

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

Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied, v. v. i.

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



VLIV ABIOTICKÝCH A BIOTICKÝCH STRESORŮ NA VLASTNOSTI ROSTLIN 2022

(Sborník recenzovaných vědeckých prací)

**INFLUENCE OF ABIOTIC AND BIOTIC STRESSES
ON PROPERTIES OF PLANTS 2022**

(Proceedings of scientific articles)



Česká zemědělská univerzita v Praze

Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied, v. v. i.

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

Pořadatelé:

Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied, v. v. i.

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů ČZU v Praze

**VLIV ABIOTICKÝCH A BIOTICKÝCH
STRESORŮ NA VLASTNOSTI ROSTLIN 2022**

(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 2022**

(Proceedings of scientific articles)

This publication has not undergone language editing

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

© **Anglické úpravy:** Mgr. Ivica Pivková, PhD.

Jazyková korektura: Texty příspěvků neprošly jazykovou úpravou

Foto na titulní straně: Terenní měření v magnezitových dolech

foto: František Hnilička, Margita Kuklová

Odborný garant konference: František Hnilička (ČZU v Praze)

Margita Kuklová (ÚEL SAV)

Odborní recenzenti: *doc. RNDr. Jan Novák, DrSc.*

Mgr. Jana Šlégrová

Organizační výbor konference:

RNDr. Ľubica Ditmarová, PhD. (ÚEL SAV)

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

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

Mgr. Ivica Pivková, PhD. (ÚEL SAV)

Ing. Margita Kuklová, CSc. (ÚEL SAV)

© Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied, v. v. i., 2022

ISBN: 978–80–89408–36–8

OBSAH

	Úvodní slovo	1
<i>P. Ferus, D. Košútová, P. Hořka, J. Konôpková</i>	Stresové situácie spojené s rastlinnými inváziami: implikácie pre reguláciu burinovej vegetácie	3
<i>D. Pavlíková, M. Pavlík, F. Hnilička, V. Zemanová, M. Lhotská, M. Popov, J. Česká</i>	Vliv kontaminace prostředí arsenem na metabolismus rostlin	8
<i>F. Hnilička, H. Hniličková, I. Pivková, J. Kodet, J. Kukla, M. Kuklová</i>	Vliv zasolení na vybrané fyziologické parametry listové zeleniny	13
<i>B. Tunklová, L. Jeníček, J. Malaťák, F. Hnilička, J. Velebil</i>	Effect of biochar from spent coffee grounds on phytotoxicity of germination seeds	17
<i>V. Šamajová, J. Marešová, A. Majdák, R. Jakuš, M. Blaženec</i>	Zmeny v zložení terpénov smreka po pôsobení náhleho oslnenia	22
<i>I. Mihál, M. Barna</i>	Vplyv imisií fluórového typu ako významný stresor pre ektomykoríznu mykobiotu v oblasti Žiaru nad Hronom	27
<i>J. Krucký, V. Hejnák, M. Skalický, P. Vachová, M. Barboričová, A. Filaček, B. Tunklová, V. Petru, K. Kraus</i>	Vliv sucha na vybrané fyziologické parametry genotypů pšenice (<i>Triticum aestivum</i> L.)	31
<i>I. Pivková, J. Kukla, F. Hnilička, H. Hniličková, K. Sládek, M. Kuklová</i>	Stanovenie obsahu niklu v asimilačných orgánoch <i>Acer platanoides</i> L. a <i>Negundo aceroides</i> Moench v mestskom prostredí JZ Slovenska	37
<i>D. Krupová, S. Tóthová</i>	Obsah ortuti v asimilačných orgánoch lesných drevín na Slovensku	44
<i>A. Nawaz, P.E. Liščáková, M. Molnárová, A. Fargašová</i>	Toxické účinky Cd na rast a fotosyntetické pigmenty <i>Scenedesmus quadricauda</i>	49
<i>P. E. Liščáková, M. Molnárová, A. Nawaz</i>	Fytotoxické účinky Cd na mätonoh trváci (<i>Lolium perenne</i> L.)	53
<i>T. Salaj, M. Galgóci, J.</i>	Udržiavanie embryogénnych pletív <i>Abies alba</i>		

<i>Salaj</i>	MILL. v přítomnosti rastových regulátorov 2,4-D a NAA	57
<i>F. Hnilička, J. Kudrna, J. Kubeš, M. Jozífek</i>	Vliv paracetamolu na fyziologické parametry juvenilních rostlin kukuřice seté	61
<i>T. Turnovec, F. Hnilička, J. Kudrna, A. Kulháňková</i>	Vliv paracetamolu na rychlost výměny plynů lociky seté	66
<i>L. Hájková, M. Možný, V. Oušková, A. Musílová, V. Vlach</i>	Změna ve vývoji fenologických fází vybraných dřevin na území ČR	72
<i>P. Svoboda, J. Haberele, M. Mézsáros</i>	Vliv diferencované závlahy na růst kořenů jabloní	77
<i>H. Húdoková, A. Konôpková, P. Fleischer jr., E. Pšidová, M. Ježík, G. Jamnická, L. Ditmarová</i>	Impact of heat and drought stress on Norway spruce seedlings with different origins	81
<i>S. Bičárová, V. Lukášová, K. Adamčíková, A. Buchholcerová, M. Onderka, D. Bilčík</i>	Oxidačná stabilita borovice horskej (<i>Pinus mugo</i> Turra) a borovice limby (<i>Pinus cembra</i> L.) vo vysokohorskom prostredí	87
<i>V. Vargová, Z. Kováčiková, E. Panghyová, S. Baxa, F. Dimitro</i>	Obsah esenciálního oleja v plodoch a ihličí borievky obyčajnej v rôznych lokalitách	91
<i>Z. Kováčiková, V. Vargová</i>	Monitoring území s výskytem borievky obyčajnej	96
<i>J. Kubeš, J. Kudrna, F. Hnilička</i>	Vliv kadmia na vybrané obsahové látky máku setého 'Maratón'	100
<i>D. Hačkuličová, E. Labancová, Z. Vivodová, K. Šípošová, M. Bajus, D. Kučerová, K. Kollárová</i>	Vplyv galaktoglukomanánových oligosacharidov na vitalitu nadzemných častí rastlín kukurice (<i>Zea mays</i> L.) v podmienkach stresu z kadmia	106
<i>M. Bajus, E. Labancová, D. Kučerová, D. Hačkuličová, K. Šípošová, Z. Vivodová, K. Kollárová</i>	Vplyv kremíka a antimónu na fyziogické parametre fazule mungo (<i>Vigna radiata</i> (L.) WILCZEK)	110

V. Zemanová, M. Novák, D. Pavlíková, M. Pavlík, H. Zámečnicková	Obsah toxických prvků v kapradině <i>Pteris cretica</i> (L.) 'Albo-lineata'	114
M. Lhotská, V. Zemanová, F. Hnilička, D. Pavlíková	Antropogenní kontaminace rizikovými prvky a její vliv na fyziologii listu kapradin <i>Pteris cretica</i>	118
B. Piršelová, L. Lengyelová, E. Galuščáková, P. Boleček, P. Mészáros, R. Kuna	Hodnotenie tolerancie vybraných hybridov slnečnice ročnej na ióny kadmia	123
B. Šerá, L. Laxová	Zblochanec oddálený a rosička krvavá rostoucí v těsném okraji silnic	128
J. Žiarovská, V. Štefánová, A. Hricová	Profily PBA polymorfizmu slovenských odrôd láskavca v prostredí rastu kontaminovaného kadmíom	133
P. Kovár, L. Vozár, P. Hric	Môže alginit eliminovať solný stres pri klíčení semien lucerny siatej (<i>Medicago sativa</i> L.)?	137
B. Piršelová, L. Lengyelová, E. Galuščáková, J. Hegrová, V. Jandová	Stomatálna charakteristika listov kukurice siatej (<i>Zea mays</i> L.) v podmienkach pôsobenia nízkých dávok arzénu	142
E. Krivosudská	Pestovanie papriky ročnej (<i>Capsicum annuum</i> L.) v podmienkach simulovaného vodného stresu	147
T. Havel	Nabídka firmy Ekotechnika	152
M. Barna	Folia Oecologica	153

JMENNÝ REJSTŘÍK

	A		Galuščáková	123, 142
Adamčíková	87			
	B		H		
Bajus	106, 110	Haberle	77
Barboričová	31	Hačkuličová	106, 110
Barna	27, 153	Hájková	72
Baxa	91	Havel	152
Bičárová	87	Hegrová	142
Bilčík	87	Hejnák	31
Blaženec	22	Hnilička	8, 13, 17, 37, 61, 66, 100, 118
Boleček	123	Hniličková	13, 37
Buchholcero -vá	87	Hořka	3
	Č		Hric	137
Česká	8	Hricová	133
	D		Húdoková	81
Dimitro	91		J	
Dítmarová	81	Jakuš	22
	F		Jamnická	81
Fargašová	49	Jandová	142
Ferus	3	Jeníček	17
Filaček	31	Ježík	81
Fleischer jr	81	Jozífek	61
	G			K	
Galgóci	57	Kodet	13
			Kollarová	106, 110
			Konôpková A.	81
			Konôpková J.	3

Košútová	3	Molnárová	49, 53
Kováčiková	91, 96	Možný	72
Kovár	137	Musilová	72
Kraus	31			
Krivosudská	147	N		
Krucký	31	Nawaz	49, 53
Kubeš	61, 100	Novák	114
Kučerová	106, 110			
Kudrna	61, 66, 100	O		
Kukla	13, 37	Onderka	87
Kuklová	13, 37	Oušková	72
Kulhánková	66			
Kuna	123	P		
			Panghyová	91
			Pavlík	8, 114
			Pavlíková	8, 114, 118
L			Petrů	31
Labancová	106, 110	Piršelová	123, 142
Laxová	128	Pivková	13, 37
Lengyelová	123, 142	Popov	8
Lhotská	8, 118	Pšidová	81
Liščáková	49, 53			
Lukasová	87			
			S		
			Salaj J.	57
M			Salaj T.	57
Majdák	22	Skalický	31
Malat'ák	17	Sládeková	37
Marešová	22	Svoboda	77
Mészáros M.	77			
Mészáros P.	123			
Mihál	27	Š		

Šámajová	22	Vachová	31
Šerá	128	Vargová	91, 96
Šípošová	106, 110	Velebil	17
Štefúnová	133	Vivodová	106, 110
			Vlach	72
	T		Vozár	137
Tóthová	44			
Tunklová	17, 31		Z	
Turnovec	66	Zámečnicko- vá	114
			Zemanová	8, 114, 118
	V				
				Ž	
			Žiarovská	133

ÚVODNÍ SLOVO

Když jsme se v roce 2019 společně loučili v Praze a těšili jsme se na další již jubilejní 20. ročník, který se měl konat v krásném prostředí historického města Zvolen, tak nikdo z nás netušil, že ta roční prodleva bude trvat dva roky. Ano pandemie Covid-19 nám trochu změnila nejenom plány, ale řadě z nás změnila i naše životy.

Přesto jsme se jako organizátoři nevzdali a snažili jsme se, aby konference se uskutečnila a opět se stala platformou pro vzájemné setkání přátel a kolegů, diskusí nad problematikou a možnou vzájemnou spoluprací. Ani letošní ročník se nevyhnul problémům, jedním z nich je ekonomická krize, proto oproti předchozím ročníkům jsme volili méně populární formu sborníku, který snad výjimečně bude jako jediný elektronický. Doufáme, že tento náš krok pochopíte a zůstanete nám i nadále nakloněni, neboť bez Vás všech by se tato konference nemohla konat.

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 právě antropogenního stresu a rizikových látek v prostředí. Právě problematika rizikových látek v prostředí, ať už kontaminantů anorganického původu (rizikové prvky), ale také organického původu (xenobiotika, pesticidy a jejich rezidua) se dostává do popředí zájmu především s ohledem na kvalitu a bezpečnost potravin. Vedle potravního řetězce tyto látky ovlivňují nejenom terestrické, ale především vodní prostředí, kde ovlivňují ekosystémy. Na řadu otázek, které si klade nejenom odborná, ale i laická veřejnost ještě zcela nedokážeme odpovědět, ale postupně odkrýváme jednotlivé souvislosti a snažíme se pochopit interakci mezi rostlinou a prostředím, včetně jejich přízpůsobení se stresorům.

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

STRESOVÉ SITUÁCIE SPOJENÉ S RASTLINNÝMI INVÁZIAMI: IMPLIKÁCIE PRE NATURE-FRIENDLY REGULÁCIU BURINOVEJ VEGETÁCIE

STRESS SITUATIONS RELATED TO PLANT INVASIONS: IMPLICATIONS FOR NATURE-FRIENDLY REGULATION OF UNDESIRED VEGETATION

Peter Ferus, Dominika Košútová, Peter Hořka, Jana Konôpková
Arborétum Mlyňany d.p. Ústavu ekológie lesa SAV v.v.i., Vieska nad Žitavou 178, 95152
Slepčany, Slovensko, e-mail: peter.ferus@savba.sk

Summary

In the period between introduction and invasion, plants experience numerous stress situations in the new range. First, the non-native species often suffer from abiotic constraints (mostly sub-optimal temperatures and drought), then they can pose biotic stress to the native vegetation, coming from production of allelochemicals, which help them to win the fight for resources. Particularly this group of natural substances has the potential for nature-friendly regulation of undesired vegetation. In this short article we summarize results from testing of promising woody plant species in respect of the regulation of invasive black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) and tree-of-heaven (*Ailanthus altissima* (Mill). Swingle), which were obtained recently.

Key words: plant invasions, biotic stress, alleopathy, bio-herbicides, regulation

Súhrn

Od introdukcie po prechod k inváznemu správaniu sa zažívajú rastliny množstvo stresových situácií. Na jednej strane sa nepôvodné druhy často potýkajú s abiotickými príkormi nového prostredia (najmä sub-optimálnymi teplotami a suchom), na strane druhej môžu spôsobovať pôvodnej vegetácii biotický stres plynúci z produkcie allelochemikálií, ktoré im pomáhajú účinne sa presadiť v tomto priestore. Práve tieto látky majú potenciál pre reguláciu cieľovej vegetácie, ktorá spĺňa predpoklady šetrnosti voči prírode. V tomto príspevku sumarizujeme výsledky testovania viacerých druhov drevín v kontexte regulácie invázneho agátu bieleho (*Robinia pseudoacacia* L.) a pajaseňa žliazkatého (*Ailanthus altissima* (Mill). Swingle), ktoré sme dosiahli v posledných rokoch.

Kľúčové slová: rastlinné invázie, biotický stres, allelopatia, bio-herbicidy, regulácia

ÚVOD

Počas posledných dvoch dekád sa do centra záujmu vedeckej obce dostal rastúci počet introdukovaných nepôvodných organizmov, ktoré unikli z kultúry, začali sa nekontrolovateľne šíriť a výrazne zasahovať do štruktúry a funkcie ekosystémov – stali sa inváznymi /1, 2/. Okrem menej viditeľných ekologických škôd sú tu však aj hmatateľné náklady spojené s likvidáciou ich samých resp. následkov ich činnosti, ktoré sa na úrovni väčších mestských aglomerácií, krajov a štátnych útvarov pohybujú rádovo v miliónoch /3/, takže je na mieste ich skorá regulácia.

Prechodu k inváznemu správaniu sa rastlín predchádza viacero fáz so svojimi špecifikami, menovite introdukcia, kolonizácia a naturalizácia /4, 5/. Po úspešnom transporte druhu do novej domoviny zohráva vo fáze kolonizácie úlohu najmä počet dovezených jedincov spojený s genetickou variabilitou novej populácie a schopnosť znášať lokálne abiotické limity (najmä mráz a sucho), ktoré vedú k produkcii životaschopného potomstva. Pre tvorbu samo-

udržateľnej populácie, ktorá zodpovedá naturalizačnej fáze, má veľký význam schopnosť druhu konkurovať domácej flóre, produkcia allelochemikálií, odolnosť voči chorobám a škodcom, „nadviazanie spolupráce“ s miestnymi organizmami (prekonanie biotických bariér). Potom bude predzvesťou prechodu k inváznemu šíreniu sa nadprodukcia semien, fragmentácia krajiny a vyhovujúce habitáty v okolí novej populácie tvoriace prepojené bio-koridory /6, 7/.

Pokračujúce premiešavanie bioty v časoch globalizácie môže priniesť zaujímavé situácie, kedy sa v novom prostredí často stretnú druhy, ktorých koexistencia bola dovtedy vylúčená. Výsledok takýchto stretov môže poukázať na zaujímavé vlastnosti druhov v kontexte presadenia sa v konkrétnom prostredí, ktoré môžu byť využité vo vývoji produktov na reguláciu nežiaducej vegetácie, a to hlavne na lokalitách, kde nie je klasická chemická ochrana povolená (chránené územia). V tejto práci popisujeme viacero takýchto stretov u drevín, či už inšpirovaných prírodou alebo navodených umelo.

MATERIÁL A METÓDY

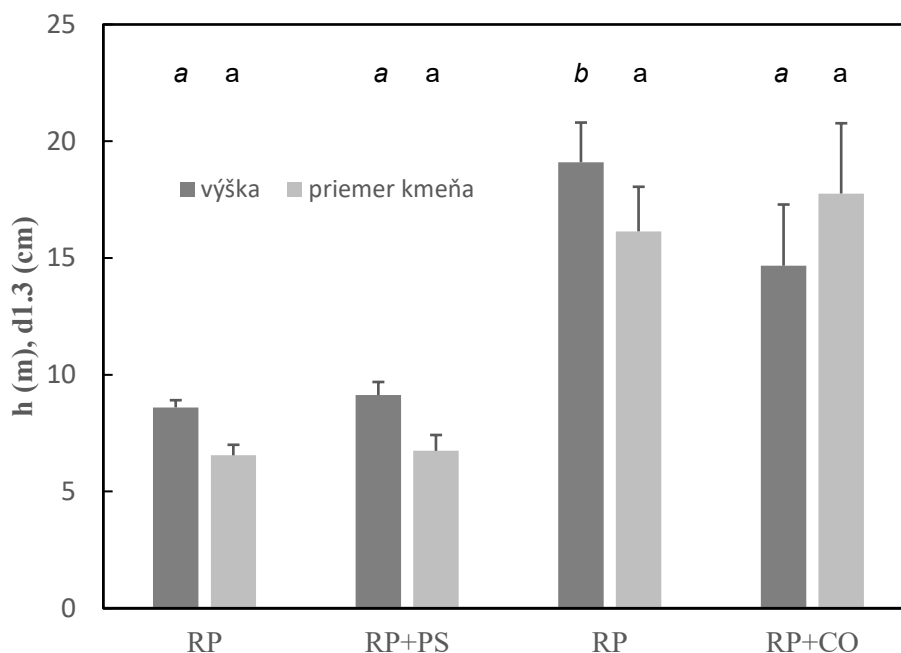
Výsledky tejto práce sú výstupom terénneho výskumu a externého nádobového pokusu. Terénny výskum sa realizoval v porastoch agátu bieleho (*Robinia pseudoacacia* L.) v susedstve Arboréta Mlyňany a Národnej botanickej záhrady Centra pre ekologický výskum MAV vo Vácrátóte, Maďarsko, infestovaných náletmi čremchy neskorej (*Prunus serotina* Ehrh.) resp. brestovca západného (*Celtis occidentalis* L.). Okrem meraní rastových parametrov (výška – Suunto PM-5/1520, Suunto, Fínsko; priemer kmeňa vo výške 1.3 m) u jedincov agátu v kontaktnej zóne druhov na ploche 100 m² sme počas slnečných augustových dní na poludnie odobrali pri rastovom vrchole stromu listy na analýzu koncentrácie rozpustných cukrov /8/, celkových aminokyselín /9/, ureidov /10/, rozpustných proteínov /11/, celkového dusíka /12/ a peroxidu vodíka /13/.

V externom nádobovom pokuse bol testovaný efekt 1% macerátov listov 4 z hľadiska obsahu allelochemikálií perspektívnych druhov drevín (orecha čierneho (*Juglans nigra* L.), brestovca západného, beztvarka krovitého (*Amorpha fruticosa* L.) a cedrely čínskej (*Cedrela sinensis* Juss.)) na rastové (hmotnosť sušiny jednotlivých častí rastliny) a metabolické parametre semenáčov invázneho pajaseňa žliazkatého (*Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle). Pred a po 6 týždňovej aplikácii extraktov (100 ml na rastlinu 2 krát týždenne) sa odobrali vrchné expandované listy na analýzu rozpustných cukrov, koncentrácie chlorofylov /14/ a peroxidu vodíka a zhodnotil sa rast rastlín.

Výsledky získané zo šiestich opakovaní za každý variant boli podrobené dvoj- (lokalita a infestácia) resp. jednofaktorovej analýze rozptylu za použitia Duncanovho testu ($P \leq 0.05$).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V porovnaní s čistým porastom agátu sa výška a priemer kmeňa u jedincov rastúcich spolu s náletmi čremchy neskorej preukazne nezmenili, no za prítomnosti brestovca západného bol výškový rast agátu spomalený (Graf 1). Infestácia agátového lesa brestovcom sa odrazila na viacerých metabolických ukazovateľoch (Tab. 1): došlo k zníženiu obsahu celkových aminokyselín o 50%, ureidov a rozpustných proteínov o tretinu a celkového dusíka o šesťinu. Koncentrácia rozpustných cukrov a peroxidu vodíka sa signifikantne nezmenila. Takýto výsledok poukazuje na poškodenie funkcie dusíkatého metabolizmu spôsobené allelochemikáliami brestovca západného. Nedávno boli v listoch tohto druhu identifikované 2 flavonoidy: 2"-O-β-D-galaktopyranosylvitexin and 4"-α-rhamnopyranosyl-2"-O-β-D-galaktopyranosylvitexin /15/, ktoré mohli negatívne zasiahnuť do nodulačného procesu, fixácie dusíka /16/ a výrazne ovplyvniť dusíkatú výživu agátu. Takto oslabené jedince vykazujú zníženú konkurencieschopnosť, ktorá môže viesť k ich predčasnemu úhynu.



Graf 1: Výška (h) a priemer kmeňa vo výške 1.3 m ($d_{1.3}$) stromov agátu bieleho (*Robinia pseudoacacia* L., RP) rastúceho v lesných porastoch samostatne alebo v zmesi s čremchou neskorou (*Prunus serotina* Ehrh., PS) resp. brestovcom západným (*Celtis occidentalis* L., CO).

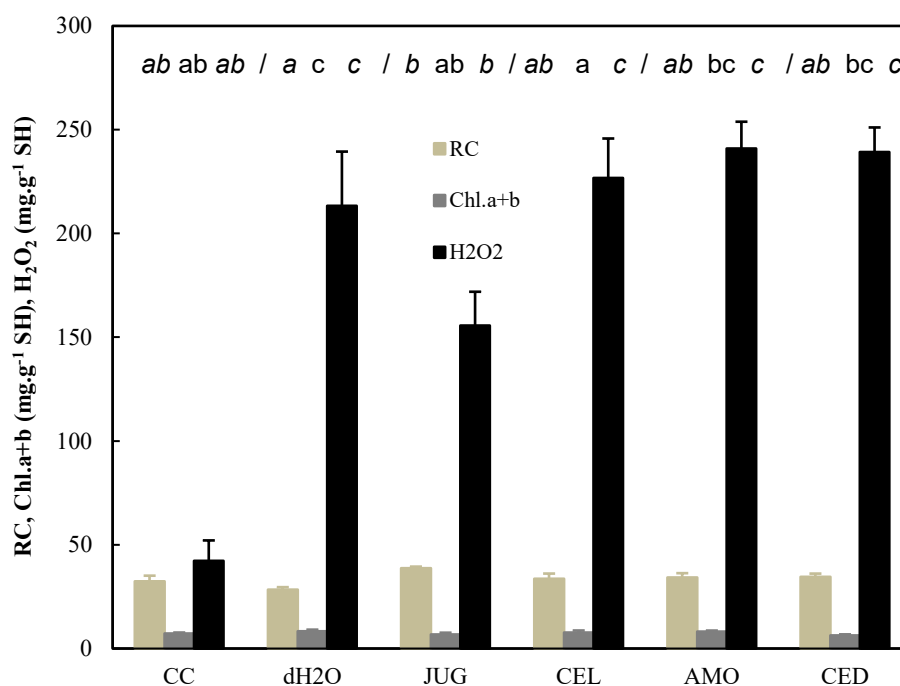
Tab. 1: Metabolická odozva agátu bieleho (*Robinia pseudoacacia* L., RP) na infestáciu lesných porastov náletmi čremchy neskoraj (*Prunus serotina* Ehrh., PS) resp. brestovca západného (*Celtis occidentalis* L., CO). Značky: RC – koncentrácia rozpustných cukrov, AK – aminokyselín, Ure – ureidov, Prot – rozpustných proteínov, N – celkového dusíka a H_2O_2 – peroxidu vodíka v listoch, loc – lokalita, inf – infestácia.

Parameter	Vieska n/Ž., SK		Vácrátót, HU		P
	RP	RP+PS	RP	RP+CO	
RC ($mg \cdot g^{-1}$ DW)	123±11	116±9	140±8	148±8	loc=n.s., inf=n.s.
AK ($mg \cdot g^{-1}$ DW)	8.93±0.96	9.64±1.04	9.01±0.64	4.96±0.41	loc=n.s., inf=***
Ure ($\mu mol \cdot g^{-1}$ DW)	74.6±5.1	74.3±5.0	87.5±19.2	61.0±5.7	loc=n.s., inf=n.s.
Prot ($mg \cdot g^{-1}$ DW)	2.58±0.10	2.56±0.16	0.34±0.02	0.20±0.01	loc=***, inf=n.s.
N ($mg \cdot g^{-1}$ DW)	32.5±0.2	32.8±1.4	29.1±0.8	25.5±0.9	loc=***, inf=***
H_2O_2 ($\mu g \cdot g^{-1}$ DW)	980±124	1158±69	1843±104	1993±172	loc=*, inf=n.s.

V prípade pajaseňa žliazkatého mal najväčší supresívny účinok extrakt z listov orecha čierneho a cedrely čínskej – preukazne znížili hmotnosť sušiny listov na rastlinu (Tab. 2). Nárast koncentrácie rozpustných cukrov bol zaznamenaný len u rastlín ošetrovaných výluhom z orecha čierneho (cca 37%, Graf 2). Koncentrácia chlorofylov poklesla len aplikáciou macerátov z orecha čierneho a brestovca západného. Signifikantný pokles obsahu peroxidu vodíka v listoch pajaseňa sme pozorovali iba u variantu s orechom čiernym (cca o 27%). Tento druh je známy produkciou flavonoidu juglónu, ktorého silný allelopatický účinok bol popísaný u mnohých druhov rastlín /17/. Z výsledkov metabolických parametrov vieme vyčítať, že spomalený rast listovej plochy pajaseňa bol spôsobený jeho negatívnym vplyvom nielen na asimiláciu dusíka ale aj priamym účinkom na rastový proces /18-20/.

