofylu na základe pomeru excitácie fluorescence boli spoľahlivejšie, ak boli vykonané v laboratórnych podmienkach na odobratých listoch v porovnaní so záznamami v teréne. Na druhej strane niektoré z mnohých parametrov odvodených z poľných meraní dokázali rozpoznať účinky sucha.

Kľúčové slova: fenotypovanie, multispektrálna indukovaná fluorescencia, stresové účinky sucha, odrody pšeníc

ÚVOD

Globálne potreby produkcie rastlinnej výroby v dôsledku nárastu ľudskej populácie určujú predpokladané zdvojnásobenie produkcie významných plodín do roku 2050 oproti dnešnej produkcii, zároveň prebiehajúca zmena klímy zhorší túto výzvu vystavením poľných plodín abiotickým stresovým podmienkam /1, 2/. V tejto súvislosti je potrebné systematicky určiť a charakterizovať reálne rastové a fyziologické prejavy v čase a priestore. To vedie k nevyhnutnému rozvoju metód fenotypovania genetických zdrojov, ktoré sú založené prevažne na nedeštrukčných technikách, od optického snímania rastu až po náročnejšie metódy hodnotenia fyziologických prejavov rastlín v poľných podmienkach /3/. V súčasnosti je schopnosť fenotypovania plodín v poľných podmienkach značne obmedzená dostupnými platformami /4/ a dobehnutie vplyvov globálnej klimatickej zmeny si vyžaduje zariadenia, ktoré zhodnotia veľké množstvá genotypov v reálnom prostredí /5/. V našej práci sme sa zamerali na aplikáciu rýchlych metód fenotypovania pre detekciu poľných stresových účinkov sucha a to s využitím nedeštrukčným meraním obsahu asimilačných pigmentov v porovnaní s deštrukčným stanovením. Cieľom práce bolo vyhodnotiť spoľahlivosť multispektrálnej indukovanej fluorescence v poľných podmienkach na pšenici a otestovať jej potenciálnu využiteľnosť pri detekcii stresu rastlín.

MATERIÁL A METÓDY

Poľné merania a následné analýzy boli realizované na 25 genotypoch v rámci maloparcelových poľných experimentov v kolekcii pšenice (*Triticum* sp.) v rámci Génovej banky Slovenskej republiky. Pre meranie obsahu asimilačných pigmentov sa využili prístroj MULTIPLEX-3 (Force-A, Francúzsko) a deštrukčné stanovenie obsahu chlorofylov bolo realizované meraním absorbancie jednotlivých pigmentov v acetónovom extrakte /6/.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

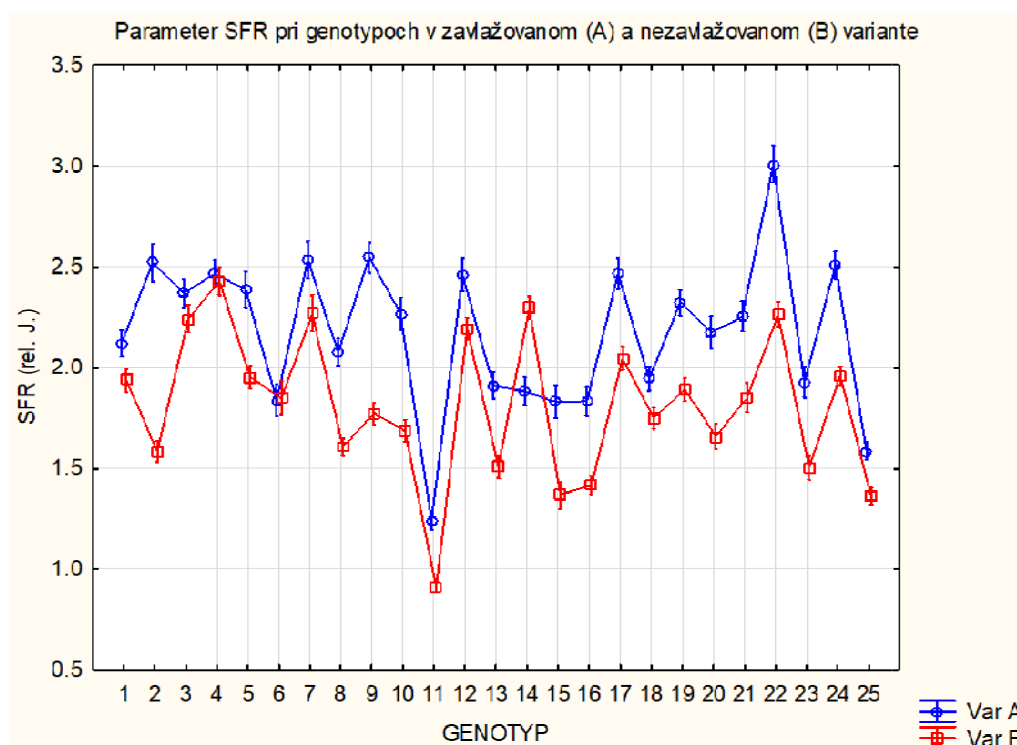
Merania multispektrálne indukovanej fluorescence sú pre svoju jednoduchosť, rýchlosť a bezkontaktnosť považované pre poľné fenotypovanie za mimoriadne vhodné a perspektívne /7, 8/. V rámci poľných experimentov sme realizovali tak bodové merania na odobratých listoch v laboratóriu, ako aj poľné merania tzv. priebehovou metódou, pri ktorej bol prístroj posúvaný nad porastom, pričom boli zaznamenávané hodnoty fluorescence vo frekvencii 20 záznamov za sekundu. Na základe meraní bol vypočítaný index SFR, ktorý bol navrhnutý pre nedeštrukčné hodnotenie obsahu chlorofylov v listoch.

Na obr. 1 je znázornený rozdiel medzi variantami A/B pričom variant A bol zavlažovaný a variant B nezavlažovaný na oboch variantoch bolo rovnakých 25 genotypov pšenice. Sumárne výsledky z viacerých meraní tak ukazujú preukazný rozdiel hodnôt medzi zavlažovaným a nezavlažovaným variantom.

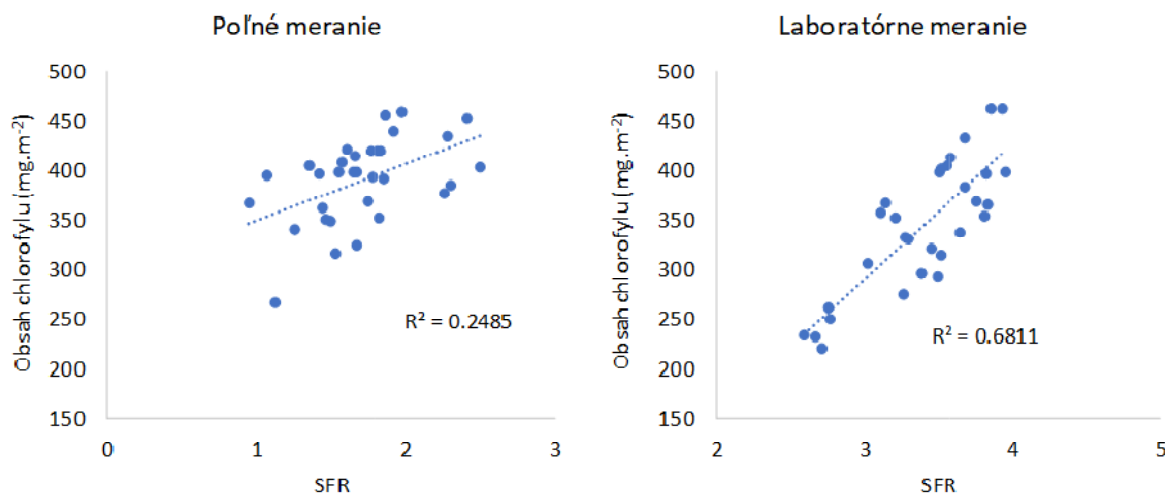
Otázkou je, či namerané hodnoty spoľahlivo odrážajú rozdiely v obsahoch chlorofylov, ktoré sme stanovovali konvenčnými metódami.

Výsledky ukazujú, že korelácia pri poľnom meraní je pomerne nízka, zatiaľ čo pri laboratórnych meraniach je pomerne uspokojivá až dobrá. Ukazuje sa teda, že pri poľných meraniach ovplyvňuje výsledky ďalší faktor.

Výsledky teda naznačujú, že meranie multispektrálnej indukovanej fluorescence kontinuálnou metódou nemôže slúžiť na spoľahlivý odhad obsahu chlorofylov. Na druhej strane, metóda spoľahlivo odlišila zavlažovaný a nezavlažovaný variant, čo poukazuje na jej potenciálnu využiteľnosť pri detekcii účinkov stresu (sucha) rastlín.



Obr. 1: Priemerné hodnoty parametra SFR odvodeného od meraní multispektrálne indukovanej fluorescence chlorofylu prístrojom MULTIPLEX-3. Meranie bolo realizované v kontinuálnom móde pri frekvencii meraní 20 s^{-1} a plynulom pohybe prístroja nad porastom. Priemerná hodnota vypočítaná zo 150-300 záznamov pri každom genotypu.



Obr. 2: Korelácie medzi hodnotami SFR a obsahom chlorofylov. Pri poľnom meraní boli hodnoty merané kontinuálnou metódou na poli, následne boli z každého políčka odobrané listy a stanovený obsah chlorofylu. Pri laboratórnom meraní, hodnoty boli merané na listoch v laboratóriu.

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/ / Rascher, U., Blossfeld, S., Fiorani, F., Jahnke, S., Jansen, M., Kuhn, A. J., Müller-Linow, M.: Non-invasive approaches for phenotyping of enhanced performance traits in bean. *Functional Plant Biology*, 38, 2011: 968-983.
- /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., Calafapietra, 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/ Lichtenthaler, H. K.: Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. *Methods in enzymology*, 148, 1987:, 350 - 382.
- /7/ Thatcher, J. E., Squiers, J. J., Kanick, S. C., King, D. R., Lu, Y., Wang, Y., DiMaio, J. M.: Imaging Techniques for Clinical Burn Assessment with a Focus on Multispectral Imaging. *Advances in Wound Care*, 5, 2016: 360–378.
- /8/ Quemada, M., Gabriel, J. L., Zarco-Tejada, P.: Airborne hyperspectral images and ground-level optical sensors as assessment tools for maize nitrogen fertilization. *Remote Sensing*, 6, 2014: 2940-2962

Pod'akovanie

Práca vznikla za finančnej podpory projektov APVV-15-0721, APVV-15-0562 a VEGA- 1-0923-16, VEGA-1-0831-17.

HYPERSPEKTRÁLNE ZOBRAZOVANIE – NÁSTROJ PRE NEDEŠTRUKČNÉ HODNOTENIE OBSAHU VODY V RASTLINE

HYPERSPECTRAL IMAGING – TOOL FOR NON-DESTRUCTIVE EVALUATION OF WATER CONTENT IN PLANT

Marek Kovár¹, Marián Brestič¹, Marek Živčák¹, Katarína Olšovská¹, Oksana Sytar¹, Lenka Botyanszká¹, Erik Chovanček¹, Viliam Bárek²

¹ Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FAPZ, Katedra fyziológie rastlín, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko, marek.kovar@uniag.sk

² Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FZKI, Katedra krajinného inžinierstva, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko

Summary

Expeditive and non-destructive evaluation of water content in plants is an important part of the study of drought resistance mechanisms in biological research of plants as well as rational irrigation management in precision agriculture. Utilizing the PlantScreenTM phenotyping platform in the AGROBIOTECH Research Center at the Slovak University of Agriculture in Nitra, we have studied water content changes in leaf tissue using the hyperspectral imaging of soybean and tomato plants in the VNIR and SWIR spectral ranges of radiation. Study has shown that non-structural analysis of hyperspectral reflection can be successfully used to monitor water content parameters. The closest correlation relationships have been observed between the Water-1 parameter, which is calculated from the reflection in the SWIR spectral region and the effective water thickness (ETW) in the tissue sheet.

Key words: phenotyping, PlantScreenTM, hyperspectral imaging, water, drought

Súhrn

Rýchle a nedeštrukčné hodnotenie obsahu vody v rastlinách je dôležitou súčasťou štúdia mechanizmov suchovzdornosti rastlín v biologickom výskume, ako aj racionálneho riadenia závlah v precíznom poľnohospodárstve. Využívajúc PlantScreenTM fenotypovaciu platformu vo Výskumnom centre AGROBIOTECH na Slovenskej poľnohospodárskej univerzite v Nitre sme pomocou hyperspektrálneho zobrazovania rastlín sóje a rajčiaku vo VNIR a SWIR spektrálnej oblasti žiarenia študovali zmeny obsahu vody v pletivách listov. Práca ukázala, že nedeštrukčná analýza hyperspektrálnej reflektancie môže byť úspešne použitá na monitorovanie parametrov obsahu vody. Najtesnejšie korelačné vzťahy boli pozorované medzi parametrom Water-1, ktorý je kalkulovaný z reflektancie vo SWIR spektrálnej oblasti a efektívnou hrúbkou vody (ETW) v pletive listu.

Kľúčové slová: phenotyping, PlantScreenTM, hyperspektrálne zobrazovanie, voda, sucho

ÚVOD

Voda je jednou z najdôležitejších zložiek živých organizmov. Medzi abiotickými stresmi je znížená dostupnosť pôdnej vody pre rastliny kľúčovým environmentálnym faktorom, ktorý limituje rast a ich produktivitu /1/. Efektívny manažment obsahu vody v plodinách závisí na presnej aplikácii zavlažovacej dávky. V súčasnom období sa využívajú rôzne metódy detekcie vodného stresu rastlín, založené najmä na poznaní obsahu vody v pôde, ale aj v rastline /2, 3/. Meranie hyperspektrálnej reflektancie z listu (porastu) plodín je významným prístupom v nedeštrukčnom hodnotení obsahu vody v rastline /4/, ktorého rozširovanie v praxi narastá

/5/. Zo zosnímaného signálu odrazeného žiarenia z povrchu rastliny boli už v minulosti zavedené do používania mnohé (vegetačné) indexy, ktorými sa hodnotí obsah vody, resp. stupeň vodného stresu rastliny /5/. Progres v informačných technológiách a v konštrukcii a citlivosti hyperspektrálnych kamier umožňuje plošné zobrazenie signálu z celistvých rastlín v 2-D alebo 3-D priestore. To otvára priestor pre vývoj spoľahlivejších a precíznejších techník hodnotenia obsahu vody v rastline, s vyššou citlivosťou identifikácie stupňa vodného stresu v priestorovej škále rastliny a/alebo porastu /5, 6/. Cieľom našej práce tak bolo kvantifikovať vzťahy medzi vybranými indexami kalkulovanými z VNIR (*visible and near-infrared*) a SWIR (*shortwave infrared*) reflektancie a obsahom vody v rastlinách ovplyvnených rýchlou, ako aj postupnou dehydratáciou. Na základe korelačnej a regresnej analýzy sme následne testovali validitu použitého nedeštrukčného prístupu hodnotenia obsahu vody v rastline.

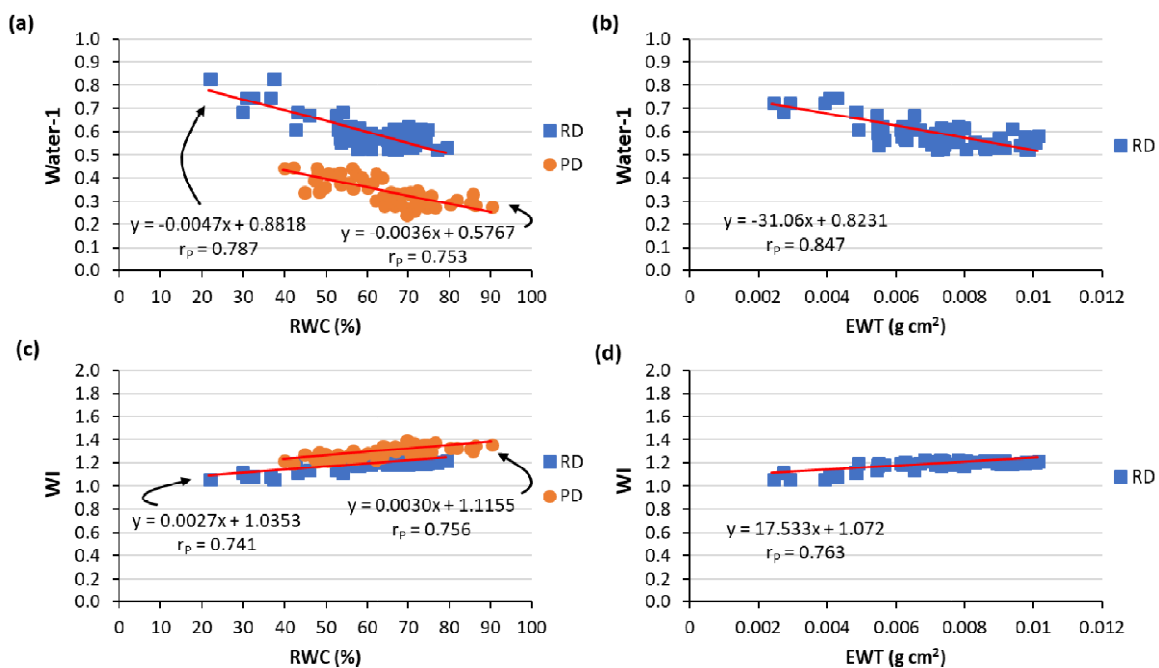
MATERIÁL A METÓDA

Rastliny sóje fazuľovej [*Glycine max* (L.) Merrill, cv. SA-029] a rajčiaku jedlého [*Solanum lycopersicum*, cv. Moneymaker] boli pestované v rašelinovom substráte TS-3 (Klasmann-Deilmann GmbH, Geeste, Germany) v pestovateľskom priestore fenotypovacej platformy PlantScreenTM (PSI, Drašov, Česká republika) v podmienkach osvetlenia 400 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, fotoperióde 14 / 10 h (deň / noc), teplote a vlhkosti prostredia 23 / 17 °C resp. 40 / 45 %. Prvá časť rastlín rástla v podmienkach dobrej vodnej zásobenosti (70 % PVK) a druhá časť bola vystavená postupnej dehydratácii substrátu prerušením zavlažovania (12 dní sója a 8 dní rajčiak). Pre kalibráciu vzťahov medzi parametrami hyperspektrálnej reflektancie a obsahu vody boli použité dva experimentálne prístupy: (i) individuálne listy dekapitovaných a dobre hydratovaných listov sóje boli položené na platňu s čiernym pozadím a vystavené rýchlej dehydratácii a (ii) celistvé rastliny rajčiaku ovplyvnené postupnou dehydratáciou. Individuálne rastliny (resp. listy) boli automaticky fenotypované využijúc dve zobrazovacie hyperspektrálne kamery (PSI, Drašov, Česká republika) v konfigurácii pre vrchný pohľad. VNIR kamera zaznamenávala reflektanciu v spektrálnom rozsahu 340-900 nm, v spektrálnom rozlíšení 0,8 nm a rozlíšení obrazu 640 × 480 pixelov s frekvenciou 60 fps. SWIR kamera zaznamenáva reflektanciu v spektrálnom rozsahu 1100-1700 nm, v spektrálnom rozlíšení 1,2 nm a rozlíšení obrazu 640 × 480 pixelov s frekvenciou 50 fps. Hyperspektrálne kamery boli kalibrované využitím štandardného bieleho referenčného panela pre determináciu reflektancie zo štandardu (Ir). Následne bol zaznamenaný reflektančný signál v tme (Id). Hyperspektrálna reflektancia z rastliny (Is) bola indukovaná žiarením halogénovej žiarovky systému PlantScreenTM. Relatívna reflektancia bola automaticky kalkulovaná ako $R_s = (I_s - I_d) / (I_r - I_d)$. Z relatívnej reflektancie boli softvérom PlantScreenTM Data Analyzer automaticky kalkulované parametre: NDVI $[(R_{800} - R_{670}) / (R_{800} + R_{670})]$, MCARI $[1.2 * (2.5 * (R_{800} - R_{670}) - 1.3 * (R_{800} - R_{550}))]$, Water-1 $[R_{1440} / R_{960}]$ a WI $[R_{1529} / R_{1416}]$. Relatívny obsah vody (RWC; %) v liste bol kvantifikovaný z čerstvej (FW), saturovanej (SW) a suchej (DW) hmotnosti pletiva listu ako: $RWC = [(FW - DW) / (SW - DW)] \times 100$ /3/. Ekvivalentná hrúbka vody (EWT; $\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) bola kalkulovaná ako: $ETW = (FW - DW) / (dw \times LA)$, kde dw je hustota vody ($1,0 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$) a LA je plocha listu (cm^2). Plocha listu (LA) bola meraná skenovacou metódou a analyzovaná programom ImageJ verzia 1.46. Štatistická analýza experimentálnych údajov bola uskutočnená programom Statistica verzia 10.

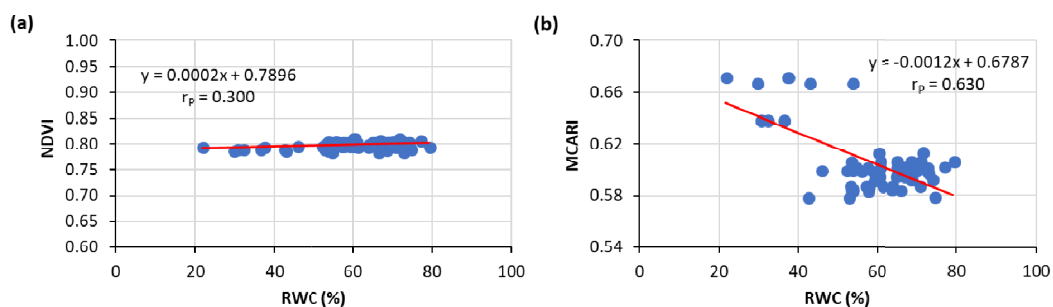
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Voda je hlavným limitujúcim faktorom produktivity a poznanie obsahu a aktivity vody v rastline je dôležitou otázkou v štúdiu odpovedí rastlín na sucho, ako aj v programovaní závlah v precíznom poľnohospodárstve. Pre nedeštrukčnú kvantifikáciu obsahu vody v liste resp. celistvej rastline bolo v minulosti introdukovaných niekoľko desiatok vegetačných indexov, kalkulovaných z meraní využijúc VNIR a SWIR spektroskopie, ako aj kamier

hyperspektrálneho zobrazovania, ale s rôznou úrovňou validity /6,7/. V našich experimentoch sme pre kvantifikáciu vzťahov a ich validity použili dva experimentálne prístupy: (i) rýchlu dehydratáciu dekapitovaného listu z dobre hydratovaných rastlín (RD) a postupnú dehydratáciu rastlín (PD). Môžeme konštatovať, že oba prístupy ukázali podobnú koreláciu medzi hodnotami indexov Water-1 a WI a RWC ($r_p > 0,75$; $p < 0,001$). Sklon lineárne závislosti je v oboch prístupoch pri Water-1 indexe veľmi podobný (Graf 1a). Dosažené absolútne hodnoty Water-1 indexu v celistvých rastlinách vystavených postupnej dehydratácii (interval 0,2-0,5) vyplývajú z nižšej intenzity reflektancie pri $\lambda=1440$ nm (pás absorpcie molekulami vody), čo môže byť vysvetlené vyššou citlivosťou signálu R1440 k vzdialenosti kamery (skenovanie celistvej rastliny) a/alebo v dôsledku optických vlastností mezofylu a povrchu listov rajčiaka. Parameter WI takúto nezrovnalosť medzi prístupmi neukázal (Graf 1c). Tiež sme zistili, že oba indexy majú tesnejší vzťah k efektívnej hrúbke vody v listoch (EWT) ako k RWC (Graf 1b, Graf 1d), čo bolo pozorované a vysvetlené v mnohých predchádzajúcich štúdiách s rôznymi plodinami, vrátane sóje /7, 8, 9/.



Graf. 1: Závislosť parametra Water-1 (a,b) a indexu WI (c,d) na relatívnom obsahu vody (RWC) (a,c) a efektívnej hrúbke vody (EWT) (b,d) merané počas rýchlej dehydratácie listu sóje (RD) a postupnej dehydratácie rastlín rajčiaka (PD). Červená čiara = lineárny regresný vzťah.



Graf. 2: Závislosť parametra NDVI (a) a MCARI (b) na relatívnom obsahu vody (RWC) merané počas rýchlej dehydratácie listu sóje. Červená čiara = lineárny regresný vzťah.

Hoci existuje v literatúre popísaných niekoľko indexov kalkulovaných z VNIR spektra s uspokojivými závislosťami ($r_p > 0,6$) k obsahu vody v rastline /9, 10, 11/, naše zistenia to nepotvrdili. V našej štúdií využívajúc rýchlu dehydratáciu listov sóje najčastejšie používaný index NDVI ukázal nezávislú reakciu na RWC (Graf 2a). Na odhad obsahu vody v rastline sa však oveľa možné použiť index MCARI (Graf 2b), ktorý oveľa tesnejšie odráža zmeny v obsahu chlorofylu v rastline ako NDVI /11/.

Záverom môžeme konštatovať, že použitie hyperspektrálneho SWIR zobrazenia listov a celistvých rastlín citlivo odráža obsah vody, najmä vo vzťahu EWT, a je efektívne pre kvantitatívne hodnotenie obsahu vody, ale aj priestorovej heterogenity jej obsahu počas dehydratácie, ako ukazuje Obr. 1.



Obr. 1: Plošné zobrazenie heterogenity parametra Water-1 na liste sóje ovplyvnenom rýchlou dehydratáciou trvajúcou 120 min. V listoch zľava → doprava klesá priemerná hodnota RWC, tmavomodrá farba – vysoká hodnota RWC.

LITERATÚRA

- /1/ Blum, A.: Drought resistance – is it really a complex trait? *Functional Plant Biology*, 38, 2011: 753–757.
- /2/ Jones, H. G.: Irrigation scheduling advances and pitfalls of plant-based methods. *Journal of Experimental Botany*, 55, 1994: 2427–2436.
- /3/ Kovár, M., Brestič, M., Olšovská, K.: Drought tolerance mechanisms of spring barley. 1. Osmotic adjustment and methods of its determination. *Acta fytotechnica et zootechnica*, 3, 2003: 76–81.
- /4/ Yi, Q.-X., Bao, A.-M., Wang, Q., Zhao, J.: Estimation of leaf water content in cotton by means of hyperspectral indices. *Computer and Electronic in Agriculture*, 90, 2013: 144–151.
- /5/ Peñuelas, J., Inoue, Y.: Reflectance indices indicative of changes in water and pigment contents of peanut and wheat leaves. *Photosynthetica*, 36, 1999: 355–360.
- /6/ Kim, D.M., Zhang, H., Zhou, H., Du, T., Wu, Q., Mockler, T. C., Berezin, M.Y.: Highly sensitive image-derived indices of water-stressed plants using hyperspectral imaging in SWIR and histogram analysis. *Scientific Reports*, 5, 2015: 15919.
- /7/ Pôças, I., Rodrigues, A., Gonçalves, S., Costa, P.M., Gonçalves, I., Pereira, L.S., Cunha, M.: Predicting grapevine water status based on hyperspectral reflectance vegetation indices. *Remote Sensing*, 7, 2015: 16460–16479.
- /8/ Rodríguez-Pérez, J.R., Riaño, D., Carlisle, E., Ustin, S., Smart, D.R.: Evaluation of hyperspectral indexes to detect grapevine water status in vineyards. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58, 2007: 302–317.
- /9/ Yi, Q.-X., Bao, A.-M., Wang, Q., Zhao, J.: Estimation of leaf water content in cotton by means of hyperspectral indices. *Computer and Electronic in Agriculture*, 90, 2013: 144–151.
- /10/ Rallo, G., Minacapilli, M., Ciraolo, G., Provenzano, G.: Detecting crop water status in mature olive groves using vegetation spectral measurements. *Biosystems Engineering*, 128, 2014: 52–68.
- /11/ Peñuelas, J., Inoue, Y.: Reflectance indices indicative of changes in water and pigment contents of peanut and wheat leaves. *Photosynthetica*, 36, 1999: 355–360.

Pod'akovanie

Práca vznikla za finančnej podpory projektov APVV-15-0721, APVV-15-0562, VEGA-1/0923/16, VEGA-1/0831/17, and UE H2020 project No 731013 (EPPN2020).

VPLYV DEFICITU VODY NA VYBRANÉ FYZIOLOGICKÉ PARAMETRE HRACHORA SIATEHO

INFLUENCE OF WATER DEFICIT ON THE SELECTED PHYSIOLOGICAL PARAMETERS ON GRASS PEA

Eleonóra Krivosudská

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov,
Katedra fyziológie rastlín, Tr. A. Hlinku 2, 949 01 Nitra, Slovensko,
eleonora.krivosudska@uniag.sk

Summary

During the experiment were monitored the following grass pea genotypes: Stapnak 12, Ifla, Mattar DM-1, Icarda 97 and their reaction to the water stress. At the beginning of the flowering phase, water stress was simulated by suspending the irrigation and preventing any moisture to occur. The water stress had a negative impact on the physiological parameters. Inoculation of seeds mitigate the negative effects of water stress. Inoculated stressed genotypes maintained higher relative water content at the end dehydration, the highest values of SPAD number and lower stress index (S.I.) compared with variants without adding inoculant.

Key words: grass pea, water stress, inoculant, stress index, SPAD-number

Súhrn

Počas experimentu boli sledované vybrané genetické zdroje hrachora: Stapnak 12, Ifla, Mattar DM-1, Icarda 97 a ich reakcie na vodný stres, ktorý bol simulovaný vo fenofáze kvitnutia zabránením zavlažovaniu a dopadu zrážok. Vodný stres mal negatívne účinky na jednotlivé fyziologické parametre. Inokulácia osiva zmiernila negatívne účinky vodného stresu, pretože pri variantoch s pridaním inokulantu sa v listoch na konci dehydratácie udržal vyšší relatívny obsah vody, vyššie hodnoty SPAD-čísla a hodnota stresového indexu (S.I.) bola nižšia v porovnaní s variantmi bez pridanej inokulantu.

Kľúčové slová: hrachor, vodný stres, inokulant, stresový index, SPAD-číslo

ÚVOD

Hrachor siaty je suchovzdornou a nenáročnou plodinou, rozšírenou vo viacerých typoch ekosystémov, pričom je dôležité poznať faktory vplývajúce na veľkosť úrody semien použiteľných na potravinárske alebo krmné účely, pretože v krajinách, kde sa najčastejšie pestuje, je predpokladateľný intenzívny rast ľudskej populácie a s ňou súvisiacich problémov so zabezpečením dostatočnej výživy obyvateľstva /3/.

Hrachor sa vyznačuje vysokou odolnosťou voči suchu a nepravidelnosti zrážok, kedy priemerný ročný úhrn zrážok môže kolísať medzi 300 až 1500 mm za rok /10/. Nadbytok vody a nedostatok tepla spôsobuje predlžovanie kvitnutia, nerovnomerné dozrievanie, šírenie hubovitých chorôb, s konečným dopadom na výšku a kvalitu produkcie.

Hrachor siaty je odolnou rastlinou, ktorá obľubuje skôr vlhšie pôdy, avšak môže trpieť dlhodobým zamokrením pôdy, kedy môže úroda suchých semien poklesnúť o 15 až 25 %, pričom zvýšená vlhkosť môže mať vplyv aj na rozvoj hubových chorôb /9/. Pre hrachor je kritickým obdobím na vodu obdobie vzhádzania, kvitnutia a nasadzovania strukov, kedy sa nedostatok vlhky prejavuje abortizáciou - čiže odpadávaním kvetov a strukov.

Stres zo sucha sa u hrachora siateho prejavuje intenzívnejším ukladaním osmoticky aktívnych látok a stočením listov, ktoré má za následok zníženie transpirácie vody cez listy. V porovnaní s hrachom siatym je ukládanie osmoticky aktívnych látok intenzívnejšie a u hrachu siateho k stočeniu listov vplyvom stresu zo sucha nedochádza vôbec /5/. Vzhľadom k uvedenému bolo cieľom experimentu zamerať sa na reakcie rastlín hrachora v podmienkach sucha s pridaním očkovacej látky, pretože jej použitím sa vytvorí dostatok životaschopných podmienok pre baktérie Rhizobium, ktoré podporujú tvorbu hrčiek.

MATERIÁL A METÓDA

Založenie pokusu sa uskutočnilo do nádob s objemom 15 l, pričom do rovnakého substrátu bolo vysiate osivo štyroch genotypov hrachora siateho (Génová banka SR v Piešťanoch) rôzneho pôvodu (Stapnak 12 - Rusko, Ifla-Ukrajina, Mattar DM-1 – Pakistan a Icarda 97 – Sýria). Z každého genotypu bola polovica semien pred výsevom inokulovaná očkovacou látkou Nitrazon pre hrach a hrachor (Agrokomp s.r.o. v Modre). Po vzídení boli rastliny pestované v prirodzených podmienkach pre rast až do obdobia kvitnutia. Vo fenofáze kvitnutia sme realizovali simulovaný stres u vybranej vzorky rastlín s tým, že bol sledovaný zároveň aj rozdiel medzi inokulovanými a neinokulovanými rastlinami v podmienkach stresu a porovnávaný s kontrolnými variantmi, zalievanými počas trvania celého obdobia dehydratácie.

Charakteristika inokulantu:

Inokulant Nitrazon sa vyrába v ČR a pripravuje sa z vybraných kmeňov hrčkotvorných baktérií, ktoré sú špeciálne vyselektované pre jednotlivé druhy motýľokvetých plodín. Ovplyvňuje priamo obsah bielkovín u pestovaných plodín, zvyšuje aj výnosy a prispieva k lepšej mikrobiálnej činnosti pôdy.

V rámci fyziologických meraní sme sledovali:

Relatívny obsah vody v listoch (RWC, %) sme stanovili gravimetricky /2/. V pravidelných časových intervaloch sme sledovali hodnoty SPAD-čísla, ktoré vyjadruje obsah dusíka v listoch pomocou chlorofylmetra SPAD-502 (Minolta, Japan). Metóda je založená na priamom meraní chlorofylu a + b v listoch.

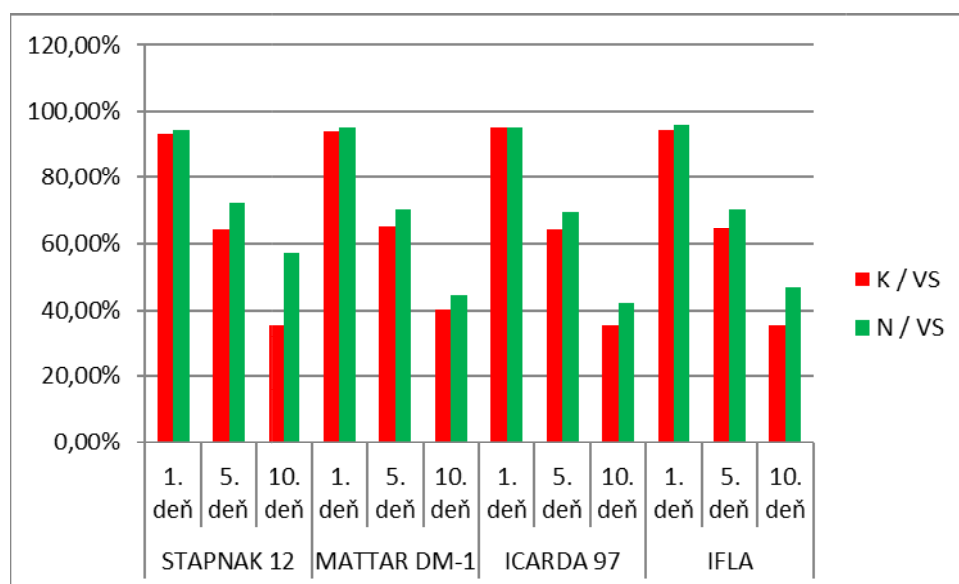
Ďalším hodnoteným parametrom bol stresový index (S.I.), ktorý nám umožňuje porovnávať zmeny nameraných parametrov medzi kontrolou a stresom pre súbor odrôd ako relatívne hodnotenie zmeny – nárast alebo pokles parametra oproti kontrole (upravené podľa /4/).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V rámci experimentu boli zrealizované 3 kontrolné odbery rastlín a taktiež odbery vzoriek z dehydratovaných rastlín. V rovnakom časovom období boli odoberané vzorky z inokulovaných a taktiež neinokulovaných genotypov v podmienkach stresu i bez stresu. Obdobie dehydratácie trvalo 10 dní, vzhľadom k sledovaným zmenám v rámci meraných parametrov. Porovnávaním genotypov sme zistili, že vyššie hodnoty RWC si v podmienkach stresu na konci dehydratácie zachoval genotyp Stapnak 12 s pridaním očkovacej látky Nitrazon (57,14 %) v porovnaní s variantmi bez inokulantu (35,05%). Zvyšné inokulované genotypy si udržali o niečo nižšie hodnoty obsahu vody v listoch (graf 1). Uvedené výsledky sú zhodné s prácami, napr. /1, 6, 7/.

Pre znaky, ktoré sa vyvíjajú v priebehu stresu je možné vypočítať priemernú hodnotu stresového indexu za sledované obdobie. Táto relatívna veličina nám poskytuje možnosť porovnať citlivosť jednotlivých genotypov v rôznych znakoch. Vzhľadom k hodnoteným parametrom (RWC) sa zo všetkých hodnotených genotypov ako menej citlivý na sucho prejavil genotyp Stapnak 12, v podmienkach s inokuláciou bola hodnota S.I. výrazne nižšia (0,66) ako bez inokulantu (1,04).

Strukoviny sú schopné prijímať atmosferický dusík pomocou fixácie cez hrčky na ich koreňoch pomocou symbiotického vzťahu s baktériami rodu Rhizobium. Pomocou inokulácie sa do pôdy a následne do rhizosféry rastlín efektívne a pomerne ľahko zavádzajú tieto baktérie. Inokulácia prispieva k lepšej tolerancii rastlín voči suchu. Aplikované rizóbiá majú väčšiu schopnosť udržať sa v pôde v živom stave aj dlhší čas v podmienkach vodného deficitu /8/.



Graf 1: Relativný obsah vody v listoch hrachora inokulovaných a neinokulovaných genotypov v podmienkach stresu

K- genotyp bez inokulácie počas vodného stresu (VS), N- genotyp s Nitrazonom počas vodného stresu (VS)

Porovnávaním inokulovaných genotypov s neinokulovanými v podmienkach stresu bol pri hodnotení SPAD - čísla tiež zistený pozitívny vplyv na sledovaný parameter (tab.1)

Rozpoznanie stresového signálu je tlmené pri indukcii tolerance rastlín na abiotické napätie. Žiaľ, rastliny, ktoré sú dlhší čas vystavené stresu, nepriaznivým dokonca extrémnym poveternostným podmienkam, vždy dosiahnu nižšie výťažky, ako dôsledok adaptácie fyziologického mechanizmu. Všetky živé organizmy reagujú na zmeny v životnom prostredí, ale reakcia je zvyčajne slabá, alebo často neúspešná. Avšak v rámci prirodzenej populácie je reakcia na stresový faktor často úspešná, pretože to umožňuje veľkú genotypovú rôznorodosť jedinca /11/.

Tab. 1: Vplyv inokulácie na hodnoty SPAD – čísla v podmienkach stresu

genotypy hrachora	1. deň stresu		5. deň stresu		10. deň stresu	
	N	B	N	B	N	B
Stapnak 12	48,4	47,3	46,4	45,0	25,6	23,6
Mattar DM-1	44,5	42,1	43,4	39,3	22,0	19,9
Ifla	51,4	47,6	41,5	34,5	24,4	23,6
Icarda 97	47,3	44,0	34,8	32,4	27,2	12,0

N – s Nitrazonom, B – bez Nitrazonu

LITERATÚRA

- /1/ Barbosa, M., Lobato, S.: Bradyrhizobium improves nitrogen assimilation, osmotic adjustment and growth in contrasting soybean cultivars under drought. Journal of Crops [online], vol. 13, 2013: 486 - 529 [cit. 2017-03-18]. Dostupné na internete: DOI: org/10.5783/42928
- /2/ Barrs, H. D., Weatherley, P. E.: A re-examination of the relative turgidity technique for estimating waterdeficits in leaves. In Australian Journal of Biological Sciences, 15, 1962: 413-428.
- /3/ Dixit G. P. et al.: Achievements and prospects of grass pea (Lathyrus sativus L.) improvement for sustainable food production. In The Crop Journal [online], 4, 2016: 407-416 [cit. 2017-04-21]. ISSN 2214-5141. Dostupné na: <http://doi.org/10.1016/j.cj.2016.06.008>

- /4/ Fischer, R. A., Maurer, R.: Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses. In Australian Journal of Agricultural Research, 29, 1978: 897-907.
- /5/ Jiang: Correlation of drought resistance in grass pea (*Lathyrus sativus*) with reactive oxygen species scavenging and osmotic adjustment. In Biologia [online], 68, 2013: 231-240 [cit. 2017-04-22]. ISSN 0006-3088
- /6/ Kirová, E., Neveda, D., Nikolová, A.: Changes in the biomass production and total soluble protein spectra of nitrate - fed and nitrogen – fixing soybeans. Plant Soil Environment [online], 51, 2015: 237–242 [cit. 2017-03-06]. Dostupné na internete: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S22145>
- /7/ Klynger, A. et al.: Tolerance to Drought in Legumines Plant Mediated by Rhizobium nad Bradyrhizobium. INTECH Open Access Publisher [online], 5, 2013: 582-543 [cit. 2017-02-12]. Dostupné na internete: DOI: [org./10.5772/54094](http://dx.doi.org/10.5772/54094)
- /8/ Mhadhbi, H. et al.: A highly osmotolerant rhizobial strain confers a better tolerance of nitrogen fixation and enhances protective activities to nodules of *Phaseolus vulgaris* under drought stress. African Journal Biotechnology [online], 10, 2013: 4555–4563 [cit. 2017-03-18]. Dostupné na internete: DOI: [10.1016/j.jpro.2013.12](http://dx.doi.org/10.1016/j.jpro.2013.12).
- /9/ Patto, V. M. C., Rubiales, D.: Lathyrus diversity: available resources with relevance to crop improvement – *L. sativus* and *L. cicera* as case studies. In Annals of Botany [online], 113, 2014: 895-908 [cit. 2017-04-22]. ISSN 0305-7364 Dostupné na: <https://doi.org/10.1093/aob/mcu024>
- /10/ Urga et al.: Evaluation of lathyrus sativus cultivated in ethiopia for proximate composition, minerals, anti-nutritional components. In AFJAND [online], 5, 2005 [cit. 2017-04-21]. ISSN 1684-5376. Dostupné na: <http://www.ajfand.net/Volume5/No1/Urga1030.pdf>
- /11/ Vukadinović, V. et al.: Ekofiziologija bilja. Osijek : Gradska tiskara. 2014: 225 s. ISBN 978-953-7871-31-4.

Pod'akovanie

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory grantovej agentúry VEGA-1-0923-16, VEGA-1-0831-17 a APVV-15-0721. Pod'akovanie tiež patrí spoločnosti Agrokomp s.r.o. v Modre, ktorá nám poskytla inokulant Nitrazon.

TOLERANCIA VOČI SUCHU PRI VYBRANÝCH ODRODÁCH PŠENICE LETNEJ F. OZIMNEJ

DROUGHT TOLERANCE IN SELECTED WINTER WHEAT CULTIVARS

Alžbeta Žofajová¹, Pavol Hauptvogel¹, Miroslav Švec²

¹NPPC - Výskumný ústav rastlinnej výroby Piešťany, Bratislavská 122, 921 68 Piešťany

²Univerzita Komenského v Bratislave, Šafárikovo nám. 6, P.O.BOX 440, 814 99 Bratislava 1

Summary

In vegetation 2016/17, a set of 24 winter wheat cultivars from Serbia was evaluated in a field experiment (also two standard cultivars were included). The aim of the research was to evaluate the possibility of cultivar utilisation for innovation of local genotypes in terms of drought tolerance. There were significant differences among the cultivars in 12 evaluated traits. Grain yield was the most determined by grain weight, grain number per spike, plant height, and uppermost internode length. By cluster analysis, 7 varieties have been detected that are potentially useful in improving drought tolerance. The results need to be verified in repeated experiments and analysed possible interactions.

Key words: grain yield, grain yield formation traits, wheat, stress

Súhrn

Vo vegetácii 2016/17, v poľnom pokuse bol hodnotený súbor 24 odrôd pšenice letnej f. ozimnej, ktoré pochádzajú zo Srbska. Do pokusu boli zaradené 2 kontrolné odrody. Cieľom výskumu bolo zhodnotiť možnosť využitia odrôd pre inováciu domácich genotypov z hľadiska tolerancie voči suchu. V 12 hodnotených znakoch boli medzi odrodami významné rozdiely. Úrodu zrna najviac determinovali hmotnosť zrna, počet zrn/klas, výška rastlín a dĺžka internódia pod klasom. Pomocou zhlukovej analýzy bolo detegovaných 7 odrôd, ktoré sú potenciálne využiteľné pri zlepšení tolerancie voči suchu. Výsledky je potrebné overiť v opakovaných pokusoch a analyzovať prípadné interakcie.

Kľúčové slová: úroda zrna, úrodotvorné znaky, pšenica, stres

ÚVOD

Voda sa stáva limitujúcim faktorom pre udržateľnú produkciu pšenice a iných plodín. Preto šľachtenie na zvýšenie tolerancie voči suchu má opodstatnenie pre dosiahnutie vyššej produktivity a potravinovej bezpečnosti. V prostrediach, kde je významná variabilita zrážok medzi rokmi, ako sú naše agroklimatické podmienky, nie je však žiaduce šľachtiť genotypy s vysokou toleranciou voči suchu, pretože takéto genotypy často nereagujú na priaznivé vlhové podmienky.

Z hľadiska genetického zlepšenia, štúdium znakov, ktoré sú vo väzbe na toleranciu voči suchu je považované za prioritné. Súbor presných, stabilných, jednoduchých a systematických metód pre identifikáciu a selekciu pšenice na toleranciu voči suchu je stále v procese vývoja. Pri selekcii na suchu sú využívané znaky – počet kláskov v klase, počet zrn na klas, počet produktívnych odnoží a hmotnosť 1000 zrn. Ak šľachtenie je zamerané na terminálne suchu, významnými znakmi sú redukovaný počet dní do klasenia a do zrelosti, nakoľko umožňujú vyhnúť sa suchu /3/. Okrem úrodotvorných znakov v selekcii genotypov tolerantných voči suchu sú využívané tiež mnohé biochemické analýzy (prolín, manitol ai.)

/5/. Potrebu získania podrobných informácií o povahe a stupni diverzity v kolekcii pšenice pri výbere rodičovských komponentov pre tvorbu nádejných odrôd hodnotili Aharizad /1/.

Cieľom výskumu bolo zhodnotiť možnosť využitia genetickej diverzity odrôd pšenice letnej f. ozimnej zo Srbska pre inováciu domácich genotypov pšenice tolerantných voči suchu pri zachovaní produkčných a kvalitatívnych parametrov. Odrody pšenice letnej f. ozimnej pochádzajúce z bývalej Juhoslávie zohrali u nás v minulom storočí významnú úlohu v pestovaní a v šľachtení.

MATERIÁL A METÓDA

Súbor odrôd pšenice letnej f. ozimnej, ktorý bol vo vegetácii 2016/17 hodnotený v záhrade VÚRV Piešťany tvorilo 24 odrôd, ktoré boli v rokoch 1988 (Jedina) až 2007 (Isidora) registrované v Srbsku a 2 kontrolné odrody (Dagmar - K1 z ČR, kontrola pre kvalitu, PS Jeldka - K2 zo SR kontrola pre produktivitu). Osivo odrôd bolo získané zo Srbska v rámci bilaterálnej spolupráce. Pokus bol založený v dvoch opakovaníach metódou znáhodnených blokov (plocha parcely cca 1 m²). V priebehu vegetácie sme pozorovali obligátne znaky vrátane zdravotného stavu. V klasení sme pomocou prístroja SPAD Minolta 502 nepriamo merali obsah chlorofylu vľajkového listu. V zrelosti sme z každého opakovania odobrali vzorku 30 klasov pre stanovenie základných úrodovných znakov – dĺžka klasu, dĺžka internódia pod klasom, počet a hmotnosť zrna na klas, hmotnosť 1 000 zrn. Obsah bielkovín sme stanovili na analyzátore DA 7200 NIR.

Primárne údaje sme spracovali analýzou rozptylu a korelačnou analýzou pomocou programu Statgraphics X64. Pre klasifikáciu odrôd sme použili zhukovú analýzu a Wardovu metódu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vo vegetácii 2016/17 bol v porovnaní s dlhodobým normálom nedostatok zrážok takmer vo všetkých mesiacoch, okrem októbra 2016 (Tab. 1). Najväčší deficit sme zaznamenali v mesiacoch máj a jún 2017, kedy padlo o 42,8 a 52,6 mm, jednotlivo, zrážok menej. Za celú vegetáciu padlo iba 47,4 % zrážok v porovnaní s dlhodobým normálom, t.j. o 246 mm menej. Priemerná teplota vzduchu bola za celú vegetáciu vyššia o 0,78 °C, pričom najvyššie diferencie boli v mesiacoch január o 4,1°C nižšia, marec o 3,7 °C vyššia, podobne aj v mesiaci jún o 3,9 °C vyššia. Nedostatok zrážok a vysoké teploty predstavovali dobré selekčné prostredie pre overenie reakcie odrôd na suchu a teplo.

Vo všetkých hodnotených znakoch boli medzi odrodami štatisticky významné rozdiely (výsledky analýzy rozptylu neuvádzame). Priemerné hodnoty a variabilita znakov sú uvedené v Tabuľke 2.

Variačné rozpätie v znaku vzhádzanie až klasenie bolo 197 až 208 dní. Najskôr klasila Luna, k neskorým odrodám patrila PS Jeldka a Sasanka, ktoré boli o 8 a 7 dní neskoršie v porovnaní s kontrolou Dagmar, ktorá klasila 201 dní od vzhádzania, čo bolo približne na úrovni priemeru súboru (\bar{x} =200,6 dní). K raným odrodám patrili tiež Simfonia, Simonida, a Etida. Súbor poskytuje dobré výberové možnosti pre selekciu odrôd s potenciálom vyhnutia sa suchu. Priemerná výška porastu bola 93,8 cm, s veľkým variačným rozpätím od 78,4 cm (Luna), po 105,9 cm (Kantata). Mohamamdi /4/ v podmienkach sucha potvrdili, že okrem iných znakov tiež dĺžka klasu, SPAD index, výška rastlín, dĺžka internódia pod klasom a termín klasenia najviac prispeli k úrode zrna tvrdej pšenice.

Počet klasov na m² sa pohyboval od 540 (Maja) po 836 (Isidora). Odroda Isidora mala zo srbských odrôd najvyššiu úrodu zrna, tvorenú najmä počtom produktívnych klasov, naopak PS Jeldka vysokú úrodu zrna dosiahla vysokou hmotnosťou zrna. Hodnoty SPAD indexu, znaku ktorý mal nízky variačný koeficient, mali variačné rozpätie od 39,1 (Milena) po 53,4 (Kantata). Dĺžka internódia pod klasom je dôležitým selekčným znakom /2/. Variačné

rozpätie bolo od 26,6 cm (Luna) po 37,2 cm (Simonida), pričom 15 odrôd malo nadpriemernú dĺžku. Odrody Sirena a Kantata boli podobné odrode Simonida, ktorá dosiahla maximálnu hodnotu. PS Jeldka mala nadpriemernú dĺžku (34,6 cm) a naopak Dagmar podpriemernú (30,6 cm). Priemerná dĺžka klasu odrôd bola 8,9 cm, pričom domáce kontrolné odrody mali podpriemerné hodnoty. Minimálnu hodnotu ($x=7$ cm) mala odroda Maja a maximálnu ($x=10,7$ cm) odroda Selekt. Priemerný počet zŕn na klas bol 42,5 s variačným rozpätím od 28,5 (Selekt) po 54,7 (Sloga). Znak hmotnosť zrna na klas bol najvariabilnejší zo súboru hodnotených ($v=24,05$ %) a kolísal od 0,84 g (Selekt) po 2,32 g (Kantata).

Kontrola PS Jeldka mala o 27,5 % vyššiu hmotnosť v porovnaní s priemerom súboru. Priemerná HTS súboru bola 40,4 g s variačným rozpätím od 31,8 g (Luna) po 49,8 g (Zlatica). Druhú najvyššiu HTS mala PS Jeldka (48 g), podobne aj druhá kontrola Dagmar patrila k štyrom odrodám s najvyššou HTS. Vysoké variačné rozpätie bolo aj v hodnotách zberového indexu, od 0,253 (Dagmar) po 0,633 (Zlatica), pričom kontrola PS Jeldka patrila k nadpriemerným ($x=0,480$). Úroda zrna sa pohybovala od 5,86 t/ha (Maja) po 11,3 t/ha (PS Jeldka), priemer súboru 8,18 t/ha. Viac ako 9 t/ha dosiahli odrody Simonida, Zvezdana, Dejana, Etida a Isidora. Dagmar, kontrola pre kvalitu, podľa očakávania mala úrodu zrna nižšiu ako priemer súboru o 3,42 %. Obsah bielkovín sa pohyboval od 11,9 % (Sloga) po 16,7 % (Barbara). Kontrolné hodnoty mali podpriemerné hodnoty.

Úrodu zrna najviac determinovala hmotnosť zrna (R^2 pre HTS=0,514 a pre hmotnosť zrna/klas $R^2=0,509$). V poradí druhým znakom s najvyšším vplyvom bol počet zŕn/klas ($R^2=0,362$). Približne rovnaké determinačné koeficienty sme zistili pri výške rastlín a dĺžke internódia pod klasom ($R^2=0,278$ a 0,296, jednotlivo).

Zhluková analýza je využívaná v programe šľachtenia pšenice najmä pre výber rodičov /1/. Pomocou tejto štatistickej metódy sme identifikovali odrody, ktoré môžu byť klasifikované do hlavných zhlukov na základe indexov podobnosti alebo rôznosti. Odrody, vychádzajúc z hodnotenia 12 znakov boli zaradené do štyroch zhlukov (Graf 1), pričom zhluky boli z hľadiska početnosti rôznorodé, obsahovali od 4 do 10 odrôd. Do zhľuku 1 boli zaradené najmä odrody s vysokým obsahom bielkovín, prípadne s dlhšou vegetačnou dobou. Odrody zaradené do zhľuku 2 mali nízky obsah bielkovín. Z hľadiska sledovaných selekčných znakov zaujímavou je odroda Soga s najvyšším počtom zŕn na klas. V zhľuku 3 nachádzame podobnosť odrôd s nízkymi hodnotami úrodovných znakov a SPAD indexu. V zhľuku 4 na základe indexov podobnosti prípadne rôznosti boli odrody (Isidora, Dejana, Zvezdana, Kantata, Etida, Simonida, Sirena, Zlatica), ktoré je možné najmä z hľadiska úrody zrna a znakov, ktoré ju podmieňujú využiť pre inováciu domácich genotypov pšenice tolerantných voči suchu. Výsledky je potrebné overiť v priestore a čase, aby bolo možné zhodnotiť aj vplyv prípadných interakcií.