Tab. 2: Efekt šesť týždňovej aplikácie 1% macerátov listov allelopaticky aktívnych druhov drevín na rastové charakteristiky semenáčov pajaseňa žliazkatého (*Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle). Značky: CC – kontrola pred začatím aplikácie, C – kontrola po aplikácii destilovanej vody, JUG – macerát z listov *Juglans nigra* L., CEL – *Celtis occidentalis* L., AMO – *Amorpha fruticosa* L., CED – *Cedrela sinensis* Juss.), W_L – hmotnosť sušiny listov, W_S – hmotnosť sušiny stonky, W_R – hmotnosť sušiny koreňa, W_{Tot} – hmotnosť sušiny rastliny, R:S – pomer hmotnosti sušiny koreňa a nadzemnej hmoty rastliny.

Variant	W_L (g)	W_S (g)	W_R (g)	W_{Tot} (g)	R:S
CC	0.46±0.03 a	0.11±0.01 a	0.23±0.03 a	0.81±0.05 a	0.38±0.02 a
C	3.15±0.19 c	1.07±0.05 b	2.71±0.14 b	7.04±0.49 b	0.60±0.04 b
JUG	2.54±0.10 b	1.00±0.06 b	2.63±0.15 b	6.46±0.31 b	0.77±0.06 c
CEL	2.69±0.14 bc	1.09±0.07 b	2.70±0.16 b	6.60±0.29 b	0.80±0.05 c
AMO	2.88±0.20 bc	1.17±0.08 b	2.85±0.14 b	7.08±0.38 b	0.68±0.02 bc
CED	2.64±0.14 b	1.25±0.15 b	2.60±0.11 b	6.67±0.13 b	0.64±0.02 b



Graf 2: Koncentrácia rozpustných cukrov (RC), chlorofylov (chl. a+b) a peroxidu vodíka (H_2O_2) vo vrchných expandovaných listoch semenáčov pajaseňa žliazkatého (*Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle) pred (CC) a po ošetrení výluhmi listov allelopaticky aktívnych druhov drevín (JUG – *Juglans nigra* L., CEL – *Celtis occidentalis* L., AMO – *Amorpha fruticosa* L., CED – *Cedrela sinensis* Juss.).

ZÁVER

Záverom možno konštatovať, že allelochemikálie nepôvodných rastlinných druhov, ktoré používajú pri presadení sa v novej domovine, možno využiť cielene za účelom eliminácie konkrétnych často nebezpečných invázných druhov. Na agát biely pôsobia vysoko supresívne

allelochemikálie brestovca západného (*in vivo* alebo vo forme výluhov) a pajaseň žliazkatý sa ukazuje byť citlivý na orech čierny.

LITERATÚRA

- /1/ Pejchar, L., Mooney, H.A. Invasive species, ecosystem services and human well-being. *Trends Ecol. Evol.*, 24, 2009: 497–504.
- /2/ van Kleunen, M., Essl, F., Pergl, J., et al. The changing role of ornamental horticulture in alien plant invasions. *Biological Reviews*, 93(3), 2018: 1421–1437.
- /3/ Pimentel, D. (2009) Invasive plants: their role in species extinctions and economic losses to agriculture in the USA. In: Inderjit V. (ed.) *Management of invasive weeds*. 2009, pp. 1–7. Springer Science + Business Media B.V., Netherlands.
- /4/ Richardson, D.M., Pyšek, P., Rejmánek, M. et al. Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Divers Distrib* 6, 2000: 93–107.
- /5/ Blackburn, T.M., Pyšek, P., Bacher, S. et al. (2011) A proposed unified framework for biological invasions. *Trends Ecol. Evol.*, 26(7), 2011: 333–339.
- /6/ Theoharides, K.A., Dukes, J.S. Plant invasion across space and time: factors affecting nonindigenous species success during four stages of invasion. *New Phytol* 176, 2007: 256–273.
- /7/ Dai, Z.-C., Wan, L.-Y., Qi, S.-S. et al. (2020) Synergy among hypotheses in the invasion process of alien plants: A road map within a timeline. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.*, 47, 2020: 125575.
- /8/ Fournier, E. Colorimetric quantification of carbohydrates. *Curr. Prot. Food Anal. Chem.* 2001: E1.1.1-E1.1.8.
- /9/ Procházková, S., Vårum, K.M., Østgaard, K. Quantitative determination of chitosans by ninhydrin. *Carbohydr. Polym.* 38, 1999: 115–122.
- /10/ Knipp, M., Vašák, M. A colorimetric 96-well microtiter plate assay for determination of enzymatically formed citrulline. *Anal. Biochem.* 286, 2000: 257–264.
- /11/ Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 1976: 248–254.
- /12/ Kjeldahl, J. Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. *Zeitschrift für analytische Chemie*, 22(1), 1883: 366–383.
- /13/ Mukherjee, S.P., Choudhuri, M.A. Implications of water stress-induced changes in the level of endogenous ascorbic acid and hydrogen peroxide in *Vigna* seedlings. *Physiol. Plant.* 58, 1983: 166–170.
- /14/ Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol.*, 148, 1987: 350–382.
- /15/ El-Alfy, N., El-Gohary, H.M.A., Sokkar, N.M., Hosny, M., Al-Mahdy, D.A. A new flavonoid C-glycoside from *Celtis australis* L. and *Celtis occidentalis* L. leaves and potential antioxidant and cytotoxic activities. *Sci. Pharm.* 79, 2011: 963–975.
- /16/ Mierziak, J., Kosty, K., Kulma, A. Flavonoids as important molecules of plant interactions with environment. *Molecules*, 19, 2014: 16240–16265.
- /17/ Willis, R.J. *Juglans* spp., juglone and allelopathy. *Allelopathy J.*, 7(1), 2000: 1–55.
- /18/ Peng, S., García, F.V., Laza, R.C., Cassman, K.G. Adjustment for specific leaf weight improves chlorophyll meter's estimate of rice leaf nitrogen concentration. *Agr. J.*, 85, 1993: 987–990.
- /19/ Franck, N., Vaast, P., Génard, M., Dauzat, J. Soluble sugars mediated sink feedback down-regulation of leaf photosynthesis in field-grown *Coffea arabica*. *Tree Physiol.* 26, 2006: 517–525.
- /20/ Gniazdowska, A., Krasuska, U., Andrzejczak, O., Soltys, D. Allelopathic compounds as oxidative stress agents: Yes or No. In: *Reactive Oxygen Signaling and Communication in Plants. Signalling and Communication in Plants 23* (Eds. K.J. Gupta and A.U. Igamberdiev), 2015, pp. 155–176. Springer, Switzerland.

Pod'akovanie

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory projektu COST CA 19128.

VLIV KONTAMINACE PROSTŘEDÍ ARSEMEM NA METABOLISMUS ROSTLIN

THE EFFECT OF ARSENIC CONTAMINATION OF ENVIRONMENT ON PLANT METABOLISM

Daniela Pavlíková¹, Milan Pavlík¹, František Hnilička², Veronika Zemanová¹, Marie Lhotská², Marek Popov², Jana Česká²

¹Česká zemědělská univerzita v Praze, FAPPZ, katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin, Kamýcká 129, 165 00 Praha 6 – Suchdol, pavlikova@af.czu.cz

²Česká zemědělská univerzita v Praze, FAPPZ, katedra botaniky a fyziologie rostlin, Kamýcká 129, 165 00 Praha 6 – Suchdol, hnilicka@af.czu.cz

Summary

Arsenic (As) is not essential for plant metabolism. In soils, it forms a variety of inorganic and organic compounds, of which inorganic forms are generally highly phytotoxic. In soil As typically occurs as arsenate (As^{V}) and arsenite (As^{III}), which is more toxic for plants. Being present at high concentrations in plants, As induces a specific stress metabolism, determines transport and elimination, and inhibits metabolic processes, such as changes of phytohormones contents, photosynthetic processes etc. Unlike arsenate, arsenite reacts with sulphhydryl groups of enzymes and tissue proteins, leading to inhibition of cellular function and death. Arsenite penetrates the plant cuticle to a greater degree than As^{V} and generally results in the loss of turgor. Arsenic exposure generates reactive oxygen species through the conversion of As^{V} to As^{III} . The significant impact of As on DNA methylation was found in plants.

Key words: arsenite, arsenate, N metabolism, photosynthesis, soil, toxic element

Souhrn

Arsen (As) není nezbytný pro metabolismus rostlin. V půdách tvoří řadu anorganických a organických sloučenin, z nichž anorganické formy jsou obecně vysoce fytotoxické. V půdě se As obvykle vyskytuje jako arseničnan (As^{V}) a arsenitan (As^{III}), který je pro rostliny toxicitější. Zvýšený příjem As indukuje specifický stresový metabolismus rostliny, determinuje transport a eliminaci v rostlině, inhibuje metabolické procesy, jako jsou změny obsahu fytohormonů, fotosyntetické procesy atd. Na rozdíl od arseničnanu arsenitan reaguje se sulfydrylovými skupinami enzymů a proteinů, což inhibuje buněčné funkce a končí přes apoptosu jednotlivých buněk odumřením celé rostliny. Arsenitan proniká do kutikuly rostliny více než As^{V} , což vede ke ztrátě turgoru. Expozice As vytváří nejen reaktivní formy kyslíku přeměnou As^{V} na As^{III} , ale v rostlinách významně ovlivňuje změny methylace DNA.

Klíčová slova: arseničnan, arsenitan, fotosyntéza, metabolismus dusíku, půda, toxický prvek

ÚVOD

Epimutagenní arsen (As) patří mezi toxické prvky, které jsou běžně zastoupeny v životním prostředí. Podle Eislera /1/ je As dvacátým nejrozšířenějším prvkem v zemské kůře. V malých množstvích je prakticky vždy přítomen ve všech živočišných tkáních a rostlinných pletivech. V České republice nejsou zemědělské půdy významně kontaminované As, ale problémem jsou některé lokality, kde se nacházejí ložiska barevných a vzácných kovů, která

jsou doprovázená zvýšenými obsahy As. Mezi nejznámější oblasti patří Kutná Hora, kde bylo ve středověku těženo stříbro a kde tato těžba zanechala významnou kontaminaci životního prostředí As. Hlavním zdrojem As je zde arsenopyrit (FeAsS) a různé sekundární minerály. Oblast Mokrsko je jedním z největších ložisek zlata v oblasti Českého masivu. Ruda obsahuje zvýšené množství As (až 1 %), který je obsažen zejména v arsenopyritu. V severočeské hnědouhelné pánvi a v celé oblasti Krušných hor je hnědé uhlí velmi bohaté na pyrit (FeS_2), mezi jeho charakteristické doprovodné minerály patří arsenopyrit a löllingit (FeAs_2). Při spalování tohoto vytěženého uhlí dochází ke zvýšené emisi oxidu arsenitého do ovzduší. V minulosti byl As využíván jako součást pesticidů, přípravků pro impregnaci dřeva, v menším množství ve farmaceutickém průmyslu, aditiva do skla, pro veterinární účely, jako součást některých slitin apod. V současné době je arsenit gallia využíván především v elektronice pro vynikající polovodičové vlastnosti.

V půdě je As obsažen především ve formě arseničnanu – As^{V} , ale při nedostatečném provzdušnění půdy nebo činností půdních mikrobiot se redukuje na arsenitan – As^{III} /2/. Stanoveny byly i nízké obsahy methylovaných sloučenin As. Přístupnost As pro rostliny je dána intenzitou sorpce As v půdě. Sorpce As je ovlivněna zrnitostí půdy, pH půdy, obsahem humusových látek, obsahem aktivních oxidů železa a hliníku i vlhkostí půdy. V podmínkách sucha jsou sloučeniny As prakticky nepohyblivé. Není potvrzeno, že by As byl pro rostliny nebo jiné organismy esenciálním prvkem, přestože v nízkých koncentracích může stimulovat například růst rostliny /2/.

PŘÍJEM A TRANSPORT ARSENU ROSTLINOU

Rostliny přijímají As z půdního roztoku dvěma různými mechanismy v závislosti na valenci tohoto prvku: (i) As^{V} soutěží s Pi o příjem transportními kanály tvořenými proteiny nazývanými Pi transportéry, (ii) As^{III} je přijímán specifickými transportními kanály. Proteiny, které tyto kanály tvoří, se nazývají akvaporiny /3,4/. Přijatý As^{III} se váže na proteinové sulfydrylové skupiny, což vede k degradaci membrány a buněčné smrti, což je pro rostlinu přibližně 100krát toxičtější než příjem As^{V} . Organické methylované formy As jsou pro rostlinu nejméně toxické a využívají ke vstupu do rostliny také akvaporinový kanál /5/. Tolerance rostliny k As záleží na druhu rostliny a může vycházet ze dvou strategií: omezení příjmu As (excluder) nebo akumulace tohoto prvku (akumulátor). První strategie zahrnuje omezení příjmu As kořeny nebo omezení jeho transportu do nadzemních částí rostliny. Rostliny kumulující As ho mohou ukládat v kořenech nebo ho přemísťují do nadzemní části. Podle Soudka et al. /6/ dvouděložné rostliny přemísťují do nadzemní části více As než jednoděložné.

Rozdílnost v místě uložení As naznačuje rozdílné mechanismy uchování i transportu As v rostlinách. Kumulace As v kořenech může být součástí strategie omezení jeho příjmu. Pokud je As translokován do nadzemní části, může být právě transport kořeny-nadzemní část důležitý pro toleranci, tak je tomu např. u hyperakumulátorů As *Pteris vittata* nebo *P. cretica*. Rostliny, které označujeme jako hyperakumulátory, hromadí ve svých pletivech mimořádně vysoké množství As (více než 0,1 %), aniž by vykazovaly jakékoliv příznaky toxicity. Mezi známé hyperakumulátory As patří již zmíněné *P. vittata* nebo *P. cretica*, ale také *P. longifolia* and *P. umbrosa* /7/. Výsledky analýz rostlinných pletiv ukázaly, že přibližně 90 % z celkového obsahu As je v pletivech obsaženo jako As^{III} , a to i případě, že rostlina roste v substrátu s převažujícím obsahem As^{V} /3/. Vysokou kumulaci As v rostlině umožňuje redukce As^{V} na As^{III} , která probíhá především v kořenech, jak potvrzují výsledky pokusů s *P. cretica* /8/. Raab et al. /9/ a Liu et al. /10/ prokázali, že tvorba komplexů As s fytochelatinu (PC) redukuje translokaci As z kořenů do nadzemní části rostliny. Tolerance *P. cretica* k akumulovanému As není založena na tvorbě As komplexů s PC/8,11/, ale na transportu As^{III} do vakuol listů /12/. To je ve shodě s výsledky ukazujícími expresi arsenátoreduktázy *PcACR2* redukující podstatnou část As již v kořenech /8/. Translace As z kořenů do listů je zajištěna arsenit transportérem *PcACR3*, což potvrzují

výsledky stanovení jednotlivých specií As (As^V , As^{III}) a obsahu komplexu As^{III} -PC2 v listech a kořenech *P. cretica* /8/. Z hlediska celkové akumulace As je obsah komplexů PC s As^{III} v těchto kapradinách bezvýznamný /8,13,14/.

FYTOTOXICITA ARSENU A STRES ROSTLINNÉHO METABOLISMU

Expozice As má nepříznivý vliv na řadu morfologických, fyziologických i biochemických procesů v rostlině /15/. As^V je analogem fosfátu, který interferuje s jeho metabolismem fosforylací a syntézou ATP. As^{III} může změnit konfiguraci a katalytické fungování proteinů vazbou na sulfhydrylové skupiny /4/. Redukce As^V na As^{III} v rostlinných buňkách indukuje oxidační stres zvýšením produkce reaktivních forem kyslíku ovlivňujících regulaci různých metabolických drah. Reakce rostlin na As stres se liší v závislosti na druhu rostliny. Prvním projevem stresu je snížená tvorba biomasy. Zemanová et al. /15/ udávají pokles výnosu nadzemní biomasy špenátu rostoucím na půdě kontaminované 100 mg As/kg o 57 %. V případě hyperakumulátoru *P. cretica* byl pokles nižší – 37 % v porovnání s kontrolou. Významný je vliv As na metabolismus N a C v rostlině. Toxicita As většinou způsobuje změnu v obsahu nitrátového N v rostlinách jako důsledek narušení aktivity enzymů nitrát- a nitritreduktázy. Hromaděný amonný N se může stát toxickým pro rostliny, protože může způsobit inhibici asimilace CO_2 , poškození struktury chloroplastů, hormonální nerovnováhu apod. /16/. Změny v metabolismu N se významně odrážejí v hladinách aminokyselin, jak ukazují např. publikace /17,18/ a další. Podle Zemanové et al. /15/ v rostlinách špenátu se vlivem As stresu obsah volných aminokyselin zvyšoval přibližně o 30 %, zatímco u *P. cretica* byl zjištěn opačný trend – pokles obsahu volných aminokyselin až o 50 % v porovnání s kontrolou. U obou rostlin rozhodující podíl z celkového obsahu aminokyselin tvořila glutamová rodina (40–50 %). Změny v metabolismu N se odrážejí především v transportních aminokyselinách – v obsazích kyseliny glutamové a kyseliny asparagové a jejich amidech – glutaminu a asparaginu. Tyto dva aminy jsou nezbytné pro syntézu cytokininů. Další významnou aminokyselinou pro biosyntézu cytokininů je glycin, který může oddálit senescenci prostřednictvím zvýšené biosyntézy chlorofylu /18/. Současně glycin hraje významnou úlohu v toleranci rostliny k As a je považován za významný indikátor změn metabolismu C v rostlině.

Výsledky analýz ukazují významnou inhibici parametrů fotosyntézy se zvyšujícím se obsahem As v rostlině. Byl stanoven pokles obsahu celkového chlorofylu i karotenoidů v listech rostlin. Obsah těchto pigmentů je významným ukazatelem tolerance rostliny k As. Současně byla potvrzena korelace mezi výnosem suché biomasy a těmito parametry /19,20/.

Arsen indukuje epigenetické změny v organismu, které vedou ke snížení nebo zvýšení methylace DNA. Analýza procentuálního obsahu 5-methylcytosinu v nadzemní biomase *P. cretica* ukázala pokles methylace DNA především ve starých listech /21/.

ZÁVĚR

Kontaminace prostředí As významně ovlivňuje metabolismus rostlin. Reakce rostlin na As stres se liší v závislosti na druhu rostliny. Prvním projevem stresu je snížená tvorba biomasy. Arsen inhibuje metabolické procesy, jako jsou změny obsahu aminokyselin, fytohormonů, fotosyntetické procesy atd. Změny v metabolismu N se odrážejí především v transportních aminokyselinách – v obsazích kyseliny glutamové a kyseliny asparagové a jejich amidech – glutaminu a asparaginu. Výsledky analýz ukazují významnou inhibici parametrů fotosyntézy i epigenetické změny se zvyšujícím se obsahem As v rostlině.

LITERATURA

- /1/ Eisler, R.: Eisler's encyclopedia of environmentally hazardous priority chemicals. Elsevier, Amsterdam, 2007, 950 s.
- /2/ Száková, J., Mihaljevič, M., Tlustoš, P.: Mobilita, transformace a základní metody stanovení sloučenin arsenu v půdě a rostlinách. Chemické Listy, 101(5), 2007: 397–405.

- /3/ Farooq, M.A., Islam, F., Ali, B., Najeeb, U., Mao, B., Gill, R.A., Yan, G., Siddique, K.H.M., Zhou, W.: Arsenic toxicity in plants: Cellular and molecular mechanisms of its transport and metabolism. *Environmental and Experimental Botany*, 132, 2016: 42–52.
- /4/ Martínez-Castillo, J.I., Saldana-Robles, A., Ozuna, C.: Arsenic stress in plants: A metabolomic perspective. *Plant Stress*, 3, 2022: 100055.
- /5/ Kumar, S., Dubey, R.S., Tripathi, R.D., Chakrabarty, D., Trivedi, K.P.: Omics and biotechnology of arsenic stress and detoxification in plants: current updates and prospective. *Environment International*, 74, 2015: 221–230.
- /6/ Soudek, P., Vichová, L., Valenová, Š., Podlipná, R., Malá, J., Vaněk, T.: Arsen a jeho příjem rostlinami. *Chemické Listy*, 100(5), 2006: 323-329.
- /7/ Zhao, F.J., Dunham, S.J., McGrath, S.P.: Arsenic hyperaccumulation by different fern species. *New Phytologist*, 156(1), 2002: 27-31.
- /8/ Popov, M., Zemanová, V., Sácký, J., Pavlík, M., Leonhardt, T., Matoušek, T., Kaňa, A., Pavlíková, D., Kotrba, P.: Arsenic accumulation and speciation in two cultivars of *Pteris cretica* L. and characterization of arsenate reductase *PcACR2* and arsenite transporter *PcACR3* genes in the hyperaccumulating cv. Albo-lineata. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 216, 2021: 112196.
- /9/ Raab, A., Ferreira, K., Meharg, A.A., Feldmann, J.: Can arsenic–phytochelatin complex formation be used as an indicator for toxicity in *Helianthus annuus*? *Journal of Experimental Botany*, 58(6), 2007:1333–1338.
- /10/ Liu, W.J., Wood, B.A., Raab, A., McGrath, S.P., Zhao, F.J., Feldmann, J.: Complexation of arsenite with phytochelatin reduces arsenite efflux and translocation from roots to shoots in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 152(4), 2010: 2211-2221.
- /11/ Zhao, F.J., Ma, J.F., Meharg, A.A., McGrath, S.P.: Arsenic uptake and metabolism in plants. *New Phytologist*, 181(4), 2009: 777-794.
- /12/ McGrath, S.P., Zhao, F.-J.: Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Current Opinion in Biotechnology*, 14(3), 2003: 277-282.
- /13/ Zhao, F.J., Wang, J.R., Barker, J.H.A., Schat, H., Bleeker, P.M., McGrath, S.P. (2003): The role of phytochelatin in arsenic tolerance in the hyperaccumulator *Pteris vittata*. *New Phytologist*, 159(2), 2003: 403–410.
- /14/ Raab, A., Feldmann, J., Meharg, A.A.: The nature of arsenic-phytochelatin complexes in *Holcus lanatus* and *Pteris cretica*. *Plant Physiology*, 134(3), 2004: 1113-1122.
- /15/ Zemanová, V., Pavlíková, D., Hnilička, F., Pavlík, M.: Arsenic toxicity-induced physiological and metabolic changes in the shoots of *Pteris cretica* and *Spinacia oleracea*. *Plants – Basel* 10, 2021: 2009
- /16/ Bittsánszky, A., Pilinszky, K., Gyulai, G., Komives, T.: Overcoming ammonium toxicity. *Plant Science*, 231, 2015:184–90.
- /17/ Pavlík, M., Pavlíková, D., Staszková, L., Neuberg, M., Kaliszová, R., Száková, J., Tlustoš, P.: The effect of arsenic contamination on amino acids metabolism in *Spinacia oleracea* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(6), 2010: 1309-1313.
- /18/ Pavlíková, D., Zemanová, V., Pavlík, M., Dobrev, P.I., Hnilička, F., Motyka, V.: Response of cytokinins and nitrogen metabolism in the fronds of *Pteris* sp. under arsenic stress. *Plos One*, 15(5), 2020: e0233055
- /19/ Karimi, N., Shayesteh, L.S., Ghasmpour, H., Alavi, M.: Effects of arsenic on growth, photosynthetic activity, and accumulation in two new hyperaccumulating populations of *Isatis cappadocica* Desv. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32, 2013: 823–830.
- /20/ Zemanová, V., Pavlíková, D., Hnilička, F., Pavlík, M., Zámečnicková, H., Hlavsa, T.: A comparison of the photosynthesis response to arsenic stress in two *Pteris cretica* ferns. *Photosynthetica*, 59, 2021: 228–236.
- /21/ Zemanová, V., Popov, M., Pavlíková, D., Kotrba, P., Hnilička, F., Česká, J., Pavlík, M.: Effect of arsenic stress on 5-methylcytosine, photosynthetic parameters and nutrient content in arsenic hyperaccumulator *Pteris cretica* (L.) var. Albo-lineata. *BMC Plant Biology*, 20, 2020: 130.

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory projektu NutRisk Centre reg. č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000845.

Přednášky

VLIV ZASOLENÍ NA VYBRANÉ FYZIOLOGICKÉ PARAMETRY LISTOVÉ ZELENINY

INFLUENCE OF SALINITY STRESS ON SELECTED PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF LEAF VEGETABLES

František Hnilička¹, Helena Hnilíčková¹, Ivica Pivková², Jan Kodet¹, Ján Kukla², Margita Kuklová²

¹Česká zemědělská univerzita v Praze, FAPPZ, Katedra botaniky a fyziologie rostlin, Kamýcká 129, 165 00 Praha 6, hnilicka@af.czu.cz

²Institute of Forest Ecology of the Slovak Academy of Sciences, L. Štúra 2, 960 53 Zvolen, Slovak Republic, e-mail: ivica.pivkova@ife.sk, kuklova@ife.sk, kukla@ife.sk

Summary

Influence of salinity stress (0 mM NaCl, 50 mM NaCl, 75 mM NaCl, 100 mM NaCl and 125 mM NaCl) on the rate of gas exchange in selected leafy vegetable species: *Valerianella locusta*; *Lactuca sativa* and *Tetragonia tetragonioides* was studied. The obtained results show that increased concentrations of NaCl, especially 100 and 125 mM NaCl, are toxic for plants of the species. The species *Lactuca sativa* and *Tetragonia tetragonioides* can be included in the group of plants that are tolerant to salinity. Conversely, *Valerianella locusta* can be classified as a salt-sensitive plant. Salt stress causes a reduction in the rate of photosynthesis and transpiration. The results show that there are differences in the measured physiological characteristics depending on the salt concentration and the duration of its action.

Key words: salinity stress; gas exchange; Lactuca sativa; Tetragonia tetragonioides; Valerianella locusta

Souhrn

V pokusu byl sledován vliv zasolení (0 mM NaCl, 50 mM NaCl, 75 mM NaCl, 100 mM NaCl a 125 mM NaCl) na rychlost výměny plynů u rostlin polníčku, salátu a čtyřboče. Ze získaných výsledků vyplývá, že pro rostliny polníčku jsou toxické zvýšené koncentrace NaCl, především 100 a 125 mM NaCl u zbývajících druhů se tento trend zcela nepotvrdil. Salát a čtyřboč lze zařadit do skupiny rostlin, které jsou tolerantní k zasolení. Naopak polníček lze zařadit do skupiny rostlin citlivých k zasolení. Solný stres způsobuje snížení rychlosti fotosyntézy a transpirace. Z výsledků je patrné, že existují rozdíly v měřených fyziologických charakteristikách v závislosti na koncentraci soli a délce jejího působení.