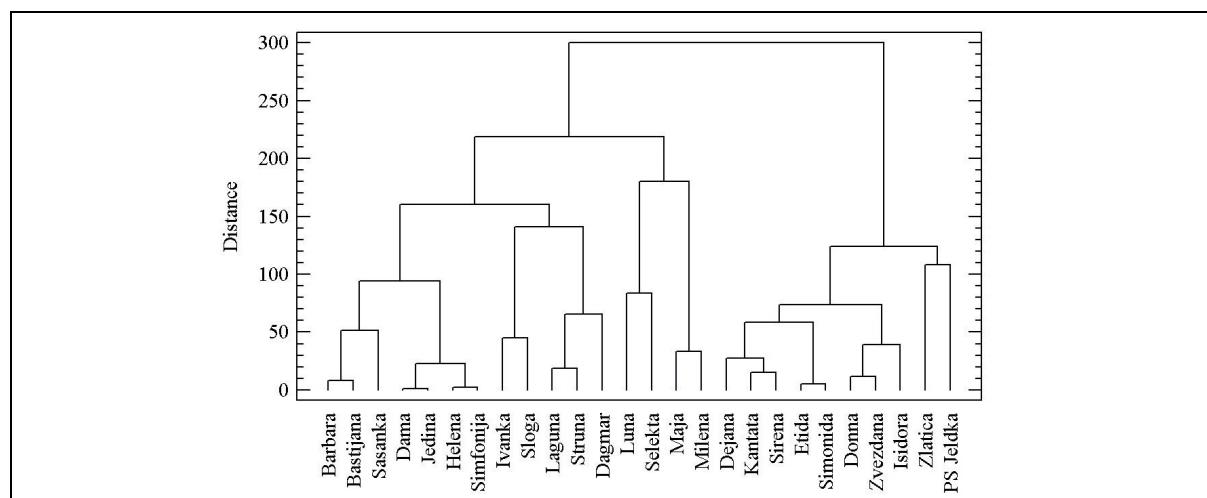
Tab. 1: Zrážky a teplota vo vegetácii 2016/17, Piešťany

Zrážky, teplota	Mesiac										
	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	Suma x
Zrážky: - normál (mm)	40	52	46	32	33	28	40	66	72	59	468
- 2016/17	52,0	42,4	10,8	11,0	11,2	8,4	24,6	23,2	19,4	19,1	222,1
Teplota: - normál (°C)	9,7	4,2	-0,1	-2,0	0,4	4,5	9,6	14,5	17,4	18,9	7,9
- 2016/17	9,4	4,9	-0,4	-6,1	2,2	8,2	9,7	16,1	21,3	21,5	8,7

Tab. 2: Priemerné hodnoty vybraných znakov odrôd pšenice letnej f. ozimnej a ich variabilita (poľný pokus vo vegetácii 2016/17, Piešťany)

Znak	x	v	min	max	K1 Dagmar	K2 PS Jeldka
Vzchádzanie – klasenie (dni)	200,6	1,19	197,0	208,0	201,0	208,0
Výška porastu (cm)	93,8	7,34	78,4	105,9	94,5	97,6
Počet klasov/m ²	652	10,64	540	836	576	636
SPAD	48,2	6,83	39,1	53,4	47,6	50,7
Dĺžka internódia (cm)	32,7	8,46	26,6	37,2	30,6	34,6
Dĺžka klasu (cm)	8,9	9,48	7,0	10,7	8,8	8,07
Počet zrn/klas	42,5	15,51	28,5	54,7	39,8	46,4
Hmotnosť zrn/klas (g)	1,71	24,05	0,84	2,32	1,83	2,18
Hmotnosť 1000 zrn (g)	40,4	12,73	31,8	49,8	46,8	48,0
Zberový index	0,421	15,52	0,253	0,633	0,25	0,48
Úroda zrna (t/ha)	8,18	15,92	5,86	11,29	7,90	11,29
Obsah bielkovín (%)	13,8	9,09	11,9	16,7	12,2	13,1

Graf 1: Zhuková analýza (Wardova metóda) 26 odrôd pšenice letnej f. ozimná hodnotených v 12 znakov (zľava doprava zhuk 1, 2, 3, 4 jednotlivo)



LITERATÚRA

- /1/ Aharizad, S., Sabzi, M., Mohammadi, S. A., Khodadadi, E: Multivariate analysis of genetic diversity in wheat (*Triticum aestivum* L.) recombinant inbred lines using agronomic traits. *Annals of Biological Research*, 3, 2012: 2118–2126
- /2/ Chen, X., Min, D., Yasir, T. A., Hu, Y-G.: Evaluation of 14 morphological, yield-related and physiological traits as indicators of drought tolerance in Chinese winter bread wheat revealed by analysis of the membership function value of drought tolerance (MFVD). *Field Crops Research*, 137, 2012: 195–201
- /3/ Lopes, M., Reynolds, M., Jalal-Kamali, M., Moussa, M., Feltaous, Y., Tahir, I., et al.: The yield correlations of selectable physiological traits in a population of advanced spring wheat lines grown in warm and drought environments. *Field Crops Res.* 128, 2012: 129–136. doi: 10.1016/j.fcr.2011.12.017
- /4/ Mohamamdi, R., Etmnam, A., Shooshtari, L.: Statistical methods for identifying traits associated with high yield potential in durum wheat under drought conditions. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding.*, 77, 2017: 513-523

/5/ Mwadzingeni, L., Shimelis, H., Tesfay, S., Tsilo T. J.: Screening of Bread Wheat Genotypes for Drought Tolerance Using Phenotypic and Proline Analyses. *Front. Plant Sci.* 7, 2016: 1276, doi: 10.3389/fpls.2016.01276

Pod'akovanie

Výskum bol podporený projektmi APVV-15-0156 a APVV-15-0721.

Příspěvky do sborníku

VYUŽITIE POĽNOHOSPODÁRSKÝCH PLODÍN AKO MODELOVÝCH OBJEKTOV NA HODNOTENIE PHYTOXICITY VYVOLANEJ Cr A Ni

CROPS UTILIZATION AS MODELS FOR PHYTOXICITY DETERMINATION AFTER Cr AND Ni APPLICATION

Agáta Fargašová

Katedra environmentálnej ekológie, Prírodovedecká fakulta UK v Bratislave, Ilkovičova 6, SK-842 15 Bratislava, Slovensko, agata.fargasova@uniba.sk

Summary

During the study phytotoxicity and genotoxicity of Cr(III), Cr(VI) a Ni(II) metals was determined by using 4 crops *Sinapis alba*, *Vicia sativa*, *Raphanus sativus* and *Zea mays*. Phytotoxicity was determined as IC50 values for roots and shoots growth inhibition and from these results the following rank order could be arranged: Ni(II) > Cr(VI) > Cr(III). The exception from this rank order was observed only for *S. alba* root growth, when the inhibitory rank order was Cr(VI) \geq Ni(II) \gg Cr(III). Crops sensitivity to individual metals tested was arranged as: Ni(II): *S. alba* \geq *R. sativus* \geq *V. sativa* > *Z. mays*; Cr(VI): *S. alba* > *R. sativus* > *V. sativa* > *Z. mays*; Cr(III): *R. sativus* > *V. sativa* = *S. alba* > *Z. mays*. Metals were accumulated more in the roots than in the shoots and Ni translocation to the shoots was nearly 2-times higher than that of Cr. All metals increase frequency of chromosomal aberrations in anatelophase cells of *V. sativa*, *R. sativus* and *Z. mays* roots.

Key words: crops, chromium, nickel, growth inhibition, bioaccumulation, genotoxicity

Súhrn

V práci sa sledoval fyto- a genotoxický účinok Cr(III), Cr(VI) a Ni(II) na 4 poľnohospodárske plodiny *Sinapis alba*, *Vicia sativa*, *Raphanus sativus* a *Zea mays*. Fytotoxicita sa stanovovala ako IC50 hodnoty pre inhibíciu rastu koreňa a výhonku a na základe tejto hodnoty sa dá zostaviť nasledovný inhibičný rad: Ni(II) > Cr(VI) > Cr(III). Odlišnosť od tohto radu sa pozorovala len pri inhibíciu rastu koreňa *S. alba*, kde bol inhibičný rad Cr(VI) \geq Ni(II) \gg Cr(III). Citlivosť plodín na jednotlivé kovy bola nasledovná: Ni(II): *S. alba* \geq *R. sativus* \geq *V. sativa* > *Z. mays*; Cr(VI): *S. alba* > *R. sativus* > *V. sativa* > *Z. mays*; Cr(III): *R. sativus* > *V. sativa* = *S. alba* > *Z. mays*. Testované kovy sa akumulovali viac v koreňoch ako vo výhonkoch a Ni sa translokoval do výhonkov v takmer dvakrát väčšom množstve ako Cr. Všetky kovy zvyšovali frekvenciu chromozómových aberácií v anatelofázových bunkách koreňov *V. sativa*, *R. sativus* a *Z. mays*.

Kľúčové slová: poľnohospodárske plodiny, chróm, nikel, inhibícia rastu, bioakumulácia, genotoxicita

ÚVOD

Cievnaté rastliny sú veľmi vhodným objektom ako na sledovanie tak aj na predikciu stresu vyvolaného v prostredí prítomnosťou kovov. Vďaka ich schopnosti akumulovať akékoľvek toxické látky sú dobrými indikátormi ich prítomnosti v životnom prostredí aj v prípade nízkych koncentrácií kontaminantov /1/. Pokiaľ ide o hodnotenie účinkov kovov, tak je dôležité rozlíšiť, či sa jedná o kovy toxické alebo esenciálne.

Hodnotenie fytoxicity je dôležitou súčasťou ako environmentálneho monitoringu tak aj hodnotenia rizík na lokalitách kontaminovaných ťažkými kovmi. Hoci porovnávacie testy na kontrolu účinkov kontaminantov boli vyvinuté už dávnejšie /2/ údaje hodnotiace fytoxicitu kovov prostredníctvom štandardných metód nie sú v literatúre veľmi časté. Testy fytoxicity aj napriek tomu, že fyziologické odpovede rastlín sa v prítomnosti kontaminantov netýkajú len inhibície rastu a produkcie biomasy, využívajú väčšinou ako endpointy len inhibíciu rastu koreňa a výhonku, produkcie biomasy a klíčivosti semien. Na zhodnotenie takých parametrov akými sú fotosyntetická aktivita, produkcia/fluorescencia fotosyntetických pigmentov a aktivita vybraných enzýmov v rastlinných tkanivách nie sú vypracované štandardizované postupy /3/. Absentuje aj vzťah medzi toxicitou kovov a ich koncentráciou v rastlinných tkanivách.

Vďaka širokému priemyselnému použitiu sa Cr a Ni považujú za významné environmentálne polutanty ako pôdy tak aj vody. Vplyv Cr na fyziológiu rastlín závisí od jeho mocenstva, ktoré ovplyvňuje jeho mobilitu v prostredí, príjem, transfer a toxicitu v rastlinnom systéme /4/. Jeho toxicita sa prejavuje na mnohých úrovniach – redukcia výnosov, rastu, enzymatickej aktivity až po mutagenézu /5/. Na rozdiel od Cr sa Ni považuje pre rastliny za esenciálny prvok, ktorý je potrebný pre enzymatický rozklad močoviny ureázou, uvoľnenie dusíka vo forme využiteľnej pre rastliny a absorpciu železa. Je potrebný aj pre klíčenie semien. Ako toxický sa prejavuje od koncentrácie 100 mg.l^{-1} a vyššie.

MATERIÁL A METÓDA

V experimentoch fytoxicity sa používali 4 druhy poľnohospodárskych plodín: *Sinapis alba* L., *Vicia sativa* L. var. Klára, *Raphanus sativus* L. var. Niger Kerner a *Zea mays* L. Testy, pri ktorých sa hodnotila inhibícia rastu koreňa a výhonku, trvali 72 h a sú presne popísané v práci /6/. Po 10 dňoch rastu sa v plodinách sledovala akumulácia kovov v koreňoch a nadzemných častiach rastlín pomocou AAS /6/. Príjem Cr a Ni v rôznych častiach rastlín z kultivačného média sa prepočítaval cez bioakumulačný faktor BAF /7/ a translokácia kovov z koreňov do nadzemných častí sa vyjadrovala prostredníctvom translokačného faktora TF /8/. Kovy sa používali vo forme p.a. zlúčenín $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ a CrCO_3 a testovali sa v 10 koncentráciách v rozsahu Cr(III) – 25-250, Cr(VI) – 2-200 a Ni(II) – 5-50 mg.l^{-1} . Všetky experimenty sa robili v 3 opakovaníach vždy s 3 paralelkami. Inhibičné koncentrácie IC50 sa stanovovali probitovou analýzou a boli doplnené intervalom spoľahlivosti (CI) stanoveným regresnou analýzou. Všetky výsledky sa vyhodnocovali štatisticky Studentovým t-testom.

Genotoxicita sa hodnotila na koreňových špičkách *V. sativa*, *R. sativus* a *Z. mays* L. po 72 h rastu podľa metodiky /9/. Chromozómové aberácie sa stanovovali najmenej v 500-anatelo-fázach a kovy sa aplikovali v koncentráciách zodpovedajúcich stanoveným IC50 hodnotám. Výsledky sa štatisticky vyhodnocovali Studentovým t-testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky, ktoré sa získali z hodnotenia inhibičného účinku Cr a Ni na rast koreňov a výhonkov testovaných plodín sú uvedené v Tab. 1. Okrem inhibície rastu koreňa *S. alba*, sa ako pre koreň tak aj pre výhonky potvrdil ako toxickjší Ni. Na základe stanovených IC50 hodnôt a ich štatistického zhodnotenia sa dajú kovy pre všetky testované plodiny a obidve časti rastlín, okrem koreňa *S. alba*, zoradiť do nasledovného inhibičného radu: Ni(II) > Cr(VI) > Cr(III). Koreň *S. alba* bol najsilnejšie inhibovaný Cr(VI) a pre tento parameter bol stanovený inhibičný rad $\text{Cr(VI)} \geq \text{Ni(II)} \gg \text{Cr(III)}$. Všetky testované kovy redukovali viac rast koreňa ako výhonku. Nepriaznivý účinok Cr a Ni na rast a vývoj rastlín potvrdili aj práce /6, 10, 11/. Rovnako ako naše výsledky aj /12/ potvrdili, že koreň je na prítomnosť kovov citlivejší ako výhonok, čo sa výraznejšie prejavilo hlavne v prítomnosti Cr.

Tab. 1: IC50 hodnoty a ich 95 % intervaly spoľahlivosti (CI) (mg.l⁻¹) pre *V. sativa*, *R. sativus*, *Z. mays* a *S. alba* po 72 h aplikácie Cr a Ni

Koreň						
Plodina	Cr(III)		Cr(VI)		Ni(II)	
	IC50±95 % CI (mg.l ⁻¹)	IC50±95 % CI (mg.l ⁻¹)	IC50±95 % CI (mg.l ⁻¹)	IC50±95 % CI (mg.l ⁻¹)	IC50±95 % CI (mg.l ⁻¹)	IC50±95 % CI (mg.l ⁻¹)
<i>V. sativa</i>	114,41 105,36-119,62	69,69 61,03-78,35	16,46 15,67-17,43			
<i>R. sativus</i>	67,23 58,21-70,15	34,25 28,51-37,15	14,62 13,69-15,56			
<i>Z. mays</i>	136,16 139,60-186,73	85,96 76,91-94,47	33,18 31,41-34,94			
<i>S. alba</i>	115,40 98,73-132,07	9,82 9,39-10,24	12,52 12,05-12,98			
Výhonok						
Plodina	Cr(III)		Cr(VI)		Ni(II)	
	IC50±95 % CI (mg.l ⁻¹)	IC50±95 % CI (mg.l ⁻¹)	IC50±95 % CI (mg.l ⁻¹)	IC50±95 % CI (mg.l ⁻¹)	IC50±95 % CI (mg.l ⁻¹)	IC50±95 % CI (mg.l ⁻¹)
<i>V. sativa</i>	126,21 121,05-137,77	85,96 76,91-94,47	26,55 24,28-28,64			
<i>R. sativus</i>	81,62 69,83-93,41	53,15 50,08-56,23	18,72 17,05-20,21			
<i>Z. mays</i>	243,38 214,95-271,81	167,79 146,95-188,64	43,61 37,82-49,39			
<i>S. alba</i>	136 109,71-162,71	20,89 19,68-22,10	16,55 15,67-17,43			

Pokiaľ ide o citlivosť jednotlivých plodín, tak najcitlivejšou bola *Z. mays* (Poaceae) (Tab. 1). Citlivosť plodín na testované kovy sa znižovala v poradí: Ni(II): *S. alba* ≥ *R. sativus* ≥ *V. sativa* > *Z. mays*; Cr(VI): *S. alba* > *R. sativus* > *V. sativa* > *Z. mays*; Cr(III): *R. sativus* > *V. sativa* = *S. alba* > *Z. mays*. Z týchto výsledkov je zrejmé, že senzitivita k jednotlivým kovom je výrazne ovplyvňovaná druhom plodiny /13/. Aj napriek tomu, že /14/ uvádzajú, že *Z. mays* nie je dobrým fytoextraktorom Cr(VI), v našich testoch sa prejavila z hľadiska rastu ako najmenej citlivá voči Cr(III) aj Cr(VI).

Tab. 2: Koncentrácie Cr a Ni (mg.g⁻¹DM) v koreňoch a výhonkoch *V. sativa*, *R. sativus*, *Z. mays* a *S. alba* po 10 dňoch rastu a vypočítané BAF a TF hodnoty

Plodina	Cr(III)				Cr(VI)				Ni(II)			
	Ko	Vy	BAF	TF	Ko	Vy	BAF	TF	Ko	Vy	BAF	TF
<i>V. sativa</i>	18,2	5,9	0,21	0,32	24,3	8,4	0,47	0,35	3,9	2,6	0,39	0,65
<i>R. sativus</i>	11,8	3,3	0,22	0,28	9,2	8,4	0,34	0,27	1,7	0,9	0,18	0,51
<i>S. alba</i>	26,3	8,3	0,30	0,32	3,7	0,8	0,47	0,22	2,2	1,7	0,31	0,77
<i>Z. mays</i>	32,6	18,9	0,38	0,58	31,0	11,2	0,49	0,36	4,0	1,6	0,17	0,40

DM – sušina, BAF – bioakumulačný faktor, TF – translokačný faktor, Ko – koreň, Vy – výhonok

Bioakumulačné (BAF) a translokačné faktory (TF) ako aj koncentrácie kovov v koreňoch a výhonkoch plodín sú uvedené v Tab. 2. Kým Cr sa akumuloval viac v koreňoch, transport Ni z koreňov do výhonkov bol dvakrát vyšší ako transport Cr, čo viedlo ku zvýšenej

akumulácii Ni vo výhonkoch testovaných plodín. Nakoľko ale všetky hodnoty transformačných faktorov pre Cr aj Ni boli <1 , je transport obidvoch kovov z koreňov do výhonkov považovaný za obmedzený a výsledky sú v zhode s údajmi z literatúry /5, 14/.

Tab. 3: Výskyt chromozómových aberácií (%) v anatelofázových bunkách koreňových špičiek *V. sativa*, *R. sativus* a *Z. mays* po 72 h pôsobení Cr a Ni

Koncentrácia kovu \pm SD (mg.l ⁻¹)		Percento aberácií \pm SD		
		<i>V. sativa</i>	<i>R. sativus</i>	<i>Z. mays</i>
Kontrola (Cr/Ni)	$<0.01/<0.07$	2.33 ± 0.23	0.67 ± 0.25	2.00 ± 0.33
Ni(II)	16.46 ± 2.16	$3.33\pm 0.25^{**}$	$2.83\pm 0.50^{**}$	$5.14\pm 0.31^{**}$
Cr(III)	114.41 ± 13.36	$2.67\pm 0,25^*$	$1.78\pm 0.21^*$	$3.24\pm 0.23^{**}$
Cr(VI)	69.69 ± 8.66	$4.33\pm 0.23^{**}$	$3.85\pm 0.18^{**}$	$6.32\pm 0.54^{**}$

SD – smerodajná odchýlka; ** preukaznosť rozdielov v porovnaní s kontrolou $P < 0.01$; * preukaznosť rozdielov v porovnaní s kontrolou $P < 0.05$; kontrola – sterilná destilovaná voda

Nakoľko toxické účinky kovov, najmä počas chronickej expozície, nie sú okamžite viditeľné, ekotoxikologické štúdie si často vyžadujú aj hodnotenie genotoxicity. Ako uvádzajú /15/ genotoxické účinky sa dajú pozorovať už pri koncentráciách nižších ako tie, ktoré vyvolávajú fytotoxické prejavy. Všetky testované kovy v aplikovaných IC50 koncentráciách preukazne zvyšovali frekvenciu výskytu chromozomálnych aberácií vo všetkých 3 testovaných plodinách (Tab. 3), pričom maximum aberácií v anatelofázových bunkách sa pozorovalo v prítomnosti Cr(VI). Poradie kovov, v akom sa frekvencia výskytu chromozómových aberácií v koreňových špičkách plodín znižovala, bolo nasledovné: Cr(VI) > Ni(II) > Cr(III). Simultánnu toxicita a klastogenitu vyvolanú odpadmi s obsahom Cr a Ni potvrdili pri *V. sativa* aj /16/ a pri *V. faba* a *Allium cepa* /17, 18, 19/.

LITERATÚRA

- /1/ Ryzhenko, N.O., Kavetsky, S.V., Kavetsky, V.M.: Cd, Zn, Cu, Pb, Co, Ni phytotoxicity assessment as function of its substance polarity shift. International Journal of Bioorganic Chemistry, 2, 2017:163-173.
- /2/ Efromyson, R.A., Will, M.E., Suter, G.W., Wootten, A.C.: Toxicological Benchmarks for Screening Contaminants of Potential Concern for Effects on Terrestrial Plants. Revision Prepared for the US Department of Energy Office of Environmental Management, 1997
- /3/ Hartley-Whitaker, J., Ainsworth, G., Meharg, A.A.: Copper- and arsenate-induced oxidative stress in *Holcus lanatus* L. clones with differential sensitivity. Plant, Cell and Environment, 24, 2001:713-722.
- /4/ Bennicelli, R., Stępniewska, Z., Banach, A., Szajnocha, K., Ostrowski, J.: The ability of *Azolla caroliniana* to remove heavy metals (Hg(II), Cr(III), Cr(VI)) from municipal waste water. Chemosphere 55, 2004:141-146.
- /5/ Shanker, A.K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H., Avudainayagam, S.: Chromium toxicity in plants. Environmental International, 31, 2005:739-753.c
- /6/ Szárazová, K., Fargašová, A., Hiller, E., Velická, Z., Pastierová, J.: Phytotoxicity effects and translocation of Cr and Ni in washing wastewaters from cutlery production line to mustard (*Sinapis alba* L.) seedlings. Fresenius Environmental Bulletin, 17, 2008:58-65.
- /7/ Ghosh, M., Singh, S.P.A.: A comparative study of cadmium phytoextraction by accumulator and weed species. Environmental Pollution, 133, 2005:365-371.
- /8/ Tappero, R., Peltier, E., Gräfe, M., Heidel, K., Ginder-Vogel, M., Livi, K.J.T., Rivers, M.L., Marcus, M.A., Chaney, R.L., Sparks, D.L.: Hyperaccumulator *Alyssum murale* relies on a different metal storage mechanism for cobalt than for nickel. New Phytologist, 175, 2007:641-654.
- /9/ Miadoková, E., Svidová, S., Vlčková, V., Dúhová, V., Pražmariová, E., Tothová, K., Naďová, S., Kogan, G., Rauko, P.: The role of natural biopolymers in genotoxicity of mutagens/carcinogens elimination. Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky Olomouc Czech Republic, 149, 2005:493-496.
- /10/ Fargašová, A., Šmelková, M., Matúš, P.: *Sinapis alba* reactions on the stress induced by chromium and nickel. Fresenius Environmental Bulletin, 20, 2011:3374-3380.

- /11/ Prasad, M.N.V., Greger, M., Landberg, T.: *Acacia nilotica* L. bark removes toxic elements from solution: corroboration from toxicity bioassay using *Salix viminalis* L. in hydroponic system. *International Journal of Phytoremediation*, 3, 2001:289-300.
- /12/ Chatterje, J., Chatterjee, C.: Phytotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower. *Environmental Pollution*, 109, 2000:69-74.
- /13/ Gabrielli, R., Pandolfini, T., Vergnani, O., Palandri, M.R.: Comparison of two serpentine species with different nickel tolerance strategies. *Plant Soil*, 122, 1990:271-277.
- /14/ Gheju, M., Balcu, I., Ciopec, M.: Analysis of hexavalent chromium uptake by plants in polluted soils. *Ovidius University Annals of Chemistry* 20, 2009:12-131.
- /15/ Mičieta, K., Murín, G.: Tree species of genus *pinus* suitable as bioindicators of polluted environment. *Water Air and Soil Pollution*, 104, 1998:413-422.
- /16/ Miadoková, E., Dúhová, V., Vlčková, V., Sládková, L., Suchá, V., Vlček, D.: Genetic risk assessment of acid waste water containing heavy metals. *General Physiology and Biophysics*, 18, 1999:92-98.
- /17/ Chandra, S., Chauhan, L.K.S., Pande, P.N., Gupta, S.K.: Cytogenetic effects of leachates from tannery solid waste on the somatic cells of *Vicia faba*. *Environmental Toxicology*, 19, 2004:129-133.
- /18/ Quian, X.: Mutagenic effects of chromium trioxide on root tip cells of *Vicia faba*. *Journal of Zhejiang University Science*, 5, 2004:1570-1576.
- /19/ Chauhan, L.K.S., Saxena, P.N., Sundararaman, V., Gupta, S.K.: Diuron-induced cytological and ultrastructural alterations in the root meristem cells of *Allium cepa*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 62, 1998:152-163.

Pod'akovanie

Uvedená práce vznikla za finančnéj podpory grantov KEGA 029UK-4/2016 a VEGA 1/0332/18.

***BIOTICKÝ STRESOR LISTOV JASEŇA ŠTÍHLEHO –
HUBA FUSARIUM sp.***

***BIOTIC STRESS FACTOR OF FRAXINUS EXCELSIOR LEAVES –
FUNGUS FUSARIUM sp.***

Helena Ivanová

Ústav ekológie lesa SAV Zvolen, Oddelenie fytopatológie a mykológie, Akademická 2, 949 01 Nitra, Slovensko, helena.ivanova@ife.sk

Summary

Symptomatic leaves of *Fraxinus excelsior* were often colonized by fungi occurring less frequently in the early stages of ash diseases in the past, before the current *Hymenoscyphus fraxineus* epidemic. These fungi other than *H. fraxineus* also occur in large numbers on leaves of the dying ash trees. Symptoms of this disease include the development of yellow colouration of leaves, which eventually die and fall. Diseased plants may die soon after first symptoms. Among some wilt-causing agents, endophytic fungus *Fusarium* sp. is reported as an important limiting factor. Mycological analysis by classical isolation of the most frequently isolated fungus from ash necrotic tissue from leaves, identification of macroscopic characteristics as well as their microscopic features confirmed fungus *Fusarium* sp.

Key words: ash trees, endophytic fungus, morphological and mycological characteristics

Súhrn

Symptomatičné listy *Fraxinus excelsior* sú často kolonizované hubami, ktoré sa vyskytujú v počiatočných štádiách ochorenia jaseňov menej často ako sa prejaví epidemický účinok huby *Hymenoscyphus fraxineus*, hoci sa na listoch týchto odumierajúcich stromov vyskytujú v hojnom počte. Symptómy poškodenia spočívajú vo vzniku žltého zafarbenia listov, ktoré môžu opadať a odumierať podobne ako aj poškodené dreviny. Endofytická huba *Fusarium* sp. pôsobí ako limitujúci faktor spomedzi ostatných iných vplyvov spôsobujúcich chradnutie. Huba izolovaná z listov jaseňov bola potvrdená klasickými fytopatologickými metódami využívajúcimi ich makroskopické aj mikroskopické znaky.

Kľúčové slová: jaseň, endofytická huba, morfológické a mykologické charakteristiky

INTRODUCTION

The most widely distributed native ash species in Europe - *Fraxinus excelsior* L. is planted in parks, along streets, in lawns, and as a shade tree occurs on a wide range of moister soil types and is commonly limited by temperature. This species is less susceptible than many other broadleaved tree species to attack by dangerous pests and pathogens /5/. The situation has changed, however, in the last years when large-scale dieback of *F. excelsior* has been found and observed increasingly in many European countries /1/. In recent years except this disease, characteristic symptoms of wilt and dieback have been observed in clonal seed orchard (Trstice) situated in southwest part of the country. Individual branches or even single leaves may be affected at first. Leaves develop a yellow colour, eventually die and fall. Diseased plants may die soon after first symptoms occur or they may sprout at the base after the top dies. Among some wilt-causing agents, fungus *Fusarium* is reported as an important limiting factor /23/. In the present work the fungus present on declining *Fraxinus excelsior*

leaves was studied and his role in the decline was clarified. Details of fungal occurrence on ash trees with symptoms of dieback were reported. Mycological analysis of the fungal sample isolated from ash necrotic tissue from leaves confirmed *Fusarium* sp.

MATERIAL AND METHODS

Leaves from *F. excelsior* was collected in Trstice sites (GPS: 48°00'47.0"N 17°47'58.1"E), clonal seed orchard situated in southwest part of Slovakia. From spring to autumn 2017 the segments (1×1 cm) of 10 diseased leaves with visible necrotic lesion were collected from each of 10 living ash trees in the site. Fungal isolates from initial necrotic lesions were obtained from collection of samples *F. excelsior*. To study the growth rates of *Fusarium* spp., leaf segments after initial surface sterilization by soaking for 10 min. in solution of sodium hypochlorite were transferred onto PDA plates and incubated at 24° C at 45% humidity in darkness in a versatile environmental test chamber MLR-351H. Isolates were morphologically assessed and classified into morphological similarity group. The species were identified on the basis of macroscopic characteristics as well as their microscopic features. Identification of species was based on species description by Leslie and Summerell /18/.

RESULTS AND DISCUSSION

Fusarium canker on European ash *Fraxinus excelsior* is caused by *Fusarium oxysporum* which together with *Fusarium lateritium* and *Phoma exigua* are fungi with a worldwide distribution. Fungus *Fusarium* sp. in our experiments on PDA formed sparse white to pale peach aerial mycelium, which is later pink in colour and growing slowly. *Fusarium* isolates produce abundant orange-coloured sporodochia 200 to 400 µm in diameter within 15 days of incubation. Dark blue sclerotial bodies were present in some isolates. Microconidia were ellipsoid to spindle shaped, 0–1 septate, 11.5–15.0 × 2.5–3.0 µm in size. Thick-walled hyaline larger slightly curved macroconidia 40.0–68.0 × 3.8–5.0 µm in size produced from monophialides in sporodochia were fusiform, pointed at the tip, mostly 3–5 septate, sometimes 6 septate, with basal pedicellate cells. Chlamydospores as round, thick-walled spores, produced either terminally or intercalary on older mycelium were present and formed sparsely. Different fungal pathogens were in this work isolated with varying frequencies, but the most frequently isolated fungus from ash leaves was *Fusarium* sp. This fungus belongs to other class of fungi than *H. fraxineus* and together with it plays an important role in the dieback process, on dying stems, twigs and leaves of ash in Slovakia.