Klíčová slova: salinita; výměna plynů; Lactuca sativa; Tetragonia tetragonioides; Valerianella locusta

ÚVOD

Nadbytek solí v půdním roztoku je jedním ze základních stresových faktorů působících na rostliny /7/. Podle webu eagri.cz míra zasolení půdy v České republice se týká velmi malého území, pokud se ale na tento jev zaměříme v celosvětovém měřítku, koncentrace solí v půdách se zvyšují (10 %).

Reakce rostlin na zasolení byly rozděleny do dvou hlavních fází. V první fázi dochází ke snížení růstu nezávislé na iontech, ke kterému dochází v řádu minut až dní. Způsobuje uzavření průduchů a inhibici růstu buněk především v růstovém vrcholu rostliny /10/. V druhé fázi během několika dní až týdnů narůstají hladiny cytotoxických iontů, jakými jsou vysoké

koncentrace Na^+ , Cl^- , nebo SO_4^{2-} , které zpomalují metabolické procesy, snižují příjem esenciálních živin, jako jsou P, K, N a Ca, způsobují předčasné stárnutí, a nakonec buněčnou smrt /12,16/. Podle tolerance rostlin k zasolení je /9/ rozdělují na dvě skupiny: halofyty a glykofyty. Podle míry přizpůsobení k salinitě je rozdělují do tří skupin, na obligátní, fakultativní a přechodné.

Vliv zasolení na rostliny můžeme rozdělit na přímé a nepřímé vlivy. Mezi přímé vlivy patří dle /14/ poškození pupenů, nezdřevnatělých výhonků a kůry, odumírání kambia, nekrózy a předčasný opad listů. Mezi nepřímé (sekundární) vlivy zahrnují uvedení autoři iontový stres (jednostranné nahromadění iontů Na^+ a Cl^- v pletivech rostlin, osmotický stres, který se odráží ve snížení příjmu vody a projevuje se náhlým usycháním, omezení příjmu důležitých iontů. Zasolení může rostlinu ovlivňovat různým způsobem. Vysoká koncentrace solí způsobuje ztráty vody a vyvolává v rostlině stres způsobený vodním deficitem.

Salinita způsobuje nerovnováhu i v minerální výživě rostlin. Může dojít k inhibici enzymů Calvinova cyklu, jež má za následek vyvolání oxidativního stresu v buňce, nebo dochází ke změnám v osmotickém potenciálu vodního roztoku /13/.

Rostliny reagují na změnu vnějšího osmotického tlaku akumulováním osmolytů, mezi které patří cukerné alkoholy, sacharidy, nebo polární metabolity /1/. Pokud působením vysokých koncentrací solí nastává omezení fotosyntézy, okamžitě se zvyšuje produkce ROS (reaktivní formy kyslíku). Jejich množství je však omezeno rychlostí tvorby, reakce s lipidy, proteiny a jinými makromolekulami, rychlostí jejich degradace a rychlostí reakce antioxidantního systému buňky /6/. Na základě výše uvedeného bylo cílem pokusu stanovit změny v rychlosti výměny plynů u vybraných druhů listové zeleniny v závislosti na koncentraci soli v roztoku a délce expozice.

MATERIÁL A METODY

V částečně řízených podmínkách skleníku, při teplotě 25 °C ve dne a v noci 20 °C, byly v přirozených světelných podmínkách pěstovány tři druhy listové zeleniny: polníček (*Valerianella locusta*), salát (*Lactuca sativa*) a čtyřboč (*Tetragonia tetragonioides*). Rostliny byly pěstovány v nádobách 11 x 11 cm, v zahradním substrátu. Schéma pokusu zahrnovalo celkem pět variant: kontrola (0 mM NaCl), 50 mM NaCl, 75 mM NaCl, 100 mM NaCl a 125 mM NaCl. Roztok chlodridu sodného byl aplikován formou zálivky v modifikovaném živném roztoku dle Hoaglanda č. 3. V průběhu pokusu se uskutečnilo 6 měření v následujícím časovém intervalu: 0, 1, 3, 7, 10 a 14 dnů po zahájení pokusu.

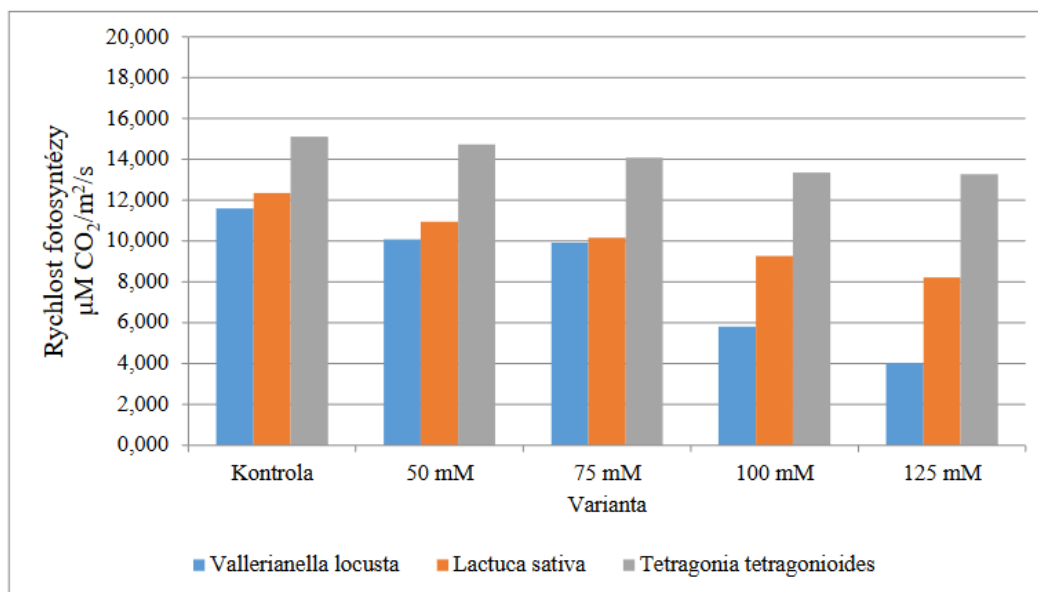
Rychlost fotosyntézy a transpirace byly sledovány pomocí infračerveného analyzátoru plynů LCpro+ (ADC BioScientific Ltd., Hoddesdon, Velká Británie). Měření uvedených fyziologických parametrů se uskutečnilo na základě metodických pokusů /3/, při zachování 5 opakování.

Statistická analýza dat se uskutečnila pomocí softwaru STATISTICA, verze 12 (StatSoft Inc.) při zachování 5 opakování a hladině významnosti $\alpha=0,05$.

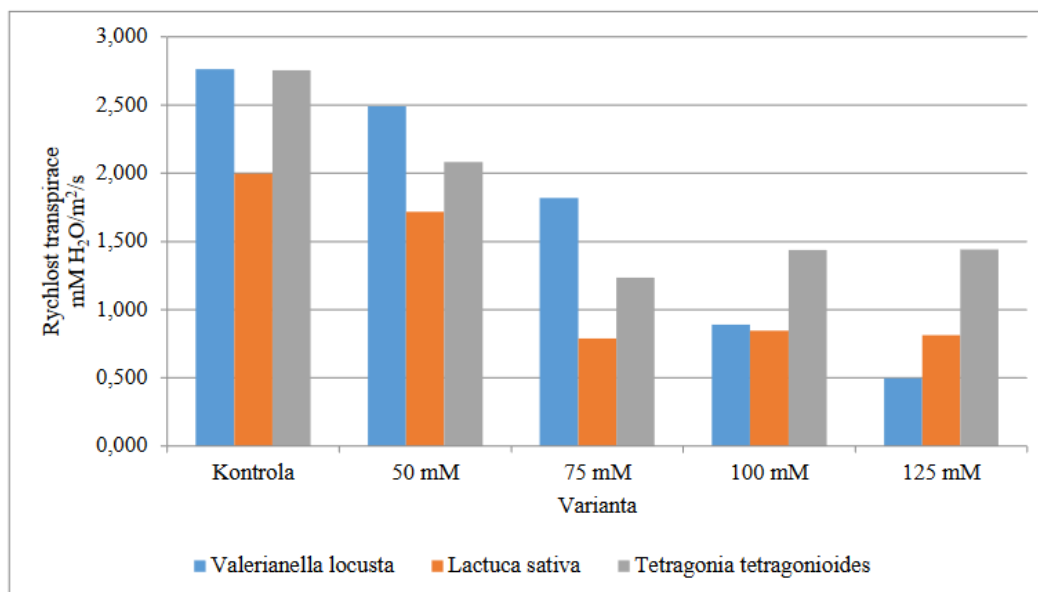
VÝSLEDKY A DISKUSE

Graf 1 popisuje vliv druhu rostliny a varianty pokusu na rychlost fotosyntézy. Z něho vyplývá, že nejvýraznější pokles rychlosti fotosyntézy byl zaznamenán u rostlin polníčku, které vykazovaly snížení rychlosti fotosyntézy v porovnání s kontrolou a variantou stresovanou o 65 % (125 mM NaCl). U rostlin salátu byl pokles rychlosti fotosyntézy o 48 %. U rostlin čtyřboče byl tento pokles 14 %. Z grafu 1 tedy vyplývá, že na zasolení nejcitlivěji reagovaly rostliny polníčku a jako tolerantní se jeví rostliny čtyřboče. Pokles rychlosti fotosyntézy u sledovaných druhů rostlin je dán snížením stomatální vodivosti. Lze tedy obecně konstatovat, že vlivem působení stresoru se snižuje rychlost fotosyntézy. Tento závěr u baby salátu potvrzuje také /10/. Podle /15/ je čtyřboč rostlina halofytní, která toleruje vyšší koncentrace solí v

prostředí, i přesto snižuje fotosyntézu. Tento závěr byl v uvedené práci potvrzen. Obdobně jako merlík čilský na vyšší koncentraci soli reagovaly rostliny polníčku a salátu /2/.



Graf 1: Rychlost fotosyntézy ($\mu\text{mol CO}_2, \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) juvenilních rostlin listové zeleniny ovlivněné rozdílnou koncentrací soli.



Graf 2: Rychlost transpirace ($\text{mmol H}_2\text{O}, \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) juvenilních rostlin listové zeleniny ovlivněné rozdílnou koncentrací soli.

V grafu 2 jsou uvedeny průměrné hodnoty rychlosti transpirace sledovaných druhů zelenin v závislosti na koncentraci soli v roztoku. Z uvedeného grafu je patrné, že shodně s fotosyntézou byl nejvýraznější pokles rychlosti transpirace u rostlin polníčku, který vykazoval její snížení v porovnání kontrolní varianty a varianty stresované 125 mM NaCl, o 82 %. U rostlin salátu byl pokles rychlosti transpirace o 60 %. U rostlin čtyřboče tento pokles byl 48 %.

Na základě uvedených výsledků lze konstatovat, že na zasolení nejcitlivěji reagovaly rostliny polníčku a jako tolerantní se jeví rostliny čtyřboče. Výsledky potvrzují tvrzení /8/, že intenzita fotosyntézy souvisí s transpirací. Přesto mezi těmito parametry nebyla u listové zeleniny nalezena přímá úměra poklesu hodnot. Z výsledků pokusu je patrné, že salinita snižuje rychlost transpirace u všech sledovaných druhů ve všech stresovaných variantách. To dokládá

i /5/, kteří sledovali vodní deficit u kukuřice a /4/, kteří sledovali vliv zasolení na *Atriplex nummularia*. Snížení transpirace v rámci vodního deficitu uvádí také /6/

ZÁVĚR

Ze získaných výsledků je patrný mezidruhový rozdíl v reakci na dobu expozice a koncentrace NaCl v roztoku, kdy druhy *Lactuca sativa* a *Tetragonia tetragonioides* lze zařadit do skupiny rostlin, které jsou tolerantní k zasolení. Naopak na straně druhý druh *Valerianella locusta* lze zařadit do skupiny rostlin citlivých k zasolení. Sledované fyziologické parametry se snižovaly v závislosti na koncentraci soli v roztoku a na délce expozice.

LITERATÚRA

- /1/ Desingh, R., Kanagaraj, G.: Influence of salinity stress on photosynthesis and antioxidative systems in two cotton varieties. *General and Applied Plant Physiology*, 2007: 33(3-4), 221-234.
- /2/ Eisa, S., Hussin, S., Geissler, N., Koyro, H. W.: Effect of NaCl salinity on water relations, photosynthesis and chemical composition of Quinoa ('Chenopodium quinoa' Willd.) as a potential cash crop halophyte. *Australian Journal of Crop Science*, 2012“ 6(2), 357-368.
- /3/ Holá D, Benešová M, Honnerová J, Hnilička F, Rothová O, Kočová M, Hnilíčková H.: The evaluation of photosynthetic parameters in maize inbred lines subjected to water deficiency: Can these parameters be used for the prediction of performance of hybrid progeny? *Photosynthetica*, 2010: 48(4), 545-558.
- /4/ Hussin, S., Geissler, N., Koyro, H. W.: Effect of NaCl salinity on *Atriplex nummularia* (L.) with special emphasis on carbon and nitrogen metabolism. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2013: 35(4), 1025-1038.
- /5/ Jabeen, F., Shahbaz, M., Ashraf, M.: Discriminating some prospective cultivars of maize (*Zea mays* L.) for drought tolerance using gas exchange characteristics and proline contents as physiological markers. *Pakistan Journal of Botany*, 2008: 40(6), 2329-2343.
- /6/ Jin, J., Shan, N., Ma, N., Bai, J., Gao, J.: Regulation of ascorbate peroxidase at the transcript level is involved in tolerance to postharvest water deficit stress in the cut rose (*Rosa hybrida* L.) cv. Samantha. *Postharvest biology and technology*, 2006: 40(3), 236-243.
- /7/ Khattab, H.: Role of glutathione and polyadenylic acid on the oxidative defense systems of two different cultivars of canola seedlings grown under saline conditions. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2007: 1(3), 323-334.
- /8/ Kočová, M., Holá, D., Wilhelmová, N., Rothová, O.: The influence of low-temperature on the photochemical activity of chloroplasts and activity of antioxidant enzymes in maize leaves. *Biologia Plantarum*, 2009: 53(3), 475-483.
- /9/ Mořková, K., Podlupná, R., Vaněk, T., Kafka, Z.: Halofytní rostliny a jejich možné využití ve fytořemediacích. *Chemické listy*, 2014: 108(6), 586-591.
- /10/ Neocleous, D., Koukounaras, A., Siomos, A. S., Vasilakakis, M. (2018). Changes in photosynthesis, yield, and quality of baby lettuce under salinity stress. <http://hdl.handle.net/123456789/4318>
- /11/ Rajendran, K., Tester, M., Roy, S. J.: Quantifying the three main components of salinity tolerance in cereals. *Plant, cell & environment*, 2009: 32(3), 237-249.
- /12/ Roy, S. J., Negrão, S., Tester, M.: Salt resistant crop plants. *Current opinion in Biotechnology*, 2014: 26, 115-124.
- /13/ Sairam, R. K., Tyagi, A.: Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current science*, 2004: 407-421.
- /14/ Suchara, I.: Význam a funkce zeleně v tvorbě a ochraně životního prostředí. Střední zahradnická škola Mělník, 1993
- /15/ Yousif, B. S., Nguyen, N. T., Fukuda, Y., Hakata, H., Okamoto, Y., Masaoka, Y., Saneoka, H.: Effect of salinity on growth, mineral composition, photosynthesis and water relations of two vegetable crops; New Zealand spinach (*Tetragonia tetragonioides*) and water spinach (*Ipomoea aquatica*). *International Journal of Agriculture and Biology*, 2010: 12(2), 211-216.
- /16/ Zhu, J. K.: Plant salt tolerance. *Trends in plant science*, 2001: 6(2), 66-71.

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory S-projektu MŠMT.

VLIV BIOUHLÍ Z POUŽITÉ KÁVOVÉ SEDLINY NA FYTOTOXICITU KLÍČÍCÍCH SEMEN

EFFECT OF BIOCHAR FROM SPENT COFFEE GROUNDS ON PHYTOTOXICITY OF GERMINATION SEEDS

Barbora Tunklová^{1,2}, Lukáš Jeníček², Jan Malat'ák², František Hnilička¹ Jan Velebil²

¹Česká zemědělská univerzita v Praze, FAPPZ, katedra botaniky a fyziologie rostlin, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 – Suchdol, tunklova@af.czu.cz

²Česká zemědělská univerzita v Praze, TF, katedra technologických zařízení staveb, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 – Suchdol

Summary

Currently, spent coffee grounds are mostly disposed of as worthless waste. However, used coffee grounds can be processed and further used. In our experiment, spent coffee grounds were first torrefied into biochar. The moisture content, ash content, elemental composition and combustion heat were determined for each biochar sample. Next, the phytotoxicity of the aqueous extract was tested using the cress test. The non-torrefied sample and the sample treated at 250°C were the most toxic. The sample treated at 350°C performed best of all the tested samples. This sample can be applied to the soil, because, as the germination index was higher than 50%.

Key words: pyrolysis, waste, phytotoxicity, garden cress, germination

Souhrn

V současné době se použitá kávová sedlina většinou likviduje jako bezcenný odpad. Přitom jí lze zpracovat a dále využít. V našem experimentu byla použitá kávová sedlina nejprve torrefikací upravena na biouhel. U každého vzorku biouhlu byl stanoven obsah vlhkosti a popela, prvkové složení a hodnota spalného tepla. Dále byla testována fytotoxicita výluhů pomocí řeřichového testu. Nejvíce toxický byl původní vzorek a vzorek upravený při 250 °C. Ze všech testovaných vzorků dopal nejlépe vzorek upravený při teplotě 350 °C. Kdy tento vzorek je možné aplikovat do půdy, jelikož index klíčivosti je vyšší jak 50 %.

Klíčová slova: pyrolýza, odpad, fytotoxicita, řeřicha setá, klíčení

INTRODUCTION

Coffee is the most consumed beverage in the world after tea. A large amount of waste is generated during coffee processing. More than 90% of spent coffee grounds (SCG) are currently disposed of as worthless waste. SCG is a waste rich in cellulose, hemicellulose, lignin, and other valuable substances. Improper management of SCG is a serious environmental problem due to the high oxygen consumption during decomposition. Furthermore, residual caffeine, tannin and polyphenols may be released /3,12/. However, the spent coffee grounds can be further utilized and can produce value-added material.

The biochar production from SCG is one approach to mitigate climate change, greenhouse gases and waste management /11/.

According to the International Biochar Initiative, biochar is “a solid material obtained from the carbonization of biomass”. Biochar is produced from waste biomass by pyrolysis at a wide temperature range from 100 to 700 °C without air /8/. Biochar is a material with high carbon content (5–95%). In general, the lower the pyrolysis temperature, the more carbon is

retained in the biomass. At the same time, it should be noted that biochar production is only advantageous if pyrolysis is carried out at low temperatures and low oxygen concentration /7/. Biochar has versatile uses and many advantages; it is environmentally friendly, inexpensive and can be produced from any biomass source. It can also contribute to a reduction of CO₂ emissions. It can be used as a soil additive as its structure allows it to bind and retain water in the soil. At the same time, it allows for better aeration and promotes microbial activity and nutrient transfer /3,4/. A potential risk that biochar poses to plants is its possible toxicity.

MATERIALS AND METHODS

A lignocellulosic material of plant origin – spent coffee grounds - was used in the experiment.

The material was first processed by torrefaction at 0°C; 250°C; 300°C; 450°C and 550°C at the Technical Faculty of CZU in a thermogravimetric analyser LECO TGA 701.

Moisture, ash content, combustion heat and elemental analysis were measured for each sample. Moisture and ash contents were determined by thermogravimetric analyser LECO TGA701. The combustion heat was measured with a Loper AC600 isoperibolic calorimeter with controlled combustion. Elemental analysis was measured using a LECO CHN628+S elemental analyser.

The obtained biochar samples were further tested for possible phytotoxicity using the so-called cress test. An aqueous extract was prepared from the torrefied material according to method /6/.

The toxicity of biochar water extracts was evaluated on seeds of garden cress (*Lepidium sativum* L).

Thirty seeds were placed in a Petri dish lined with one sheet of filter paper previously moistened with test solution (5 ml). Distilled water was used as the control. Five Petri dishes were prepared for each testing variant. The Petri dishes were germinated in an incubator for 48 hours in the dark at 25°C.

The germination index, which is an indicator of biochar toxicity, was calculated using:

$$GI = \frac{k_v \times l_v}{k_k \times l_k} \times 100 \quad [\%]$$

k_v - germination percentage of the sample

k_k - germination percentage of the control variant

l_v - average root length of the sample (mm)

l_k - average root length of the control (mm)

Root and hypocotyl lengths were also measured for each sample.

A seed was considered physiologically germinated if the radicle was longer than 2 mm.

Analysis of variance (ANOVA) and Tuckey's test were used to evaluate the results using STATISTICA 12.0 CZ software at 0.05 level of significance.

RESULTS AND DISCUSSION

The measured values of the monitored parameters of the aqueous extracts from the SCG are shown in Table 1. In the non-torrefied sample, the index of germination (GI) value was 11 %. Compared to the sample torrefied at 250°C, which showed phytotoxic effects. According to /1/, organic compounds present in SCG may inhibit plant germination or growth. In particular, polyphenols, caffeine and tannins are of concern. The degree of phytotoxicity decreased with increasing torrefaction temperature. The SCG sample at 350°C reached 109% of the germination index.

For possible soil application, the germination index needs to be at least 50 % as recommended by paper /6/. This test shows that the tested samples SCG300, SCG350, SCG450 and SCG550 can be applied to soil as a soil amendment after torrefaction. Other parameters observed were average root length and hypocotyl length. The longest radicle and hypocotyl were found in SCG350 variant 22.02 and 7.25 mm respectively. The results of elemental analysis, moisture content, ash content and combustion heat are presented in Table 2.

The moisture content of the non-torrefied sample is 8.22 wt.%. At a torrefaction temperature of 250°C, the moisture content of the sample was rapidly reduced to only 0.86% by the weight of the material. Due to the increasing temperature of the torrefaction process, the moisture content of the following samples increased. The highest moisture content (6.17 wt.%) was recorded at a pyrolysis temperature of 550 °C. The given results are in agreement with the work of /5/. Along with the moisture content, the hydrogen level also decreased as the torrefaction temperature increased. The hydrogen level decreased from 6.86 % for SCG0 to 2.77 % for SCG550.

The carbon content of the material also increased with increasing torrefaction temperature. Between the non-torrefied sample temperature and 550 °C, the carbon content increased by 27.27 wt.%. Similar results were also reached by /5/ and /7/.

The nitrogen content increased from 2.41 % for SCG0 to 4.36 % for SCG550. The ash fraction increased from 1.74 % for SCG0 to 7.4 % for SCG550. The ash content was slightly higher than the measured values of /1/, whose values did not exceed 1.30%. The normal ash content in solid biomass is usually around 2 - 4 % /2/.

The sulphur content in the non-torrefied sample and in the samples after subsequent torrefaction is negligible.

Tab. 1: Phytotoxicity effect of SCG water extract on the germination of *Lepidium sativum* L. seeds after 48 hours.

Spent coffee ground sample	Final temperature	GI [%]	Average root length [mm]	Average hypocotyl length [mm]
Control	Distilled water	100 ± 0,00 ^{ac}	19,60 ± 0,76 ^{ac}	7,18 ± 0,52 ^a
SCG0	(non- torrefied)	11 ± 1,46 ^b	5,35 ± 0,5 ^b	<0,01 ± 0,00 ^b
SCG250	250 °C	<1 ± 0,07 ^b	6,98 ± 0,32 ^b	0,01 ± 0,01 ^b
SCG300	300 °C	84 ± 6,38 ^a	17,33 ± 0,51 ^a	4,90 ± 0,42 ^c
SCG350	350 °C	109 ± 8,83 ^c	22,02 ± 0,83 ^c	7,25 ± 0,21 ^a
SCG450	450 °C	87 ± 5,01 ^a	17,93 ± 1,02 ^a	5,91 ± 0,27 ^{ac}
SCG550	550 °C	57 ± 4,76 ^d	11,87 ± 0,37 ^d	2,59 ± 0,47 ^d

Tab. 2: Spent coffee grounds waste elemental analysis.

Samples	Moisture [%]	Ash [% hm.]	C [% hm.]	H [% hm.]	N [% hm.]	S [% hm.]	O [% hm.]	Combustion heat [MJ.kg ⁻¹]
(non-torrefied)	8,22 ± 0,03 ^f	1,74 ± 0,05 ^a	54,77 ± 0,05 ^a	6,86 ± 0,09 ^a	2,41 ± 0,02 ^b	0,05 ± 0,002 ^a	34,18 ± 0,05 ^f	23,23 ± 0,09 ^a
250 °C	0,86 ± 0,03 ^a	2,00 ± 0,02 ^a	60,02 ± 0,00 ^b	6,91 ± 0,17 ^a	2,70 ± 0,01 ^c	0,12 ± 0,000 ^e	28,25 ± 0,14 ^e	25,58 ± 0,00 ^b
300 °C	1,46 ± 0,04 ^b	3,00 ± 0,1 ^b	72,09 ± 0,41 ^c	6,83 ± 0,03 ^a	3,44 ± 0,08 ^d	0,09 ± 0,000 ^d	14,55 ± 0,04 ^d	31,05 ± 0,01 ^e
350 °C	1,65 ± 0,05 ^c	4,15 ± 0,04 ^c	77,96 ± 0,16 ^d	6,13 ± 0,12 ^d	3,99 ± 0,01 ^e	0,06 ± 0,001 ^c	7,72 ± 0,01 ^c	33,16 ± 0,02 ^f
450 °C	2,64 ± 0,02 ^d	6,52 ± 0,04 ^d	80,05 ± 0,28 ^e	3,65 ± 0,08 ^c	4,53 ± 0,11 ^a	0,03 ± 0,000 ^b	5,22 ± 0,01 ^b	28,07 ± 0,01 ^c
550 °C	6,17 ± 0,04 ^e	7,40 ± 0,09 ^e	82,03 ± 0,08 ^f	2,77 ± 0,07 ^b	4,36 ± 0,04 ^a	0,05 ± 0,000 ^a	3,38 ± 0,01 ^a	30,06 ± 0,02 ^d

CONCLUSIONS

The results of the phytotoxicity test show that the non-torrefied SCG samples and the samples torrefied at 250°C are toxic and unsuitable for use in crop production. The heat treatment at higher temperatures breaks down various naturally occurring substances in the non-torrefied material. This has a negative effect on germination. The sample treated at 350 °C can be applied as a soil amendment. It had the best parameters of germination in phytotoxicity test, this sample also showed the highest value combustion heat.

REFERENCES

- /1/ Cerino-Córdova FJ, Dávila-Guzmán NE, García León MA, Salazar-Rabago JJ, Soto-Regalado E. 2020. Revalorization of Coffee Waste. Pages 133-148 in *Coffee – Production and Research*. Castanheira IntechOpen.
- /2/ Colantoni, A., Paris, E., Bianchini, L., Ferri, S., Marcantonio, V., Carnevale, M., Palma, A., Civitarese, V., and Gallucci, F. 2021. Spent coffee ground characterization, pelletization test and emissions assessment in the combustion process. *Scientific Reports* 11.
- /3/ Dragone, G, Kerssemakers A.A, Mussatto, S.I. 2020. Innovation and strategic orientations for the development of advanced biorefineries. *Bioresource Technology*.
- /4/ Cruz, R., Mendes, E., Torrinha, Á., Morais, S., Pereira, J.A., Baptista, P., and Casal, S. 2015. Revalorization of spent coffee residues by a direct agronomic approach. *Food Research International* 73, 190–196.
- /5/ Feroso, J., and Mašek, O. (2018). Thermochemical decomposition of coffee ground residues by TG-MS: A kinetic study. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 130, 249–255.
- /6/ Hejátková K, et.al. 2007. Kompostování přebytečné travní biomasy: metodická pomůcka. ZERA – Zemědělská a ekologická regionální agentura.
- /7/ Malat'ak J, Kic P, Skanderova K. 2015. Energetic use of solid products of pyrolysis technology. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal* 2015, 208–217.
- /8/ Mayson, S., and Williams, I.D. 2021. Applying a circular economy approach to valorize spent coffee grounds. *Resources, Conservation and Recycling* 172.
- /9/ Rangabhashiyam, S. and Balasubramanian, P. 2019. The potential of lignocellulosic biomass precursors for biochar production: Performance, mechanism and wastewater application—A review. *Industrial Crops and Products* 128, 405–423.
- /10/ Shakoor, A.et. al. 2021. Does biochar accelerate the mitigation of greenhouse gaseous emissions from agricultural soil? - A global meta-analysis. *Environmental Research* 202.
- /11/ Tan, Z., Lin, C.S.K., Ji, X., and Rainey, T.J. 2017. Returning biochar to fields: A review. *Applied Soil Ecology* 116, 1–11.
- /12/ Wang, H., Wang, X., Cui, Y., Xue, Z., and Ba, Y. 2018. Slow pyrolysis polygeneration of bamboo (*Phyllostachys pubescens*): Product yield prediction and biochar formation mechanism. *Bioresource Technology* 263, 444–449.
- /13/ Zhang, S., Yang, J., Wang, S., Rupasinghe, H.P.V., and He, Q. (Sophia) 2021. Experimental exploration of processes for deriving multiple products from spent coffee grounds. *Food and Bioproducts Processing* 128, 21–29.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by the project Improvement in Quality of the Internal Grant Scheme at Czech University of Life Science Prague, grant number: CZ.02.2.69/0.0/0.0/19_073/0016944.

ZMENY V ZLOŽENÍ TERPÉNOV SMREKA PO PÔSOBNÍ NÁHLEHO OSLNENIA

CHANGES IN SPRUCE TERPENE COMPOSITION AFTER SUDDEN INCREASE IN SOLAR RADIATION

Veronika Šamajová^{1,2}, Jana Marešová¹, Andrej Majdák¹, Rastislav Jakuš^{1,3}, Miroslav Blaženc¹
¹Ústav ekológie lesa SAV, v. v. i., Ľudovíta Štúra 2, 960 01 Zvolen, Slovenská republika, veronika.samajova@ife.sk

²Technická univerzita vo Zvolene, Fakulta ekológie a environmentalistiky, T.G.Masaryka 24, 960 01 Zvolen, Slovenská republika

³Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta lesnická a dřevařská, Kamýcká 129, 165 00 Praha-Suchdol, Česká republika

Summary

Norway spruce (*Picea abies* (L.) H. Karst) trees at the newly created forest edges are suddenly more radiated and heated, and they produce more terpenes – primary insect pest attractants. Therefore, spruce forest edges are thought to have a higher predisposition for the infestation by bark beetle *Ips typographus* (L.), the most important pest in European Norway spruce forests. The aim of this work was to determine the differences in the chemical composition of spruce phloem terpenes between the trees on the newly created forest edge and the trees in forest interior. Using gas chromatography and mass spectrometry (GC-MS), we analyzed phloem samples from 12 Norway spruce trees (six trees at the edge, six trees in the interior) immediately after the formation of the edge (preselection) and 42 days later (experiment). A significant increase (1.2 - 8×) was found in the content of monoterpenes α -pinene, β -pinene, β -phelandrene, δ -3-carene, limonene and myrcene and sesquiterpene germacrene.

Key words: Norway spruce, phloem, monoterpenes, newly created forest edge stand

Súhrn

Novovzniknuté porastové steny smreka obyčajného (*Picea abies* (L.) H. Karst) sú v podmienkach náhleho oslnenia kvôli zvýšenej produkcii terpénov prítiažlivé pre nálet lykožrúta smrekového (*Ips typographus* L.), najvýznamnejšieho škodcu Európskych smrekových porastov. Cieľom tejto práce bolo zistiť rozdiely v chemickom zložení terpénov floému smreka medzi stromami na čerstvo vytvorenej porastovej stene a stromami vo vnútri porastu. Pomocou plynovej chromatografie s hmotnostnou spektrometriou (GC-MS) sme zanalyzovali vzorky floému z vybraných 12 jedincov smreka obyčajného (6 stromov porastová stena, 6 stromov vnútro porastu) čerstvo po vytvorení porastovej steny (predvýber) a o 42 dní neskôr (experiment). Zistili sme zmeny v zložení terpénov, pričom z monoterpénov významne (1,2× – 8×) stúpol obsah α -pinénu, β -pinénu, β -felandrénu, δ -3-karénu, limonénu a myrcénu a zo seskviterpénov bol výrazný nárast pri terpéne germakrén.

Kľúčové slová: smrek obyčajný, floém, terpény, novovzniknutá porastová stena

ÚVOD

Dôsledkom zmeny klímy môže dôjsť k zníženiu produkčnej funkcie lesa vplyvom sucha, či k rýchlejšiemu rozkladu organickej hmoty, a následne k vyššej dostupnosti živín. Preto možno očakávať posun výskytu lesných drevín do vyšších nadmorských výšok /1/. Ďalším následkom klimatických zmien môže byť zvýšenie frekvencie období horúčav a sucha,

ktoré majú vplyv na distribúciu a náchylnosť stromov na rôzne abiotické a biotické stresory /3; 5; 7/. Terpény zohrávajú úlohu ako základné signály pre výber hostiteľa lykožrútom smrekovým. V ich variabilite sa môže odraziť vplyv adaptácie smreka voči rôznym druhom stresu /6/. Stres zo sucha a vysokej teploty môže mať za následok negatívny aj pozitívny vplyv na konštitutívnu a indukovanú obranu stromu, v závislosti od jeho intenzity, frekvencie a dĺžky pôsobenia /2/. Dochádza k narušeniu obranných mechanizmov smreka, čo má za následok zmeny v koncentráciách terpenov vo vnútorných pletivách stromu i v emisiách terpenov /4/. V tomto experimente sa zameriavame na analýzu chemického zloženia monoterpenov a seskviterpenov lyka zo stromov nachádzajúcich sa na novovytvorenej porastovej stene, v ktorej predpokladáme stres zo zvýšeného slnečného žiarenia.

MATERIÁL A METÓDY

Na výskumnej ploche v Očovej založenej na novovzniknutej porastovej stene po veternej kalamite sme po odstránení vývrátov označili 25 stromov v prvých 2 radoch stromov a potom ďalších 25 v poraste (7. až 8. rada), z ktorých sme v máji 2021 odobrali vzorky lyka na predvýber stromov. Z nich sme následne zvolili 6 stromov na porastovej stene (Obr. 1, 2; exp.edg) a 6 stromov vo vnútri porastu (Obr. 1, 2; exp.int), z ktorých sme po 42 dňoch (júl 2021) znovu odobrali vzorky lyka na biochemickú analýzu. Vzorky lyka boli odoberané s použitím kovových kruhových výsečnikov o priemere 1,0 cm. Z každého stromu boli odobraté 4 výseky pod sebou vo výške cca 4 m zo zatienenej strany kmeňa. Vzorky boli ihneď zabalené do alobalu a ponorené do tekutého dusíka, v ktorom boli uložené až do analýzy.

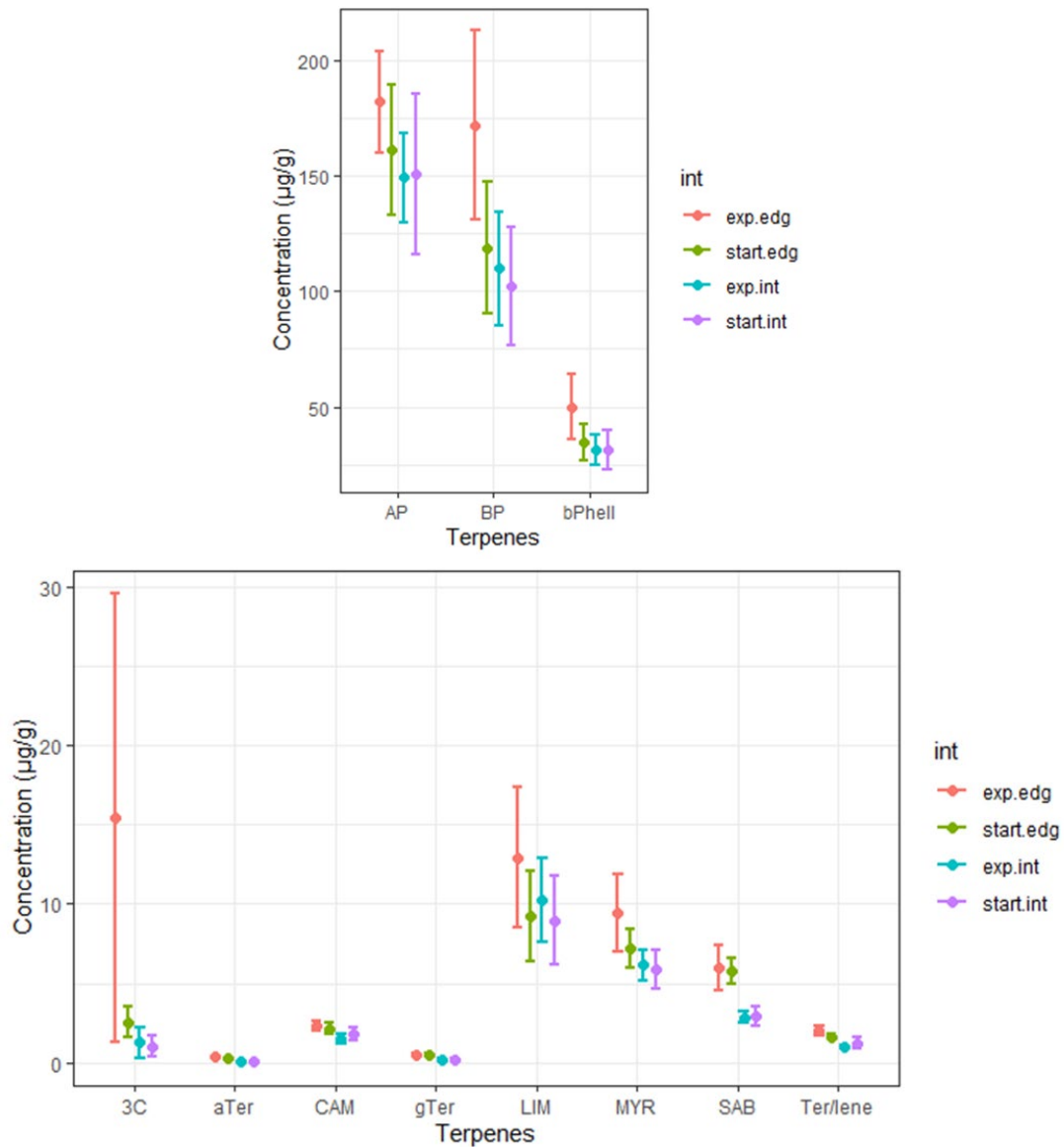
Predpríprava vzorky pred analýzou spočívala v separácii lyka od kôry a drevnej časti použitím skalpela. Lyko bolo následne manuálne homogenizované 15–20 sekúnd s 10 mL tekutého dusíka použitím mažiarika a trecej misky. Odvážili sme 0,150 g homogenizátu do predváženej sklenenej skúmavky, pridali sme 2 mL hexánu (99 % p.a., Sigma Aldrich) a uzavreli. Skúmavky sme krátko premiešali a 15 min sonifikovali pri 20 °C použitím ultrazvukového kúpeľa (Tesla UC 005 AJ1, frekvencia 50 kHz). Skúmavky so vzorkami sme po sonifikácii 2 min miešali na vortexe a prefiltrovali do nových 2 mL vialiek (Screw Cap Vials, Agilent) cez filtračné papieriky (Filter Discs (Quant.) Grade: 390; 84 g m⁻²; Munktell) a uzavreli. Takto pripravené roztoky vzoriek boli uskladnené v mrazničke pri -20 °C až do analýzy.

Analýza: Obsah terpenov vo vzorkách lyka bol analyzovaný plynovou chromatografiou prepojenou s hmotnostnou spektrometriou (GC-MS, z angl. Gas chromatography with mass spectrometry). Identifikácia látok bola v prípade všetkých vzoriek uskutočnená na základe porovnania retenčných časov a profilov hmotnostných spektier s autentickými komerčne získanými štandardnými látkami (α -pinén, kamfén, β -pinén, sabinen, δ -3-karén, myrcén, limonén, β -felandren, 1.8-cineol, bornyl acetát; 99% p.a., Sigma Aldrich), alebo na základe porovnania s knižnicou softvéru MassHunter. Všetky chromatogramy (záznamy spektier) boli spracované použitím softvéru Agilent MassHunter. Kvantifikácia bola uskutočnená použitím známej koncentrácie štandardov a ich odoziev na chromatogramoch.

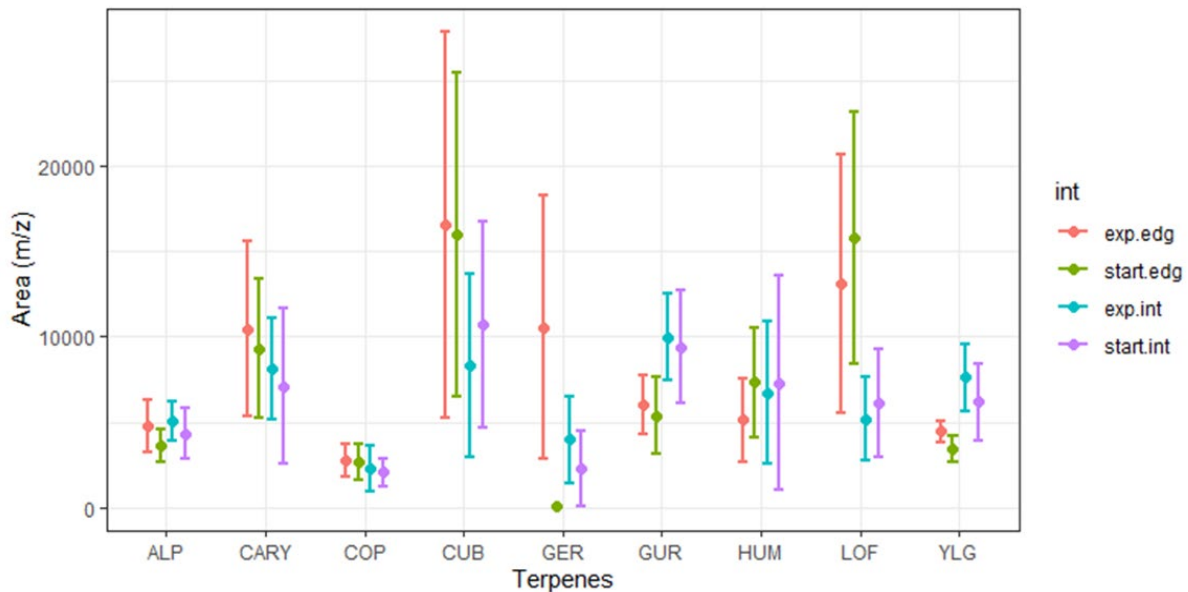
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pre porovnanie zloženia monoterpenov (Obr. 1) a seskviterpenov (Obr. 2) uvádzame ich koncentrácie počas založenia plochy (predvýber) a po uplynutí 42 dní (experiment). Označené sú ako start.edg na porastovej stene a start.int v poraste. Z monoterpenov za toto obdobie u stromov na porastovej stene výraznejšie stúpol obsah α -pinénu, β -pinénu, β -felandrenu, δ -3-karénu, limonénu a myrcénu. Zo seskviterpenov môžeme pozorovať len výrazný nárast u germakrénu. Autori /8/ uvádzajú porovnateľné celkové množstvá terpenov vo vnútri porastu a na porastovej stene, pričom my sme zistili vyšší celkový obsah terpenov na porastovej stene. Autori uvádzajú maximálnu koncentráciu najviac zastúpeného monoterpenu α -pinénu na

porastovej stene v máji a v júni: $805 \pm 347.4 \mu\text{g/g}$ ($\pm\text{SD}$) a vo vnútri porastu $942 \pm 897 \mu\text{g/g}$ ($\pm\text{SD}$). V našom experimente sme v júli zistili vyššie množstvo α -pinénu $183 \pm 23 \mu\text{g/g}$ ($\pm\text{SE}$) na porastovej stene, pričom vo vnútri porastu išlo o hodnoty $150 \pm 19 \mu\text{g/g}$ ($\pm\text{SE}$).



Obr.1.: Priemerné hodnoty ($\pm\text{SE}$) hlavných monoterpénov lyka v čase predvýberu experimentálnych stromov v prvých dvoch radách porastovej steny (start.edg) a vo vnútri porastu (start.int) a po 42 dňoch v čase experimentu – stromy na porastovej stene (exp.edg) a vo vnútri porastu (exp.int).



Obr. 2.: Priemerné hodnoty (\pm SE) hlavných seskviterpénov lyka v čase predvýberu experimentálnych stromov v prvých dvoch radách porastovej steny (start.edg) a vo vnútri porastu (start.int) a po 42 dňoch v čase experimentu – stromy na porastovej stene (exp.edg) a vo vnútri porastu (exp.int).

ZÁVER

Po vytvorení novej porastovej steny sa počas 42 dní stromy, ktoré boli predtým vo vnútri porastu začali vyrovnávať s náhlym zvýšením miery slnečného žiarenia a tepla, čo sa prejavilo zvýšenými koncentraciami viacerých terpénov v pletivách lyka. S koncentráciou terpénov v lyku počas pôsobenia slnečného žiarenia priamo úmerne rastú aj ich emisie do prostredia. Keďže ide o primárne atraktanty hmyzích škodcov, naše výsledky podporujú hypotézu, že novovzniknuté porastové steny sú náchylnejšie pre nálet lykožrúta smrekového.

LITERATÚRA

- Bošela M., Tumajer J., Cienciala E., Dobor L., Kulla L., Marčíš P., Popa I., Sedmák R., Sedmáková D., Sitko R., Šebeň V., Štěpánek P., Büntgen U. 2021. Climate warming induced synchronous growth decline in Norway spruce populations across biogeographical gradients since 2000, *Science of The Total Environment*, Volume 752, 141794, ISSN 0048-9697
- Eyles A., Bonello P., Ganley R., Mohammed C. 2010. Induced resistance to pests and pathogens in trees. *New Phytol* 185:893–908. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03127.x>
- Hlásny T., Mátýás C., Seidl R., Kulla L., Merganičová K., Trombík J. 2014. Climate change increases the drought risk in Central European Forests: What are the options for adaptation? *Lesnícky časopis – Forestry Journal*, 60:5–18
- Holopainen J.K., Virjamo V., Ghimire R.P., Blande J.D., Julkunen-Tiitto R., Kivimaenpaa M. 2018. Climate change effects on secondary compounds of forest trees in the Northern hemisphere. *Front Plant Sci* 9:1445. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01445>
- Jactel H., Petit J., Desprez-Loustau M.L., Delzon S., Piou D., Battisti A., Koricheva J. 2012 Drought effects on damage by forest insects and pathogens: a meta-analysis. *Glob Change Biol* 18:267–276. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2011.02512.x>
- Netherer S., Hammerbacher A. 2022. The Eurasian spruce bark beetle in a warming climate: Phenology, behavior, and biotic interactions. *Bark Beetle Management, Ecology, and Climate Change*, 89-131. 10.1016/B978-0-12-822145-7.00011-8.
- Netherer S., Panassiti B., Pennerstorfer J., Matthews B. 2019. Acute Drought Is an Important Driver of Bark Beetle Infestation in Austrian Norway Spruce StandsData_Sheet_1.docx. *Frontiers in Forests and Global Change*. 2. 10.3389/ffgc.2019.00039
- Stříbrská B., Hradecký J., Čepel J., Tomášková I., Jakuš R., Modlinger R., Netherer S., Jirošová A. 2022. Forest margins provide favourable microclimatic niches to swarming bark beetles, but Norway spruce trees were

not attacked by *Ips typographus* shortly after edge creation in a field experiment, *Forest Ecology and Management*, Volume 506,119950, ISSN 0378-1127, <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2021.119950>

POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla vďaka projektu APVV-19-0606.

VPLYV IMISIÍ FLUÓROVÉHO TYPU AKO VÝZNAMNÝ STRESOR PRE EKTOMYKORÍZNU MYKOBIOITU V OBLASTI ŽIARU NAD HRONOM

INFLUENCE OF FLUORINE - TYPE IMMISSIONS AS A SIGNIFICANT STRESSOR FOR ECTOMYCORRHIZAL MYCOBIOTA IN THE AREA OF ŽIAR NAD HRONOM (CENTRAL SLOVAKIA)

Ivan Mihál, Milan Barna

Ústav ekológie lesa, Slovenská akadémia vied, Štúrova 2, 960 53 Zvolen, Slovenská republika,
mihal@ife.sk

Summary

In submontane beech stands in the vicinity of the aluminum plant in Žiar nad Hronom (Central Slovakia), the trend of a strong negative impact of air pollution on ectomycorrhizal mycobiota (ECM) has been confirmed during 31 years of mycological research. Compared to relatively air-cleared beech stands (18 km from the air pollution source), near the aluminum plant (2 km from the source), there is a low species diversity of ECM macromycetes (2 to 14 species compared to 4 to 33 species) low values of fruitbodies biomass (0.12 to 3.14 versus 3.12 to 62.6 kg.ha⁻¹ fresh weight of fruitbodies) and low values of mycorrhizal potential (0.22 to 0.74 versus 0.8 to 2.36). From selected ECM species it is possible to mention fungi that were dominant in research localities, e.g. *Hygrophorus eburneus*, *Lactarius blennius*, *L. piperatus*, *Russula cyanoxantha*, *Xerocomellus chrysenteron*.

Key words: aluminium plant; beech forests; ectomycorrhizal fungi; Central Slovakia

Súhrn

V submontánných bukových porastoch v okolí hliníkárne v Žiari nad Hronom sa počas 31 rokov mykologického výskumu potvrdzuje trend silného negatívneho vplyvu imisného znečistenia na ektomykoríznu mykobiotu (EKM). V porovnaní s relatívne imisne čistejšími bukovými porastmi (18 km od imisného zdroja) sa v blízkosti hliníkárne (2 km od zdroja) vyskytuje nízka druhová diverzita EKM makromycét (2 až 14 druhov oproti 4 až 33 druhov), nízke hodnoty biomasy plodníc (0,12 až 3,14 oproti 3,12 až 62,6 kg.ha⁻¹ čerstvej hmotnosti plodníc) a nízke hodnoty mykorízneho potenciálu (0,22 až 0,74 oproti 0,8 až 2,36). Z vybraných EKM druhov možno uviesť huby, ktoré boli na výskumných lokalitách dominantné, napr. *Hygrophorus eburneus*, *Lactarius blennius*, *L. piperatus*, *Russula cyanoxantha*, *Xerocomellus chrysenteron*.

Kľúčové slová: hliníkárne; bukové porasty; ektomykorízne huby; stredné Slovensko

ÚVOD

Makromycéty, rastúce v bukových lesných porastoch, predstavujú zložitý ekologický systém spojený s bukom a s prostredím, ktoré buk vytvára. Jedným z ukazovateľov zdravotného stavu lesných porastov sú aj mykologické pomery, pretože huby ako bioindikátory reagujú pomerne rýchlo na zmeny, ktoré nastávajú v imisne zasiahnutých lesných ekosystémoch. Územie Žiarskej kotliny je v rôznej miere zasiahnuté imisným znečistením tzv. fluórového typu, čo má výrazný vplyv aj na mykobiotu v takýchto lesných porastoch /1, 2/.

V zahraničí sa podobnej problematike venovali viacerí autori /3/, napr. v oblasti vplyvu hliníkového závodu v severozápadnom Rusku hodnotili úroveň znečistenia pôdy a rastlín fluórom a ťažkými kovmi a stav pôdnej mikroflóry. Zistili, že v blízkosti hliníkárne je úroveň znečistenia 7 až 8krát vyššia ako obsah pozadia a 4 až 5 krát vyššia ako maximálna povolená koncentrácia (MPC). Zároveň autori zistili, že znečistenie má výrazný vplyv na taxonomické zloženie a zmenu dominancie v mykobiote skúmaného územia. Podobne, na tej istej lokalite sa zistilo, že emisie zlúčenín hliníka

znižili počet a rozmanitosť húb a spôsobili nárast patogénnej druhovej diverzity húb. Pôdna biomasa húb sa v organickom horizonte maximálne znečistenej pôdy znížila zo 5,4 na 3,6 mg.g⁻¹ pôdy /4/.

V príspevku uvádzame dynamiku výskytu ektomykoríznych druhov makromycét (ďalej EKM) na troch rôzne imisne zasiahnutých lokalitách v okolí hliníkárne v Žiari nad Hronom počas 31 rokov monitoringu, pričom sa od začiatku výskumu predpokladal negatívny vplyv imisií fluórového typu na bioindikátora - EKM makromycéty.