Fusarium belongs to several species which were isolated as typical bark and wood-decaying or wood-inhabiting fungi. *Fusarium* belongs to endophytes with pathogenic potential and shows significant increases of occurrence in one or several leaf tissues /4/. *Fusarium* sp. isolated in this work together with some fungal species occurred on seed orchard in Slovakia are known plant pathogens likely responsible for the disease symptoms observed on ash leaves. A few studies aimed on the origin of symptomatic *F. excelsior* buds and leaves dieback showed they may be colonized by *Fusarium* (Tab. 1) which was obtained from leaves samples in the present study. The study has revealed rich fungal community inhabiting leaves of declining *F. excelsior*. The coloration of *Fusarium* sp. aerial mycelium is initially white but later becomes purple, with discrete orange sporodochia /28/. Conidiophores are short, single, arranged to densely branched clusters. Fungus growth is very slow, radial colony growth rate at 22°C/12 h of light daily was 5 mm. Fungus formed abundant microconidia never in chains, mostly non-septate, ellipsoidal or cylindrical, straight or curved, 5–12 × 2.3–3.5 µm and fusiform macroconidia, slightly curved, pointed at the tip, mostly three septate, basal cells pedicellate, 23–54 × 3–4.5 µm. Chlamydospores are terminal or intercalary, hyaline, smooth or rough-walled, 5–13 µm. *Fusarium* has been identified as

a pathogen in nurseries and was able to kill of *F. excelsior* seedlings /20/. Fungus was isolate from bark, wood, buds or leaves and necrotic petiole and is in famous for causing a condition called *Fusarium* wilt, which is lethal to plants /5, 10, 22/.

Tab. 1: Origin of dieback on symptomatic tissue types of *Fraxinus excelsior* colonized more often by *Fusarium* species

reference	origin	fungal taxon	tissue type of <i>F. excelsior</i>
Ivanová <i>et al.</i> 2017 experiment	Slovakia	<i>Fusarium</i> sp.	leaves
Pastirčáková <i>et al.</i> 2017	Slovakia	<i>Fusarium</i> sp.	twigs
Trapiello <i>et al.</i> 2017	Spain	<i>F. acuminatum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. lateritium</i> , <i>Fusarium</i> sp., <i>F. tricinctum</i>	leaves
Langer 2017	Germany	<i>F. lateritium</i> , <i>F. solani</i>	leaves
Cross <i>et al.</i> 2017	Norway	<i>Fusarium</i>	leaves
Power <i>et al.</i> 2017	N. Zealand	<i>F. lateritium</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>Fusarium</i> sp.	bud
Kowalski <i>et al.</i> 2017	Poland	<i>F. avenaceum</i> , <i>F. lateritium</i> , <i>F. solani</i>	stem, twigs
Kowalski <i>et al.</i> 2016	Poland	<i>F. avenaceum</i> , <i>F. lateritium</i> , <i>F. solani</i>	stems, twigs
Scholtysik <i>et al.</i> 2013	Germany	<i>F. lateritium</i>	leaves
Davydenko <i>et al.</i> 2013	Ukraine	<i>F. avenaceum</i> , <i>F. lateritium</i> , <i>F. solani</i>	shoots
Chen 2012	N. Zealand	<i>F. lateritium</i> , <i>F. oxysporum</i>	bark, wood, buds, leaves
Bakys <i>et al.</i> 2011	Sweden	<i>F. avenaceum</i> , <i>F. solani</i>	root
Kowalski & Czekaj 2010	Poland	<i>F. lateritium</i> , <i>Fusarium</i> sp.	bark, stem
Bakys <i>et al.</i> 2009a	Sweden	<i>Fusarium</i> sp.	bark, wood
Bakys <i>et al.</i> 2009b	Sweden	<i>F. lateritium</i>	shoots
Ioos <i>et al.</i> 2009	France	<i>F. equiseti</i> , <i>F. lateritium</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. semitectum</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. sp.</i>	shoots, bark tissue, necrotic petiole
Kowalski & Holdenrieder 2009	Switzerland	<i>Fusarium</i> sp.	
Lygis <i>et al.</i> 2005	Lithuania	<i>F. lateritium</i>	stem
Kowalski & Łukomska 2005	Poland	<i>F. avenaceum</i> , <i>F. lateritium</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. sp.</i>	
Pukacki & Przybył 2005	Poland	<i>F. aquaeductum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. sambucinum</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. lateritium</i>	shoots, buds
Kowalski & Kehr 1992	Poland	<i>Fusarium</i> sp.	bark branches, wood,
Przybył 2002a	Poland	<i>F. avenaceum</i> , <i>F. lateritium</i> , <i>F. solani</i>	shoots
Przybył 2002b	Poland	<i>F. avenaceum</i> , <i>F. chlamyosporum</i> , <i>F. lateritium</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. sambucinum</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. sp.</i>	roots
Griffith & Boddy 1991	U.K.	<i>F. lateritium</i>	bark, wood
Hull 1991	U.K.	<i>F. lateritium</i>	buds
Griffith & Boddy 1988	U.K.	<i>F. lateritium</i>	shoots, twigs
Riggenbach 1956	Switzerland	<i>F. lateritium</i>	

REFERENCES

- /1/ Bakys, R., Vasaitis, R., Barklund, P., Thomsen, I. M., Stenlid, J. Occurrence and pathogenicity of fungi in necrotic and non-symptomatic shoots of declining common ash (*Fraxinus excelsior*) in Sweden. Eur. J. For. Res., 128, 2009a: 51–60.
- /2/ Bakys, R., Vasaitis, R., Barklund, P., Ihrmark, K., Stenlid, J. Investigations concerning the role of *Chalara fraxinea* in declining *Fraxinus excelsior*. Plant Pathology, 58, 2009b: 284–292.
- /3/ Bakys, R., Vasiliauskas, A., Ihrmark, K., Stenlid, J., Menkis, A., Vasaitis, R. Root rot, associated fungi and their impact on health condition of declining *Fraxinus excelsior* stands in Lithuania. Scand. J. For. Res., 26 2011: 128–135.
- /4/ Cross, H., Sønstebo, J.H., Nagy, N.E., Timmermann, V., Solheim, H., Børja, I., Kauserud, H., Carlsen, T., Rzepka, B., Wasak, K., Smith, A.V., Hietala, A.M. Fungal diversity and seasonal succession in ash leaves infected by the invasive ascomycete *Hymenoscyphus fraxineus*. New Phytologist, 213(3), 2017: 1405–1417.
- /5/ Chen, J. Fungal community survey of *Fraxinus excelsior* in New Zealand. Master thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden, 2012, pp. 33.
- /6/ Davydenko, K., Vasaitis, R., Stenlid, J., Menkis, A. Fungi in foliage and shoots of *Fraxinus excelsior* in eastern Ukraine: a first report on *Hymenoscyphus pseudoalbidus*. Forest Pathology, 4, 2013: 462–467.

- /7/ Griffith, G.S., Boddy, L. Fungal communities in attached ash (*Fraxinus excelsior*) twigs. Transaction of the British Mycological Society, 91(4), 1988: 599–606.
- /8/ Griffith, G.S., Boddy, L. Fungal decomposition of attached angiosperm twigs IV. Effect of water potential on interactions between fungi on agar and in wood. New Phytologist, 117, 1991: 633–641.
- /9/ Hull, S.K. A study undertaken in southern Britain to investigate the late-flushing of Hedgerow ash in spring 1987. Forest Oxford, 64(2), 1991: 189–197.
- /10/ Ioos, R., Kowalski, T., Husson, C., Holdenrieder, O. Rapid *in planta* detection of *Chalara fraxinea* by a real-time PCR assay using a dual-labelled probe. European Journal of Plant Pathology, 125, 2009: 329–335.
- /11/ Kowalski, T., Bilański, P., Kraj, W. Pathogenicity of fungi associated with ash dieback towards *Fraxinus excelsior*. Plant Pathology, 66(8), 2017: 1228–1238.
- /12/ Kowalski, T., Czekaj, A. Disease symptoms and fungi on dying ash trees (*Fraxinus excelsior* L.) in Staszów Forest District stands. Forest Research Papers, 71 (4), 2010: 357–368.
- /13/ Kowalski, T., Holdenrieder, O. Pathogenicity of *Chalara fraxinea*. Forest Pathology, 39, 2009: 1–7.
- /14/ Kowalski, T., Kehr, R.D. Endophytic fungal colonization of branch bases in several forest tree species. Sydowia, 44, 1992: 137–168.
- /15/ Kowalski, T., Kraj, W., Bednarz B. Fungi on stems and twigs in initial and advanced stages of dieback of European ash (*Fraxinus excelsior*) in Poland. European Journal of Forest Research, 135(3), 2016: 565–579.
- /16/ Kowalski, T., Łukomska, A. The studies on ash dying (*Fraxinus excelsior* L.) in the Włoszczowa Forest Unit stands. Acta Agrobotanica, 59(2), 2005: 429–440.
- /17/ Langer, G. Collar Rots in Forests of Northwest Germany Affected by Ash Dieback. Baltic Forestry, 23(1), 2017: 4–19.
- /18/ Leslie, J.F., Summerell, B.A. The *Fusarium* Lab. Manual. Wiley-Blackw. Ames, Iowa, USA. 2006, 388 p.
- /19/ Lygis, V., Vasiliauskas, R., Larsson, K.H., Stenlid, J. Wood-inhabiting fungi in stems of *Fraxinus excelsior* in declining ash stands of northern Lithuania, with particular reference to *Armillaria cepistipes*. Scandinavian Journal of Forest Research, 20, 2005: 337–346.
- /20/ Mańka, M. Broadleaved tree transplants dieback in spring '97 in Poland. Phytopathologia Polonica, 13, 1997: 150–151.
- /21/ Pastirčáková, K., Ivanová, H., Pastirčák, M. Species diversity of fungi on ashes (*Fraxinus* spp.) in different types of stands in Slovakia. In: Sitková Z., Pavlenda P. (eds.) Long-term ecological research and monitoring of forest. Present knowledge and appeals for the future. Proceeding of conference review contribution 7. – 8. 11. 2017, pp. 93–99 (in Slovak).
- /22/ Power, M-W.P., Hopkins, A.J.M., Chen, J., Bengtsson, S.B.K., Vasaitis, R., Cleary, M.R. European *Fraxinus* species introduced into New Zealand retain many of their native endophytic fungi. Baltic Forestry, 23(1), 2017: 74–81.
- /23/ Przybył, K. Fungi associated with necrotic apical parts of *Fraxinus excelsior* shoots. Forest Pathology, 32(6), 2002a: 387–394.
- /24/ Przybył, K. Mycobiota of thin roots showing decay of *Fraxinus excelsior* L. young trees. Dendrobiology, 48, 2002b: 65–69.
- /25/ Pukacki, P.M., Przybył, K. Frost injury as a possible inciting factor in bud and shoot necroses of *Fraxinus excelsior* L. Journal of Phytopathology, 153, 2005: 512–516.
- /26/ Riggensbach, A. Untersuchung über den Eschenkrebs. Journal of Phytopathology, 27(1), 1956: 1–40.
- /27/ Scholtysik, A., Unterseher, M., Scholtysik, P., Wirth, C. Spatio-temporal dynamics of endophyte diversity in the canopy of European ash (*Fraxinus excelsior*). Mycological Progress, 12(2), 2013: 291–304.
- /28/ Smith, I. M., Dunez, J., Phillips, D. H., Lelliott, R. A. & Archer, S. A. *European handbook of plant diseases*. Blackwell Scientific Publications: Oxford, 1988, 583p.
- /29/ Trapiello, E., Schoebel, C.N., Rigling, D. Fungal Community in Symptomatic Ash Leaves in Spain. Baltic Forestry, 23(1), 2017: 68–73.

Acknowledgements

Supported by the Scientific Grant Agency of the Ministry of Education of the Slovak Republic and the Slovak Academy of Sciences – VEGA Grant No. 2/0062/18.

FENOLÓGIA VYBRANÝCH LESNÝCH BYLÍN VO VZŤAHU K MENIACEJ SA KLÍME

PHENOLOGY OF SELECTED FOREST HERBACEOUS SPECIES IN RELATION TO CLIMATE CHANGE

Martin Kubov^{1,2}, Branislav Schieber¹, Rastislav Janík¹

¹ Ústav ekológie lesa SAV, L. Štúra 2, 960 53 Zvolen, SR, kubov@ife.sk

² Technická univerzita vo Zvolene, Lesnícka fakulta, T.G. Masaryka 24, 960 53 Zvolen, SR, martin.kubov@tuzvo.sk

Summary

Paper presents the analysis of the flowering of a selected forest herbs, which represent different phenological groups: *Pulmonaria officinalis* (early spring species), *Carex pilosa* (late spring species) and *Veronica officinalis* (early summer species). Phenological observations were done in the last ten years (2008–2017) in a submountain beech forest at the EES Kremnické vrchy Mts. The onset and process of the full flowering of the study species is significantly influenced by the air temperature. The values of the positive deviations of the mean air temperatures averaged for the period of the last decade were increased in comparison to the long-term periods LP₍₁₉₅₁₋₁₉₈₀₎. Onset of full flowering has been shifted earlier calendar dates for all study forest herbaceous species.

Key words: phenology, full flowering, Pulmonaria officinalis, Carex pilosa, Veronica officinalis

Súhrn

Predkladaná práca sa zaoberá analýzou kvitnutia vybraných lesných bylín, ktoré predstavujú rozdielne fenologické skupiny: *Pulmonaria officinalis* (skorý jarný druh), *Carex pilosa* (neskorý jarný druh) a *Veronica officinalis* (skorý letný druh). Fenologické pozorovania sa vykonávali v posledných desiatich rokoch (2008–2017) v prostredí submontánnej bučiny na EES Kremnické vrchy. Nástup a priebeh všeobecného kvitnutia sledovaných druhov je výrazne ovplyvnený teplotou vzduchu, ktorá v poslednom desaťročí zaznamenala výrazne kladné odchýlky v porovnaní s dlhodobým priemerom DP₍₁₉₅₁₋₁₉₈₀₎. U všetkých druhov sa tento fakt prejavil posunom všeobecného kvitnutia smerom ku skorším kalendárnym termínom.

Kľúčové slová: fenológia, všeobecné kvitnutie, Pulmonaria officinalis, Carex pilosa, Veronica officinalis

ÚVOD

V posledných desaťročiach zaznamenávame výrazne zmeny v klimatickom systéme Zeme. Podľa svetových odborníkov /13/ sú tieto zmeny vyvolávané klimatickou zmenou, ako aj samotnými zmenami klímy. Klimatická zmena so sebou prináša celý rad zmien, ktoré sa v súčasnom období prejavujú zmenou cirkulácie a otepľovaním vzduchu /6/, nárastom dezertifikácie územia /20/, zvyšovaním frekvencie výskytu extrémov počasia /29/, nárastom koncentrácie CO₂ /28/, UVB žiarenia /22/, zvýšením koncentrácie ozónu /7/ a iných skleníkových plynov /9/. Tieto zmeny ovplyvňujú fyziologické procesy prebiehajúce v rastlinách, znižujú ich vitalitu a vedú k ich ďalšiemu poškodzovaniu /11/. Pri skúmaní

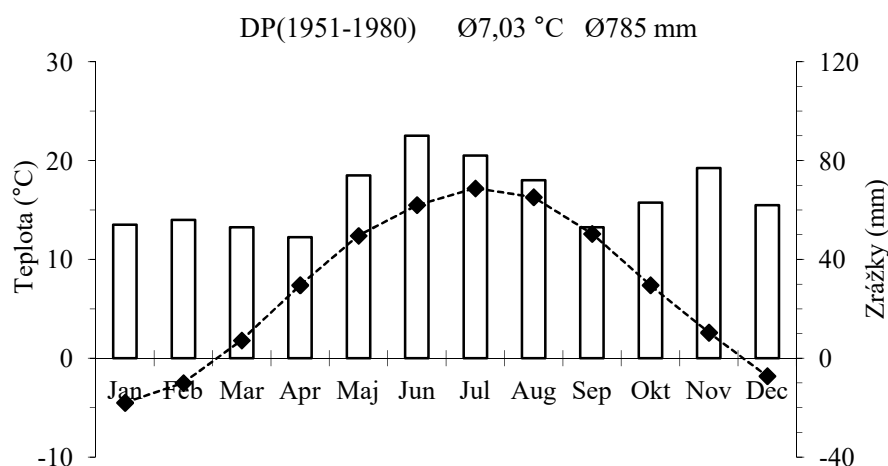
vplyvu klimatickej zmeny, ako aj klímy na lesné ekosystémy nám v ostatnom období výrazne napomáha fenológia, ktorá sa ako aplikovaná vedná disciplína zaoberá štúdiom periodicky sa opakujúcich životných prejavov rastlín (fenologické fázy) v závislosti od sezónnych a medziročných zmien klímy. Zmeny v nástupe a priebehu jednotlivých fenologických fáz sú podľa /27/ vhodným ukazovateľom meniacich sa podmienok prostredia, a preto rastliny, ako aj dreviny predstavujú významný bioklimatologický indikátor klimatických zmien /31/.

Cieľom tohto príspevku je analyzovať variabilitu nástupu kvitnutia vybraných bylinných druhov, ktoré predstavujú rozdielne fenologické skupiny (skorá jar, plná jar a skoré leto) vo vzťahu k teplotným zmenám za 10-ročné obdobie (2008 -2017).

MATERIÁL A METÓDA

Výskum sa vykonával na Ekologickom experimentálnom stacionári (EES) Kremnické vrchy, ktorý patrí do medzinárodnej siete LTER (*Long-Term Ecosystem Research*). EES sa nachádza v JV časti pohoria Kremnické vrchy v lokalite Suchá dolina (48° 38' SZŠ a 19° 04' VZD). Geomorfologicky je EES tvorený pravidelným svahom, ktorý je miestami mierne konvexno-konkávny. Výškovo je relatívne málo diferencovaný (450–520 m n.m.). Mezoreliéf EES má Z až JZ expozíciu so sklonom 5 až 15°. Materský pôdny substrát predstavujú svahoviny andezitových tufových aglomerátov, z ktorých sa vyvinuli kambizeme s vysokým obsahom skeletu a to hlavne na vrcholovej a podsvahovej časti /17/. Podľa /15/ je vegetácia tvorená mozaikou lesných typov 3. vegetačného stupňa, živného radu B, skupiny lesných typov *Querceo-Fagetum* a *Fagetum pauper inferiora*.

Drevinové zloženie je relatívne pestré, tvorené hlavne taxónmi *Fagus sylvatica* L., *Abies alba* Mill., *Quercus dalechampii* Ten., *Carpinus betulus* L. a *Tilia cordata* Mill., primiešané dreviny predstavujú *Salix caprea* L., *Populus tremula* L., *Betula verrucosa* Roth., *Acer pseudoplatanus* L., *Prunus avium* L. a *Picea abies* L. Územie, kde prebiehal výskum, sa nachádza v mierne teplej klimatickej oblasti, mierne teplom a mierne vlhkom vrchovinovom klimatickom okrsku /14/. Obr. 1 poukazuje na priemerná ročná teplota vzduchu, ktorá počas DP_(1951–1980) dosahuje hodnotu 7,03°C. Priemerné mesačné teploty vzduchu (DP_{1951–1980}) sa v januári a v júli pohybujú okolo - 4,0°C, resp. + 17,0°C /14/. Priemerný úhrn zrážok počas obdobia DP_(1951–1980) dosahuje 785 mm. Ďalšie a detailnejšie informácie sú uvádzané v prácach /25, 2/.



Obr. 1: Klimadiagram EES Kremnické vrchy (490 m n. m.) za obdobie DP_(1951–1980)

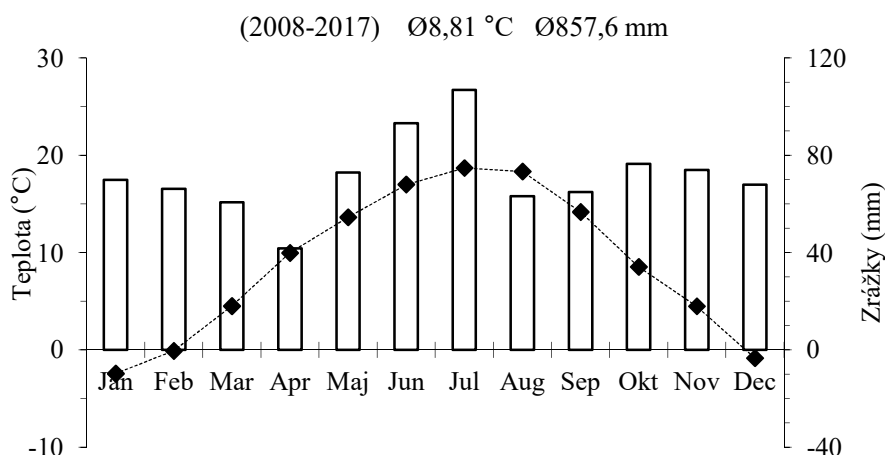
Metodika fenologických pozorovaní vychádzala z „Metodického predpisu“ štandardne používaného v rámci fenologického monitoringu SHMÚ pre pozorovanie lesných rastlín /5/.

Počas desaťročného obdobia (2008–2017) sa v pravidelných intervaloch vykonávali fenologické pozorovania na súbore jedincov vybraných lesných bylín, ktoré charakterizujú konkrétne fenologické obdobie: skorá jar (*Pulmonaria officinalis*), plná jar (*Care xpilosa*) a skoré leto (*Veronica officinalis*). Sledovali a vyhodnocovali sme generatívnu fenologickú fázu BBCH 65 - všeobecné kvitnutie /18/. Za všeobecný nástup fenofázy bol považovaný deň, keď sa na súbore jedincov pozoroval jej 50%-ný nástup. Termíny nástupu fenologických fáz boli vyjadrené ako poradové dni roka počítané od prvého januára. Základné klimatické dáta vybraných meteorologických faktorov (teplota vzduchu, zrážky) za sledované obdobie (2008–2017), ktoré boli podrobené ďalšiemu spracovaniu, pochádzali z databázy vedeckých pracovníkov Ústavu ekológie lesa SAV Zvolen. Analyzované údaje boli spracované pomocou základnej deskriptívnej štatistiky (aritmetický priemer, smerodajná odchýlka, variačné rozpätie, variačný koeficient). Tesnosť korelácie (Pearsonov korelačný koeficient) bola spracovaná podľa /30/. Všetky ostatné výsledky sa štatisticky spracovali v programe R (*R Project for Statistical Computing*).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Klimatické podmienky – teplota vzduchu a zrážky

Kým generatívny rozvoj sa uskutočňuje iba za istých, veľmi špecifických klimatických a stanovištných podmienok, tak vegetatívny rozvoj rastlinných spoločenstiev prebieha aj pri väčších klimatických výkyvoch, pričom pri niektorých druhoch aj v zimnom období /4/. Z tohto dôvodu sme sa ako prvé snažili charakterizovať klimatické podmienky v sledovanom území. Z Obr.2 je zrejmé, že priemerná ročná teplota vzduchu počas sledovaného obdobia (2008-2017) dosiahla hodnotu 8,81°C, čo je v porovnaní s hodnotou DP₍₁₉₅₁₋₁₉₈₀₎, ktorú udáva /26/ mierne vyššia hodnota (+ 1,78°C). Výraznejší rozdiel (+2,19°C) sme zaznamenali pri porovnaní teploty počas vegetačného obdobia (apríl až september). Zrážkové úhrny boli medziročne značne rozkolísané a v rámci sledovaného 10-ročného obdobia dosahovali v porovnaní s DP₍₁₉₅₁₋₁₉₈₀₎ taktiež mierne vyššiu priemernú hodnotu (+72,6 mm). Do značnej miery to súvisí s priemerným nárastom zrážok v zimnom období (december až marec), ako aj výdatným zrážkovým úhrnom v letných mesiacoch (hlavne jún a júl). Tieto však padajú predovšetkým ako prehánky a búrkové lejaky, teda sú územne nerovnomerné /8/.



Obr. 2: Klimadiagram EES Kremnické vrchy (490 m n. m.) počas sledovaného 10-ročného obdobia (2008 – 2017)

Nástup a priebeh kvitnutia počas sledovaného obdobia

Podľa viacerých odborníkov /10, 23/ sa sezónna dynamika rastlinných spoločenstiev najvhodnejšie charakterizuje podľa generatívnych fenologických fáz, najmä podľa fenofázy kvitnutia. Kvitnutie rastlín totiž vyjadruje živnosť druhu na istom stanovišti, resp. v istom spoločenstve. Základné štatistické charakteristiky nástupu všeobecného kvitnutia sledovaných bylín počas desaťročného obdobia výskumu (2008–2017) sú uvedené v Tab. 1. Ako je vidieť, najskorší priemerný nástup všeobecného kvitnutia (BBCH 65) bol pozorovaný u druhu, ktorý charakterizuje fenologické obdobie skorej jari, t.j. *Pulmonaria officinalis* (100. deň – 10.apríl). Priemerne o 9 dní neskôr (19.apríl) dosiahol všeobecne kvitnutie *Carex pilosa*, ktorý charakterizuje fenologické obdobie plnej jari. Priemerný nástup všeobecného kvitnutia u *Veronica officinalis* bol pozorovaný 5.júna (156. deň).Variačné rozpätie sa pohybovalo od 16 dní u *Veronica officinalis* do 34 dní u *Pulmonaria officinalis*. Variabilita v nástupe tejto fenofázy, vyjadrená hodnotou variačného koeficientu dosahovala hodnoty 3,12 % (*Veronica officinalis*),7,68 % (*Carex pilosa*) a 8,92 % (*Pulmonaria officinalis*).

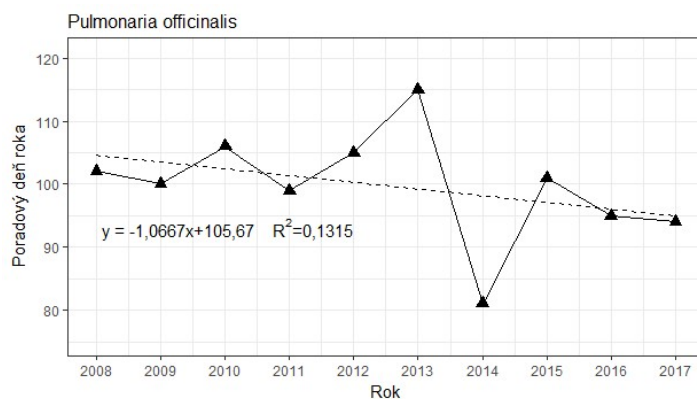
Tab: 1: Nástup všeobecného kvitnutia vybraných bylín v období 2008 – 2017 (*PDR – poradový deň roka)

Druh	Priemer (PDR)	Minimum (PDR)	Maximum (PDR)	STDEV (dni)	Variačné rozpätie (dni)	Variačný koeficient (%)
<i>Pulmonaria officinalis</i>	100	81	115	8,90	34	8,92
<i>Carex pilosa</i>	109	93	115	8,05	22	7,68
<i>Veronica officinalis</i>	156	146	162	4,87	16	3,12

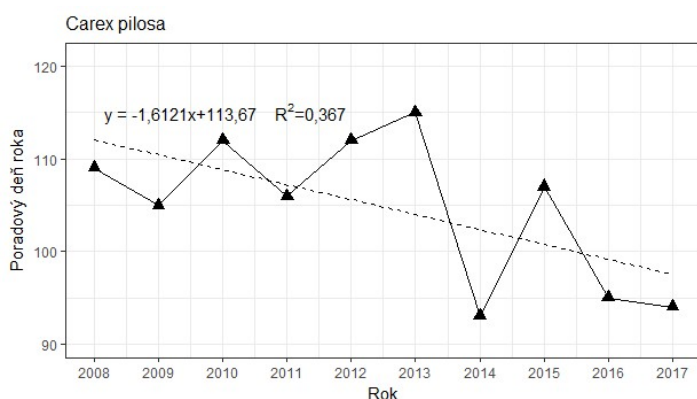
Korelačné analýzy a trendy

Časové trendy nástupu všeobecného kvitnutia u *Pulmonaria officinalis* (Obr. 3) vykazujú mierny posun smerom ku skorším termínom, pričom medziročnú variabilitu v nástupe všeobecného kvitnutia je až 8,9 dňa. Korelačná analýza potvrdila štatisticky významnú ($p < 0,05$) a zároveň stredne silnú (mierna závislosť) koreláciu, pričom koeficient korelácie dosahoval hodnotu 0,362. Podobnú hodnotu korelačného koeficientu (0,374) zaznamenal /24/, ktorý sa taktiež zameril na všeobecné kvitnutie v časovom horizonte 10. rokov (1995-2004). Avšak v jeho prípade vyžaduje *Pulmonaria officinalis* mierny posun k neskorším termínom, teda všeobecné kvitnutie odďaľuje. Pri korelačnej analýze nezaznamenal významný vzťah medzi kvitnutím, jarnou teplotou a zrážkami v období február až marec, resp. marec. Predpokladáme, že to súvisí s tzv. adaptáciou a plasticitou predjarných a skorých jarných druhov, keď na ich rozvoj (kvitnutie) vplýva aj relatívne krátkodobé oteplenie. Uvedené fenologické skupiny druhov majú kvetné púčiky založené už v predošlom roku, preto ich reakcia na priaznivé podmienky je pomerne rýchla /4/. Medziročná variabilita v termínoch nástupu kvitnutia je potom u nich vyššia v porovnaní s inými skupinami druhov, čo súvisí so značnou medziročnou variabilitou priebehu klimatických prvkov v jarnom období. V dôsledku toho môžeme pozorovať rýchly rozvoj druhu *Pulmonaria officinalis* v krátkom časovom období s priaznivými teplotnými podmienkami, napriek tomu, že celkové pomery v jarnom období sú menej priaznivé /24/.