MATERIÁL A METODIKA

Monitoring makromycét sme uskutočňovali počas vegetačnej doby v rokoch 1990 až 2021 v nepravidelných intervaloch na troch trvalých výskumných lokalitách: Žiar nad Hronom, Jalná a Kováčová, ktorých lesné porasty boli situované v rôznej vzdialenosti od imisného zdroja – hliníkárne v Žiari nad Hronom, t.j. imisnému vplyvu boli vystavené v rôznej intenzite. Podrobnejšie údaje o všetkých troch lokalitách uvádzame v tab. 1.

Tab. 1: Charakteristika výskumných lokalít.

Charakteristika	Žiar	Jalná	Kováčová
Geografické koordináty	48° 35' 15'' N 18° 51' 05'' E	48° 33' 98'' N 18° 56' 93'' E	48° 38' 10'' N 19° 04' 08'' E
Expozícia	SZ	Z	SZ
Nadmorská výška (m)	470	610 – 620	480 – 510
Geologický substrát	ryolity a ryodacity, aglomeráty tufitov	andesitové tufity a aglomeráty	andesitové tufity a aglomeráty
pH (H ₂ O)	5,0	5,8	6,3
Priemerné ročné zrážky (mm)	636	850	660
Priemerná ročná teplota (°C)	9,2	6,2	8,3
Vek porastu (roky)	80 – 100	90 – 100	110 – 115
Drevinové zloženie (%)	buk 98, dub 2	buk 98, dub 1, hrab 1	buk 95, jedľa 2, hrab 2, dub 1
Zakmenenie porastu	0,7	1,0	1,0
Vzdušná vzdialenosť od imisného zdroja (km)	2	7	18
Mokrú depozíciu (kg.ha ⁻¹)			
SO ₄ ²⁻	26,3	nehodnotené	18,1
F ⁻	2,5	nehodnotené	0,4

Inventarizáciu makromycét na výskumných plochách sme uskutočnili metódou pochôdzky po vrstevnici v rámci výmery každej výskumnej plochy. Systematické zaradenie jednotlivých druhov makromycét sa vykonalo na základe makroskopických a v sporných prípadoch i na základe mikroskopických determinačných znakov, pomocou dostupných mykologických atlasov a determinačných kľúčov. Hodnoty ektomykorízneho potenciálu (M) boli vypočítané ako podiel EKM druhov k druhovému spektru terestrických saprotrofných (TS) druhov: $M = EKM/TS$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z porovnania charakteristík jednotlivých lokalít (tab. 1) je zrejmé, že sa jedná o relatívne podobné lesné porasty, v ktorých prevláda buk ako hlavná drevina, čo predpokladá aj pomerne identické druhové zloženie EKM mykobioty. V tab. 2 až 4 uvádzame dva najvýznamnejšie časové intervaly, kedy sme sa mykologickému výskumu, okrem iných rokov, venovali intenzívnejšie (1990 – 1996) a (2003 – 2005).

Tab. 2: Početnosť ektomykorizných druhov makromycét na výskumných lokalitách.

Lokality	1990 - 1996	2003 - 2005	október 2019	október 2020	október 2021
Žiar	6	14	9	13	2
Jalná	16	17	16	26	3
Kováčová	21	29	26	33	4

Tab. 3: Hodnoty čerstvej biomasy plodníc ektomykorizných druhov makromycét na výskumných lokalitách ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$).

Lokality	2003 - 2004	október 2019	október 2020	október 2021
Žiar	1,84	3,14	1,99	0,12
Jalná	6,28	3,32	19,37	0,45
Kováčová	15,95	53,22	62,6	3,12

Tab. 4: Hodnoty ektomykorizného potenciálu makromycét na výskumných lokalitách.

Lokality	1990 - 1995	2003 - 2005	október 2019	október 2020	október 2021
Žiar	0,42	0,74	0,53	0,71	0,22
Jalná	0,69	0,94	1,33	2,36	0,43
Kováčová	1,57	1,45	2,0	1,94	0,8

Pre aktuálne porovnanie stavu EKM mykobioty so staršími údajmi sme jednorazovo vykonali prieskum aj v októbri v rokoch 2019 až 2021. Údaje v uvedených tabuľkách sme sumarizovali z našich starších mykologických prác na skúmaných lokalitách /1, 2, 5-8/. Celkové zhodnotenie vplyvu imisií na mykobiotu (1990 až 2021) a hodnoty emisií znečisťujúcich látok z hliníkárne (1993 až 2013) uvádzame v inej našej práci /9/. Ako vidno z tabuliek, prakticky od roku 1990 sme zaznamenávali nízke druhové spektrum EKM makromycét na najviac imisne zaťaženej ploche Žiar, vyššie hodnoty početnosti druhov boli na lokalite Jalná a najvyššie hodnoty boli na lokalite Kováčová. Počas celej doby výskumu sme nikdy nezaznamenali zmeny v danom trende, t.j. v Žiari bol vždy počet EKM druhov najnižší a na Kováčovej vždy najvyšší. Zároveň sa tento stav nevyhnutne odrazil aj na hodnotách čerstvej biomasy plodníc vyprodukovaných EKM hubami – vždy boli zaznamenané nízke hodnoty v Žiari a najvyššie na Kováčovej (tab. 3), tak isto ako aj hodnoty mykorizného potenciálu (tab. 4), ako dôležitého ukazovateľa ekotrofického stability skúmanej mykocenózy /5, 8/.

ZÁVER

V submontánných bukových porastoch v okolí hliníkárne v Žiari nad Hronom sa počas 31 rokov mykologického výskumu potvrdzuje trend silného negatívneho vplyvu imisného znečistenia na ektomykoriznu mykobiotu. Možno konštatovať, že tento stav sa nezmení ani v najbližších rokoch, pokiaľ sa reziduálne imisné znečistenie bude naďalej prejavovať ako silný stresor pre mykobiotu týchto porastov. Významnejšie zmeny v tomto trende je možné očakávať iba v prípade náhlych a výrazných ekologicko-klimatických zmien, napr. vplyvom kalamitných udalostí alebo ťažbových zásahov s následnými edaficko-klimatickými zmenami, t.j. otvorenie porastu môže vyvolať zmeny v pôdnych pomeroch, v dostatku a prístupnosti zrážok, čo by sa časom malo prejavovať aj na zmenách v mykocenózach skúmaných lokalít, najmä na lokalite Žiar.

LITERATÚRA

- /1/ Cicák, A., Mihál, I. 1996. Zdravotný stav a mykoflóra nezmiešanej bučiny v oblastiach s odlišným imisným zaťažením. Lesn. Čas. – For. J., 42, p. 145–152.
- /2/ Štefančík, I., Cicák, A., Mihál, I. 1996. Výskum zdravotného stavu a mykoflóry nezmiešanej bučiny v oblasti s miernym imisným vplyvom. Lesnictví-Forestry, 42, p.77–91.
- /3/ Evdokimova, G. A., Mozgova, N.P., Shtina. E.A. 1997. Soil pollution by fluoride and evaluation of the soil microflora status in the area of influence of an aluminum plant. Eur. Soil Sci., 30, p. 796–803.
- /4/ Evdokimova, G. A., Korneykova, M. V. 2010. Microfungal communities in soil polluted with fluoride. Nat. Sci., 2, p. 1023–1029.
- /5/ Bučinová, K., Mihál, I. 2008. Ekotrofické skupiny makromycétov Kremnických a Štiavnických vrchov a porovnanie ich zastúpenia na vybraných trvalých výskumných plochách. Acta Fac. Ecol. (Zvolen), 18, p. 5–11.

- /6/ Mihál, I. 1994. Porovnanie mykoflóry dvoch bukových lesných ekosystémov z hľadiska ich rozdielnej antropogénnej záťaže. *Lesn. Čas. – For. J.*, 40, p. 209–214.
- /7/ Mihál, I. 1995. Príspevok k poznaniu mykoflóry bukových porastov severnej časti Štiavnických vrchov. *Ochr. Prír., Banská Bystrica*, 13, p. 119–127.
- /8/ Mihál, I., Bučinová, K. 2007. Biomass of epigeic sporocarps in submountain beech stands exposed to different immission load. *Ekológia (Bratislava)*, 26, p. 201–210.
- /9/ Mihál, I., Barna, M. 2022. Imisie fluórového typu z hliníkárne ako významný stresor pre mykobiotu. *Zpráv. Lesn. Výzk.*, 37, p. 129–137.

Pod'akovanie

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory výskumného projektu VEGA 2/0045/22, ako aj projektu MAD 18-18 (CZ – SK): „Analysis of revitalisation process in beech ecosystems over the immission load“.

VLIV SUCHA NA VYBRANÉ FYZIOLOGICKÉ PARAMETRY GENOTYPŮ PŠENICE (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

*EFFECT OF DROUGHT ON SELECTED PHYSIOLOGICAL PARAMETERS IN GENOTYPES OF WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.)*

Jiří Krucký¹, Václav Hejnák¹, Milan Skalický¹, Pavla Vachová¹, Mária Barboričová², Andrej Filaček², Barbora Tunklová¹, Veronika Petruš¹, Kamil Kraus¹

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

²Slovenská poľnohospodárska univerzita, FAPZ, katedra fyziológie rastlín, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika

Summary

Drought is one of the main abiotic stressors that severely limit production and yield in wheat (*Triticum aestivum* L.). To reduce its effects, the breeding of new drought tolerant production genotypes is essential. This requires a deeper understanding of the physiological behaviour of different genetic resources under water stress. For this reason, the effect of dehydration on relative water content (RWC) and proline content in fully developed mature leaves of wheat genotypes Dagmar (CR) and Sturdy (USA) was investigated under controlled conditions in a climate box. Sturdy increased proline content during dehydration already at relatively high RWC values, which was also reflected by a high positive correlation between proline content and RWC. In contrast, Dagmar showed a negative correlation between these factors during dehydration. From the measured values, it can be concluded that the Sturdy genotype is more tolerant and the Dagmar genotype more sensitive to drought.

Key words: water stress, wheat genotypes, real water content, proline

Souhrn

Sucho je jedním z hlavních abiotických stresorů, které zásadně omezují produkci a výnos u pšenice seté (*Triticum aestivum* L.). Pro zmírnění jeho následků je nezbytné vyšlechtění nových produkčních genotypů tolerantních k suchu. K tomu je potřebné hlubší poznání fyziologického chování různých genetických zdrojů při vodním stresu. Z tohoto důvodu byl v řízených podmínkách klimatizovaného boxu sledován vliv dehydratace na relativní obsah vody (RWC) a obsah prolinu v plně vyvinutém dospělém listu u genotypů pšenice Dagmar (ČR) a Sturdy (USA). Sturdy během dehydratace navyšoval obsah prolinu již při relativně vysokých hodnotách RWC, což se také projevilo vysokou pozitivní korelací mezi obsahem prolinu a RWC. Naopak Dagmar vykazovala během dehydratace negativní korelaci mezi těmito faktory. Z naměřených hodnot lze usuzovat, že genotyp Sturdy je tolerantnější a genotyp Dagmar citlivější k suchu.

Klíčová slova: vodní stres, genotypy pšenice, relativní obsah vody, prolin

ÚVOD

Pšenice setá (*Triticum aestivum* L.), patřící do čeledi lipnicovité (*Poaceae*) /13/ a pocházející z jihozápadní Asie /1/, je celosvětově hlavní základní potravinářskou plodinou /14/. Pšenice zajišťuje 20 % kalorického a bílkovinného příjmu v lidské populaci /5, 15/. Očekává se, že do roku 2050 bude nutné navýšit celosvětovou zemědělskou produkci o více

než 60 % /8, 24/, aby byla uspokojena rostoucí poptávka po rostlinné produkci v souvislosti s růstem lidské populace /12/.

Změny klimatu, doprovázené působením řady biotických a abiotických stresorů, ohrožují globální potravinovou produktivitu i lokální potravinovou bezpečnost /20/. Sucho, jako jeden z hlavních abiotických stresorů, ovlivňuje 60 % produkce pšenice ve vyspělých zemích a přibližně 30 % v rozvojových zemích /9/. V důsledku sucha mohou dosahovat ztráty na výnosu zrna až 70 % /25/. Pro zmírnění těchto problémů bude zapotřebí vyšlechtění výkonných genetických zdrojů tolerantních k suchu /6, 10/. K tomu je nutné hlubší poznání fyziologického chování genotypů pšenice při stresu suchem /21, 25/.

Relativní obsah vody (RWC) je významným parametrem udávajícím stav vody v rostlině a odrážejícím probíhající metabolické aktivity v rostlinných pletivech /11/. RWC lze použít jako spolehlivý indikátor tolerance k suchu /2/. Důležitým mechanismem tolerance plodin vůči suchu je osmotické přizpůsobení /25/. S poklesem obsahu vody v rostlině se v buňkách akumulují rozpuštěné látky, jako jsou různé aminokyseliny (např. prolin), cukry (např. sacharóza a fruktóza), alkoholy (např. manitol), ionty (např. draslík) a organické kyseliny (např. k. jablečná, k. citronová), které snižují osmotický potenciál /2, 19/. Tím se zabrání větším ztrátám vody. Turgor se tak v buňkách udržuje co nejdéle, což zabraňuje vadnutí a umožňuje růst /25/. Hromadění prolinu je charakteristickým ukazatelem rostlin vystavených suchu /26/. Zvýšená akumulace prolinu je považována za adaptivní reakci rostliny na nedostatek vody /7, 18/.

V kontextu těchto skutečností bylo cílem naší experimentální práce porovnat změny RWC a schopnost akumulovat volný prolin v listech jednotlivých genotypů během dehydratace.

MATERIÁL A METODA

Jako pokusný materiál byly vybrány dva genotypy pšenice seté ozimé (*Triticum aestivum* subsp. *aestivum*) – Dagmar (ČR), Sturdy (USA). Rostliny byly pěstovány v nádobách o objemu 500 ml v rašelinovém substrátu KLASMANN TS 2. Nádobový pokus byl realizován v plně řízeném klimatizovaném boxu Convicon CMP6050, při dostatečné intenzitě umělého osvětlení, fotoperiodě 14/10 h (den/noc), teplotě 23/17 °C (den/noc) a vlhkosti 40 až 50 %.

Nádoby s rostlinami byly pravidelně zavlažovány do DC 16 dle Zadokse et al. /28/, tedy do růstové fáze vyvinutého 6. listu. V této fázi byl pokus rozdělen na varianty kontrolní (K), které byly i nadále pravidelně zavlažovány, a varianty stresované (S), u kterých byl indukován vodní stres přerušením zalévání. Postupná dehydratace trvala 8 dnů (odběr 1 = 1. den dehydratace, odběr 2 = 3. den dehydratace, odběr 3 = 5. den dehydratace, odběr 4 = 8. den dehydratace), po které následovala rehydratace trvající 4 dny (odběr 5 = 4. den rehydratace).

Pro zjištění stupně působícího vodního stresu byl na plně vyvinutém dospělém listu stanoven relativní obsah vody (RWC) gravimetrickou metodou podle Schonfeld et al. /22/. Při této metodě byl odebrán segment středové části listu a navážena jeho čerstvá hmotnost (FW), hmotnost po nasycení vodou (TW) a hmotnost po vysušení (DW). RWC byl následně vypočítán na základě vztahu:

$$\text{RWC (\%)} = \frac{[FW-DW]}{[TW-DW]} \times 100 \quad /22/.$$

Souběžně s RWC byl stanoven obsah volného prolinu v listu dle Batese et al. /3/. Koncentrace prolinu v $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ FW byla stanovena pomocí kalibrační křivky a vypočtena na základě čerstvé hmotnosti.

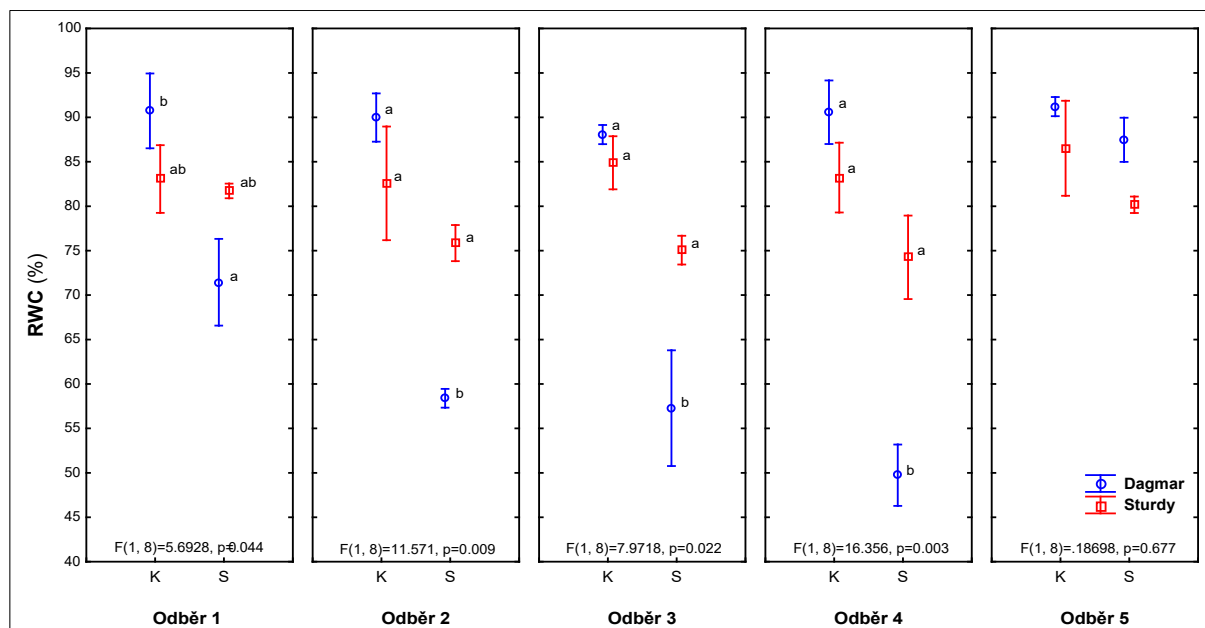
Rozdíl mezi jednotlivými variantami v rámci daných odběrů pro měřené proměnné (prolin a RWC) byl vyhodnocen pomocí faktoriální ANOVA (analýza rozptylu). V případě

statisticky významných rozdílů byl použit Tukey post hoc test. Vzájemný vztah sledovaných proměnných byl vyhodnocen korelační maticí se dvěma proměnnými. Získané výsledky jsou zpracovány na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Veškeré analýzy byly provedeny v programu STATISTICA 13.

VÝSLEDKY A DISKUSE

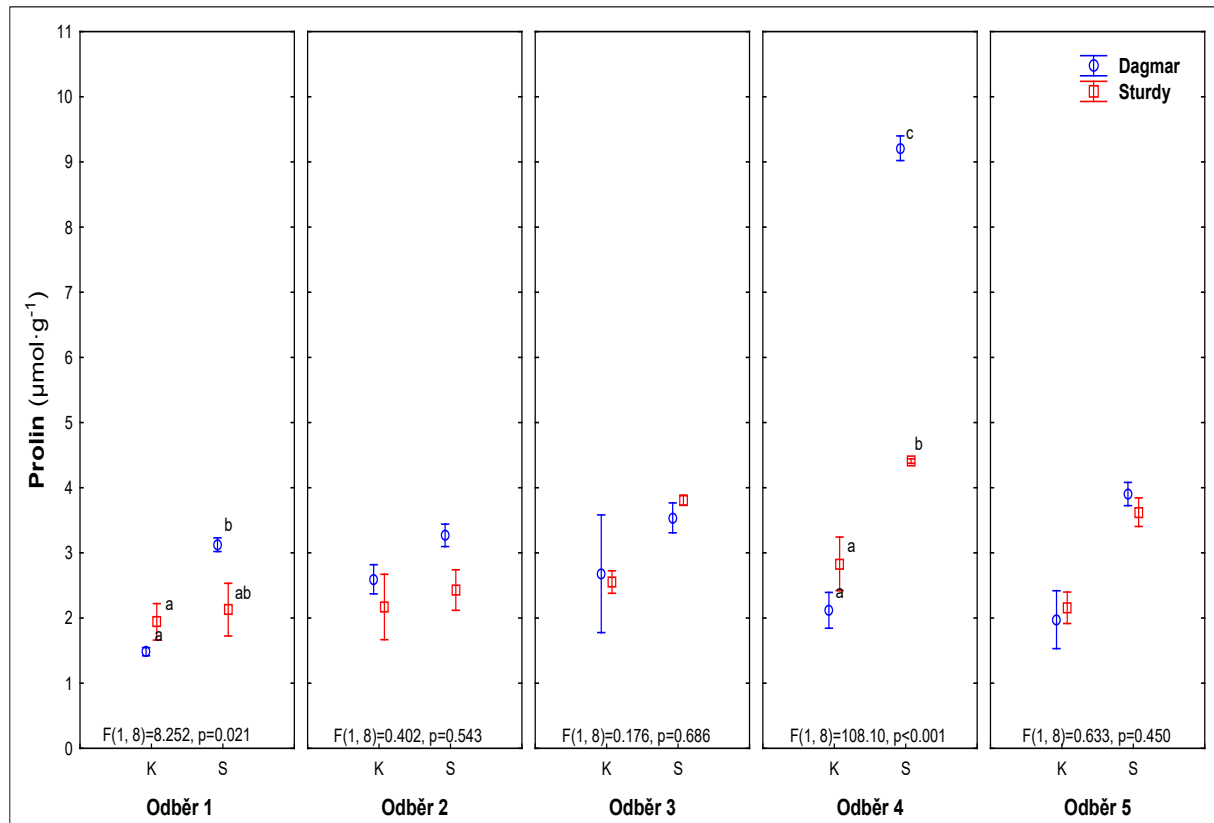
V podmínkách řízeného klimatizovaného boxu jsme sledovali vybrané fyziologické parametry během vodního stresu (odběr 1–4) a následné rehydratace (odběr 5) u jednotlivých genotypů pšenice na nejmladším plně vyvinutém dospělém listu. Obr. 1 znázorňuje průběh naměřených hodnot relativního obsahu vody (RWC). V našem experimentu bylo zaznamenáno, že RWC u kontrolních variant dosahoval vyšších hodnot oproti variantám stresovaným suchem, což je v souladu s pracemi /11, 16, 23, 27/.

Ve fázi dehydratace vykazovaly genotypy podobný trend poklesu hodnot RWC. Nicméně genotyp Sturdy se ukázal jako tolerantnější vůči suchu, neboť snížení nebylo statisticky významné ve srovnání s kontrolními rostlinami. Nepatrné snížení RWC v reakci na suchu bylo již zjištěno u genotypů pšenice odolných vůči suchu /1, 4/, které si udržovaly větší obsah vody v listech při omezené dostupnosti vody /17/. Naopak u genotypu Dagmar byl zaznamenán statisticky významný pokles hodnot RWC u stresovaných rostlin oproti kontrole.



Obr. 1: Průběh naměřených hodnot relativního obsahu vody u genotypů pšenice Dagmar a Sturdy během dehydratace a rehydratace. Legenda: K = kontrola, S = stres, Odběr 1–4 = dehydratace, Odběr 5 = rehydratace. Rozdílná písmena označují statisticky významné rozdíly mezi průměrnými hodnotami genotypů při $p < 0,05$ pomocí Tukeyho post hoc testu.

Obr. 2 dokumentuje průběh stanovených hodnot volného prolinu v listech pro jednotlivé genotypy. V termínech 2. a 3. odběru nebyly zaznamenány u obou genotypů statisticky rozdílné hodnoty mezi stresovanými a kontrolními variantami. Genotypy jsou považovány za tolerantní vůči suchu, pokud mají vyšší obsah prolinu během vodního stresu než za normálních podmínek /11/. Vodní stres statisticky průkazně zvýšil obsah prolinu až v závěru dehydratace (odběr 4), kdy u genotypu Sturdy byl jeho obsah vyšší o $1,58 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmotnosti a u genotypu Dagmar dokonce o $7,09 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmotnosti ve srovnání s kontrolními rostlinami. Autoři /16, 17, 23/ ve své práci pozorovali podobné změny v obsahu prolinu u pšenice v podmínkách sucha.



Obr. 2: Průběh změn obsahu volného prolinu měřeného u genotypů pšenice Dagmar a Sturdy během dehydratace a rehydratace. Legenda: K = kontrola, S = stres, Odběr 1–4 = dehydratace, Odběr 5 = rehydratace. Rozdílná písmena označují statisticky významné rozdíly mezi průměrnými hodnotami genotypů při $p < 0,05$ pomocí Tukeyho post hoc testu.

Vyjádření vzájemného vztahu mezi obsahem prolinu a relativním obsahem vody (Tab. 1), lze považovat jako přesnější porovnání genotypů, než pouze vyjádření jednotlivých parametrů ve vztahu k času (Obr. 1, 2). Genotyp Dagmar vykazoval negativní korelaci během dehydratace (odběr 1, 3, 4). Na druhé straně u genotypu Sturdy byla vysoká pozitivní korelace mezi obsahem prolinu a RWC [(odběr 1, $r = 0,994$), (odběr 2, $r = 0,939$), (odběr 4, $r = 0,871$)]. Z tohoto hlediska se zajímavě jeví reakce genotypu Sturdy, který během dehydratace navyšoval obsah prolinu již při relativně vysokých hodnotách RWC (Obr. 1, 2).

Tab. 1: Grafické znázornění vzájemného vztahu mezi obsahem volného prolinu a relativním obsahem vody u genotypů pšenice Dagmar a Sturdy. Legenda: Dr = Dagmar, Sy = Sturdy, 1–5 = Odběr 1–5, K = kontrola, S = stres, r = korelační koeficient (hodnota korelačního koeficientu je znázorněna intenzitou barvy – modrá: pozitivní vztah; červená: negativní vztah).

		RWC																			
		Dr/1/K	Sy/1/K	Dr/1/S	Sy/1/S	Dr/2/K	Sy/2/K	Dr/2/S	Sy/2/S	Dr/3/K	Sy/3/K	Dr/3/S	Sy/3/S	Dr/4/K	Sy/4/K	Dr/4/S	Sy/4/S	Dr/5/K	Sy/5/K	Dr/5/S	Sy/5/S
Prolin	Dr/1/K	0,938	-0,471	0,981	0,693	-0,329	-0,944	0,244	0,475	-0,803	0,553	-0,712	-0,998	0,996	-0,772	-0,987	0,223	0,348	-0,664	0,675	-0,490
	Sy/1/K	0,965	0,128	0,912	0,147	-0,816	-0,576	0,762	-0,124	-0,308	-0,032	-0,987	-0,773	0,861	-0,260	-0,712	-0,384	0,827	-0,975	0,121	-0,905
	Dr/1/S	-0,119	1,000	-0,274	-0,957	-0,690	0,725	0,752	-1,000	0,897	-0,994	-0,301	0,515	-0,378	0,918	0,592	-0,969	0,676	-0,363	-0,964	-0,553
	Sy/1/S	0,496	-0,928	0,627	0,994	0,354	-0,936	-0,436	0,929	-0,998	0,959	-0,094	-0,808	0,709	-1,000	-0,859	0,797	-0,336	-0,028	0,991	0,185
	Dr/2/K	-0,730	0,777	-0,828	-0,919	-0,063	0,998	0,152	-0,779	0,971	-0,833	0,383	0,946	-0,885	0,958	0,972	-0,584	0,044	0,321	-0,908	0,112
	Sy/2/K	0,439	-0,950	0,575	0,999	0,414	-0,911	-0,493	0,951	-0,992	0,975	-0,030	-0,768	0,662	-0,997	-0,824	0,834	-0,396	0,036	0,998	0,248
	Dr/2/S	0,860	0,388	0,769	-0,122	-0,941	-0,338	0,907	-0,384	-0,043	-0,298	-0,994	-0,576	0,694	0,007	-0,498	-0,617	0,947	-0,999	-0,148	-0,986
	Sy/2/S	-0,208	-0,941	-0,051	0,813	0,887	-0,464	-0,924	0,939	-0,706	0,904	0,592	-0,211	0,060	-0,741	-0,300	0,997	-0,878	0,644	0,828	0,792
	Dr/3/K	-0,999	0,171	-0,993	-0,433	0,608	0,793	-0,535	-0,176	0,576	-0,265	0,896	0,926	-0,973	0,534	0,888	0,093	-0,624	0,864	-0,410	0,738
	Sy/3/K	0,447	-0,947	0,583	0,999	0,405	-0,915	-0,485	0,948	-0,994	0,973	-0,039	-0,774	0,669	-0,998	-0,829	0,829	-0,387	0,027	0,997	0,239
	Dr/3/S	0,982	0,051	0,941	0,223	-0,769	-0,638	0,709	-0,047	-0,381	0,045	-0,972	-0,820	0,898	-0,333	-0,764	-0,312	0,781	-0,954	0,198	-0,869
	Sy/3/S	0,801	0,485	0,696	-0,228	-0,972	-0,234	0,947	-0,481	0,065	-0,399	-0,976	-0,485	0,613	0,115	-0,402	-0,698	0,976	-0,989	-0,253	-0,998
	Dr/4/K	0,485	0,800	0,341	-0,607	-0,983	0,184	0,996	-0,798	0,467	-0,739	-0,802	-0,085	0,236	0,511	0,007	-0,930	0,980	-0,840	-0,627	-0,936
	Sy/4/K	0,800	0,485	0,696	-0,228	-0,972	-0,234	0,947	-0,481	0,065	-0,399	-0,976	-0,485	0,612	0,115	-0,402	-0,698	0,976	-0,988	-0,253	-0,998
	Dr/4/S	0,119	-1,000	0,274	0,957	0,690	-0,725	-0,752	1,000	-0,897	0,994	0,301	-0,515	0,378	-0,918	-0,592	0,969	-0,676	0,363	0,964	0,553
	Sy/4/S	-0,600	-0,712	-0,466	0,493	0,999	-0,049	-0,999	0,709	-0,343	0,641	0,876	0,219	-0,365	-0,390	0,128	0,871	-0,998	0,906	0,515	0,975
	Dr/5/K	-0,981	-0,059	-0,938	-0,215	0,774	0,632	-0,715	0,055	0,373	-0,037	0,974	0,815	-0,894	0,326	0,759	0,319	-0,786	0,957	-0,190	0,873
	Sy/5/K	0,836	0,430	0,739	-0,168	-0,955	-0,294	0,925	-0,427	0,003	-0,342	-0,988	-0,538	0,660	0,054	-0,458	-0,652	0,961	-0,996	-0,193	-0,992
	Dr/5/S	0,994	-0,023	0,963	0,294	-0,719	-0,693	0,655	0,027	-0,448	0,119	-0,952	-0,860	0,928	-0,402	-0,809	-0,241	0,733	-0,930	0,270	-0,830
	Sy/5/S	0,318	-0,983	0,463	0,996	0,530	-0,849	-0,603	0,983	-0,968	0,996	0,101	-0,678	0,558	-0,979	-0,743	0,899	-0,513	0,167	0,998	0,373

ZÁVĚR

Sledované genotypy pšenice vykazovaly odlišné reakce na vodní stres. Z výsledků naměřených hodnot RWC, obsahu prolínu a vzájemného vztahu těchto fyziologických parametrů vyplývá, že genotyp Sturdy je tolerantnější vůči suchu, zatímco genotyp Dagmar je citlivější na suchu. Schopnost akumulovat prolín i při malých změnách RWC, která se projevila u genotypu Sturdy, by mohla potenciálně představovat zajímavý screeningový znak vedoucí k vyšší toleranci genotypů pšenice v podmínkách sucha.

LITERATURA

- 1/ Ahmad, A., Aslam, Z., Javed, T., Hussain, S., Raza, A., Shabbir, R., Mora-Poblete, F., Saeed, T., Zulfikar, F., Ali, MM., Nawaz, M., Rafiq, M., Osman, HS., Albaqami, M., Ahmed, MAA., Tauseef, M.: Screening of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genotypes for Drought Tolerance through Agronomic and Physiological Response. *Agronomy*, 12, 2022: 287.
- 2/ Ahmad, Z., Waraich, EA., Akhtar, S., Anjum, S., Ahmad, T., Mahboob, W., Hafeez, OBA., Tapera, T., Labuschagne, M., Rizwan, M.: Physiological responses of wheat to drought stress and its mitigation approaches. *Acta Physiol Plant*, 40, 2018: 80.
- 3/ Bates, LS., Waldren, RP., Teare, ID.: Rapid determination of free proline for water-stress Studies. *Plant and Soil*, 39, 1973: 205–207.
- 4/ Belay, GA., Zhang, Z., Xu, P.: Physio-morphological and biochemical trait-based evaluation of Ethiopian and Chinese wheat germplasm for drought tolerance at the seedling stage. *Sustainability*, 13, 2021: 4605.
- 5/ Cosgrove, DJ.: Expanding wheat yields with expansin. *New Phytologist*, 230, 2021: 403–405.
- 6/ Daryanto, S., Wang, L., Jacinthe, PA.: Global synthesis of drought effects on maize and wheat production. *PLoS ONE*, 11, 2016: e0156362.
- 7/ Hayat, S., Hayat, Q., Alyemini, MN., Wani, AS., Pichtel, J., Ahmad, A.: Role of proline under changing environments. *A review. Plant Signaling & Behavior*, 11, 2012: 1456–1466.
- 8/ Hunter, M., Smith, R., Schipanski, M., Atwood, L.: Agriculture in 2050: recalibrating targets for sustainable intensification. *Bioscience*, 67, 2017: 385–390.
- 9/ Chen, X., Min, D., Yasir, TA., Hu, YG.: 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.

- /10/ Chapman, SC., Chakraborty, S., Dreccer, MF., Howden, SM.: Plant adaptation to climate change—opportunities and priorities in breeding. *Crop and Pasture Science*, 63, 2012: 251–268.
- /11/ Chowdhury, MK., Hasan, MA., Bahadur MM., Islam, MR., Hakim, MA., Iqbal, MA., Javed, T., Raza, A., Shabbir, R., Sorour, S., Elsanafawy, NEM., Anwar, S., Alamri, S., Sabagh, AE., Islam, MS.: Evaluation of drought tolerance of some wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes through phenology, growth, and physiological indices. *Agronomy*, 11, 2021: 1792.
- /12/ Kogan, F., Guo, W., Yang, W.: Near 40-year drought trend during 1981-2019 earth warming and food security. *Geomatics, Natural Hazards and Risk*, 11, 2020: 469–490.
- /13/ Levy, AA., Feldman, M.: Evolution and origin of bread wheat. *The Plant cell*, 2022: 1–19.
- /14/ Li, LF., Zhang, ZB., Wang, ZH., Li, N., Sha, Y., Wang, XF., Ding, N., Li, Y., Zhao, J., Wu, Y., Gong, L., Mafessoni, F., Levy, AA., Liu, B.: Genome sequences of five *Sitopsis* species of *Aegilops* and the origin of polyploid wheat B subgenome. *Molecular plant*, 15, 2022: 488–503.
- /15/ Luo, Y., Zhang, Z., Cao, J., Zhang, L., Zhang, J., Han, J., Zhuang, H., Cheng, F., Tao, F.: Accurately mapping global wheat production system using deep learning algorithms. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, 110, 2022: 102823.
- /16/ Mannan, MA., Tithi, MA., Islam, MR., Mamun, MAA., Mia, S., Rahman, MZ., Awad, MF., Sayed, AIE., Mansour, E., Hossain, MS.: Soil and foliar applications of zinc sulfate and iron sulfate alleviate the destructive impacts of drought stress in wheat. *Cereal Research Communications*, 2022: 1–11.
- /17/ Marček, T., Hamow, KA., Vegh, B., Janda, T., Darko, E.: Metabolic response to drought in six winter wheat genotypes. *PLoS ONE*, 14, 2019: e0212411.
- /18/ Nasirzadeh, L., Sorkhilaleloo, B., Hervan, ME., Fatehi, F.: Changes in antioxidant enzyme activities and gene expression profiles under drought stress in tolerant, intermediate, and susceptible wheat genotypes. *Cereal Research Communications*, 49, 2021: 83–89.
- /19/ Qaseem, MF., Qureshi, R., Shaheen, H.: Effects of pre-anthesis drought, heat and their combination on the growth, yield and physiology of diverse wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes varying in sensitivity to heat and drought stress. *Scientific Reports*, 9, 2019: 6955.
- /20/ Raza, A., Mehmood, SS., Tabassum, J., Batool, R.: Targeting Plant Hormones to Develop Abiotic Stress Resistance in Wheat. *Wheat Production in Changing Environments*, 2019: 557–577.
- /21/ Sallam, A., Alqudah, AM., Dawood, MF., Baenziger, PS., Börner A.: Drought stress tolerance in wheat and barley: advances in physiology, breeding and genetics research. *International journal of molecular sciences*, 20, 2019: 3137.
- /22/ Schonfeld, MA., Johnson, RC., Carver, BF., Mornhinweg, DW.: Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Science*, 28, 1988: 526–531.
- /23/ Tatar, O., Gevrek, MN.: Influence of Water Stress on Proline Accumulation, Lipid Peroxidation and Water Content of Wheat. *Asian Journal of Plant Sciences*, 7, 2008: 409–412.
- /24/ Tilman, D., Clark, M.: Food, agriculture and the environment: can we feed the world and save the Earth? *Daedalus*, 144, 2015: 8–23.
- /25/ Verbeke, S., Padilla-Diaz, CM., Haesaert, G., Steppe, K.: Osmotic adjustment in wheat (*Triticum aestivum* L.) during pre- and post-anthesis drought. *Frontiers in Plant Science*, 13, 2022: 775652.
- /26/ Wang, X., Xu, Y., Li, J., Ren, Y., Wang, Z., Xin, Z., Lin, T.: Identification of two novel wheat drought tolerance-related proteins by comparative proteomic analysis combined with virus-induced gene silencing. *International journal of molecular sciences*, 19, 2018: 4020.
- /27/ Wasaya, A., Manzoor, S., Yasir, TA., Sarwar, N., Mubeen, K., Ismail, IA., Raza, A., Rehman, A., Hossain, A., Sabagh, AEL.: Evaluation of Fourteen Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genotypes by Observing Gas Exchange Parameters, Relative Water and Chlorophyll Content, and Yield Attributes under Drought Stress. *Sustainability*, 13, 2021: 4799.
- /28/ Zadoks, JC., Chang, TT., Konzak, CF.: A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, 14, 1974: 415–421.

Poděkování

Uvedená práce vznikla za podpory genové banky VÚRV Praha-Ruzyně jako dárcem genetických zdrojů a finanční podpory poskytnuté prostředky specifického výzkumu (S grant MŠMT ČR).

STANOVENIE OBSAHU NIKLU V ASIMILAČNÝCH ORGÁNOCH *ACER PLATANOIDES L.* A *NEGUNDO ACEROIDES MOENCH V* MESTSKOM PROSTREDÍ JZ SLOVENSKA

ASSESSMENT OF NICKEL CONTENT IN ASSIMILATORY ORGANS OF *ACER PLATANOIDES L.* AND *NEGUNDO ACEROIDES MOENCH* IN URBAN ENVIRONMENT OF SW SLOVAKIA

Ivica Pivková¹, Ján Kukla¹, František Hnilička², Helena Hnilíčková², Katarína Sládeková¹, Margita Kuklová¹

¹Institute of Forest Ecology of the Slovak Academy of Sciences, Ľ. Štúra 2, 960 53 Zvolen, Slovak Republic, e-mail: ivica.pivkova@ife.sk, kuklova@ife.sk, kukla@ife.sk

²Czech University of Life Sciences Prague, Department of Botany and Plant Physiology, Kamýčka 129, 165 00 Prague, Czech Republic, e-mail: hnilicka@af.czu.cz, hnilickova@af.czu.cz

Summary

The study shows the importance of the leaves of trees as a significant agent for capture of pollutants from the air into an urban setting of SW Slovakia. The results showed that studied city parks were exposed to varying degrees of polluted by Ni, because this element represents primary source of air pollution in given area. Specifically, accumulation Ni in leaves of study trees in different parks ranged between 0.49–2.41 mg kg⁻¹ in 2012; and between 2.48–3.95 mg kg⁻¹ in 2018. Approximately 2.7 times significantly higher pollution of leaves of *Acer platanoides* in 2018 compared to 2012 was recorded in 2 from 3 compared parks. In one park, leaves of *Negundo aceroides* showed up to an 8-fold increase of Ni between the compared years. Correlation analysis has been used to compare the plant energy and element contents in the assimilatory organs of plants. The closest positive relationship between Ni content and plant energy showed leaves of *N. aceroides* ($p < 0.05$). This fact evidently reflects degree of pollution tolerance and corresponds to an increase in leaf energy.

Key words: plant growth, air pollution, nickel content, urban setting, park objects

Súhrn

Štúdia poukazuje na význam listov stromov ako významného činiteľa pre zachytávanie škodlivín z ovzdušia do mestského prostredia JZ Slovenska. Výsledky ukázali, že skúmané mestské parky boli vystavené rôznemu stupňu znečistenia niklom, pretože tento prvok predstavuje primárny zdroj znečistenia ovzdušia v danej oblasti. Konkrétne akumulácia Ni v listoch skúmaných stromov v rôznych parkoch sa v roku 2012 pohybovala medzi 0,49–2,41 mg kg⁻¹ a 2,48–3,95 mg kg⁻¹ v roku 2018. Približne 2,7-krát významne vyššie znečistenie listov *Acer platanoides* v roku 2018 v porovnaní s rokom 2012 bolo zaznamenané v 2 z 3 porovnávaných parkov. V jednom parku listy *Negundo aceroides* vykazovali medzi porovnávanými rokmi až 8-násobný nárast Ni. Korelačná analýza bola použitá na porovnanie rastlinnej energie a obsahu prvkov v asimilačných orgánoch rastlín. Najbližší pozitívny vzťah medzi obsahom Ni a energiou rastlín vykazovali listy *N. aceroides* ($p < 0,05$). Táto skutočnosť evidentne odráža mieru tolerancie znečistenia a zodpovedá zvýšeniu energie listov.

Kľúčové slová: rast rastlín, znečistenie ovzdušia, obsah niklu, mestské prostredie, parky

INTRODUCTION

Constantly changing conditions of the urban environment can affect growth and development of plants with varying intensity and extent, because many plants are in a position to take up large quantities of certain elements from the environment /1, 2/. The persistent air pollution load has a major impact on the environment and is reflected in a health change of plants. In fact, foliage of tree species are the main sink for many pollutants, and therefore they are more sensitive to their effects than other plant organs /3/. This particularly occurs when the plant is exposed to massive pollution of atmospheric origin. Growing level of pollutant emissions, especially in urban areas, results in increased amounts of risk elements emitted into the atmosphere are later deposited in the soil. Thus, elevated levels of heavy metals such as Ni in the environment are a reality today /4, 5, 6/.

Trees, as long-lived organisms, reflect mainly the cumulative effects of environmental pollution from the soil and the atmosphere /7/. There are several examples of trees, used as biomonitors for air and soil pollution, e.g. *Pinus sylvestris* in Poland /8/, *Populus nigra* in Bulgaria /9/, *Populus alba* in southern Spain /7/, as well as several tree species of urban environments in Greece /10/.

We assume that parks in an urban setting of SW Slovakia could be exposed to varying degrees of polluted air by Ni, because this element represents a primary source of pollution originated from industrial sources in this area (production of aluminum profiles in the field of industry, chemical, food industry), agricultural production and waste disposal. Transport, the suspension of particles from insufficiently cleaned roads, construction sites, landfills for bulk materials and the heating of houses with solid fuels also contribute significantly to air pollution.

The research reported in this paper was undertaken in order to study changes in contents of nickel, which has accumulated during the development in assimilatory organs of two deciduous species – *Acer platanoides* L., *Negundo aceroides* Moench in three largest park objects of SW Slovakia. In this study also data on energy contents of assimilatory organs of trees were observed. Correlation analysis has been used to compare the energy and nickel content in leaves of plants in order to understand the tolerance of these plant species to contaminated environment.

MATERIALS AND METHODS

Field research took place in June – August 2012 and 2018 in the park objects (PO) of the towns of Levice, Želiezovce and Ondrejovce (Table 1). PO in Levice and Želiezovce were founded on Fluvisol, whereas the PO in Ondrejovce on Pheosol. The vegetation of the studied parks belongs to the area of Central and Eastern European thermophilic and arid flora. According to the global climate classification, the areas belong to a temperate climate zone with evenly distributed precipitation during the year. For the needs of the research, species dominating in the layer of trees were selected, namely – *Acer platanoides* L. (Norway maple) and *Negundo aceroides* Moench (Boxelder maple). From an ecological point of view, *Acer platanoides* is a woody plant with a rather continental climate, with low temperatures and late frosts tolerating without any problems. It also tolerates polluted air and is resistant to pests and diseases. *Negundo aceroides* is a North American deciduous tree of river valleys and lakes, very resistant to polluted environments and also to drought.

Table 1. Basic information about study park objects (PO).

Park object	Categorization	Altitude a. s. l.	GPS
Levice	City park (historical, origin 1879)	160	48°12'N, 18°36'E
Želiezovce	City park (historical, origin 1875)	145	48°02'N, 18°39'E
Ondrejovce	Historical park (origin 1900)	163	48° 8'N, 18° 31' E

Samples of assimilatory organs of plants were taken from 3 park objects by random sampling (3x3 = 9 research plots in total), each plot with an area of 100 m². Samples consisting of 150 leaves were obtained on each plot from lower third of the crowns of middle-aged trees (approximately 2.5–3 m above the ground) from similar lighting conditions.

Plant samples were dried at 80°C for 48 hours and homogenized with a Fritsch planetary micro mill (<0.001 mm). The total Ni content in the leaves of the plants was determined by the AAS-ETA method (STN ISO 11047) on a Thermo iCE 3000 Series instrument. Foliar samples were not washed prior to analyses.

The measured values of the combustion heat (J g⁻¹ in dry matter) were used to determine the gross energy in the assimilatory organs of plants. The powder samples in amounts of 0.7–1 g were dried up to a constant weight at 100°C and completely burned in an oxygen atmosphere in calorimetric vessel of adiabatic calorimeter IKA C-4000 (software C-402, norm DIN 51900, Heitersheim, Germany). The standard deviation between replicates of each sample was limited below 1%.

Statistical evaluation of the data was performed in the Statistica 9 program (StatSoft, 2008). All analyses were performed in triplicates. Results were expressed as mean±standard deviation (SD). Kruskal-Wallis' test was used to detect significant differences in nickel content of plant leaves between different park objects. One-way ANOVA test followed by Fisher-LSD test was used to detect significant differences between energy content in plant leaves. Differences between means were considered significant when they occurred at $p < 0.05$. Correlation analysis was used to determine correlation relationships between plant energy and Ni content.

RESULTS AND DISCUSSION

Content of Ni in plant leaves of PO ranged between 0.49–2.41 mg kg⁻¹ in 2012; and between 2.48–3.95 mg kg⁻¹ in 2018 (Fig. 1). Nickel content in plant species was significantly affected by the anthropogenic pollution in the compared years. Approximately 2.7 times significantly higher nickel pollution in the leaves of *A. platanoides* in 2018 compared to 2012 was recorded in PO Ondřejovce and PO Želiezovce. The increase of Ni in PO Levice was insignificant. Between the compared years, the leaves of *N. aceroides* showed up to 8-fold increase of Ni in PO Ondřejovce. On average, the amount of Ni (mg kg⁻¹) in *A. platanoides* (2.333±1.11) was higher by 24 % compared to *N. aceroides* (1.782±0.955). Overall, the amounts detected in plant leaves revealed serious pollution of the atmospheric origin. Only small amounts of nickel are necessary for plant growth and development /11/. It may become toxic for plants when absorbed above certain threshold values /12/. Ni is found in the vegetative organs of most plants in the range 1–10 mg kg⁻¹ dry weight /13/. The element is being toxic when present in excessive amount over 1 mg kg⁻¹, which may be regarded as a limit value for vegetation /14/.

Quality of phytomass was studied by the measurements of leaf energy content Fig. 2. Plant species exposed to a polluted environment can accumulate different amounts of energy. During the experiment, obvious symptoms of metal toxicity in plants were not observed. In 2018 the energy content accumulated in dry matter of *Acer platanoides* fluctuated as follows (J g⁻¹): 18961±17.5 (Ondřejovce) > 18797±30 (Levice) > 18795±15 (Želiezovce). The species significantly differed in this parameter between PO (ANOVA, $F_{(2,6)}=58.157$, $p=0.0012$). The air pollution significantly affected the energy content in PO Levice and Želiezovce (closer to the sources of pollution) by reduction energy compared to the species growing in PO Ondřejovce.

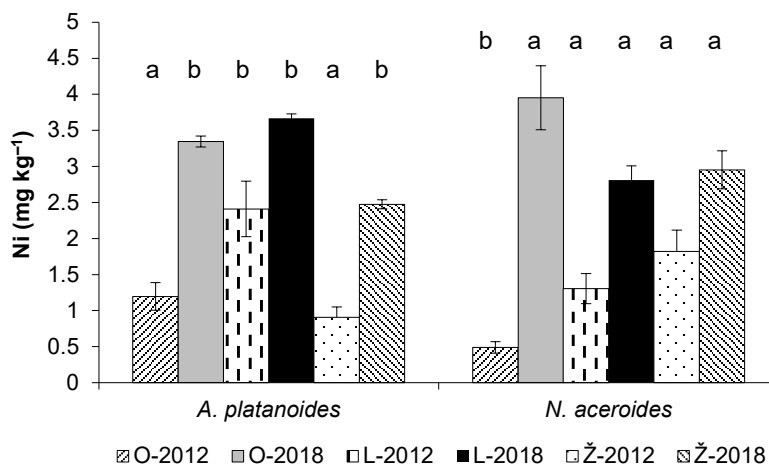


Fig. 1. Changes in Ni contents (\pm standard deviations) in the dry matter of assimilatory organs of plants in relation to the compared years (O: PO Ondrejovce, L: PO Levice, Ž: PO Želiezovce). Different letters indicate significant differences between 2012 and 2018 (Kruskal-Wallis' test); *A. platanoides*: $H_{(5, N=18)} = 15.9707$; $p = 0.0069$; *N. aceroides*: $H_{(5, N=18)} = 16.2515$; $p = 0.0062$.

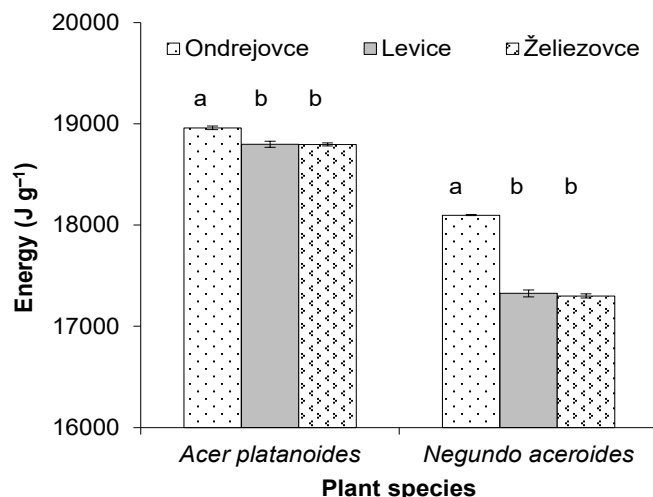


Fig. 2. Changes of energy contents (\pm standard deviations) in the dry matter of assimilatory organs of plants in 2018 in park objects of SW Slovakia. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between sampling plots.

The energy accumulated in dry matter of leaves of *Negundo aceroides* varied from 18098 ± 5 to 17300 ± 20 J g^{-1} . Also leaves of Boxelder maple in PO Želiezovce and Levice accumulated significantly less energy than in PO Ondrejovce (ANOVA, $F_{(2,6)} = 147.2$, $p = 0.0001$). The energy content of *A. platanoides* leaves in 2018 increased by approximately 2.8 to 4.5% in PO Želiezovce and Levice compared to the results obtained in 2012 by Pivková et al. /15/. In the case of the species *N. aceroides* only the leaves growing in PO Ondrejovce showed an increase of energy between compared years (by 2.5%). Overall in 2018, compared to 2012, the mean energy content in *A. platanoides* leaves increased by 421.3 J g^{-1} , in *N. aceroides* by 308.1 J g^{-1} . According to Baruch et al. /16/ this fact can be a response to environmental stress.

Some studies have shown that energy capture by plants depends on the photosynthetic response of individual leaves, their integration into an effective canopy, and on the costs of producing and maintaining their photosynthetic capacity /17, 18/. From study by Kuklová et al. /19/ it is clear that on plots with lower level of pollutants (500 m away from the road) there was a significant increase in the amount of energy in leaves of *N. aceroides*, *Q. rubra* and *A. sylvestris*. The increase of energy in *Q. cerris* was negligible and in the case of *F. excelsior* was even recorded a decrease in energy store. According to decreasing amount of energy in the assimilatory organs, the plant species may be arranged to the following order (J g^{-1}): *Q. rubra* ($20,526 \pm 235$) > *Q. cerris* ($20,361 \pm 790$) > *F. excelsior* ($17,949 \pm 411$) > *N. aceroides* ($17,735 \pm 419$) > *A. sylvestris* ($16,406 \pm 327$). Group of 5 tested plant species growing 500 m away from the highway accumulated by 0.76% more energy than 5 species of plants growing 30 m away from the highway. Distribution of energy in plant species of PO was also related to the influence of anthropogenic pollution. The amounts of Ni detected in plant leaves revealed serious pollution of the atmospheric origin. On negative impact of emissions on neighbouring biotopes point out also the results of Cui et al. /20/.