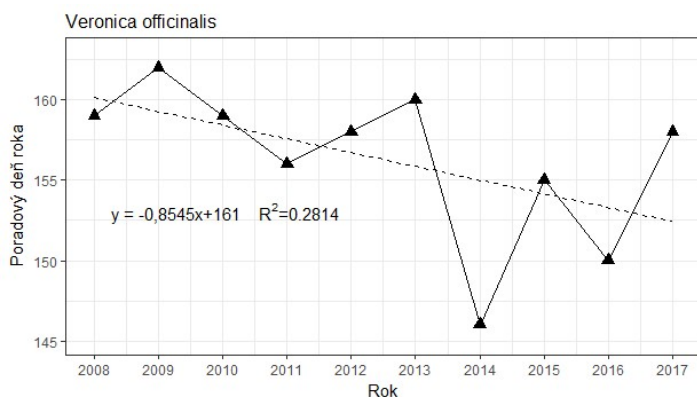
Okrem skoro jarného druhu *Pulmonaria officinalis* sme v jarnom období analyzovali aj ďalší bylinný druh - *Carex pilosa*. *Carex pilosa* reprezentuje dominantný druh asociácie *Carici pilosae-Fagetum* v podmienkach QF a Fp inf. Z fenologického pohľadu patrí k typickým predstaviteľom skupiny druhov plnej jari. Oba druhy *Pulmonaria officinalis* a *Carex pilosa*, sú charakteristické špecifickým životným rytmom, ktorý je v priamej korelácii so zmenami svetelných podmienok pred a po zalistení korún stromovv materskom poraste /26/. Z tohto dôvodu musia svoj generatívny rozvoj (kvitnutie) stihnúť do úplného zalistenia materského porastu, pretože po zalistení sa svetelné podmienky výrazne zmenia - slnečné žiarenie sa v poraste bude vyskytovať len vo forme difúzneho svetla /16/. Celkový priebeh všeobecného kvitnutia *Carex pilosa* počas celého obdobia výskumu je znázornený na Obr. 4, z ktorého je možné vidieť, že *Carex pilosa* reaguje na meniacu sa klímu posunom všeobecného kvitnutia do skorších termínov. Výsledná hodnota koeficientu korelácie dosahuje 0,605 (mierna závislosť).



Obr. 3: Dlhodobý trend nástupu všeobecného kvitnutia u *Pulmonaria officinalis* za obdobie 10 rokov (2008 – 2017)



Obr. 4: Dlhodobý trend nástupu všeobecného kvitnutia u *Carex pilosa* za obdobie 10 rokov (2008 – 2017)



Obr. 5: Dlhodobý trend nástupu všeobecného kvitnutia u *Veronica officinalis* za obdobie 10 rokov (2008 – 2017)

Posledným analyzovaným druhom je *Veronica officinalis* (Obr. 5), ktorá charakterizuje fenologickú skupinu – skoré leto. V tomto období (koniec mája a začiatok júna) už väčšina druhov plnej a neskorej jari odkvitla, čo súviselo s už spomínaným vegetatívnym rozvojom materského porastu (zalistovanie). Na rozdiel od skoro jarných druhov, si tieto druhy zakladajú kvetné púčiky v tom istom roku, preto rozkvitajú pomaly, pričom na to potrebujú dlhší čas a vyššiu teplotu /4/. Samotné kvitnutie je potom predovšetkým ovplyvnené teplotou a zrážkami. /24/ poukazuje na významný vzťah medzi všeobecným kvitnutím *Veronica officinalis* a teplotou vzduchu v máji ($r=-0,54$), resp. apríli až máji ($r=-0,85$). Vplyv zrážok v tomto období však už nebol tak významný ($r=0,15$, resp. $r=0,21$). Naše výsledky poukazujú na výrazný posun

všeobecného kvitnutia smerom ku skorším termínom. Korelačný koeficient dosahuje podobne ako v prípade *Pulmonaria officinalis* a *Carex pilosa* stredne silnú závislosť ($r=0,53$). Medziročná variabilita v nástupe všeobecného kvitnutia bola spomedzi všetkých sledovaných druhov najkratšia, keď dosahovala hodnotu len 4,87 dňa.

ZÁVER

Analýza nástupu všeobecného kvitnutia lesných bylín, ktoré predstavujú rozdielne fenologické obdobia (skorá jar, plná jar, neskoré leto) poukázala na určité rozdiely v nástupe tejto fenofázy. Predpokladáme, že vysoká variabilita nástupu všeobecného kvitnutia ma určitý súvis s tzv. „klimatickými osobitnosťami“, ktoré sme výraznejšie začali sledovať v posledných desaťročiach. Práve od tohto obdobia zaznamenáva výrazne oscilácie v nástupe kvitnutia všetkých sledovaných druhov. Podľa dostupných poznatkov /1, 3/ je zrejmé, že postupným otepľovaním pozorujeme výraznejší posun jarných fenologických fáz ku skorším termínom, čoho dôkazom sú aj nami prezentované výsledky desaťročnej analýzy kvitnutia. Následne oneskorenie nástupu jesenných fenologických fáz /19, 21/, vedie k predlžovaniu vegetačného obdobia /12/, čo môže výrazne ovplyvniť vitalitu niektorých lesných bylín a prispieť k zmene ich pôvodných areálov.

LITERATÚRA

- /1/ Amano, T., Smithers, R.J., Sparks, T.H., Sutherland, W.J.: A 250-year index of first flowering dates and its response to temperature changes. *Proceeding of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277, 2010: 2451–2457.
- /2/ Barna, M., Bošľa, M.: Tree species diversity change in natural regeneration of a beech forest under different management. *Forest Ecology and Management*, 324, 2015: 92–102.
- /3/ Beaubien, E., Hamann, A.: Spring flowering response to climate change between 1936 and 2006 in Alberta, Canada. *BioScience*, 61, 2011: 514–524.
- /4/ Bottlíková, A.: Fenologická charakteristika vybraných fytoocenóz Liptovskej kotliny. VEDA. Biologické práce, XXI/6, 1975, 81 s.
- /5/ Braslavská, O., Kamenský L.: Fenologické pozorovanie lesných rastlín. Metodický predpis. SHMÚ, Bratislava, 1996, 22 s.
- /6/ Cleland, E.E., Chuine, I., Menezel, A., Mooney, H.A., Schwartz, M.D.: Shifting plant phenology in response to global change. *Trends in Ecology and Evolution*, 22, 2007: 357–365.
- /7/ Felzer, B.S., Cronin, T., Reilly, J.M., Melillo, J.M., Wang, X.: Impacts of ozone on tree and crops. *Comptes Rendus Geoscience*, 339, 2007: 784–798.
- /8/ Fendeková, M., Poárová J., Slivová V., (eds.): Hydrologické sucho na Slovensku a prognóza jeho vývoja. Univerzita Komenského v Bratislave, 2018, 300 s.
- /9/ Glatzel, G.: The impact of historic land use and modern forestry on nutrient relations of Central European forest ecosystems. *Fertilizer Research*, 27, 1991: 1–8.
- /10/ Hrouda, L.: Rastliny luk a pastvin. Academia, 2013, 448 s.
- /11/ Hüttl, R.F., Schaaf, W., (eds.): Magnesium Deficiency in Forest Ecosystems. *Nutrients in Ecosystems*, 1. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1997, 362 p.
- /12/ Chmielewski, F.M., Rötzer, T.: Response of tree phenology to climate change across Europe. *Agricultural and Forest Meteorology*, 108, 2001: 101–112.
- /13/ IPCC: Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 2014, 151 pp.
- /14/ Kolektív.: Atlas krajiny Slovenskej republiky. MŇP SR Bratislava, SANP Banská Bystrica, 2002, 344 s.
- /15/ Križová, E.: Primary production of the aboveground biomass of a herb layer in selected forest types in EES Kováčová. *Acta Facultatis Forestalis*, 35, 1993: 99–107.
- /16/ Kubov, M.: Fenológia a dynamika vegetácie podhorskej bučiny. Dizertačná práca, Fakulta ekológie a environmentalistiky TU Zvolen, 2017, 117 s.
- /17/ Kukla, J.: Dynamika geochemických procesov v pôdach vybraných lesných ekosystémov. Zverejnená správa. ÚEL SAV Zvolen, 1990, 102 s.
- /18/ Meier, U. (ed.): Growth stages of Mono and Dicotyledonous plants. BBCH Monograph. 2. Edition, Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, Bonn, 2001.

- /19/ Pau, S., Wolkovich, E.M., Cook, B.I., Davies, T.J., Kraft, N.J.B., Bolmgren, K., Betancourt, J.L., Cleland, E.E.: Predicting phenology by integrating ecology, evolution and climate science. *Global Change Biology*, 17, 2011: 3633–3643.
- /20/ Pickup, G.: Desertification and climate change – the Australian perspective. *Climate Research*, 11, 1998: 51–63.
- /21/ Polgar, C.A., Primack, R.B.: Leaf-out phenology of temperate woody plants: from trees to ecosystems. *New Phytologist*, 191, 2011: 926–941.
- /22/ Runeckles, V.C., Krupa S.V.: The impact of UV-B radiation and O₃ on terrestrial vegetation. *Environmental Pollution*, 83, 1994: 191–213.
- /23/ Rybka, V., Joskova, R.: Naša kvetena: Vlhké lúky. Ottovo nakladateľstvo, 2015, 552 s.
- /24/ Schieber, B.: Changes of flowering phenology of six herbal species in a beech forest (Central Slovakia): a decade analysis. *Polish Journal of Ecology*, 55, 2007: 233–244.
- /25/ Schieber, B., Kubov, M., Pavelka, M., Janík, R.: Vegetation dynamics of herb layer in managed submountain beech forest. *Folia Oecologica*, 42(1), 2015: 35–45.
- /26/ Štřelec, J.: Vplyv ťažbového zásahu v bukovom poraste na zmeny osvetlenia. *Lesnícky časopis- Forest Journal*, 38(6), 1993: 551–559.
- /27/ Štefančík, I.: Fenológia v lesníctve 1. Začiatok vegetačnej činnosti. *Lesnícky časopis – Forestry Journal*, 41(2), 1995: 131–139.
- /28/ Taylor et al.: Future atmospheric CO₂ leads to delayed autumnal senescence. *Global Change Biology*, 14, 2008: 264–275.
- /29/ Trenberth, K.E.: The impact of climate change and variability on heavy precipitation, floods, and droughts. *Encyclopedia of Hydrological Science*, M. H. Anderson, (ed.), J. Wiley and Sons, 2008.
- /30/ Ostertagová, A.: Aplikovaná štatistika. Equilibria, Košice, 2013, 218 s.
- /31/ White, M.A., Brusell, N., Schwartz, M.D.: Vegetation Phenology in global change studies. In *Phenology: a integrative environmental science*, Schwartz M.D.(ed.), Cluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2003, 453–466 p.

Pod'akovanie

Autori ďakujú agentúre VEGA za finančnú podporu pri riešení projektu č. **2/0120/17**, v rámci ktorého vznikol prezentovaný príspevok.

VPLYV RÝCHLOSTNEJ CESTY NA AKUMULÁCIU ARZÉNU V LESNÝCH EKOSYSTÉMOCH

IMPACT OF EXPRESSWAY ON ACCUMULATION OF ARSENIC IN FOREST ECOSYSTEMS

Margita Kuklová¹, Ivica Pivková¹, František Hnilička², Helena Hniličková²,
Katarína Sládeková¹, Ján Kukla¹

¹ Ústav ekológie lesa SAV, L. Štúra 2, 960 53 Zvolen, SR, kuklova@ife.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 from the expressway R1 in section Nitra – Tekovské Nemce on the content of arsenic in soils and leaves of species *Quercus cerris* L., *Prunus spinosa* L. and *Melica uniflora* Retz., located in the forest geobiocenoses G1 to G4 near the road and in the G5 geobiocenosis, 8 km away. The As content found in O-horizons of soils was generally low (0.17 ± 0.05 mg/kg). The As contents in the Luvisols (on G1 and G2 plots) peaked in 20–30 cm of layers (7.54 ± 2.4 – 8.28 ± 2.6 mg/kg), however in Cambisols (on G3 to G5 plots) were higher in 0–5 cm mineral layers (5.69 ± 1.8 – 6.84 ± 2.2 mg/kg) and towards the lower soil horizons its concentrations mostly declined. The maximum content of As was found in *P. spinosa* leaves (0.24 mg/kg) on plot G2, while on other plots the arsenic levels in plants were quite similar (<0.15).

Key words: forest soils, plant species, roadside pollution, arsenic

Súhrn

V práci hodnotíme vzťah imisií z rýchlostnej cesty R1 v úseku Nitra – Tekovské Nemce k obsahu arzenu v pôdnych vrstvách a listoch druhov *Quercus cerris* L., *Prunus spinosa* L. a *Melica uniflora* Retz.) v lesných geobiocenózach G1 až G4 situovaných v tesnej blízkosti cesty a v geobiocenóze G5 vzdialenej 8 km. V študovaných geobiocenózach bol obsah As v O-horizontoch pôd celkovo nízky ($0,17 \pm 0,05$ mg/kg). Obsah As v Luvizemiach (plochy G1 a G2) dosahoval maximum v 20–30 cm pôdnych vrstvách ($7,54 \pm 2,4$ – $8,28 \pm 2,6$), zatiaľ čo v kambizemiach (plochy G3 až G5) bol vyšší v minerálnych vrstvách 0–5 cm ($5,69 \pm 1,8$ – $6,84 \pm 2,2$ mg/kg) a smerom k nižším pôdnym horizontom jeho koncentrácia zväčša klesala. Najvyšší obsah As sa zistil v listoch *P. spinosa* (0,24 mg/kg) na ploche G2, kým na ostatných plochách boli hladiny As v rastlinách značne podobné ($<0,15$ mg/kg).

Kľúčové slová: lesné pôdy, rastliny, cestná doprava, arzén

ÚVOD

V prírode sa arzén vyskytuje najmä vo forme sulfidov, najčastejšie ako arzenopyrit. Do ovzdušia sa uvoľňuje pri spracovaní kovových rúd vo forme oxidu arzenitého a zvýšené koncentrácie pochádzajú tiež zo spaľovania fosílnych palív a automobilovej dopravy /1/. Pôdy majú zároveň prirodzený obsah ťažkých kovov uvoľňovaný z materskej horniny v procese pedogenézy. Rastliny prijímajú prístupné formy As koreňovým systémom. Rýchlosť príjmu závisí od distribučných koeficientov, ktoré sú výrazne ovplyvňované fyzikálno-chemickými vlastnosťami pôdy.

Rýchlostná cesta R1 Nitra – Tekovské Nemce prechádza väčšinou poľnohospodárskou krajinou, v ktorej sa lesné geobiocenózy zachovali v podobe väčších, či menších enkláv. Cesta je dôležitým nástrojom prepravy v tomto regióne od novembra 2011, v dôsledku čoho sú k nej priliehajúce poľnohospodárske a lesné pozemky najviac ohrozené znečistením. V študovanom regióne sa zaznamenal nárast oxidu siričitého (SO₂), oxidov dusíka (NO_x), ozónu (O₃) a tuhých znečisťujúcich častíc. Kontaminanty predstavujú hlavne Pb, Cu, Cd a As /2/. Cieľom štúdie preto bolo zistiť, aký vplyv majú emisie produkované cestnou dopravou na znečistenie pôd a dominantných rastlín arzénom.

MATERIÁL A METÓDA

Obsah arzénu v pôdach (luzizeme, kambizeme) a v asimilačných orgánoch druhov *Quercus cerris* L., *Prunus spinosa* L. a *Melica uniflora* Retz. 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 (plochy G1–G4) a v pozad'ovej zóne vzdialenej 8 km od diaľnice (plocha G5). Základné údaje o plochách sú uvedené v práci /3/.

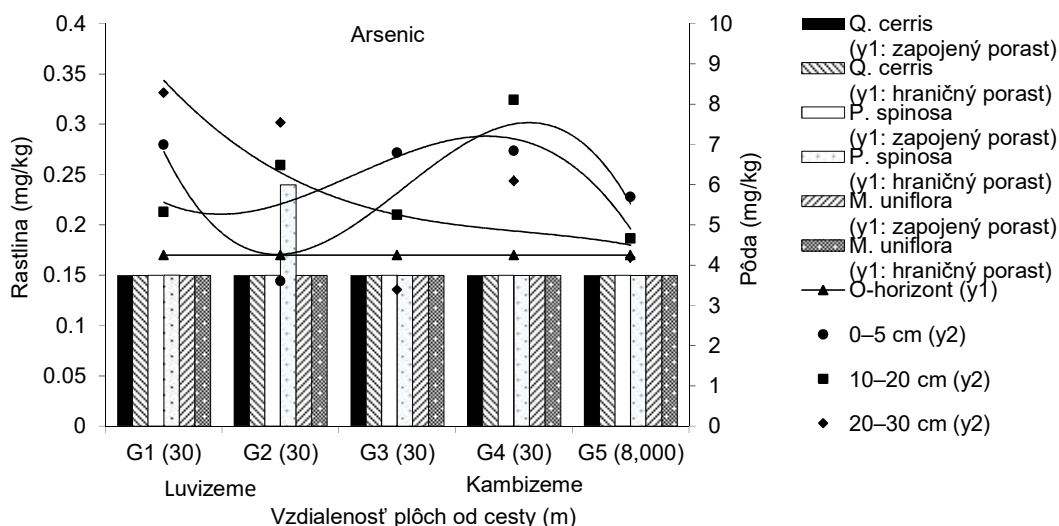
Odber vzoriek sa realizoval začiatkom júla 2016. Vzorky organických (O) horizontov pôd sa odoberali z každej geobiocenologickej plochy v troch opakovaniach. Vzorky minerálnej pôdy boli odobrané z hĺbok 0–5 cm, 10–20 cm a 20–30 cm. Pôdne vzorky sa vysušili na vzduchu, preosiali cez sito a následne sa v suspenzii jemnozeme stanovili hodnoty aktívnej reakcie pôdy potenciometricky, pomocou digitálneho pH-metra Inolab pH 720. Celkový obsah pôdneho arzénu (As) sa stanovil vo výluhu lúčavky kráľovskej metódou AAS-GTA na prístroji GBC SensAA.

Vzorky rastlín boli odobraté tak z okraja lesa, ako aj zo zapojeného porastu. Asimilačné orgány rastlín (listy druhov *Q. cerris* a *P. spinosa*; byle druhu *M. uniflora*) boli odoberané stratifikovaným výberom v troch opakovaniach (100 až 200 kusov jedincov). Celkové obsahy As vo vzorkách boli stanovené v extrakte koncentrovanej HNO₃ metódou AAS-GTA na prístroji GBC SensAA.

Zo zistených koncentrácií prvkov sa vypočítali základné štatistické charakteristiky a vyhodnotenie výsledkov sa vykonalo v programe Statistica 9 (StatSoft, 2008). Vplyv vzdialenosti plôch od cesty na obsah As v pôdnych vrstvách bol analyzovaný regresnou metódou pomocou polynomických funkcií.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tesnej blízkosti cesty ako aj v referenčnej zóne bol obsah As v O-horizontoch pôd celkovo nízky (0,17±0,05 mg/kg). V luzizemiach (na plochách G1 a G2) jeho obsah vrcholil v 20–30 cm pôdnych vrstvách (7,54±2,4 – 8,28±2,6 mg/kg), avšak v kambizemiach (na plochách G3 až G5) sa vyššie hodnoty zistili v 0–5 cm minerálnej vrstve (5,69±1,8 – 6,84±2,2 mg/kg) a smerom k nižším minerálnym horizontom prevažne klesali (3,39±1,1 – 6,09±1,9 mg/kg). Variabilita arzénu v pôdach korešponduje s polynomickými funkciami tretieho stupňa, najmä v prípade 0–5 a 10–20 cm pôdnych vrstiev, s kulmináciou na plochách G1 a G4 (Obr. 1). Celkovo vyššie množstvo As zistené v 0–5 cm vrstvách pôd v blízkosti rýchlostnej cesty (plochy G1, G3 a G4) ilustruje znečistenie povrchových vrstiev zapríčinených automobilovou dopravou. Porovnávací výskum lesných porastov v Nemecku ukázal, že v neznečistenej lesnej pôde koncentrácia As narastala od organického (2–10 mg/kg) k minerálnemu horizontu (24 mg/kg). Naopak, v kontaminovanej pôde bol najvyšší obsah As v organickom horizonte (1700 mg/kg) a klesal s hĺbkou pôdneho profilu (50–70 mg/kg) /4/.



Pôdna vrstva (cm)	Regresné rovnice	Determinačný koeficient R ²
0–5	$y = -0.6483x^3 + 5.9307x^2 - 15.811x + 17.352$	0.762
10–20	$y = -0.325x^3 + 2.5593x^2 - 5.4457x + 8.772$	0.457
20–30	$y = -0.0992x^3 + 1.2161x^2 - 5.2448x + 12.718$	0.618

Obr. 1: Závislosť obsahu As v pôdných vrstvách a rastlinných druhoch od vzdialenosti lesných plôch od cesty ($p \leq 0,05$).

Tab. 1: Priemerný obsah As v pôdach lesných plôch G1 až G5 (ANOVA, Fisher LSD test: $F_{(4,15)}=0,2158$; $p > 0,05$).

Štatistické charakteristiky	G1	G2	G3	G4	G5
Aritmetický priemer (mg kg^{-1})	5,19	4,45	3,90	5,30	3,68
Smerodajná odchýlka	3,6	3,3	2,8	3,5	2,4
Variačný koeficient	68,6	74,2	73,0	66,4	65,8

Štatistické charakteristiky priemerného obsahu arzenu v pôdach lesných ekosystémov sú uvedené v Tab. 1. Na plochách G1 a G4 boli síce zistené najvyššie priemerné hodnoty As v profiloch pôd, avšak rozdiely oproti ostatným plochám neboli významné. Hodnoty variačných koeficientov poukazujú na vysokú variabilitu As v pôdných vrstvách. Priemerný obsah As v zemskej kôre je 1,8–2,5 mg/kg a pôdach sveta 6,83 mg/kg As. V uhlí kolíše obsah As v extrémnom rozsahu 0,5–80 mg/kg a v popolčeku dosahuje priemerne 60 mg/kg /5/. Pozadová (stredná) hodnota As v kambizemiach Slovenska spadá pod 6,9 mg/kg /6/.

Pohyb zlúčenín arzenu v pôdnom profile závisí najmä od fyzikálno-chemických vlastností pôdy (obsahu humusu, živín, vlhkosti, pôdnej reakcie) a klimatických podmienok. Vo vzťahu k pH sú pôdy skúmaných geobiocenóz vo vrstve 0–5 cm kyslé ($\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ 4,6 –5,5), v prípade geobiocenózy G3 až veľmi kyslé ($\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ 4,4), /3/. Vo všeobecnosti platí, že v kyslejších pôdach sa zvyšuje pohyblivosť As, najmä pri pH hodnotách pod 5, čím sa zvyšuje možnosť jeho odberu rastlinami. Výsledky ukázali, že vzdialenosť od cesty najvýraznejšie ovplyvnila obsah As v listoch druhu *P. spinosa* (0,24 mg/kg) a to na ploche G2 (Obr. 1). Na ostatných plochách, vrátane kontrolnej plochy G5 boli hladiny As značne podobné, nižšie ako 0,15 mg/kg. V listoch trnky na ploche G2 bol obsah As približne 2,4 násobne vyšší ako v literatúre uvádzaná hodnota pozadia (0,1 mg/kg) /7/. V pletivách dospelých listov činí normálny obsah As 1–1,7 mg/kg, nadbytočný až toxický obsah As 5–20 mg/kg a tolerovateľný obsah As v poľnohospodárskych plodinách je 0,2 mg/kg /5/. Obsah As v rastlinách ovplyvňuje tiež akumulácia prachu, ktorej množstvo závisí od prašnosti prostredia, tvaru a odenia povrchu rastlín /8/. Vplyv automobilovej dopravy a

kontaminácia ovzdušia polietavým popolom zo spaľovacích procesov môžu odrážať aj zvýšené obsahy As (približne o 50%) v ostatných druhoch rastlín. V oblasti Slovenského stredohoria boli napr. výrazne vyššie hodnoty As v listoch buka (0,13–0,26 mg/kg) zistené vo vzdialenosti 1,5 km od hlinikárne v Žiari nad Hronom, zatiaľ čo 18 km od zdroja emisií činili len 0,03–0,09 mg/kg /9/.

LITERATÚRA

- /1/ Kuklová, M., Kukla, J., Sýkora, A., Pivková, I.: Akumulácia As v pôde a v nadzemnej časti vybraných druhov bylín v bukových geobiocenózach = Accumulation of arsenic in soil and above ground part of selected herb species in beech geobiocoenoses. In Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2012. F. Hnilička, J. Novák, Z. Šlégrová. - Praha : Česká zemědělská univerzita, Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2012: 77–81.
- /2/ Fazekašová, D., Barančíková, G., Torma, S., Ivanová, M., Manko, P.: Chemical and environmental aspects of the components of the environment and landscape. University of Prešov in Prešov, 2014: 257 pp. [In Slovak].
- /3/ Kuklová, M., Kukla, J., Hnilička, F., Hniličková, H., Pivková, I.: Obsah zinku v pôdach 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. In Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2017 : sborník recenzovaných vědeckých prací. - Praha ; Zvolen : Česká zemědělská univerzita v Praze : Ústav ekologie lesa Slovenskej akadémie vied, 2017: 69–73.
- /4/ Huang, J.H., Matzner, E.: Fluxes of inorganic and organic arsenic species in Norway spruce forest floor. Environmental pollution, 149, 2007: 201–208.
- /5/ Kabata-Pendias, A.: Trace elements in soil and plants. 4th ed. CRC Press, Boca Raton FL., 2011: 520 pp.
- /6/ Čurlík, J., Šeřík, P., Jambor, P.: Geochemický atlas SR, časť V. Pôdy, MŽP, Bratislava, 1999: 99 pp.
- /7/ Markert, B.: Instrumental multielement analysis in plant materials – a modern method in environmental chemistry and tropical systems research. Rio de Janeiro: CETEM/CNPq, (Série Tecnologia Ambiental, 8), 1995: 32 p.
- /8/ Jankowski K., Ciepiela A.G., Jankowska J., Szulc W., Kolczarek R., Sosnowski J., Wiśniewska-Kadżaján B., Malinowska E., Radzka E., Czeluściński W., Deska J.: Content of lead and cadmium in aboveground plant organs of grasses growing on the areas adjacent to a route of big traffic. Environmental Science and Pollution Research, 22, 2015: 978–987.
- /9/ Gašová K., Kuklová M., Kukla J.: Contents of nutrients and arsenic in litterfall and surface humus in mature nudaal beech stands subjected to different emission-immission loads. Folia Oecologica, 44, 2017: 11–19.

Pod'akovanie

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

OBSAH Ni, Cr A Hg VO VYBRANÝCH RASTLINNÝCH DRUHOCH NA STAREJ ENVIRONMENTÁLNEJ ZÁŤAŽI***CONTENT OF Ni, Cr AND Hg IN SELECTED PLANT SPECIES AT OLD ENVIRONMENTAL BURDEN***Hana Ollerová¹, Andrea Zacharová¹, Andrea Diviaková², Eva Michalková³¹ Technická univerzita vo Zvolene, FEE, Katedra environmentálneho inžinierstva, T. G. Masaryka 24, 960 53 Zvolen, ollerova@tuzvo.sk; andrea.zacharova@tuzvo.sk² Technická univerzita vo Zvolene, FEE, Katedra UNESCO pre ekologické vedomie a TUR, T. G. Masaryka 24, 960 53 Zvolen, diviakova@tuzvo.sk³ michalkova.evka@gmail.com***Summary***

Old environmental burdens represent a hidden threat to the abiotic and biotic components of the environment as well as to the human. The aim of the paper was to determine Ni, Cr and Hg in selected plant species that naturally colonized the black nickel mud dumps in Sereď. Black nickel mud is waste after the production of nickel and cobalt from imported Albanian iron ore. The risk elements in both plant biomass and black nickel mud were determined by the ICP-MS method. Highest values of Ni and Cr concentration were found in the roots of the species *Calamagrostis epigejos* and *Artemisia vulgaris*. In the above-ground biomass of species we recorded lower values of Ni and Cr. Mercury values were very low in all plant species. The amount of nickel in 2890 mg.kg⁻¹, chromium more than 10000 mg.kg⁻¹ and mercury less than 0.05 mg.kg⁻¹ in the black nickel mud.

Key words: nickel, chromium, mercury, black nickel mud landfill, biomass, accumulation

Súhrn

Staré environmentálne záťažé predstavujú skrytú hrozbu pre abiotické i biotické zložky prostredia a samozrejme aj pre samotného človeka. Cieľom príspevku bolo stanovenie Ni, Cr a Hg vo vybraných rastlinných druhoch, ktoré prirodzene osídlili skládku lúženca, ktorý vznikol v procese výroby niklu a kobaltu na báze dovážanej albánskej železoniklovej rudy v Sereďi. Rizikové prvky v biomase rastlín i v samotnom lúženci boli stanovené metódou ICP-MS. Najvyššie hodnoty Ni aj Cr boli zistené v koreňoch druhov *Calamagrostis epigejos* a *Artemisia vulgaris*. V nadzemnej biomase sledovaných druhov sme zaznamenali nižšie hodnoty Ni a Cr. Hodnoty ortuti boli vo všetkých rastlinných druhoch veľmi nízke. V samotnom lúženci bola koncentrácia niklu 2890 mg.kg⁻¹, chrómu viac ako 10000 mg.kg⁻¹ a ortuti menej ako 0,05 mg.kg⁻¹.

Kľúčové slová: nikel, chróm, ortuť, skládka lúženca, biomasa, kumulácia

ÚVOD

Banské haldy, skládky priemyselných a teplárenských odpadov, hrádze odkalísk a pod. predstavujú zložitú životnú podmienku na prežitie rastlín, ktoré ich osídľujú. Rastliny sa musia totiž vyrovnávať nielen s nepriaznivými mikroklimatickými podmienkami na stanovišti, ale aj s toxickými účinkami kovov obsiahnutých v substráte (zemine). Ich toxický vplyv sa najčastejšie prejavuje spomaleným rastom /1/. Ťažké kovy vo všeobecnosti

ovplyvňujú fyziologické procesy, ako napr. transpiračný prúd /2/, respiráciu, znižujú aktivitu enzýmov a syntézu proteínov alebo ovplyvňujú expresiu génov /3/.

Rastliny, ktoré sú prirodzene tolerantné voči vysokým koncentráciám ťažkých kovov, predstavujú väčšinou ekotypy a sú taxonomicky zaradené medzi variety, subspecies a pod. /4/. Tieto často predstavujú endemické populácie daného druhu. Zaujímavé je, že schopnosť rozvinúť toleranciu voči kovu je len časťou vývoja metal-tolerantného ekotypu. Ingram /5/ poukázal na existenciu druhov, ktoré sú síce tolerantné voči medi, ale nevyskytujú sa v miestach jej ťažby. Tieto druhy sú teda neschopné prispôbiť sa iným nevyhovujúcim podmienkam prostredia. Evolúcia môže vyústiť do lokálne adaptovaných ekotypov, ale pri dlhodobej expozícii sa vytvárajú edafické endemity – druhy schopné rásť na pôdach s istými fyzikálno-chemickými vlastnosťami. V niektorých prípadoch sú schopné takéto ekotypy druhov kumulovať v pletivách zvýšené koncentrácie rizikových prvkov obsiahnutých v zemine.

V príspevku sa venujeme obsahu rizikových prvkov, ťažkých kovov Ni, Cr a Hg, v nadzemnej a podzemnej biomase druhov *Robinia pseudoacacia*, *Artemisia vulgaris*, *Xanthium spinosum* a *Calamagrostis epigejos*, ktoré osídľujú skládku lúženca pri Sereďi.

MATERIÁL A METÓDA

Lúženec predstavuje odpad, ktorý vznikol pri výrobe niklu a kobaltu zo železníckovej lateritickej rudy s obsahom 1 % Ni v tоне /6/. Je to petrograficky homogénny materiál s prevahou frakcie pod 0,01mm (jemný a stredný prach s podielom 97%) čiernej farby. Jediná skládka tohto materiálu na Slovensku sa nachádza pri meste Sereď (okres Galanta) v nadmorskej výške 125 m n. m. Skládka má rozlohu 30 ha, pričom objem uloženého materiálu predstavuje 6,5 mil. t lúženca. Priemerná relatívna výška skládky dosahuje 18 m /7/.

Odber rastlinných vzoriek bol uskutočnený na skládke lúženca, ktorá vznikla pri výrobe niklu v niklovej hute, podľa normy STN 48 1001 v roku 2011 /8/. Boli odobraté 3 byliny *Artemisia vulgaris*, *Xanthium spinosum* a *Calamagrostis epigejos*, nadzemná i podzemná biomasa a listy a konáriky z dreveniny *Robinia pseudoacacia*. Rastlinné vzorky boli vysušené v laboratórnych podmienkach a zomleté na guľovom mlyne pri frekvencii 25 Hz. Čas mletia pre listy bol 2 min. a pre konáriky 4 min. Vo vzorkách boli metódou ICP-MS stanovené Ni, Cr, Hg. Navážka 1 g vzorky bola najskôr lúhovaná v 2 M HNO₃, potom bolo pridaných po 2 ml HCl, HNO₃ a H₂O, pričom vzniknutá zmes bola vystavená teplote 95 °C po dobu ďalšej hodiny. Po zriedení do 20 ml bola vzorka analyzovaná.

Zmiešaná, reprezentatívna vzorka lúženca bola odobraná z nezrekultivovanej časti skládky so sporadickými ostrovmi spontánne sa šíriacej vegetácie. Metódou ICP-MS boli vo vzorke stanovené prvky – Ni, Cr a Hg. Rozklad a analýza vzoriek rastlín a lúženca sa realizoval v akreditovanom laboratóriu Acme Analytical Laboratories Ltd. V Kanade.

Kvantitatívne hodnotenie miery kumulácie sme urobili pomocou dvoch koeficientov:

- translokačný (TK), ktorý vyjadruje podiel obsahu prvku v listoch a koreňoch /9/. TK vyšší ako jedna odzrkadľuje schopnosť prenosu prvku do nadzemných častí biomasy.
- akumulačný (AK) ako podiel obsahu prvku v listoch k celkovému obsahu prvku v substráte /9/. Pomocou AK môžeme identifikovať druhy schopné fytoextrakcie.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vo vzorke lúženca sme stanovovali koncentráciu rizikových prvkov s výrazným environmentálnym impaktom – nikel, chróm a ortuť. Koncentrácia niklu bola 2890 mg.kg⁻¹ a množstvo Cr bolo vyššie ako 10000 mg.kg⁻¹. Koncentrácia Hg bola nižšia ako medza stanoviteľnosti (menej ako 0,05 mg.kg⁻¹). Michaeli et al. /7/ uvádzajú, že v antrozemiách skládky sa hodnoty niklu pohybujú v rozsahu 198 – 3151 mg.kg⁻¹ a chrómu v rozpätí od 1443 do 24 300 mg.kg⁻¹.

Na nezrekultivovanej časti haldy priemyselného odpadu, lúženca, boli odobrané vzorky 4 rastlinných druhov. Obsah kovov Ni, Cr a Hg v nadzemnej a podzemnej časti biomasy je uvedený v tab. 1.

Tab. 1: Priemerné koncentrácie vybraných prvkov v biomase rastlinných druhov (mg.kg^{-1})*

Rastlinný druh	Ni	Cr	Hg
<i>Robinia pseudoacacia</i> , listy	10,0	6,0	0,037
<i>Robinia pseudoacacia</i> , konáriky	12,7	6,8	0,032
<i>Artemisia vulgaris</i> , byle a listy	12,6	21,5	0,009
<i>Artemisia vulgaris</i> , korene	164,1	551,7	0,033
<i>Xanthium spinosum</i> , byle a listy	46,4	170,8	0,017
<i>Xanthium spinosum</i> , korene	68,3	259,5	0,055
<i>Calamagrostis epigejos</i> , byle a listy	77,9	298,1	0,094
<i>Calamagrostis epigejos</i> , korene	429,2	1873,9	0,058

* Relatívna smerodajná odchýlka paralelných analýz nepresahuje 10 %.

Hodnoty niklu v rastlinách sú dosť variabilné. Najvyššie hodnoty sa vyskytujú v koreňoch dvoch druhov bylín *Calamagrostis epigejos* ($429,2 \text{ mg.kg}^{-1}$) a *Artemisia vulgaris* ($164,1 \text{ mg.kg}^{-1}$).

Najnižšie hodnoty sa vyskytli v listoch a konárikoch agáta (*Robinia pseudoacacia*) – 10,0 a 12,7 mg.kg^{-1} . Pri chróme sme tak isto najvyššie hodnoty zaznamenali v koreňoch bylín. Maximálna hodnota $1873,9 \text{ mg.kg}^{-1}$ bola zaznamenaná u druhu *Calamagrostis epigejos*. Druhá najvyššia hodnota bola nameraná u druhu *Artemisia vulgaris* $551,7 \text{ mg.kg}^{-1}$. Veľmi nízke hodnoty boli opäť zistené v listoch a konárikoch *Robinia pseudoacacia*. Koncentrácie ortuti sú veľmi nízke, pohybujú sa v intervale od 0,009 do 0,094 mg.kg^{-1} .

Obsah sledovaných kovov v biomase druhov zo skládky lúženca odzrkadľuje vyššie hodnoty týchto prvkov v antropogénnom substráte. Beneš /10/ uvádza v sene z trvalých trávnych porastov obsah chrómu $1,66 \text{ mg.kg}^{-1}$ a ortuti $0,023 \text{ mg.kg}^{-1}$. Podobne aj Marušková /11/ udáva z haldy Šobov (po ťažbe kremenca v oblasti Štiavnických vrchov) v nadzemnej biomase *Calamagrostis epigejos* omnoho nižšie koncentrácie kovov: obsah niklu $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$, chrómu $1,4 \text{ mg.kg}^{-1}$ a ortuti $0,038 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Artemisia vulgaris aj *Calamagrostis epigejos* patria medzi druhy, ktoré bežne osídľujú banské haldy, či inak narušené miesta. Najmä *Calamagrostis epigejos* sa zvykne na takýchto biotopoch správať natoľko expanzívne, že výrazne spomaľuje nástup ďalších druhov. Je to druh, ktorý je schopný rásť v zložitých podmienkach, ale jeho akumulčný potenciál je veľmi nízky (tab. 2).

Tab. 2: Translokačný koeficient (TK) a akumulčný koeficient (AK) pre vybrané rastlinné druhy

Rastlinný druh	Ni		Cr	
	TK	AK	TK	AK
<i>Robinia pseudoacacia</i>	-	0,003	-	> 0,0006
<i>Artemisia vulgaris</i>	0,077	0,004	0,39	> 0,002
<i>Xanthium spinosum</i>	0,68	0,020	0,66	> 0,017
<i>Calamagrostis epigejos</i>	0,18	0,030	0,16	> 0,030

Na základe tab. 2 môžeme konštatovať, že vypočítané hodnoty oboch koeficientov neprevyšujú ani v jednom prípade hodnotu 1, z čoho vyplýva, že v nadzemnej biomase

sledovaných rastlinných druhov nedochádza k zvýšenej kumulácii rizikových prvkov a teda nemajú fytoextrakčný potenciál. Keďže ide o druhy nastupujúce v rámci primárnej sukcesie, môžeme predpokladať, že sa dokážu adaptovať na lokálne podmienky a plnia tak fytostabilizačnú úlohu a obmedzujú eróziu, zlepšujú fyzikálno-chemické vlastnosti antrozeme skládky, a zlepšujú mikroklimatické charakteristiky prostredia.

LITERATÚRA

- /1/ Hu, Y. F., Zhou, G., Na, X. F., Yang, L., Nan, W. B., Liu, X. et al.: Cadmium interferes with maintenance of auxin homeostasis in *Arabidopsis* seedlings. In *J Plant Physiol.*, 170, 2013: :965–975.
- /2/ Ying, R. R., Qiu, R. L., Tang, Y. T., Hu, P. J., Qiu, H., Chen, H. R. et al.: Cadmium tolerance of carbon assimilation enzymes and chloroplast in Zn/Cd hyperaccumulator *Picris divaricata*. In *J Plant Physiol.*, 167, 2010: 81–87.
- /3/ Madhava Rao, K. V.: Introduction. In Madhava Rao, K. V., Raghavendra, A. S., Janardhan Reddy, K. (eds.). *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants*. Dordrecht : Springer, 2006: 1 – 14.
- /4/ Brooks, R. R.: *Plants that hyperaccumulate heavy metals*. CAB International, 1998: 357 s.
- /5/ Ingram, C.: *The evolutionary basis of ecological amplitude of plant species*. PhD. dissertation, Liverpool University, 1988.
- /6/ Kalebáč, O., Souček, V., Had, A.: Výroba chrómového surového železa z lúžencového aglomerátu. In *Hutnické listy*, 10, 1987: 705-711.
- /7/ Michaeli, E., Boltížiar, M., Solár, V., Ivanová, M.: Skládka priemyselného odpadu lúženca ako príklad environmentálnej záťaže pri bývalej Niklovej hute v Seredi. In *Životné prostredie*, 46, 2012: 63-68.
- /8/ STN 48 1001. Odber vzoriek asimilačných orgánov na zisťovanie zdravotného stavu lesa.
- /9/ Sasmaz, A., Obek, E., Hasar, H.: The accumulation of heavy metals in *Typha latifolia* L. grown in a stream carrying secondary effluent. In *Ecological engineering*, 33, 2008: 278-284.
- /10/ Beneš, S.: *Obsahy a bilance prvků ve sférách životního prostředí*. II. část. Praha : Ministerstvo zemědělství České republiky, 1994: 159 s. ISBN 80-7084-090-0
- /11/ Marušková, A.: *Flóra a vegetácia na pôdach starých environmentálnych záťaží v regióne Banská Štiavnica*, 2011: 123 s. ISBN 978-80-228-2234-3

Pod'akovanie

Príspevok bol podporený vedeckou grantovou agentúrou VEGA, projekt č. 1/0111/18 a 1/0096/16.

DIVERZITA PRIEDUCHOV DVOCH TAXÓNŮ TRVÁCÍCH BIOENERGETICKÝCH TRÁV

DIVERSITY OF STOMATA OF TWO TAXA PERENNIAL BIOENERGY GRASSES

Žaneta Pauková¹, Zuzana Jureková²

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Fakulta európskych štúdií a regionálneho rozvoja,

¹ Katedra ekológie, Mariánska 10, 949 01 Nitra, +421 37 641 5620, zaneta.paukova@uniag.sk

² Katedra regionálnej bioenergetiky, Nábrežie mládeže 85, 949 01 Nitra, +421 37 641 5616, zuzana.jurekova@uniag.sk

Summary

In this study the difference of stomata were determined on two taxa of bioenergy grasses *Arundo donax* L. and *Miscanthus sinensis* × *giganteus* (Geef et Deu) by microrelief method. Shape and number of stomata on the adaxial and abaxial side leaves, morphometric features and size of leaf area were evaluated on arable land in South-Western Slovakia. The statistical analysis confirmed the dependence of the number of stomata on the adaxial and abaxial skin surfaces ($LSD_{0,05\text{test}} \pm 14.55; 29.02$). Morphometric characteristics: length and width of the stomata (μm) between the observed taxa and the number of stomata of the leaves on cardinal points were different. Between the number of stomata (mm^{-2}) and leaf area (mm^{-2}) ($r = 0.29; 0.29$), between the length of the stomata and their width ($r = 0.15; 0.10$) were observed low correlations for both observed taxa.

Key words: stomata, number of stomata, Arundo donax, Miscanthus sinensis × *giganteus, morphometric characteristics*

Súhrn

V práci sme sledovali odlišnosť prieduchov dvoch taxónov bioenergetických tráv *Arundo donax* L. a *Miscanthus sinensis* × *giganteus* (Geef et Deu) mikroreliefovou metódou. Na listoch rastlín dopestovaných v poľných podmienkach juhozápadného Slovenska sme hodnotili tvar a počet prieduchov adaxiálnej a abaxiálnej pokožky, morfometrické znaky a veľkosť listovej plochy. Štatistická analýza potvrdila závislosť počtu prieduchov na adaxiálnom a abaxiálnom povrchu pokožky ($LSD_{0,05\text{test}} \pm 14,55; 29,02$). Z hodnotenia morfometrických znakov vyplývajú rozdiely v dĺžke a šírke prieduchov (μm) medzi hodnotenými taxónmi a závislosť počtu prieduchov na orientácii listov k svetovým stranám. Nízke korelačné závislosti sme zistili medzi počtom prieduchov (mm^{-2}) a veľkosťou plochy listu (mm^{-2}) ($r=0,29; 0,29$) a medzi dĺžkou prieduchov a ich šírkou u oboch sledovaných taxónov ($r=0,15; 0,10$).

Kľúčové slová: prieduchy, počet prieduchov, Arundo donax, Miscanthus sinensis × *giganteus, morfometrické charakteristiky*

ÚVOD

Prieduchy majú bazálnu úlohu v najdôležitejších funkčných prejavoch rastlín, akými sú fotosyntéza a transpirácia. Ich morfológiu a funkciu sa venuje veľa pozornosti aj preto, lebo hustota a veľkosť prieduchov indikujú aklimáciu a adaptáciu druhov na rozmanité environmentálne podmienky [2]. Význam ich štúdia narastá aj v súvislosti s predpoveďami globálnych klimatických zmien, ktoré naznačujú zvýšenie výskytu sucha, extrémnych teplôt

aj koncentrácie tzv. skleníkových plynov. Zvýšenie koncentrácie CO₂ spôsobuje zníženie hustoty prieduchov u tráv, zmenu ich vodného režimu a potenciál ich adaptácie. V prírodnom prostredí ovplyvní klimatická zmena distribúciu mnohých pôvodných druhov, naruší biodiverzitu a potravinový reťazec voľne žijúcich zvierat. V súčasnosti sa viacero druhov tráv pestuje na poľnohospodárskej pôde kvôli rýchlemu rastu a schopnosti tvoriť mohutnú biomasu, ktorá sa využíva v bioenergetike /15/. V Európe sa za perspektívny druh považuje *Miscanthus sinensis* (ozdobnica čínska) trváca rizomatózna tráva pôvodom z východnej Ázie, kde je naturalizovaná v širokom klimatickom rozmedzí /3, 7, 13/. *Arundo donax* (trsteník obyčajný) trváca výbežkatá tráva je naturalizovaná v oblastiach okolo Stredozemného mora, kde rastie spontánne a je hojne rozšírená /1, 11/. Na výrobu biomasy je využívaná v subtropických a teplých temperátnych oblastiach, avšak pestovať ju možno najmä pri nižších zemepisných šírkach. Pre prognózy realizácie ich produkčného potenciálu v konkrétnom regióne je potrebná identifikácia základných ekofyziologických vlastností a ich zmien v dôsledku pôsobenia faktorov prostredia. Tvar orgánov, najmä listov často vypovedá o schopnosti adaptovať sa na environmentálne podmienky. Z nich najmä hustota ožiarenia, sucho, extrémne teploty, menia anatómiu a morfológiu listov, hrúbku pokožky, hustotu, veľkosť a otvorenosť prieduchov (stomat). Hustota prieduchov je relatívne plastický znak, ktorý je potenciálne prispôsobivý k zmenám životného prostredia /6, 10/.

V príspevku predstavujeme výsledky štúdia dvoch taxónov energetických tráv pestovaných v podmienkach juhozápadného Slovenska z hľadiska plochy listov, hustoty a veľkosti prieduchov na adaxiálnej a abaxiálnej pokožke ako aj biometrické hodnotenie znakov *Arundo donax* a *Miscanthus sinensis* × *giganteus*.

MATERIÁL A METÓDA

Vymedzenie záujmového územia. Výskum sa uskutočnil na poľnej pokusnej báze Vysokoškolského poľnohospodárskeho podniku Slovenskej poľnohospodárskej univerzity (SPU), s.r.o. v Koliňanoch na juhozápadnom Slovensku, 13 km od Nitry (48° 21' 20" S, 18° 12' 23" V). Hlavná pôdna jednotka je fluvizem glejová, podľa zrnitosti patrí k stredne ťažkým pôdam /4, 5/.

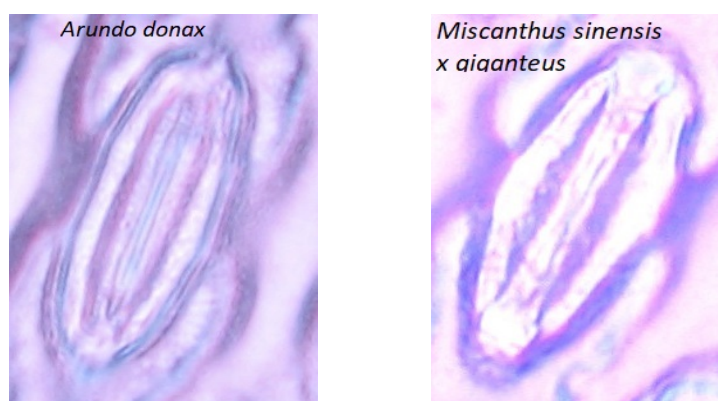
Organizácia pokusov. V roku 2016 bol založený poľný pokus výsadbou druhu *A. donax*. Pokusné stanovište bolo v roku výsadby (2016) neobhospodávané. Herbicídy sa neaplikovali. Pred založením pokusu bolo aplikované priemyselné hnojivo 100 kg .ha⁻¹ N, 60 kg.ha⁻¹ K, 30 kg.ha⁻¹ P. Na jar bola pokusná plocha pripravená na výsadbu kyprením do hĺbky 20 cm. Sadenice boli pripravené v *Arundo Cellulose farming kft. Hungaria*, technológiou *in vitro*. Pred výsadbou boli rastliny aklimatizované v skleníku Botanickej záhrady SPU v Nitre.. Rastliny sme vysadili ručne v sponě 1,0 x 1,0 m /8/. V roku 2010 bol založený poľný pokus výsadbou genotypu *M. sinensis* × *giganteus* v sponě 1,0 x 1,0 m na ploche 100 m² /5/.

Charakteristiky adaxiálnej a abaxiálnej pokožky. Použili sme mikroreliefovú metódu podľa /9/ Mikroreliefy sme odoberali na 5 a 6 liste v strednej časti listu (mimo hlavného nervu) z adaxiálneho a abaxiálneho povrchu vo vegetačnom období roku 2017. Hustotu a veľkosť prieduchov (dĺžku a šírku v μm) sme hodnotili pomocou optického mikroskopu Axiostar plus, Carl Zeiss, objektívom CP-Achromat 40×/0,65, okulár PI 10×/18, softvérom Canon Utilities Zoom Browser Ex 4.6 a hardware Acer Travel Mate 4600, Canon Power Shot A 95. V odbere sa spracovalo 3 x 72 vzoriek. Preparáty boli hodnotené v laboratóriu Aplikovanej ekológie vo výskumnom centre AgroBioTech v Nitre. Hustotu prieduchov sme vyhodnotili na ploche 1 mm⁻² zo vzťahu: $F = z / a^2$ štruktúr, F = hustota prieduchov, z = počet štruktúr, a^2 = plocha štvorca (1 mm⁻²). **Veľkosť listovej plochy** (mm⁻²) sme sledovali deštrukčnou metódou na 5 a 6 liste od povrchu pôdy pomocou prístroja Area Meter AM300.

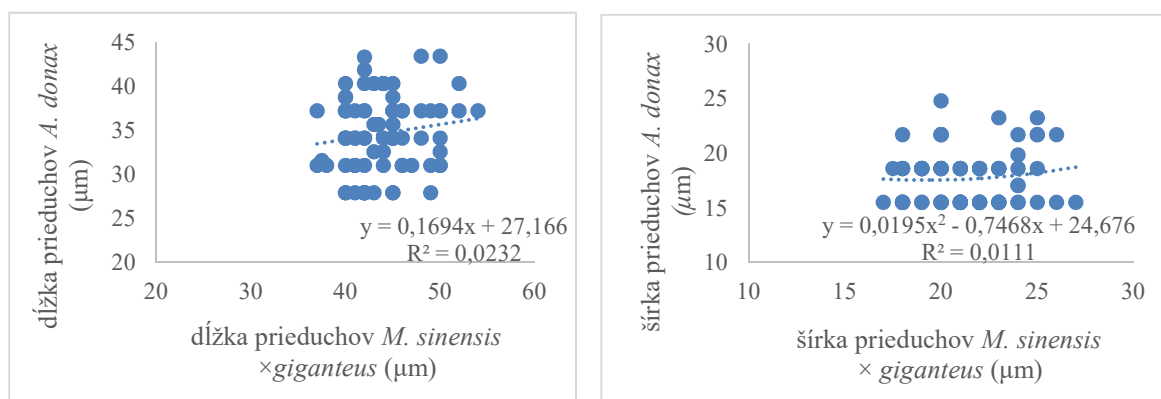
Štatistická analýza - základné štatistické hodnotenie sme realizovali v prostredí programu Statgraphics Centurion. Pri analýze hustoty prieduchov sme na testovanie rozdielov medzi sledovanými faktormi použili viacfaktorovú analýzu rozptylu, štatisticky preukazné rozdiely sa testovali LSD testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Charakteristiky pokožky a prieduchového aparátu - Analýza mikroreliefov dovolila hodnotiť usporiadanie a tvary prieduchov skúmaných druhov a potvrdila (obr. 1), že prieduchy sú typu *Graminae* so zatváracími bunkami piškótovitého tvaru usporiadané v pravidelných radoch. Výsledky hodnotenia priemerného počtu prieduchov na odlišných stranách pokožky poukázali na väčšiu variabilitu u ozdobnice čínskej 142/345 (adax/abax) v porovnaní s trsteníkom 203/256 (adax/abax). Štatistická analýza potvrdila, že počet prieduchov skúmaných taxónov bol štatisticky významne ovplyvnený adaxiálnym a abaxiálnym povrchom pokožky ($LSD_{0,05\text{test}} \pm 14,55; 29,02$). Tieto údaje korešpondujú s našimi štúdiami na dvoch genotypoch energetických tráv *M. sinensis* (Tatai) a *M. sinensis* × *giganteus* /5/. Podobné výsledky boli potvrdené aj z iných klimatických regiónov, kde autori /14/ našli koreláciu medzi počtom prieduchov adaxiálneho a abaxiálneho povrchu aj v závislosti na nadmorskej výške. Počet prieduchov na adaxiálnej strane pokožky *Miscanthus* z vysokohorských lokalít bol v porovnaní s nížinnými lokalitami preukazne nižší. Pokožka *A. donax* bola hodnotená aj v práci britských autorov /12/, pričom počet prieduchov na mm^{-2} bol výrazne heterogénny (59 až 511).



Obr. 1: Prieduch adaxiálnej pokožky listu *Arundo donax* a *Miscanthus sinensis* × *giganteus*



Graf. 1: Biometrické hodnotenie vzťahov medzi dĺžkou a šírkou prieduchov (μm) *Arundo donax* a *Miscanthus sinensis* × *giganteus*

Medzi dĺžkou prieduchov *A. donax* a *M. sinensis* × *giganteus* sme zistili nízku korelačnú závislosť ($r=0,15$), rovnako aj medzi šírkou prieduchov ($r=0,10$) (Graf 1).

Z hodnotenia morfometrických znakov prieduchov (Tab. 1-3) vyplynulo, že najväčšiu dĺžku prieduchov *A. donax* mali listy orientované na východ (Tab. 2) a pri genotype *M. sinensis* × *giganteus* na juh a sever (Tab. 3).