Correlation analysis has been used to compare the energy and nickel content in the leaves of plants in order to understand the tolerance of species to contaminated environment (Table 2). The closest positive linear relationship between Ni content in assimilatory organs and plant energy showed leaves of *N. aceroides* (Fig. 3). This evidently reflects degree of pollution tolerance and corresponds to an increase in leaf energy.

Table 2. Correlation analysis between the nickel and energy content in assimilatory organs of plants (samples collected in 2018).

Ni content in plant/ Plant energy	F-ratio	Correlation coefficient (R)	R-squared (R^2)	p-value
<i>A. platanoides</i>	0.532	0.266	0.0706	>0.05
<i>N. aceroides</i>	39.806	0.922	0.8504	<0.05

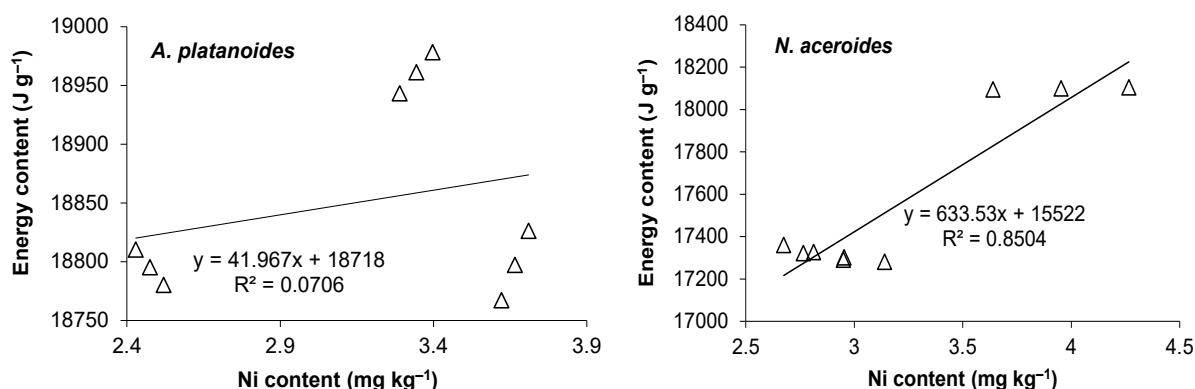


Fig. 3. Relationship between the nickel and energy content in assimilatory organs of plants.

CONCLUSION

The results showed that in areas with developed industry and heavy traffic, the accumulation of energy of park trees, especially in urban centers, can be negatively affected by

air contamination by risk elements. The amount of Ni in the assimilatory organs of plants collected from different park objects between compared years was significantly different. Overall, the amount of Ni in *A. platanoides* was higher by 24 % compared to *N. aceroides*. The air pollution significantly affected also energy content of *A. platanoides* leaves in PO Levice and Želiezovce (closer to the sources of pollution) by reduction of energy compared to the species growing in PO Ondrejovce. The reaction of the leaves of *N. aceroides* was similar. The closest positive linear relationship between Ni content in assimilatory organs and plant energy showed the leaves of *N. aceroides*. This evidently reflects degree of pollution tolerance and corresponds to an increase in leaf energy. In conclusion, a study on Ni accumulation by plant species under anthropogenic stress will improve our knowledge of metal uptake by plants and their survival in contaminated environments.

LITERATURE

- /1/ Simon, E. B. M., Vidic, A., Bogyó, D., Fábrián, I., Tóthmérés, B.: Air pollution assessment based on elemental concentration of leaves tissue and foliage dust along an urbanization gradient in Vienna. *Environmental Pollution*, 159, 2011: 1229–1233. doi: 10.1016/j.envpol.2011.01.034
- /2/ Amin, O. I., Chibugo, H. A., Charles, A. N.: A survey of Heavy metal (Lead, Cadmium and Copper) Contents of Selected Fruits and Vegetable crops from Borno State of Nigeria. *International Journal of Engineering and Science*, 2(1), 2013: 1-9.
Available on: <http://www.researchinventory.com/papers/v2i1/A021001005.pdf>
- /3/ Maňková, B., Godzik, B., Badea, O., Shparyk, Y., Moravčík, P.: Chemical and morphological characteristics of key tree species of the Carpathian Mountains. *Environmental Pollution*, 130, 2004: 41–54.
- /4/ Acosta, J.A., Gabarrón, M., Faz, A., Martínez-Martínez, S., Zornoza, R., Arocena, J.M.: Influence of population density on the concentration and speciation of metals in the soil and street dust from urban areas. *Chemosphere*, 134, 2015: 28–337.
- /5/ Addo, M.A., Darko, E.O., Gordon, C., Nyarko, J.B., Gbadago, K.: Heavy metal concentrations in road deposited dust at Ketu-South District, Ghana. *International Journal of Science & Technology*, 2, 2012: 28–29.
- /6/ Wei, B., Yang, L.: A review of heavy metal contaminations in urban soils, urban road dusts and agricultural soils from China. *Microchemical Journal*, 94, 2010: 99–107.
- /7/ Madejón, P., Marañón, T., Murillo, J.M., Robinson, B.: White poplar (*Populus alba*) as a biomonitor of trace elements in contaminated riparian forests. *Environmental Pollution*, 132, 2004: 145–155.
- /8/ Dmuchowski, W., Bytnerowicz, A.: Monitoring environmental pollution in Poland by chemical analysis of Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) needles. *Environmental Pollution*, 87, 1995: 84–104.
- /9/ Djingova, R., Ivanova, J., Wagner, G., Korhammer, S., Markert, B.: Distribution of lanthanoids, Be, Bi, Ga, Te, Tl, Th and U on the territory of Bulgaria using *Populus nigra* ‘‘Italica’’ as an indicator. *The Science of the Total Environment*, 280, 2001: 85–91.
- /10/ Sawidis, T., Chettri, M.K., Papaioannou, A., Zachariadis, G., Stratis, J.: A study of metal distribution from lignite fuels using trees as biological monitors. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 48, 2001: 27–35.
- /11/ Akinyele I. O., Shokunbi O. S.: Concentrations of Mn. Fe. Cu. Zn. Cr. Cd. Pb. Ni in selected Nigerian tubers. legumes and cereals and estimates of the adult daily intakes. *Food Chemistry*, 173, 2015: 702–708. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.098>.
- /12/ Chojnacka, K., Chojnacki, A., Górecka, H., Górecki, H.: Bioavailability of heavy metals from polluted soils to plants. *Science of the Total Environment*, 20, 337 (1-3), 2005: 175-82. doi: 10.1016/j.scitotenv.2004.06.009. PMID: 15626388.
- /13/ Assunção, A.G.L., Schat, H., Aarts M.G.M.: *Thlaspi caerulescens*, an attractive model species to study heavy metal hyperaccumulation in plants. *New Phytologist*, 159, 2003: 351–360.
- /14/ Maňková, B.: Geochemical atlas of Slovakia – forest biomass (in Slovak). Geological service of Slovak Republic, Bratislava, 1996: 87 pp.
- /15/ Pivková, I., Kukla, J., Kuklová, M.: Changes of energy and ash content in assimilatory organs of woody species from park objects in SW Slovakia. *International Conference on Energy and Environment and Storage of Energy ICEESEN 2020: Conference Proceedings*, 19th – 21th of November, Kayseri, Turkey. Editor-in-Chief Selahaddin Orhan Akansu, Co-Editor Sebahattin Unalan. - Kayseri, Turkey: Erciyes University, 2020: 76–79.
- /16/ Baruch, Z.: Patterns of energy content in plants from the venezuelan paramos. *Oecologia*, 55, 1982: 47–52. <https://doi.org/10.1007/BF00386717>

- /17/ Givnish, T.J.: Adaptation to Sun and Shade: A Whole-plant Perspective. *Australian Journal of Plant Physiology*, 15, 1988: 63–92. doi:10.1071/PP9880063
- /18/ Grant, R.H.: Partitioning of biologically active radiation in plant canopies. *International Journal of Biometeorology*, 40, 1997: 26–40. <https://doi.org/10.1007/BF02439408>
- /19/ Kuklová, M., Pivková, I., Hniličková, H., Hnilička, F., Kukla, J.: The impact of highway motor vehicle traffic on energy stores. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 103, 4, 2019: 604–609.
- /20/ Cui, B., Zhao, S., Zhang, K., Li, S., Dong, S., Bai, J.: Disturbance of Dabao highway construction on plant species and soil nutrients in Longitudinal Range Gorge Region (LRGR) of Southwestern China. *Environ Monit Assess*, 158, 2009: 545–559.

Acknowledgement

This research was supported by the Scientific Grant Agency of the Ministry of Education of Slovak Republic and of Slovak Academy of Sciences (VEGA No. 2/0009/21).

OBSAH ORTUTI V ASIMILAČNÝCH ORGÁNOCH LESNÝCH DREVÍN NA SLOVENSKU

MERCURY CONTENT IN ASSIMILATORY ORGANS OF FOREST TREES IN SLOVAKIA

Danica Krupová, Slávka Tóthová

Národné lesnícke centrum – Lesnícky výskumný ústav vo Zvolene, Sokolovská 1, 960 01Zvolen, danica.krupová@nlesk.org, slavka.tothova@nlesk.org

Summary

The content of mercury in the foliage of the main forest trees (*Picea abies* Karst., *Pinus sylvestris* L., *Abies alba* L., *Fagus sylvatica* L., *Quercus species*) on the territory of Slovakia between 1996 and 2000 was studied. Data were obtained from old documents and electronic records of Lesoprojekt, currently part of the National Forestry Center in 2021–2022. The samples were taken during monitoring of the state of forests in Slovakia. The highest mercury content was found in needles of *Abies alba* L. in the Forest Management Unit (LHC) Spišské Vlasy in 1997 (960 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) and in deciduous trees in LHC Bukovec, which are located near US Steel Košice, in the leaves of oak (922 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) and of beech (733 $\mu\text{g.kg}^{-1}$). High values of mercury in deciduous trees were recorded in the area of Rožňava, Brzotín and Opátka.

Key words: mercury, needles, leaves, forest trees, monitoring

Súhrn

Sledoval sa obsah ortuti v asimilačných orgánoch hlavných lesných drevín (*Picea abies* Karst., *Pinus sylvestris* L., *Abies alba* L., *Fagus sylvatica* L., *Quercus species*) na území Slovenska v rokoch 1996 až 2000. Údaje boli získané v rokoch 2021–2022 zo starých písomných a elektronických záznamov Lesoprojektu v súčasnosti časť Národného lesníckeho centra. Vzorky boli odoberané počas monitoringu stavu lesov a prieskumov ekológie lesa na území Slovenska. Najvyšší obsah ortuti bol zistený v ihličí *Abies alba* L. v lesnom hospodárskom celku (LHC) Spišské Vlasy v roku 1997 (960 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) a u listnatých drevín v LHC Bukovec v blízkosti US Steel Košice pri *Quercus species* L. (922 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) a pri *Fagus sylvatica* L. (733 $\mu\text{g.kg}^{-1}$). Vysoké hodnoty ortuti u listnatých drevín boli zaznamenané v oblasti Rožňavy, Brzotína a Opátka.

Kľúčové slová: ortuť, ihličie, listy, lesné dreviny, monitoring

ÚVOD

Antropogénne znečistenie je spôsobené ľudskou činnosťou. Medzi najvýznamnejšie kontaminanty životného prostredia patria ťažké kovy, pričom veľmi nebezpečná je ortuť.

Znečistenie ortuťou (Hg) sa v minulosti považovalo za naliehavý, ale miestny problém. Avšak v súčasnosti je už považovaný za globálny a chronický problém. Ortuť sa uvoľňuje z prírodných zdrojov (sopečná činnosť), ale aj z antropogénnych zdrojov. Napríklad pri spaľovaní uhlia, odpadov i kremačnej činnosti dochádza k jej ukladaniu v okolí. Taktiež dochádza k uvoľňovaniu ortuti pri banskej činnosti (ťažba rumelky a zlata). Pri týchto činnostiach sa vytvorila globálna zásoba, ktorá sa môže mobilizovať a kolovať vo vzduchu, vode, v dnových sedimentoch vodných nádrží, pôde a biote, čím tvorí komplexnú záťaž životného prostredia.

Bolo pozorované, že ortuť sa môže ako cezhraničná znečisťujúca látka premiestňovať do regiónov, ktoré sú vzdialené od zdroja. Takže určité lokálne znečistenie môže ovplyvniť dlhodobé globálne zaťaženie týmito prvkami.

Pre výrobu ortuti sa používa prírodná rumelka cinabaryt (obsah 86,2% Hg) pražením. Na Slovensku sú vysoké obsahy ortuti na Spiši v okolí obce Rudňany, Rožňave, v Zlatej bani pri Prešove (Ďurža, Khun 2002), Malachove (Bernáth, Badík, 1967) a na Hornej Nitre (Nováky z chemického priemyslu a spaľovania fosílnych palív).

Obsah ortuti v rastlinách a asimilačných orgánoch je ovplyvnený jej obsahom v pôde a v atmosférických depozíciách. Boli pozorované vstupy cez prieduchy asimilačných orgánov počas respirácie, akumuláciou na povrchu z mokrej a suchej depozície a tiež z pôdy cez koreňovú sústavu (Linberg et al. 1994, Rea et al. 2002). Mokrú a suchú depozíciu na povrchu asimilačných orgánov môže byť sorbovaná do pletiva asimilačných orgánov alebo môže byť zmytá počas zrážok (Rea et al. 1996). Množstvo ortuti v asimilačných orgánoch rastie s dĺžkou depozície (Ericksen et al. 2003). U listnatých druhov stromov obsah ortuti na konci vegetačného obdobia môže byť až desaťnásobne vyšší ako na začiatku vegetačného obdobia (Rea et al. 2002). Množstvo ortuti akumulovanej z atmosféry v asimilačných orgánoch drevín sa líši medzi jednotlivými druhmi drevín (Millhollen et al. 2006). Vstup ortuti do rastliny závisí od rýchlosti vetra, koncentrácie ortuti v pôde a v atmosfére a taktiež od štruktúry pokožky listov (Lindberg et al. 1994). Predpokladá sa, že ortuť v asimilačných orgánoch pochádza výlučne z atmosféry (Fleck et al. 1999, Rea et al. 2002, Ericksen et al. 2003) a jej koncentrácia závisí od koncentrácie v ovzduší (Ericksen et al. 2003, Gustin 2004, Gustin 2006). Ferrara et al. (1991) predpokladali, že vstup ortuti do rastliny ovplyvňujú vlastnosti pôdy, vlastnosti rastliny, okolitá teplota a koncentrácia ortuti v pôde.

Jej problémom pre životné prostredie, že má dlhú životnosť až stovky rokov a vysokú schopnosť prenosu pomocou emisií na veľké vzdialenosti. Polovica depozitov ortuti v Európe pochádza mimo kontinentu. Európska environmentálna agentúra (EEA) vyhodnotila na území Európy až 46 000 vzoriek vôd, ktoré nespĺňajú limity pre ortuť vo vodách. Úrovně ortuti sú v atmosfére o 500 % a v oceánoch o 200 % nad prirodzenými úrovňami.

I keď depozície väčšiny ťažkých kovov v Európe klesajú, depozície Hg sú stále vysoké.

MATERIÁL A METÓDA

Vzorky asimilačných orgánov lesných drevín (*Picea abies* Karst., *Pinus sylvestris* L., *Abies alba* L., *Fagus sylvatica* L., *Quercus species*) boli odobraté z plôch v rokoch 1996–2000, kedy sa vykonávalo monitorovanie stavu lesov SR v sieti 4x4 km v rámci obnovy lesných hospodárskych plánov (LHP dnes PSL) aj pre účely vylišovania imisných pásiem. Monitoring robil Lesoprojekt Zvolen na základe „Rozhodnutia MP SR – Lesnícka sekcia – Odbor lesného hospodárstva, zo dňa 4. 7. 1995 č. 371/95 – 710“.

Počas monitoringu stavu lesov a prieskumu stavu lesa bolo v rokoch 1991–2000 na Slovensku odobraných 12 716 vzoriek pôd a 6 234 vzoriek asimilačných orgánov lesných drevín. Boli vykonané chemické analýzy širokého rozsahu zistením obsahu makroživín, mikroživín a rizikových prvkov. U vzoriek pôd sa stanovovalo pH v H₂O, v KCl, uhličitaný, N_{tot}, C_{org}, prístupný fosfor a draslík (Mehlich II.), zrnitosť a analýzy 12 prvkov (sodík, draslík, horčík, vápnik, kadmium, meď, chróm, nikel, olovo, mangán, železo, zinok). U asimilačných orgánoch celkový dusík, síra, ortuť a 12 prvkov (sodík, draslík, horčík, vápnik, kadmium, meď, chróm, nikel, olovo, mangán, železo, zinok). Doteraz boli spracované len údaje do roku 2000, ale existujú i údaje z rokov 2001 až 2007 v programe CHEMIA 2001 - Visual Fox Pro, ktoré treba ešte spracovať.

Odber vzoriek lesných drevín bol vykonávaný podľa zásad Metodického pokynu odberu pôdy a asimilačných orgánov lesných drevín MP SR podľa §22 zákona NR SR č. 15/1994 Zb. z. o hospodárení v lesoch a štátnej správe lesného hospodárstva (Maňkovská, Pavlenda, 1995).

Základným kritériom pre počty odberu vzoriek asimilačných orgánov bolo predpokladané imisné zaťaženie lokality lesného hospodárskeho celku (LHC), konfigurácia terénu, rôznorodosť stanovištných a klimatických pomerov. Porasty z ktorých sa vzorky odoberali boli vyberané tak, aby bola možnosť odberu vzoriek zo 7 praslenskej okraja porastu minimálne z výšky 2 m. U mladších porastov 2. vekového stupňa z vrcholových častí stromov. Vzorky z ihličnatých drevín boli odoberané od konca septembra do februára a u listnatých drevín od konca júla do konca septembra. Z odobratých vzoriek bola pripravená priemerná vzorka minimálne z 10 stromov. Objem zmiešanej vzorky asimilačných orgánov tvoril cca 200 g sušiny. Na mieste odberu boli separované ročníky ihličia. Vzorky sa nechali uschnúť pri izbovej teplote a do laboratória sa expedovali suché, aby sa zabránilo zapareniu a splesneniu (Švec, Vladovič 1992).

Stanovenie ortuti bolo vykonané v laboratóriu LVÚ na jednoúčelovom atómovom absorpčnom spektrometri AMA 254 od firmy ALTEC Praha. Analýzy boli urobené z ihličia prvého ročníka. Získané údaje boli vyhodnotené podľa druhu drevín v období 1996 – 2000. Boli vypočítané základné štatistické charakteristiky a výsledky porovnané s údajmi z Geochemického atlasu Slovenska: Lesná biomasa (Maňková 1996).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Rastliny dokážu akumulovať veľké množstvo ortuti. V nadzemnej biomase rastlín sa ročne uloží viac ako 1000 t atmosférickej ortuti (Obrist 2007). Maňková (1996) považovala za normálnu hodnotu ortuti v asimilačných orgánoch drevín obsah do $120 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, avšak zistila že približne na tretine územia Slovenska je obsah celkovej ortuti v drevinách vyšší ako táto hodnota. Rasmussen (1995) určil priemerný obsah ortuti v asimilačných orgánoch ihličnatých stromov v nekontaminovaných oblastiach od 20 do $65 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. V oblastiach ťažby rumelky v Španielsku sa obsah ortuti v asimilačných orgánoch pohyboval v rozmedzí 57 – 43 700 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Millán et al. 2006). V niektorých prácach sa zaoberajú problémom kumulácie ortuti v asimilačných orgánoch drevín a bylín. Ericksen et al. (2003) dokázali, že obsah ortuti v listoch je funkciou času a koncentrácie ortuti v suchej a mokrej depozícii a nezávisí od koncentrácie ortuti v pôde. Lodenius et al. (2003) predpokladal, že nárast obsahu ortuti v asimilačných orgánoch závisí od schopnosti asimilačného orgánu zachytávať suchú a mokrá depozíciu.

Rea et al. (2003) udáva nárast koncentrácie ortuti v opade na konci vegetačného obdobia oproti obsahu ortuti v asimilačných orgánoch. To, že dochádza k zmenám v obsahu ťažkých kovov v asimilačných orgánoch v priebehu vegetačného obdobia dokázali Cibulka et al. (1991), Ericksen et al. (2003), Tyler, Olson (2006). Špeciálna starostlivosť je venovaná ortuti najmä z hľadiska jej vysokej toxicity k živým organizmom. Ortuť nemá žiadnu biologickú funkciu v ekosystéme.

Obsah ortuti bol stanovený v 522 vzorkách rôznych drevín, z toho v 359 vzorkách hlavných lesných drevín (*Picea abies* Karst., *Pinus sylvestris* L., *Abies alba* L., *Fagus sylvatica* L. a *Quercus* species) v rokoch 1996 až 2000. Štatistické vyhodnotenie získaných výsledkov je uvedené v tabuľke 1, kde sú zároveň údaje porovnané s hodnotami zistenými Maňkovskou (1996), pri rozsiahlych prácach k tvorbe Geochemického atlasu biomasa SR, v rokoch 1993–1994.

Najvyšší obsah ortuti bol zistený v ihličí *Abies alba* L. v lesnom hospodárskom celku (LHC) Spišské Vlasy v roku 1997 ($960 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$). Vyššia záťaž na území stredného Spiša bola zistená aj v smrekovom ihličí ($340 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$). Primeraná hodnota $120 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ bola v prípade ihličnatých drevín prekročená v Banskom a Hliníku. U listnatých drevín bola zistená najvyššia záťaž v LHC Bukovec, ktorý sa nachádza v blízkosti US Steel Košice (predchodca VSŽ). Maximálne hodnoty pre *Quercus* species ($922 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) a pre *Fagus sylvatica* L. ($733 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) boli zistené práve na tejto lokalite. Vyššia záťaž listnatých drevín ortuťou bola zaznamenaná

v oblasti Rožňavy, Brzotína a Opátky. V porovnaní s údajmi zistenými Maňkovskou bol zaznamenaný pokles mediánu hodnôt ortuti u hodnotených lesných drevín.

Tab. 1: Obsah ortuti v lesných drevinách na Slovensku v rokoch 1996-2000.

Štatistické charakteristiky	<i>Picea abies</i> Karst.		<i>Pinus sylvestris</i> L.		<i>Abies alba</i> L.		<i>Fagus sylvatica</i> L.		<i>Quercus</i> species L.	
	1*	2**	1*	2**	1*	2**	1*	2**	1*	2**
Počet vzoriek	127	1 118	10	105	37	178	150	577	48	126
Aritmetický priemer (g.kg ⁻¹)	49	100	23	145	99	133	83	112	105	83
Medián	37	73	20	58	70	108	57	81	48	48
Smerodajná odchylka	46	102	15	396	157	100	88	110	156	90
Variačný koeficient	94	102	68	273	158	75	106	98	149	108
Minimálna hodnota	1	14	1	13	2	20	17	12	20	10
Maximálna hodnota	341	1 607	47	4 008	960	705	733	1 267	922	487

1* – údaje NLC, databáza ORTUĎ

2** – Maňkovská (1996)

ZÁVER

Pre skvalitnenie ekosystémového výskumu z hľadiska dlhodobosti a komplexnosti slúžia údaje z minulých rokov, ktoré sú spracované z archívu NLC ako dátové súbory. Ich spracovaním je možné identifikovať antropogénnu záťaž v rôznych lesných ekosystémoch. Databáza údajov o minerálnych prvkoch i obsahu ortuti bola v rokoch 2021 a 2022 pripravená zo starých listinných a elektronických záznamov z bývalého Lesoprojektu v súčasnosti časť Národného lesníckeho centra. Vzorky boli získané počas rozsiahleho zisťovania stavu lesov na území Slovenska v rokoch 1991 až 2000. Sú príspevkom k dlhodobým a komplexným poznatkom o vývoji antropogénnej záťaže v lesných ekosystémoch.

LITERATÚRA

- /1/ Bernáth, J. Badík, M.: Archívny výskum o Hg ložiskách v oblasti Malachova (Msc.) Banská Bystrica: Rudné bane Banská Bystrica, 1967: 34 s.
- /2/ Cibulka J.: Pohyb olova, kadmia a ortuti v biosfere. Praha: Academia, 1991: 427 s.
- /3/ Ďurža, O., Khun, M.: Enviromentálna geochemia niektorých ťažkých kovov. Bratislava: Univerzita Komenského Bratislava s., 2002: 61-70.
- /4/ Ericksen, J. A., Gustin, M. S., Schorran, D. E., Johnson, D. W., Lindberg, S. E., Coleman, J. S.: Accumulation of atmospheric mercury in forest foliage. In Atmospheric Environment 37, 2003: 1613-1622.
- /5/ Ferrara, R., Maserti, B. E., Breder, R.: Mercury in abiotic and biotic compartments of an area by a geochemical anomaly (Mt Amiata, Italy) In Water Air and Soil Pollution 56, 1991: 219-233.
- /6/ Fleck, J.A., Grigal, D.F., Nater, E. A. 1999. Mercury uptake by trees: An observational experiment. In Water Air and Soil Pollution 115: 513-523
- /7/ Gustin, M S., Ericksen, J. A., Schorran, D.E., Johnson, D.W., Lindberg, S.E., Coleman, J. S. : Application of controlled mesocosms for understanding mercury air-soil-plant exchange. In Environmental Science and Technology 38, 2004: 6044-6050
- /8/ Gustin, M S., Engle, M., Ericksen, J. A., Lyman, S., Stamenkovic, J., Xin, M.: Mercury exchange between the atmosphere and low mercury containing substrates. In Appl. Geochem. 21, 2006: 1913-1923.
- /9/ Linberg, S.E., Owens, J.G., Stratton, W.: Throughfall methods to estimate dry deposition of mercury. In Huckabee, J., Watras, C. (eds.): Mercury as a Global Pollutant. Lewis, 1994: 138-145.
- /10/ Lodenus, M., Tulisalo, E., Soltanpour –Gargari, A.: Exchange of mercury between atmosphere and vegetation under contaminated conditions. In Science of Total Environment 304, 2003: 169-174

- /11/ Maňkovská, B., Pavlenda, P.: Metódy identifikácie a monitorovania ekologických porúch v lesných biocenózach. In Integrovaná ochrana lesov v meniacich sa ekologických podmienkach. Referenčná úloha LVÚ Zvolen, 1995.
- /12/ Maňkovská, B.: Geochemický atlas Slovenska. Lesná biomasa. Geologická služba SR, 1996: 87 s
- /13/ Millán, R., Gamarra, R., Schmid, T., Sierra, M. J., Quejido, A. J., Sánchez, D. M., Cardona, A. I., Fernández, M., Vera, R.: Mercury content in vegetation and soils of the Almadén mining area (Spain) In Science of Total Environment 368, 2006: 79-87
- /14/ Millhollen A. G., Gustin, M.S., Obrist, D.. Foliar mercury accumulation and exchange for three tree species. In Environmental Science and Technology 40, 2006: 6001-6006/
- /15/ Obrist, D.: Atmospheric mercury pollution due to losses of terrestrial carbon pools. In Biogeochemistry 85, 2007: 119-123
- /16/ Rasmussen, P. E.: Temporal variation of mercury in vegetation. In Water Air and Soil Pollution 80, 1995: 1039 -1042.
- /17/ Rea, A., Keeler, G.J., Scherbatskoy, T.: The deposition of mercury in throughfall and litterfall in the Lake Champlain watershed: A short-term study. In atmospheric Environment 30, 1996: 3257 – 3263.
- /18/ Rea, A., W., Lindberg, S. E., Scherbatskoy, T., Keeler, G. J.: Mercury accumulation in foliage over time in two northern mixed hardwood forests. In Water Air and Soil Pollution 133, 2002: 49-67.
- /19/ Švec, M., Vladovič, J.: EKO dočasná príručka pre prieskum ekológie lesa. Zvolen, Lesoprojekt, 1992: 181 s.
- /20/ Tyler, G., Olsson, T.: The importance of atmospheric deposition, charge and atomic mass to the dynamics of minor and rare elements in developing, ageing and wilted leaves of beech (*Fagus sylvatica* L.). In Chemosphere 65, 2006: 250-260.