Tab: 1: Morfometrické charakteristiky prieduchov adaxiálnej a abaxiálnej pokožky *Arundo donax* a *Miscanthus sinensis* × *giganteus*

	<i>Arundo donax</i>		<i>Miscanthus sinensis</i> × <i>giganteus</i>	
	Dĺžka prieduchov (μm)	Šírka prieduchov (μm)	Dĺžka prieduchov (μm)	Šírka prieduchov (μm)
Adaxiálna pokožka	44,5 ± 4,62	20,9 ± 2,56	35,6 ± 1,90	19,2 ± 0,50
Abaxiálna pokožka	43,2 ± 3,01	21,7 ± 2,22	32,2 ± 1,15	16,7 ± 0,78

Tab: 2: Morfometrické charakteristiky prieduchov adaxiálnej a abaxiálnej pokožky *Arundo donax* v závislosti na svetových stranách

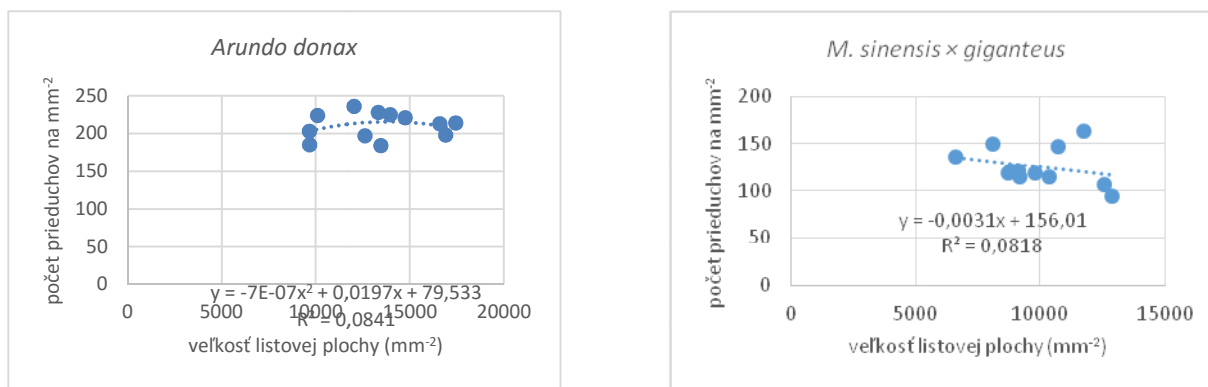
	Orientácia listu v trse							
	Sever		Juh		Východ		Západ	
	Dĺžka (μm)	Šírka (μm)	Dĺžka (μm)	Šírka (μm)	Dĺžka (μm)	Šírka (μm)	Dĺžka (μm)	Šírka (μm)
Adaxiálna pokožka	44,2± 4,18	18,8± 1,50	44,8 ± 6,00	22,4± 2,51	45,1± 3,37	22,8± 1,99	43,9± 4,94	19,4± 1,51
Abaxiálna pokožka	42,6± 2,46	21,3± 2,24	43,0± 3,00	21,3± 1,94	44,9± 3,69	22,2± 2,11	42,4± 2,51	22,1± 2,76

Tab: 3: Morfometrické charakteristiky prieduchov adaxiálnej a abaxiálnej pokožky *Miscanthus sinensis* × *giganteus* v závislosti na svetových stranách

	Orientácia listu v trse							
	Sever		Juh		Východ		Západ	
	Dĺžka (μm)	Šírka (μm)	Dĺžka (μm)	Šírka (μm)	Dĺžka (μm)	Šírka (μm)	Dĺžka (μm)	Šírka (μm)
Adaxiálna pokožka	33,7± 3,12	19,8± 2,99	38,6 ± 3,45	18,6± 2,83	35,7± 1,79	19,0± 1,78	37,5± 3,33	19,2± 2,09
Abaxiálna pokožka	33,6± 5,17	16,4± 1,50	32,5± 3,88	17,8± 2,45	31,5± 1,80	16,3± 1,32	31,0± 3,27	16,1± 1,31

Štatisticky preukázaný rozdiel sme potvrdili pri počte prieduchov listov *A. donax* medzi jednotlivými svetovými stranami ($\text{LSD}_{0,05 \text{ test}} \pm 17,22$), s výnimkou východu a západu. Pri genotype *M. sinensis* × *giganteus* sme zaznamenali štatisticky preukázaný rozdiel medzi listami orientovanými na východ a sever ($\text{LSD}_{0,05 \text{ test}} \pm 29,62$), východ a juh ($\text{LSD}_{0,05 \text{ test}} \pm 17,77$), východ a západ ($\text{LSD}_{0,05 \text{ test}} \pm 23,70$).

Nízke korelačné závislosti medzi počtom prieduchov na mm^{-2} ($r=0,29$) a veľkosťou listovej plochy v mm^{-2} ($r=0,29$) sme zaznamenali u oboch sledovaných taxónov (Graf 2).



Graf 2: Biometrické hodnotenie vzťahov medzi počtom prieduchov na mm⁻² a veľkosťou listovej plochy v mm⁻² *Arundo donax* a *Miscanthus sinensis* × *giganteus*

LITERATÚRA

- /1/ Angelini, L., G., Ceccarini, L., Bonari, E.: Biomass yield and energy balance of giant reed (*Arundo donax* L.) cropped in central Italy as related to different management practices. *Eur. J. Agron.*, 22, 2005: 375-389.
- /2/ Franks, P. J., Drake, P. L., Beerling, D. J.: Plasticity in maximum stomatal conductance constrained by negative correlation between stomatal size and density: an analysis using *Eucalyptus globulus*. *Plant Cell Environ.*, 32, 2009: 1737-1748.
- /3/ Heaton, E. et al.: *Miscanthus*: A promising Biomass crop. *Advances in Botanical research*, 56, 2010: 76-124.
- /4/ Jureková, Z., Kotrla, M., Pauková, Ž.: Life cycle of *Miscanthus* × *giganteus* (Greef et Deu) grown in South-Western Slovakia conditions. *Acta regionalia et environmentalica*, 10, 2, 2013: 40-43.
- /5/ Jureková, Z., Kotrla, M., Pauková, Ž., Prčík, M.: The growth and yield of different *Miscanthus* genotypes in the conditions of South-Western Slovakia. *Acta regionalia et environmentalica*, 9, 2, 2012: 29-34.
- /6/ Lake, J. A., Woodward, F. I.: Response of stomatal numbers to CO₂ and humidity: control by transpiration rate and abscisic acid. *New Phytologist*, 2008: 397-404.
- /7/ Lewandowski, I., Scurlock, J.M.O., Lindwal, E., Christou, M.: The development and current status of perennial rhizomatous grasses as energy crops in the US and Europe. *Biomass&Bioenergy*, 25, 2003: 335-336.
- /8/ Pauková, Ž., Jureková, Z.: Rast a tvorba biomasy sadeníc *Arundo donax* na juhozápadnom Slovensku. *Fast-growing trees and plants growing for energy purposes*. 2017.
- /9/ Pazourek, J.: Studium listové epidermis mikroreliefovou metódou. *Preslia*, 35, 1963: 210-216.
- /10/ Richardson, A. D., Ashton, P.M.S., Berlyn, G. P., McGrody, M. E., Cameron, I. R.: Within – crown foliar plasticity of western hemlock, *Tsuga heterophylla*, in relation to stand age. *Annals of Botany*, 88, 2001: 1007-1015.
- /11/ Rossa, B., Tuffers, A.V., Naidoo, G., von Willert, D. J.: *Arundo donax* L. (*Poaceae*) – a C3 species with unusually high photosynthetic capacity. *Bot. Acta*, 111, 1998: 216-221.
- /12/ Taylor, S. H. et al. : Photosynthetic pathway and ecological adaptation explain stomatal trait diversity amongst grasses. *New Phytologist*, 2012: 387-396.
- /13/ Vogel, K.P., Jung, H.G. Genetic modification of herbaceous plants for feed and fuel. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 20, 2001: 15-49.
- /14/ Weng, J. H., Hsu, F. H.: Gas exchange and epidermal characteristics of *Miscanthus* populations in Taiwan varying with habitats and nitrogen application. *Photosynthetica*, 39, 1, 2001: 35-41.
- /15/ Woodward, F. I., Kelly, C. K.: The influence of CO₂ concentration on stomatal density. *New Phytologist Trust*, 1995: 311-327.

Pod'akovanie

Táto práca bola podporovaná Agentúrou VEGA pod registračným číslom projektu 1/0767/17 a projektom AgroBioTech ITMS 26220220180.

HODNOTENIE VPLYVU EXTRAKTU VÝHONKOV REPY CUKROVEJ NA KLÍČIVOSŤ A RAST PŠENICE LETNEJ

STUDY ON ALLELOPATHY OF SUGAR BEET SHOOT EXUDATES ON GERMINATION AND GROWTH OF WHEAT

Beáta Piršelová, Libuša Lengyelová, Ľudmila Galuščáková, Roman Kuna
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 experiment was carried out to test the allelopathic effects of sugar beet (*Beta vulgaris*, cv. Tatry) shoot extracts (5 and 10 g / l) on germination and growth of roots of three varieties of wheat (*Triticum aestivum*, cv. IS Spirella, cv. IS Mandala and cv. IS Laudis). The germination of seeds of the tested wheat varieties was inhibited by 16-23 %. The given inhibitory effect was manifested in both the germination and root growth phase, we recorded the reduction of the root length and the decrease of the fresh weight of all tested varieties. On the other hand, by applying the dry matter of the shoots to the soil substrate at doses of 10 and 20 g/kg of soil, we observed the stimulation effect on the growth of wheat cv. IS Mandala, which resulted in an increase of length of the shoots and an increase in chlorophyll a by 39 %, chlorophyll b by 27 % and carotenoids by 35,5 % (due to a higher dose). The obtained results can contribute to the correct choice of agro-ecological practices for wheat production.

Key words: sugar beet, wheat, allelopathy, growth

Súhrn

Experimenty boli zamerané na hodnotenie alelopatických účinkov extraktov výhonkov (5 a 10 g/l) repy cukrovej (*Beta vulgaris*, cv. Tatry) na klíčenie a rast koreňov troch odrôd pšenice letnej (*Triticum aestivum*, cvs. IS Spirella, IS Mandala a IS Laudis). Klíčivosť semien testovaných odrôd pšenice bola inhibovaná o 16-23 %. Daný inhibičný účinok sa prejavil vo fáze nakličovania aj na raste koreňov, zaznamenali sme skrátenie koreňov a pokles ich čerstvej hmotnosti. Aplikáciou sušiny výhonkov do pôdneho substrátu v dávkach 10 a 20 g/kg pôdy sme zaznamenali naopak stimulačný účinok na rast pšenice cv. IS Mandala, ktorý sa prejavil nárastom výhonkov a zvýšením obsahu chlorofylu *a* o 39 %, chlorofylu *b* o 27 % a karotenoidov o 35,5 % (vplyvom vyššej dávky). Získané výsledky môžu prispieť k správnej voľbe agroekologických postupov pri pestovaní pšenice.

Kľúčové slová: repa, pšenica, alelopatia, rast

ÚVOD

Jednou z možností zvýšenia produktivity plodín je využitie vzájomných interakčných vzťahov medzi rastlinami, známych pod pojmom alelopatia /1/. Alelopatiou je všeobecne označovaný špecifický vplyv jedného druhu rastlín na klíčenie, rast a vývoj iného druhu prostredníctvom tzv. alelochemikálií /2/.

Alelopatická inhibícia je komplexná a zahŕňa interakciu rôznych chemických látok, pričom ich účinok je zvyčajne nešpecifický: nízka koncentrácia a krátkodobý účinok stimuluje všetky procesy, pri vyššej koncentrácii a dlhšom pôsobení je životná aktivita potlačená, až zastavená. Alelopatiu ako prostriedok súťaživosti využíva mnoho rastlín

s cieľom získať výhody v kompetenčných vzťahoch, pričom alelopatické účinky sa často prejavujú aj na necielených druhoch /2/.

Výsledky štúdií vplyvu alelopatických účinkov rastlín na rast iných rastlín sú často kontroverzné, nakoľko konečný efekt alelopatie závisí od množstva pôsobiacich alelochemikálií a tiež od aktuálnych podmienok prostredia (napr. vlhkosť a zloženie pôdy, hustota porastu, množstvo svetla atď.) a tiež od vývinového štádia akceptorovej rastliny /3/.

Alelochemikálie repy cukrovej sú zatiaľ málo preskúmané, prejavujú väčšinou výrazný inhibičný účinok na klíčenie a rast viacerých plodín /4, 5/. V listových extraktoch cukrovej repy (*Beta vulgaris*, cv. Cical) bolo identifikovaných a kvantifikovaných osem fenolických zložiek, ako je šikimová kyselina, gáfor, kyselina hydroxybenzoová, p-kumarová a vanilínová a taktiež stopové množstvá kumarínu a protokatechovej kyseliny /6/. Zistilo sa, že tieto fenolové kyseliny zohrávajú dôležitú úlohu v alelopatických interakciách a výrazne vplývajú na rast niektorých obilnín a burín. Správne zaradenie repy cukrovej do osevného postupu je jedným z predpokladov vyššej úrody a kvality a obmedzuje rozšírenie chorôb a škodcov, hlavne háďatka repného, k čomu dochádza pri prekročení 25 % zastúpenia na ornej pôde. Cukrová repa patrí v rastlinnej výrobe k významným plodinám, ktoré v osevnom postupe pozitívne ovplyvňujú pôdne prostredie, potláčanie burín a kvalitu následnej produkcie /7/.

Cieľom našich analýz bolo zhodnotiť vplyv vodného extraktu výhonkov repy cukrovej na rast vybraných odrôd pšenice letnej.

MATERIÁL A METÓDA

V rámci experimentov sme testovali alelopatický účinok extraktov výhonkov repy cukrovej (*Beta vulgaris*, cv. Tatry) na rast pšenice letnej (*Triticum aestivum*, cvs.: IS Spirella, IS Mandala, IS Laudis) v dvoch fázach:

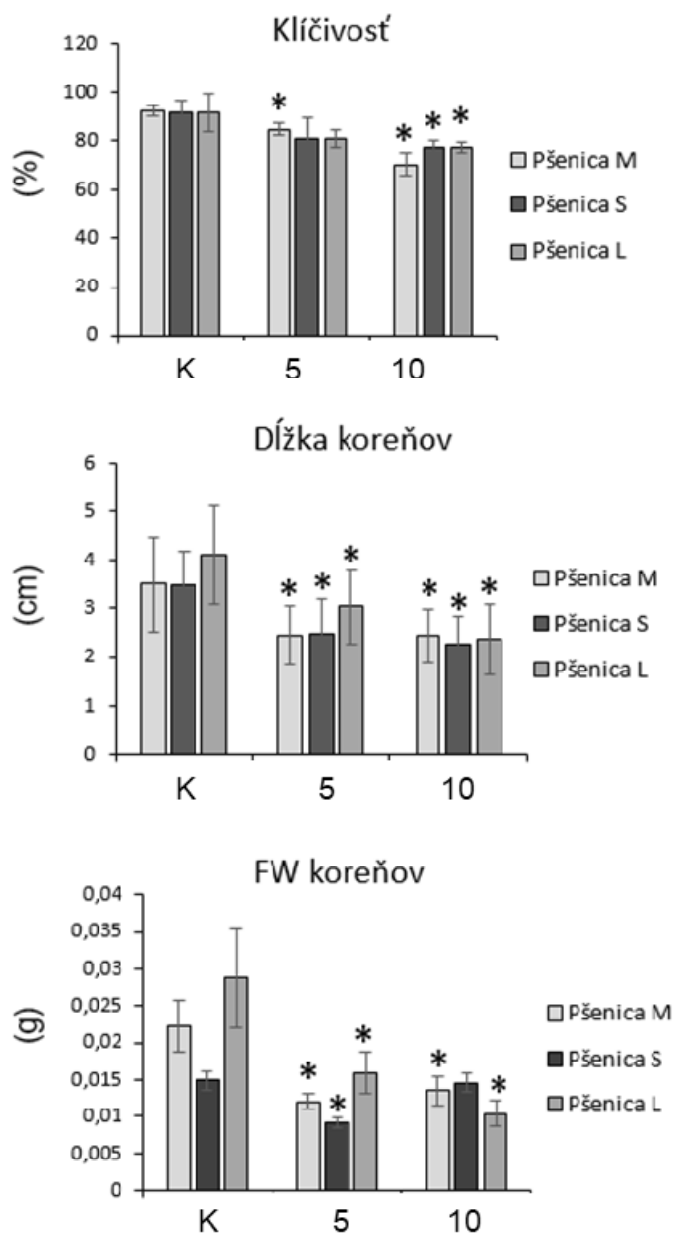
1. Fáza nakličovania: Semená jednotlivých odrôd pšenice letnej sme umiestnili na dve vrstvy filtračného papiera a zaliali destilovanou vodou (kontrola) a vodnými výluhmi výhonkov repy cukrovej (5 g/l a 10 g/l). Po 4 dňoch nakličovania sme stanovili nasledovné parametre: klíčivosť, dĺžka koreňov a čerstvá hmotnosť koreňov (FW). Extrakty z výhonkov repy boli získané 24 hodinovou extrakciou v destilovanej vode.
2. Nádobové pokusy: V rámci nádobových pokusov sme sledovali účinok sušiny repy cukrovej zapracovaný do pôdneho substrátu v dvoch koncentráciách (10 g/kg pôdy a 20 g/kg pôdy) na rast a metabolizmus pšenice letnej (*Triticum aestivum*, cv. IS Mandala). Po 10 dňoch rastu sme výhonky oddelili od koreňov a stanovili nasledovné parametre: dĺžka výhonkov, čerstvá hmotnosť výhonkov a obsah fotosyntetických pigmentov /8/.

Pokus bol pre každý variant opakovaný 3x. Klíčivosť semien bola stanovená zo 100-120 semien. Získané údaje boli štatisticky spracované pomocou MS EXCEL. Rozdiely medzi súbormi dát boli hodnotené Studentovým t-testom pri hladine $\alpha < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vodný extrakt výhonkov repy cukrovej (10g/l) pôsobil 16-23% inhibíciu klíčenia semien jednotlivých odrôd pšenice (Obr. 1). Nižšia dávka pôsobila inhibične aj na klíčenie semien pšenice odrody IS Mandala (8% inhibícia). Daný inhibičný účinok sa prejavil aj v ďalšej fáze nakličovania. Vplyvom oboch dávok extraktu repy sme zaznamenali skrátenie koreňov (o 26-30% vplyvom nižšej dávky a o 30-43% vplyvom vyššej dávky) a pokles FW (o 28,6-45,5 % vplyvom nižšej dávky a o 39,4 a 63,8 % vplyvom vyššej dávky v prípade odrôd IS Mandala a IS Laudis) (Obr. 1).

Fytotoxické účinky listových a koreňových výťažkov cukrovej repy sa prejavili aj na raste koreňov a výhonkov divokého jačmeňa (*Hordeum spontaneum*), pričom bola zaznamenaná aj 50 % inhibícia klíčivosti semien /4/. Väčšina z testovaných rastlinných druhov, ktoré spôsobili redukciu rastu divokého jačmeňa, pôsobili redukčne aj na rast pšenice. Listové extrakty fazule mungo, cukrovej repy, vigny a požltu spôsobili 40% redukciu rastu koreňov pšenice /4/. Inhibičné účinky extraktov repy cukrovej sa prejavili aj na raste bavlníka /9/.

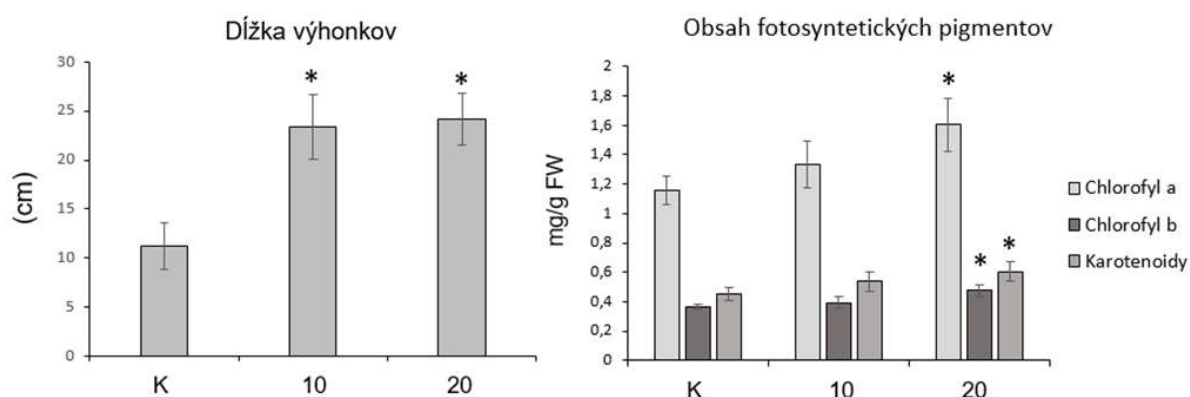


Obr. 1: Vplyv extraktov výhonkov repy cukrovej (5 g/l a 10 g/l) na rastové parametre koreňov troch odrôd pšenice letnej (M - cv. IS Mandala, S - cv. IS Spirella, L - cv. IS Laudis). K – kontrola, FW – čerstvá hmotnosť. * Štatisticky významné rozdiely pri hladine $\alpha < 0,05$.

Vzchádzavosť semien nebola ovplyvnená ani jednou z testovaných dávok sušiny repy, ktorá bola zapracovaná do pôdneho substrátu. Zaznamenali sme však stimulačný účinok testovaných dávok, rastliny boli dvojnásobne vyššie ako kontrola a čerstvá hmotnosť výhonkov bola o 2,3 a 3,1 násobne vyššia (Obr. 2). Štatisticky významne vzrástol aj obsah fotosyntetických pigmentov

vplyvom vyššej dávky: chlorofylu *a* o 39 %, chlorofylu *b* o 27 % a karotenoidov o 35,5 % (Obr. 2).

Vplyv alelochemikálií na fotosyntetickú aktivitu sa môže meniť v závislosti od koncentrácie extraktu a od druhu rastliny z ktorej bol extrakt získaný. Znížený obsah fotosyntetických pigmentov bol napr. preukázaný v listoch cícera a hrachu vplyvom *Chenopodium murale*, 25 % a 50 % vodné roztoky tejto buriny však pôsobia stimulačne na fotosyntetickú aktivitu listov jačmeňa /10/. Na druhej strane fotosyntetická aktivita listov jačmeňa je inhibovaná vodnými extraktmi (25 % a 50 %) *Malva parviflora* /10/.



Obr. 2: Vplyv extraktov výhonkov repy cukrovej (10 g/kg pôdy a 20 g/kg pôdy) na rast (dĺžka výhonkov) a obsah fotosyntetických pigmentov v listoch pšenice letnej (cv. IS Mandala). K – kontrola, FW – čerstvá hmotnosť. * Štatisticky významné rozdiely oproti kontrole pri hladine $\alpha < 0,05$.

Naše výsledky naznačujú, že vodný extrakt výhonkov repy pôsobí inhibične na klíčenie a rast koreňov pšenice letnej vo fáze nakličovania. Aplikácia sušiny výhonkov do pôdy naopak pôsobí stimulačne. V danom prípade ide pravdepodobne o stimuláciu rastu dodaním organickej hmoty do pôdy, ktorá prevažuje nad inhibičnými účinkami extraktov repy. Uvedený rozdiel môže byť tiež daný nerovnakou koncentráciou alelopatických látok v aplikovanom extrakte a sušiny repy. Dané predpoklady je nutné preveriť ďalšími analýzami.

LITERATÚRA

- /1/ Smatana, J., Macák, M., Demjanová, E.: Regulácia zaburinenosti repy cukrovej v agroklimatických podmienkach juhozápadného Slovenska. Listy cukrov. řepář., 127, 2011, 132-137
- /2/ Rice, E.L.: *Allelopathy*. 2nd Edn. Orlando, Florida, USA: Academic Press. 1984, s. 422
- /3/ Dávid, I., Radócz, L.: Az olasz szerbtövis allelopátiájának vizsgálata cukorrépa tesztnövényeken. Agrártudományi Közlemények, 16, 2005, 74-77
- /4/ Miri, H.R.: Allelopathic potential of various plant species on *Hordeum Spontaneum* L. Adv. Environ. Biol., 5, 2011, 3543-3549
- /5/ Dadkhah, A.: Phytotoxic effects of aqueous extract of eucalyptus, sunflower and sugar beet on seed germination, growth and photosynthesis of *Amaranthus retroflexus*. Allelopathy J., 29(2), 2012, 287-296
- /6/ Hegabet, M.M. et al.: Autotoxicity of chard and its allelopathic potentiality on germination and some metabolic activities associated with growth of wheat seedlings. African J. Biotechnol., 7, 2008, 884-892
- /7/ Kováč, K., Klimeková, M.: Pestovanie cukrovej repy pri obmedzených vstupoch v podmienkach ochrany podzemných zdrojov vody. Listy cukrov. řepář., 114(11), 1998, 300 -304
- /8/ Lichtenthaler, H.K., Wellburn, A.R.: Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochem. Society Transactions, 11, 1983, 591-592.
- /9/ Kalburtji, K.L., Gagianas, A.: Effects of sugar beet as a preceding crop on cotton. J. Agron. Crop. Sci., 178(1), 1997, 59-63.

/10/ Al-Johani N.S., Aytah, A.A., Boutraa, T.: Allelopathic impact of two weeds, *Chenopodium murale* and *Malva parviflora* on growth and photosynthesis of barley (*Hordeum vulgare*). Pak. J. Bot., 44, 2012, 1865-1872

Pod'akovanie

Práca bola podporená projektom VEGA 1/0415/18.

TRENDY FENOLOGICKÝCH PROJEVŮ ROSTLIN**TRENDS OF PHENOLOGICAL MANIFESTATIONS OF PLANTS**

Eva Stehnová¹, Jana Klimešová², Hana Středová¹, Tomáš Středa²

¹ Mendelova univerzita v Brně, ústav aplikované a krajinné ekologie, Zemědělská 1, 613 00, Brno – Černá Pole, eva.stehnova@mendelu.cz

² Mendelova univerzita v Brně, ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství, Zemědělská 1, 613 00, Brno – Černá Pole

Summary

The Mann-Kendall test was performed for the phenological phases, agrotechnical operations, intervals between the individual phenophases and the lengths of the vegetation period. Analysis was carried out for winter wheat, spring barley, maize and rapeseed within location Branišovice. It was found that the most significant trends were found in maize. The analysis showed that there was an earlier sowing of maize by 13 (1961–1990) and 18 (1991–2012) days. This is also connected with earlier occurrence of the phenological phases emergence and heading.

Key words: Mann-Kendall test, Branišovice, winter wheat, spring barley, maize, rapeseed

Souhrn

V rámci analýzy byl proveden Mann-Kendalův test pro nástupy fenologických fází, agrotechnické operace, délky intervalů mezi fenofázemi a délky vegetačního období. Analýza byla provedena pro pšenici ozimou, ječmen jarní, kukuřici setou, brukev řepku olejku v rámci fenologické stanice Branišovice. Bylo zjištěno, že největší četnost vysoce významných a významných trendů byla nalezena u kukuřice seté. Bylo zjištěno, že dochází k dřívějšímu výsevu kukuřice a to o 13 (1961–1990) a 18 (1991–2012) dnů a s tímto souvisí i dřívější nástup fenologických fází vzcházení a metání.

Klíčová slova: Mann-Kendalův test, Branišovice, pšenice ozimá, ječmen jarní, kukuřice setá, brukev řepka olejka

ÚVOD

Fenologická pozorování mají v České republice dlouholetou tradici. V současnosti máme k dispozici data z fenologických stanic od roku 1923, kdy byla pozorování zahájena /1/. V rámci fenologických pozorování jsou pozorovány nástupy fenologických fází. V rámci návodu pro činnost fenologických stanic je fenologická fáze definovaná jako určitý zevně dobře rozpoznatelný, zpravidla každoročně se opakující projev vývinu orgánů rostlin /2/. Fenologická data mají širokou škálu využití jak ve vědeckých kruzích, tak i v zemědělské praxi. Dlouhodobé řady fenologických pozorování mohou sloužit k: studiu změny klimatu /3,4/, stanovení ochranného vlivu vegetace v protierozní ochraně půdy /5/, monitoringu výskytu a redukci dopadů sucha /6/, predikci patogenů /7/, stanovení termínu pro aplikaci přípravků na ochranu rostlin /8/, optimalizaci závlah během kritických fází růstu plodin /9/, stanovení aktuálních pylových alergenů /10, 11/ a agrometeorologickému modelování v rámci modelu AVISO /12/.

MATERIÁL A METODA

Pro vyhodnocení trendů v rámci fenologických datových řad byl použit Mann-Kendalův test. Tento statistický nástroj je velmi často využíván ve vědeckých oborech, které se zabývají životním prostředím. Pokud jsou hodnoty $P < 0,01$ jedná se o statisticky vysoce významný lineární trend a jestliže jsou hodnoty $P < 0,05$ jedná se o významný lineární trend.

V rámci analýzy byla hodnocena fenologická data pro dvě dlouhodobá období (1961–1990 a 1991–2012) pro fenologickou stanici Branišovice (180 m n. m.; průměrná roční teplota vzduchu 9–10°C, průměrný úhrn srážek 450–500mm /13/). Trendová analýza byla provedena pro hlavní zemědělské plodiny: pšenici ozimou (*Triticum aestivum*), ječmen jarní (*Hordeum vulgare* L.), kukuřici setou (*Zea mays*) a brukev řepku olejku (*Brassica napus* var. *napus*). U jednotlivých plodin byly analyzovány vybrané fenologické fáze a agrotechnické operace (Tab. 1). Popis jednotlivých fenologických fází je uveden v Metodickém předpisu ČHMÚ č. 2 (Návod pro činnost fenologických stanic polních plodin). V práci byly hodnoceny trendy nástupů jednotlivých fenologických fází, vegetační období (VO tj. období od setí do sklizně) a délky intervalů mezi nástupy jednotlivých fenologických fází.

Tab. 1: Sledované fenologické fáze u analyzovaných plodin včetně použitých zkratk

Plodina	Analyzované fenologické fáze a agrotechnické operace (zkratka)
pšenice ozimá, ječmen jarní	setí (ST), vzcházení (VZ), odnožování (OD), metání (ME), plná zralost (ZP), sklizeň (SK)
kukuřice setá	setí (ST), vzcházení (VZ), metání (ME), kvetení samčích květů (KA), sklizeň (SK)
brukev řepka olejka	setí (ST), počátek prodlužování stonku (PP), konec kvetení (KK), sklizeň (SK)

VÝSLEDKY A DISKUSE

V rámci Mann-Kendalova testu byl u **pšenice ozimé** nalezen vysoce významný lineární trend u fenologické fáze odnožování (tab. 2). Bylo zjištěno, že tato fenofáze se po roce 1971 objevuje až na jaře následujícího roku.

U **ječmene jarního** bylo zjištěno, že v období 1961–1990 dochází k pozdější realizaci sklizně a to o 13 dnů. Ječmen jarní je na stanici Branišovice sklizen v průměru 205. den v roce tj. 24.8.

Analýza trendů **kukuřice seté** ukázala, že v období 1961–1990 docházelo k dřívějšímu výsevu kukuřice a to o 13 dnů. Tento trend byl potvrzen i v období 1991–2012, kde bylo zjištěno, že výsev je o 18 dnů dříve než v roce 1991. S tímto souvisí i dřívější nástup fenologické fáze vzcházení (v roce 1990 o 7 dnů dříve než v roce 1961). Tento trend byl potvrzen i v následujícím období, kdy bylo zjištěno, že v roce 2008 nastává vzcházení kukuřice seté o 17 dnů dříve než v roce 1991. Dál byl zjištěn významný lineární trend u fenologické fáze metání, kde bylo zjištěno, že v roce 1990 nastává tato fenologická fáze o 12 dnů dříve než v roce 1960. Významný trend byl zjištěn i u sklizně kukuřice. Bylo zjištěno, že je sklizeň realizována později než v roce 1991.

Při analýze fenologických dat **brušky řepky olejky** nebyl nalezen žádný významný trend v nástupu fenologických fází.

U **pšenice ozimé** byl významný trend zjištěn u počtu dnů mezi odnožováním-metáním. Vysoce významný trend byl zjištěn mezi vzcházením-odnožováním v letech 1961–1990. Dále byl zjištěn vysoce významný trend u intervalu mezi plnou zralostí-sklizní a to v obou analyzovaných obdobích. Bylo zjištěno, že dochází ke zvyšování počtu dnů mezi plnou zralostí a sklizní (o 6 dnů v období 1961–1990 a o 17 v období 1991–2012).

Tab. 2: Mann-Kendalův test pro fenologické fáze

Pšenice ozimá						
FF	ST	VZ	OD	ME	ZP	SK
1961–1990	0,543	0,617	0,003**	0,173	0,224	0,971
1991–2012	0,216	0,417	0,928	0,467	0,183	0,183
Ječmen jarní						
1961–1990	0,419	0,201	0,844	0,802	0,203	0,032*
1991–2012	0,586	0,517	0,726	0,586	0,395	0,164
Kukuřice setá						
FF	ST	VZ	ME	KA	SK	
1961–1990	0,003**	0,038*	0,022*	-	-	
1991–2012	0,025*	0,022*	0,934	0,760	0,023*	
Brukev řepka olejka						
FF	ST	PP	KK	SK		
1961–1990	-			-		
1991–2012	0,130	0,133	0,452	0,06		

** Vysoce významný lineární trend; * Významný lineární trend.

Dále bylo zjištěno, že u **ječmene jarního** docházelo v období 1961–1990 k prodlužování VO. Při porovnání délky VO mezi roky 1961 a 1990 bylo zjištěno, že VO bylo v roce 1990 delší a to o 33 dnů. V následujícím období (1991–2012) nebyl tento trend potvrzen. V období 1991–2012 bylo zjištěno, že dochází ke zkracování počtu dní mezi fenologickými fázemi vzházení–odnožování a to o 8 dnů. Vysoce významný lineární trend byl zjištěn u počtu dnů mezi plnou zralostí–sklízni (prodloužení intervalu o 8 dnů podle roku 1960).

U **kukuřice seté** byl vysoce významný trend zjištěn v období mezi fenologickými fázemi vzházení–metání. Bylo zjištěno, že v období 1991–2012 dochází k prodloužení doby mezi těmito fenologickými fázemi a to o 17 dnů podle roku 1991. Dále dochází ke zkrácení počtů dnu mezi fenologickými fázemi metání a počátek kvetení samčích květů a to o 2 dny. Významný trend byl zjištěn i mezi počátkem kvetení samčích květů a sklízni a to o 39 dnů. Vysoce významný lineární trend byl zjištěn i u délky VO. Dochází k prodlužování VO u kukuřice.

Při analýze dat **brukve řepky olejky** nebyl zjištěn žádný významný trend v rámci intervalů mezi fenofázemi a délkou VO.

Tab. 3: Hodnoty Mann-Kendalova testu pro intervaly mezi fenologickými fázemi, agrotechnickými operacemi a VO

Pšenice ozimá						
FF	ST-VZ	VZ-OD	OD-ME	ME-ZP	ZP-SK	VO
1961–1990	0,566	<0,0001**	0,045*	0,943	0,007**	0,442
1991–2012	0,310	0,607	0,739	0,430	0,004**	0,183
Ječmen jarní						
1961–1990	0,199	0,080	0,541	0,440	0,0002**	0,005**
1991–2012	1,000	0,021*	0,691	0,180	0,248	0,198
Kukuřice setá						
FF	ST-VZ	VZ-ME	ME-KA	KA-SK	VO	
1961–1990	0,488	0,881	-	-	-	
1991–2012	0,278	0,004**	0,032*	0,019*	0,007**	
Brukev řepka olejka						
FF	ST-PP	PP-KK	KK-SK	VO		
1961–1990	-			-		
1991–2012	0,462	0,133	0,452	0,086		

** Vysoce významný lineární trend; * Významný lineární trend.

Důsledky globální změny klimatu spojené s nárůstem teploty vzduchu lze v různých biologických systémech pozorovat již nyní /14/. Na základě zvyšující se teploty vzduchu dochází k ovlivňování a časové variabilitě jednotlivých vývojových fází rostlin /15/. Vědecké práce upozorňují na fakt, že kvůli změně klimatu bude docházet k prodlužování VO. Udává se, že je v současnosti sledován významný trend, kdy dochází k v prodlužování VO o 3,26 dnů za desetiletí /17/. Jiní autoři uvádí, že do roku 2020 dojde k prodloužení VO o 21 dnů a do roku 2050 půjde o prodloužení VO až o jeden měsíc /16/. Trend v prodlužování VO byl

potvrzen u kukuřice seté a ječmene jarního. Zásadní dopad na „nastartování“ vegetačního období má trend zvyšování průměrné teploty vzduchu v lednu a únoru o 1 °C. Při oteplení vzduchu o 1°C ve zmíněném období dochází k dřívějšímu nástupu VO a to konkrétně o 7 dnů /18/. Toto může mít vliv na dřívější výsev zemědělských plodin. Významný trend dřívějšího výsevu byl zjištěn u kukuřice seté.

LITERATURA

- /1/ Nekovář, J., Rožnovský, J.: Fenologická služba Českého hydrometeorologického ústavu. In: Fenologická odezva proměnlivosti podnebí, Brno 22.3.2006 [CD]. Praha: Český hydrometeorologický ústav, 2006.
- /2/ Valter, J.: Metodický předpis č. 2 – Návod pro činnost fenologických stanic. Polní plodiny. Praha: Český hydrometeorologický ústav, 1982.
- /3/ 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.
- /4/ Škvarenina, J., Tomlain, J., Hrvol, J., Škvareninová, J., Nejedlik, P.: Progress in dryness and wetness parameters in altitudinal vegetation stages of West Carpathians: Time-series analysis 1951–2007. *Időjárás*, 113, 2009: 47–54.
- /5/ Stehnová, E., Středová, H.: Fenologie řepy cukrové v kontextu rizika vodní eroze. *Listy cukrovarnické a řepářské*, 132(12), 2016: 380–386.
- /6/ Svačina, P., Středa, T., Chloupek, O.: Uncommon selection by root system size increases barely yield. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(2), 2014: 545–551.
- /7/ Středa, T., Vahala, O., Středová, H.: Prediction of adult western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte) emergence. *Plant Protection Science*, 49, 2013: 89–97.
- /8/ Krédl, Z., Středa, T., Pokorný, R., Kmoč, M., Brotan, J.: Microclimate in the vertical profile of wheat, rape and maize canopies. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 60(1), 2012: 79–90.
- /9/ Kohut, M., Rožnovský, J., Křozová, G.: Comparison of actual evaporation from water surface measured by GGI-3000 evaporimeter with values calculated by the Penman equation. *Contributions to Geophysics and Geodesy*, 44(3), 2014: 231–240.
- /10/ Stehnová, E., Středová, H., Rožnovský, J., Středa, T.: Phenological observations and their possible use within the monitoring allergens. In: *Public recreation and landscape protection – with nature hand in hand*. Brno: Mendel University in Brno, 2017: 241–248.
- /11/ Stehnová, E., Středová, H., Středa, T.: Determination of the Time of Occurrence of Selected Allergens with Using Long-Term Phenological Series. In: *Public recreation and landscape protection – with nature hand in hand!* Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2018: 103–108.
- /12/ Chuchma, F., Středová, H., Středa, T., Rožnovský, J., Svejčková, A.: Aktualizace klimatických regionů v rámci systému bonitovaných půdně ekologických jednotek. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2017.
- /13/ Tolazs, R.: *Atlas podnebí Česka*. Praha: Český hydrometeorologický ústav, 2007. ISBN 978-80-86690-26-1.
- /14/ Parmesan, C., Yohe, G.: A globally coherent fingerprint of climate change impacts Gross natural systems. *Nature*, 421, 2003: 37–42.
- /15/ Cleland, E.E., Chuine, I., Menzel, A., Mooney, H.A., Schwartz, M.D.: Shifting plant phenology in response to global change. *Trend in Ecology and Evolution*, 22(7), 2007: 357–365.
- /16/ Chmielewski, F.M., Heider, S., Moryson, S., Bruns, E.: International Phenological Observation Networks: Concept of IPG and GPM. In: *Phenology: an integrative environmental science*. Dordrecht: Springer, 2013.
- /17/ Šiška, B., Takáč, J.: *Klimatická zmena a pôľnohospodárstvo Slovenskej republiky: dôsledky, adaptačné opatrenia a možné riešenia*. Bratislava: Slovenská bioklima-tologická spoločnosť, 2008.
- /18/ Chmielewski, F.M., Rötzer, T.: Response of Tree Phenology to Climate Change Across Europe. *Agricultural and Forest Meteorology*, 2001, 108: 101–112.

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory výzkumného projektu QJ1530181.

REAKCE RŮZNÝCH DRUHŮ BOROVIC NA OŠETŘENÍ CHLADNÝM PLAZMATEM

RESPONSE OF PINE SEEDS TO NON THERMAL PLASMA TREATMENT

Božena Šerá¹, Anna Zahoranová², Michal Šerý³

¹ Přírodovědecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Ilkovičova 6, Bratislava

² Fakulta matematiky, fyziky a informatiky, Univerzita Komenského v Bratislave, Mlynská Dolina, 842 48 Bratislava

³ Pedagogická fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Jeronýmova 10, České Budějovice

Summary

The influence of non thermal plasma treatment (using Diffuse Coplanar Surface Barrier Discharge) on seeds of different pine species was studied. Seedling growth of *Pinus silvestris*, *P. mugo* and *P. nigra* was monitored after treatment time 0 s, 1 s, 5 s, 10 s, 30 s, 60 s in laboratory conditions. It was found that pine seeds respond to stresses in different ways. Positive reaction was recorded in *P. nigra* after 1 s exposure.

Key words: pine seedlings, stress, non thermal plasma treatment, early growth

Souhrn

Príspevek studuje reakci semen různých druhů borovic na ošetření netermálním plazmatem (s použitím Difúzního Koplanárního Povrchového Bariérového Výboje). Pokus probíhal v laboratorních podmínkách. Sledován byl index vitality semenáčků borovice lesní (*Pinus silvestris*), borovice kleče (*P. mugo*) a borovice černé (*P. nigra*) po ošetření semen s časem expozice: 0 s, 1 s, 5 s, 10 s, 30 s, 60 s. Bylo zjištěno, že semena borovic reagují na způsobený stres různým způsobem. Pozitivní reakce byla zaznamenána u borovice černé po expozici 1 s.

Klíčová slova: semenáčky borovic, stres, ošetření netermálním plazmatem, počáteční růst

ÚVOD

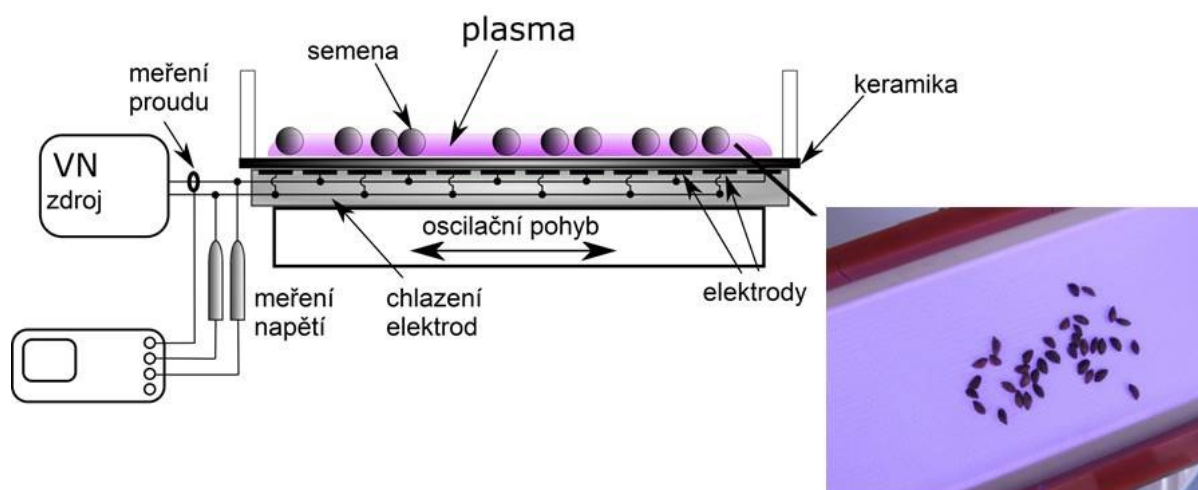
Plazmové technologie patří mezi fyzikální metody, které se studují ohledně možného ošetřování různých druhů především semen v semenářství a zemědělství. O možném použití netermálního plazmatu na semena dřevin pojednává jen málo vědeckých prací, např. o jehličnanech /3, 6, 7/ a o listnácích /1, 5, 12, 13/. Navíc plazmové technologie lze použít pro dezinfekci různých povrchů /např. 12/.

Motivačním impulsem pro vznik tohoto příspěvku bylo přispět k většímu poznání možné stimulace (případně inhibice růstu nebo stresové odezvy) netermálním plazmatem u semen nahosemenných rostlin. Jako modelový organismus byl vybrán rod borovice, který je charakteristický velkou ekologickou plasticitou a je to běžný hospodářsky využívaný taxon. Předložený text popisuje předběžné výsledky ze série pokusů zaměřených na ošetření semen borovic netermálním plazmatem.

MATERIÁL A METODA

Semena borovic (*Pinus silvestris* L., *P. mugo* Turra and *P. nigra* Arnold) byla dodána firmou Lesy SR š.p. OZ Semenoles. Semena byla ošetřena netermálním plazmatem generovaným pomocí difuzního koplanárního povrchového bariérového výboje, známého pod

zkratkou DCSBD (z angl.. Diffuse Coplanar Surface Barrier Discharge). DCSBD je planárním zdrojem plazmatu, plazma hoří ve vzduchu za atmosférického tlaku a je makroskopicky homogenní. Celková aktivní plocha plazmatu byla 20 cm x 8 cm. Napájecí napětí bylo 20 kV (měřené pík-pík), frekvence 14 kHz a celkový příkon byl 400 W. Při opracování byla semena umístěna na povrch keramiky (Graf 1), přičemž výbojka se pohybovala rotačním pohybem s rychlostí 330 ot/min a semena se homogenně pohybovala v plazmovém poli. Detailně je DCSBD popsán v práci Černák a kol. /2/. Aparatura je znázorněna na Grafu 1.



Graf. 1: Schématické zobrazení aparatury na opracování plazmatem, vpravo fotografie semen během hoření plazmatu na povrchu výbojky.

V den ošetření semen byl založen pokus na počáteční růst v laboratorních podmínkách. Pro každé ošetření plazmatem bylo použito 150 semen a 5 Petriho misek, na misce vždy: 3 filtrační papíry, 6 ml destilované vody, 30 ks semen, režim: tma a teplota cca 22 °C.

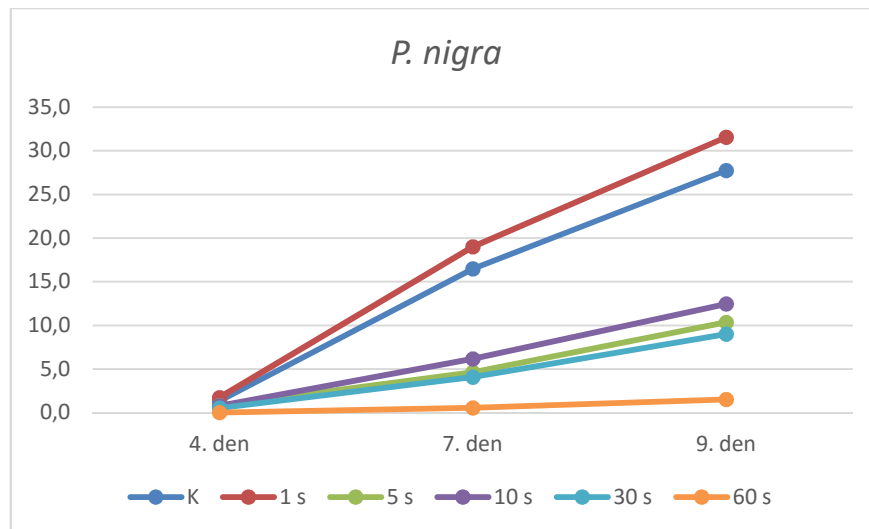
Během klíčení a růstu semenáčků byl ve 4., 7. a 9. dnu kultivace zjištěn počet klíčících semen a délka semenáčků. Pokus byl ukončen 9. den kultivace semen. Ze získaných údajů byla vypočítána klíčivost semen (počet vyklíčených semen v procentech) a index vitality semenáčků (součin klíčivosti a délky semenáčků dělený 100). Získaná data byla normalizována logaritmickou transformací a následně statisticky vyhodnocena dvoufaktorovou analýzou variance (faktory: čas expozice, druh borovice, hladina významnosti 0,05).

VÝSLEDKY A DISKUSE

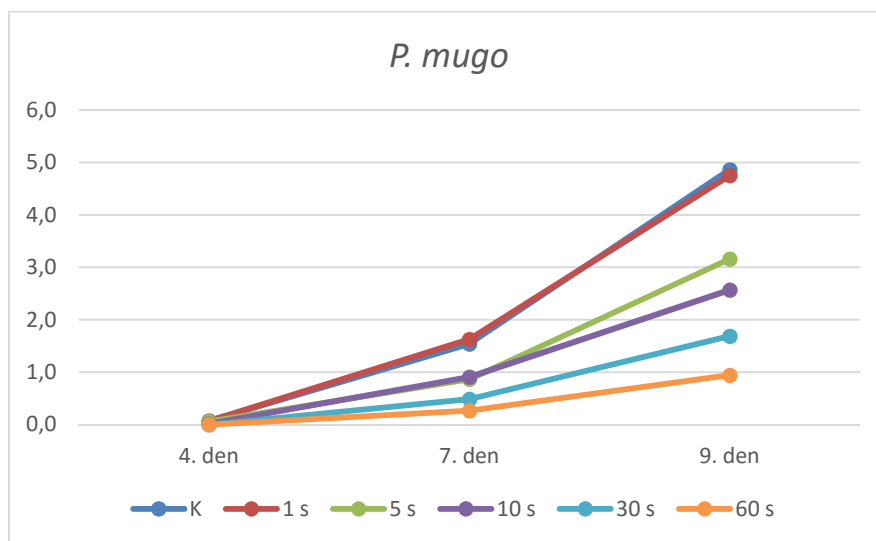
Naměřené hodnoty indexů vitality semenáčků testovaných borovic jsou uvedeny v grafech 2 - 4. Index vitality semenáčků borovice černé po ošetření byl významně vyšší ($P < 0,05$) v porovnání s jinými použitými časy a byl vyšší než index vitality z kontrolního vzorku (nebylo statisticky signifikantní).

Výsledky prezentované v grafech 2-4 jednoznačně ukazují, že nižší časy jsou pro ošetření semen borovic DCSBD plazmatem vhodnější. Nižší časy expozice u DCSBD plazmatu byly výhodnější i u ošetření semen kukuřice seté /4/ a pšenice seté /11/. Udržení vitality semen po aplikaci DCSBD plazmatu je důležitým cílem výzkumu, protože aparatura DCSBD je využitelná pro dezinfekci povrchů semen /11/. Povrch semen borovice paprscíté (*P. radiata* D. Don, syn. b. montereyská) kontaminovaný fytopatogenní houbou *Fusarium*

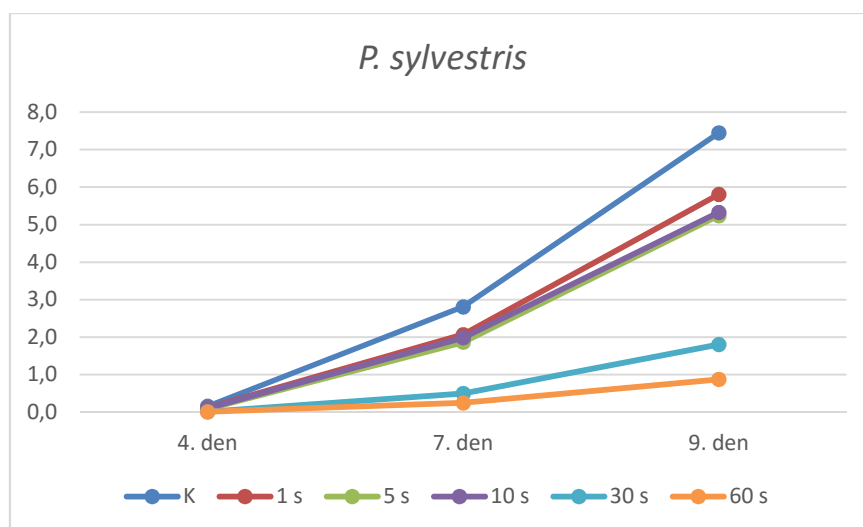
circinatum Nirenberg & O'Donnell byl po ošetření DCSBD plazmatem deaktivován (nepublikováno). Série probíhajících pokusů je zaměřena na výzkum desinfekce povrchu semen za udržení parametrů klíčivosti. Prezentovaná data jsou součástí komplexnějšího výzkumu.



Graf. 2: Hodnoty indexu vitality semenáčků borovice černé (*P. nigra*) během kultivace v laboratorních podmínkách.



Graf. 3: Hodnoty indexu vitality semenáčků borovice kleče (*P. mugo*) během kultivace v laboratorních podmínkách.



Graf. 4: Hodnoty indexu vitality semenáčků borovice lesní (*P. sylvestris*) během kultivace v laboratorních podmínkách.

Pozitivní reakci borovice černé lze vysvětlit relativně tvrdým osemněním. Borovice lesní i b. kleč mají v porovnání s b. černou osemnění měkčí, pro jednotlivé aktivní složky plazmy pravděpodobně prostupnější. Z výsledků vyplývá, že semena borovic reagují na ošetření netermálním plazmatem různým způsobem. Uvedené výsledky odpovídají závěrům z prací, které byly zaměřeny na dvouděložné byliny: mák setý /9/, konopí seté /10/ a pohanka setá /8/. Článek přispívá ke zjištění, že různé rostlinné taxony (druhy, kultivary) mohou na ošetření netermálním plazmatem reagovat různým způsobem.

LITERATURA

- /1/ Chao, L., Walker, D.R.: Effect of a magnetic field on the germination of apple, apricot and peach seeds. HortScience, 1967, 2: 152-153.
- /2/ Černák, M., Černáková, L., Hudec, I., et al.: Diffuse Coplanar Surface Barrier Discharge and its applications for in-line processing of low-added-value materials. European Physical Journal Applied Physics, 2009, 47: 22806.
- /3/ Gavrilova, O.I., Pitukhin, A.V., Zhuravleva, M.V., et al.: Influence of cold plasma spray on germinating ability of seeds and growth of softwood seedlings. Conference: 16th International Multidisciplinary Scientific Geoconference (SGEM 2016) Location: Albena, Bulgaria, Date: JUN 30-JUL 06, Book Series: International Multidisciplinary Scientific GeoConference-SGEM, 2016, 547-554.
- /4/ Henselová, M., Slováková, M., Martinka, M., et al: Growth, anatomy and enzyme activity changes in maize roots induced by treatment of seeds with low-temperature plasma. Biologia, 2012, 67: 490-497.
- /5/ Mildaziene, V., Pauzaite, G., Malakauskiene, A., et al.: Response of perennial woody plants to seed treatment by electromagnetic field and low-temperature plasma. Bioelectromagnetics, 2016, 37: 536-548.
- /6/ Nelson, S.O., Krugman, S.L., Stetson, L.E., et al.: Germination responses of pine seed to radiofrequency, infrared, and gas-plasma-radiation treatments. Forest Science, 1980, 26: 377-388.
- /7/ Pauzaite, G., Malakauskiene, A., Nauciene, Z., et al.: Changes in Norway spruce germination and growth induced by pre-sowing seed treatment with cold plasma and electromagnetic field: Short-term versus long-term effects. Plasma Processes and Polymers, 2018, 15: e1700068.
- /8/ Šerá, B., Gajdová, I., Černák, M., et al.: How various plasma sources may affect seed germination and growth. Proceedings of the International Conference on Optimisation of Electrical and Electronic Equipment, OPTIM, 2012, 1365-1370.
- /9/ Šerá, B., Gajdová, I., Šerý, M., et al.: New physicochemical treatment method of Poppy seeds for agriculture and food industries. Plasma Science and Technology, 2013, 15: 935-938.
- /10/ Sera, B., Sery, M., Gavril, B., et al.: Seed Germination and Ealy Growth Responses to Seed Pre-treatment by Non-thermal Plasma in Hemp Cultivars (*Cannabis sativa* L.). - Plasma Chemistry and Plasma Processing, 2016, 37: 207-221.

- /11/ Zahoranová, A., Henselová, M, Hudecová, D, et al.: Effect of Cold Atmospheric Pressure Plasma on the on the Wheat Seedlings Vigor and on the Inactivation of Microorganisms on The Seeds Surface. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 2016, 36: 397-414.
- /12/ Zivkovic, S., Puac, N., Giba, Z., et al.: The stimulatory effect of non-equilibrium (low temperature) air plasma pretreatment on light-induced germination of *Paulownia tomentosa* seeds. *Seed Science of Technology*, 2004, 32: 693-701.
- /13/ Zivkovic, S., Giba, Z., Grubisi, D., et al.: Low-Temperature Plasma Treatment of Dry Empress-Tree Seeds. In: dAgostino R., Favia P., Oehr C. (eds), *Plasma Processes and Polymers*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2005, 193-203.

Poděkování

Uvedená práce byla podporovaná “Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-16-0216“.

Sponzoři


Půda


Voda


Rostliny


Meteorologie


Sedimenty


Geotechnika



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, inženýřtí geologové, hydrogeologové, státní instituce.

Dodávané přístroje jsou vyráběny předními světovými výrobci ADC Bioscientific Ltd., Delta-T Devices Ltd. a dalšími, které výhradně zastupujeme v ČR a SR.

Vyvíjíme také vlastní přístroje a měřicí zařízení.








www.ekotechnika.cz

Mgr. Tomáš Havel / havel@ekotechnika.cz / +420 602 243 447

Název: Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2018

Editor: František Hnilička

Vydavatel: Česká zemědělská univerzita v Praze

Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied

Odborní recenzenti: doc. RNDr. Jan Novák, DrSc.

RNDr. Božena Šerá, Ph.D.

Tisk: Power Print

Náklad: 100 ks

Počet stran: 204

Vydání: první

Rok vydání: 2018

ISBN: 978-80-213-2863-1 (Česká zemědělská univerzita v Praze)

ISBN: 978-80-89408-31-3 (Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied)

Texty příspěvků neprošly jazykovou úpravou