Pod'akovanie

Príspevok vznikol vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Centrum excelentnosti lesnícko-drevárskeho komplexu LignoSilva; (kód ITMS: 313011S735), spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

TOXICKÉ ÚČINKY Cd NA RAST A FOTOSYNTETICKÉ PIGMENTY *SCENEDESMUS QUADRICAUDA*

TOXIC EFFECTS OF Cd ON *SCENEDESMUS QUADRICAUDA* GROWTH AND PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS

Ammara Nawaz, Pavlína Eliška Liščáková, Marianna Molnárová, Agáta Fargašová
Department of Environmental Ecology and Landscape Management, Faculty of Natural
Sciences, Comenius University Bratislava, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, SK-842 15
Bratislava, Slovak Republic, nawaz3@uniba.sk

Summary

Cadmium is a naturally occurring element that often co-occurs with zinc ores as well as due higher anthropogenic activities (e.g., mining, smelting). This non-essential metal is commonly toxic at relatively very low concentrations also in aquatic ecosystem. In this study, *S. quadricauda* algae is used to investigate Cd metal toxicity. We observed maximally 40% of growth inhibition at the highest tested concentration (49.23 mg Cd/l). Already at the lowest concentration (0.25 mg/l) we observed the statistically significant inhibition ($p \leq 0.05$) of both photosynthetic pigments (chlorophyll a and b). We demonstrate the higher loss of chlorophyll b content than chlorophyll a what pointing out to inhibition of mainly chlorophyll b production. Concentration of chlorophyll b was 47-times less at 49.23 mg Cd/l compared with control while decrease of chlorophyll a was only 16.38-times less at the same concentration.

Key words: aquatic systems, metal toxicity, algae, ecotoxicology

Súhrn

Kadmium sa často v prírode spolu vyskytuje v rudách s obsahom zinku ako aj kvôli zvýšenej antropogénnej činnosti (napr. ťažba, tavenie). Tento neesenciálny kov je vo všeobecnosti toxický už v relatívne veľmi nízkych koncentráciách taktiež aj v akvatických ekosystémoch. V našom výskume sme testovali toxicitu Cd na riasu *S. quadricauda*. Pozorovali sme maximálne 40 %-nú inhibíciu rastu pri najvyššej testovanej koncentrácii (49,23 mg Cd/l). Už pri najnižšej koncentrácii (0,25 mg/l) sme pozorovali štatisticky významnú inhibíciu ($p \leq 0,05$) oboch fotosyntetických pigmentov (chlorofyl a a b). Preukázali sme vyššiu stratu obsahu chlorofylu b než chlorofylu a, čo poukazuje na inhibíciu hlavne tvorby chlorofylu b. Koncentrácia chlorofylu b bola 47-krát menšia pri 49,23 mg Cd/l v porovnaní s kontrolou, zatiaľ čo pokles chlorofylu a bol pri rovnakej koncentrácii iba 16,38-krát nižší.

Kľúčové slová: akvatický ekosystém, toxicita kovov, riasy, ekotoxikológia

INTRODUCTION

Contamination of aquatic bodies with heavy metals is a critical issue of today's world due to the toxicological risks and accumulative nature of metals in aquatic systems. Cd is one of the toxic heavy metals and excessive Cd levels reach the food chain through absorption by plants from the soil and cause health hazards to living cells /1/. Algae has the ability of sorption of heavy (or toxic) metals on their surface makes them suitable for decontamination of contaminated waters /2, 3/. However, most of them are very sensitive to higher content of metals in the aquatic ecosystems. Our research was focused to ecotoxicological effects of cadmium in *Scenedesmus quadricauda* where we studied Cd toxicity on growth and photosynthetic

pigments concentrations of this four-cell coenobia as well as the relations between chlorophyll a and chlorophyll b.

MATERIALS AND METHODS

Green freshwater alga *Scenedesmus quadricauda* (Turpin) Brébisson from the collection at the Institute of Botany of the Czech Academy of Science in Třeboň (Czech Republic) was used in the test. Stock culture of algae was cultivated in modified Bristol modif. Bold Medium (BBM) /4, 5/, then the test medium was prepared according to the STN and OECD norm /6, 7/. Cultivation management was same as described in /8/. All used chemicals (p.a.) including of Cd in the form of CdCl₂.2.5H₂O (0.25-49.23 mg Cd/l; 2.19-437.94 μmol/dm³) were from Lachema-Chemapol, Czech Republic. All concentrations were tested in three parallels. EC50 values for inhibition of algal suspension were estimated by probit analysis and their confidence interval (95% CI). Content of photosynthetic pigments (chlorophyll a, chlorophyll b) was measured spectrophotometrically at 649 and 665 nm where 95% ethanol was used as a reference /8, 9/. Pigment concentrations were calculated with following equations /10, 11/:

$$\text{chlorophyll a} = (13.7 \times A_{665}) - (5.76 \times A_{649})$$

$$\text{chlorophyll b} = (25.8 \times A_{649}) - (7.60 \times A_{665})$$

The obtained values were displayed and compared with the control and statistically evaluated by unpaired two-tailed Student's *t*-test in the MS Excel (Microsoft Corporation, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

Estimated 50%-inhibiting concentration IC₅₀ by probit analysis has shown very high concentration (51 149 mg Cd/l) as is determined in Tab. 1. However, in our experiments we observed only max. 40% of growth inhibition at the highest tested Cd concentration after 96 h (data not shown here). For more precise determination of this value, it is necessary to conduct more experiments in the future than we could have done during pandemic situation in last two years.

Tab. 1: Estimated IC₅₀ values for algal SGR inhibition of *S. quadricauda* after 96 h exposure to Cd (*n*≥3). Legend: CI – confidence interval.

	Cd (mg/l)
IC₅₀	51 149
(95% CI)	(6 425 — 407 173)

Also, other authors observed inhibition of *S. quadricauda* growth in the presence of Cd /12/ where at concentration of 12.6 μmol/dm³ the growth inhibition was 20%, resp. 40% at 83.2 μmol Cd/dm³.

Photosynthetic pigment level (chlorophyll a and b) was determined in this study against different Cd concentrations (Fig. 1, 2). We observed statistically significant decrease of chlorophyll a and chlorophyll b from the first tested Cd concentration (Fig. 1). Similar decline of Chl a concentration and total chlorophyll content (a+b) as in our experiments (Fig. 1, 2) observed also by other authors in *C. sorokiniana* /13/. Decrease of chlorophyll b was higher than chlorophyll a that is drawn in Fig. 2 as *a/b* ratio and what point to inhibition of chlorophyll a conversion to chlorophyll b by the chlorophyllide a oxygenase /14/. High photosynthesis inhibition was observed in *Pseudokirchneriella subcapitata*, too /15/.

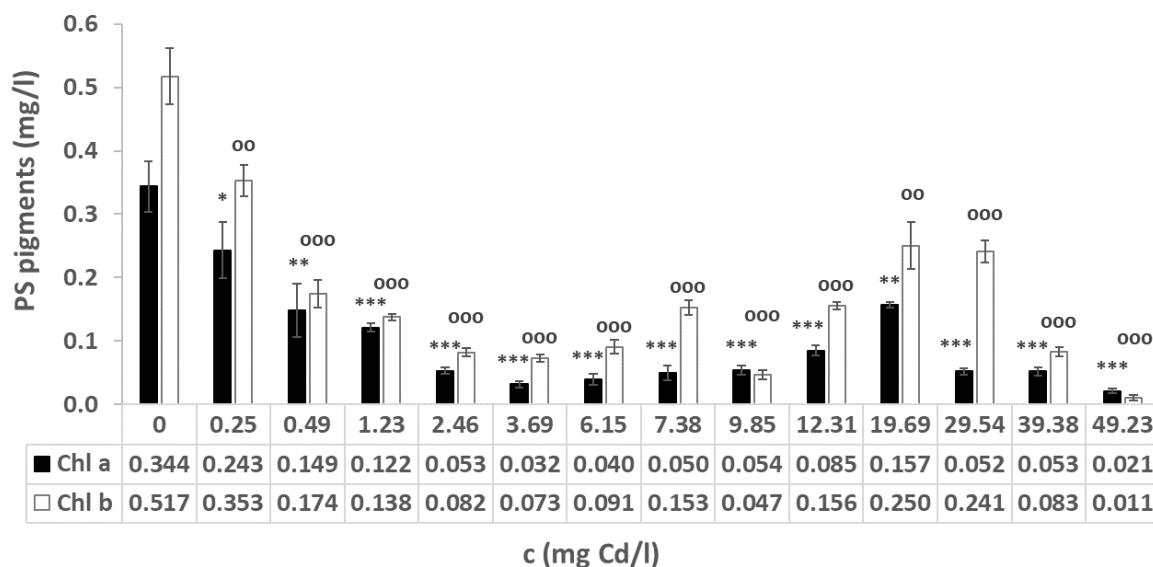


Fig. 1: Photosynthetic (PS) pigments concentrations in *S. quadricauda* after 8 days of growth in the Cd presence (n=3). Statistical significance of two-tailed Student's t-test is at * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$ for chl a (*) and similar as circle (°) for chlorophyll b against their control. Legend: Chl a – chlorophyll a, Chl b – chlorophyll b.

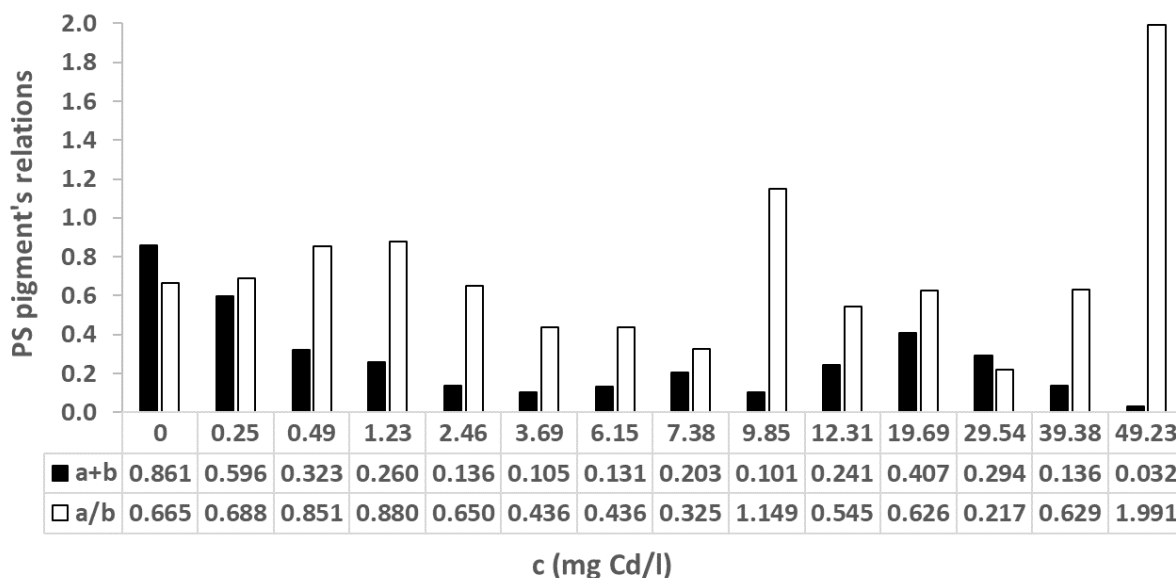


Fig. 2: Total photosynthetic (PS) pigment relations in *S. quadricauda* after 8 days of Cd exposure (n=3). Legend: a – chlorophyll a, b – chlorophyll b.

CONCLUSION

As many studies have pointed out that microalgae including *S. quadricauda* have evolved certain mechanisms to respond to changes in the environment including metal availability. In this study Cd toxicity was assessed in terms of growth and photosynthetic pigment level changes in *S. quadricauda*. All Cd concentrations affected the growth and pigments level in the alga, and higher values resulted in high inhibition of up to 40%. This concludes that Cd is toxic to this alga in even low amount when available in the aquatic system.

REFERENCES

- /1/ Pourret, O., Hursthouse, A.: It's time to replace the term "heavy metals" with "potentially toxic elements" when reporting environmental research. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16, 2019: 4446
- /2/ Almomani, F., Bhosale, R.R.: Bio-sorption of toxic metals from industrial wastewater by algae strains *Spirulina platensis* and *Chlorella vulgaris*: Application of isotherm, kinetic models and process optimization. *Science of the Total Environment*, 755, 2021: e142654
- /3/ Jayakumar, V., Govindaradjane, S., Senthil Kumar, P., Rajamohan, N., Rajasimman, M.: Sustainable removal of cadmium from contaminated water using green alga – Optimization, characterization and modeling studies. *Environmental Research* 199, 2021: e111364
- /4/ Bold, H.C.: The morphology of *Chlamydomonas chlamydogama*, sp. nov. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 76(2), 1949: 101-108
- /5/ Bischoff, H.W., Bold, H.C.: Phycological Studies IV. Some Soil Algae from Enchanted Rock and Related Algal Species. University of Texas, Austin, USA, Publication No. 6318, 1963: 1-95. Receipt available at: <https://ccala.butbn.cas.cz/en/bbm-medium>, cit. 14.06.2022
- /6/ STN EN ISO 8692 (2012). Water quality. Fresh water algal growth inhibition test with unicellular green algae (ISO 8692:2012)
- /7/ OECD (2011): Test No. 201: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test, OECD Publishing, Paris
- /8/ Filová, A., Fargašová, A., Molnárová, M.: Cu, Ni, and Zn effects on basic physiological and stress parameters of *Raphidocelis subcapitata* algae. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 2021: 58426-58441
- /9/ Lichtenthaler, H.K., Wellburn, A.R.: Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11(5), 1983: 591-592
- /10/ Fargašová, A.: Toxicity of Cd²⁺ in mixture with Cu²⁺, Zn²⁺, Pb²⁺ and Fe²⁺ on growth and chlorophyll content of alga *Scenedesmus quadricauda*. *Biologia (Bratislava)*, 54, 1999: 661-666
- /11/ Fargašová, A.: Interactive effect of manganese, molybdenum, nickel, copper I and II, and vanadium on freshwater alga *Scenedesmus quadricauda*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 67, 2001: 688-695
- /12/ Mohammed, M.H., Markert, B.: Toxicity of heavy metals on *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) de Brébisson in batch cultures. *Environmental Science and Pollution Research International*, 13(2), 2006, 98–104
- /13/ Carfagna, S., Lanza, N., Salbitani, G., Basile, A., Sorbo, S., Vona, V.: Physiological and Morphological Responses of Lead or Cadmium Exposed *Chlorella Sorokiniana* 211-8K (Chlorophyceae), Springer Plus, 2, 2013: 1-7
- /14/ Eggink, L.L., LoBrutto, R., Brune, D.C., Brusslan, J., Yamasoto, A., Tanaka, A., Hooper, J.K.: Synthesis of chlorophyll b: Localization of chlorophyllide a oxygenase and discovery of a stable radical in the catalytic subunit. *BMC Plant Biology*, 4, 2004: e5
- /15/ Markert, N., Rhiem, S., Trimborn, M., Guhl, B.: Mixture toxicity in the Erft River: assessment of ecological risks and toxicity drivers. *Environmental Sciences Europe*, 32, 2020: 1-13.

ACKNOWLEDGMENT

The study was supported by the grants from Comenius University Bratislava UK/59/2022 and the Agency for Research and Development APVV-20-0081.

FYTOTOXICKÉ ÚČINKY Cd NA MÄTONOH TRVÁCI (*LOLIUM PERENNE* L.)

PHYTOTOXIC EFFECTS OF Cd ON PERENNIAL RYEGRASS (LOLIUM PERENNE L.)

Pavína Eliška Liščáková, Marianna Molnárová, Ammara Nawaz

Katedra environmentálnej ekológie a manažmentu krajiny, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Mlynská dolina B2, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, liscakova5@uniba.sk

Summary

Perennial Ryegrass is currently being studied as a potential plant hyperaccumulator that could be used to remediate contaminated soils. In our study, we observed a significant accumulation of Cd in the roots (9.7 mg.g^{-1} dry mass) than in the shoots (0.038 mg.g^{-1} dry mass) at 4.92 mg Cd/l . Although the translocation factor was very low, this indicates Cd retention in the plant roots, but with greater inhibition of shoot growth ($\text{IC}_{50}=708 \text{ mg Cd/l}$) than the roots ($\text{IC}_{50}=2793 \text{ mg Cd/l}$). Although we did not confirm any statistically significant inhibition of photosynthetic pigments at most of the tested Cd concentrations, from our results we can state that the formation of chlorophyll *b* was more inhibited than chlorophyll *a*.

Key words: hyperaccumulator, phytoremediation, phytotoxicity

Súhrn

Mätonoh trváci sa v súčasnosti študuje ako potenciálny rastlinný hyperakumulátor, ktorý by sa mohol využívať na remediácie znečistených pôd. V našej štúdií sme pozorovali výraznú akumuláciu Cd v koreňoch ($9,7 \text{ mg.g}^{-1}$ sušiny) než vo výhonkoch ($0,038 \text{ mg.g}^{-1}$ sušiny) pri $4,92 \text{ mg Cd/l}$. Aj keď translokačný faktor bol veľmi nízky, poukazuje to na zadržiavanie Cd v koreňoch rastliny, pričom ale dochádzalo k vyššej inhibícii rastu výhonkov ($\text{IC}_{50}=708 \text{ mg Cd/l}$) ako koreňov ($\text{IC}_{50}=2793 \text{ mg Cd/l}$). Štatisticky významnú inhibíciu fotosyntetických pigmentov sme síce vo väčšine testovaných Cd koncentráciách nepotvrdili, ale z našich výsledkov môžeme konštatovať, že viac bola inhibovaná tvorba chlorofylu *b* ako chlorofylu *a*.

Kľúčové slová: hyperakumulátor, fytoremediácia, fytotoxicita

ÚVOD

Kontaminácia pôd toxickými prvkami často aj kvôli zvýšenej antropogénnej činnosti predstavuje celosvetový problém, ktorý zasahuje do všetkých zložiek životného prostredia /1,2,3/. Cd pôsobí fytotoxicky už pri nízkych koncentráciách aj kvôli jeho vlastnosti, že sa na rozdiel od organických látok nemôže ďalej rozkladať a v prostredí preto pretrváva. Odstraňovanie znečistenia z pôd môže byť finančne náročné, pričom sa mnohokrát negatívne ovplyvňuje aj krajinný ráz. Bioremediácia pomocou rastlín je preto výhodným a neinvazívnym spôsobom ako odstrániť dané kontaminanty z prostredia. Mätonoh trváci sa začína študovať aj kvôli jeho možnosti na využitie pre fytoremediáciu kovmi kontaminovaného prostredia pre jeho schopnosť často dobre tolerovať ako aj akumulovať tento prvok bez následného úhynu rastliny /1/. V našom príspevku sa preto zaoberáme sledovaním akumulácie a toxického účinku Cd na rast a fotosyntetické (FS) pigmenty na túto rastlinu.

MATERIÁL A METÓDY

Semená mätonohu trváceho, odroda Jozífek (*Agrostis Trávníky*, s.r.o., Česká republika) vysiate do Phytotoxkit® plastových vertikálnych kontajnerov (MicroBioTests Inc., Belgicko) s rozmermi 21 x 15,5 cm na buničinu a filtračný papier nasiaknutých 24 ml ½ Hoaglandovho roztoku /4/ sa nechali klíčiť v termostate v tme pri 25 ± 1 °C. Po 1 týždni sa rastlinám zmerali dĺžky koreňov a nadzemných častí. Potom sa presadili do 1 l kultivačných nádob (12 ks/nádobu), kde rástli v prítomnosti Cd ďalší 1 týždeň pri rovnakej teplote so svetelným režimom 16/8 deň/noc pri 10 937 lx. Cd bolo použité vo forme $\text{CdCl}_2 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ v koncentráciách od 0,49 $\mu\text{g Cd/l}$ ($4,38 \mu\text{mol.dm}^{-3}$) do 49,23 mg Cd/l ($437,9 \mu\text{mol.dm}^{-3}$). Všetky chemikálie analytickej čistoty (p.a.) pochádzali z firmy Lachema-Chemapol (Česká republika). Po 2 týždňoch kultivácie rastlín v prítomnosti Cd sa pokus ukončil. Odobratým rastlinám sa zmerali dĺžky koreňov a nadzemných častí a stanovili sa fotosyntetické pigmenty (chlorofyl *a* a *b*) v listoch podľa /5, 6/. Obsah Cd sa stanovil v koreňoch a výhonkoch galvanostatickou chronopotenciometrickou elektrochemickou metódou na prístroji Ecafow 150GLP (Istran, Slovenská republika) /3/. Bioakumulačný faktor (BAF) sa vypočítal ako: $\text{BAF} = (\text{koncentrácia Cd v koreňoch príp. výhonkoch}) / (\text{koncentrácia Cd v médiu})$; a translokačný faktor (TF) ako $\text{TF} = \text{koncentrácia Cd vo výhonkoch} / \text{koncentrácia Cd v koreňoch}$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z nameraných dĺžok koreňov a výhonkov mätonohu trváceho rastúcich v prítomnosti Cd bola vypočítaná hodnota IC_{50} (tab. 1). Cd pôsobilo 3,95-krát toxickejšie na výhonky mätonohu trváceho ($\text{IC}_{50} = 708 \text{ mg.l}^{-1}$) než na korene ($\text{IC}_{50} = 2793 \text{ mg.l}^{-1}$), čo sa prejavilo aj na inhibícii tvorby fotosyntetických pigmentov (chlorofylu *a*, chlorofylu *b* a celkových karotenoidov), predovšetkým chlorofylu *b* (obr. 1, 2), čo vidieť aj na náraste hodnoty pomerov chlorofylov *a/b* na obr. 2. Nakoľko chlorofyl *b* vzniká premenou chlorofylu *a* pomocou enzýmu chlorofylid *a* oxygenáza /7/, mohla by byť pozorovaná znížená tvorba chlorofylu *b* spôsobená napr. inhibíciou aktivity tohto enzýmu kadmium.

Tab. 1: Hodnoty IC_{50} s ich 95 %-nými intervalmi spoľahlivosti (CI) pre inhibíciu rastu koreňov a výhonkov semenáčikov mätonohu trváceho po 2 týždňoch v prítomnosti kadmia.

mätonoh trváci	IC_{50} (mg.l^{-1})
koreň	2 793 (2 537 – 3 075)
výhonok	708 (657 – 763)

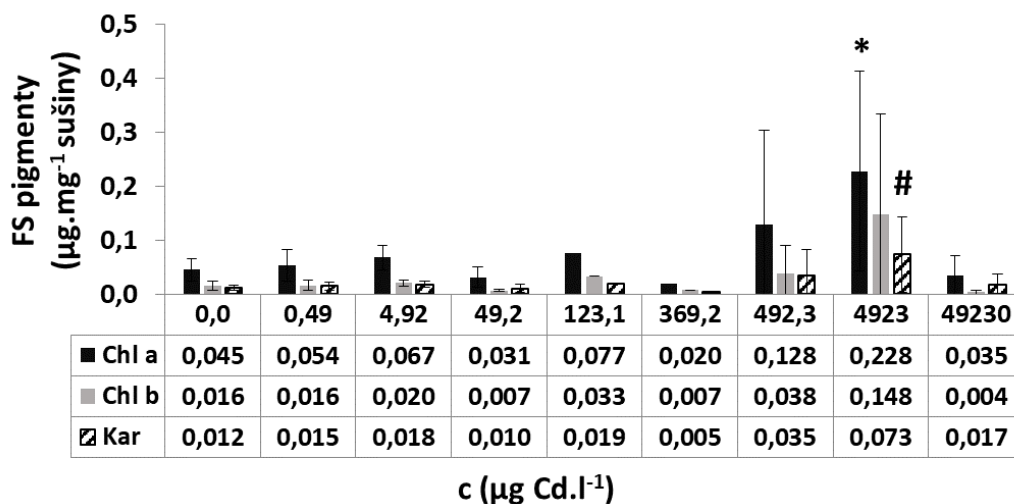
Kapoor et al. /2/ pozorovali v 30-dňových listoch *Brassica juncea* znižovanie chlorofylu *a* v prítomnosti Cd, kým chlorofyl *b* sa štatisticky významne so zvyšujúcou sa koncentráciou Cd nemenil, čo poukazovalo skôr na inhibíciu tvorby chlorofylu *a* než chlorofylu *b*.

Tab. 2: Bioakumulácia Cd v koreňoch a výhonkoch mätonohu trvácom. V tabuľke sú uvedené aritmetické priemery spolu so štandardnými odchýlkami (SD), $n \geq 2$. Legenda: nd – nedetekované.

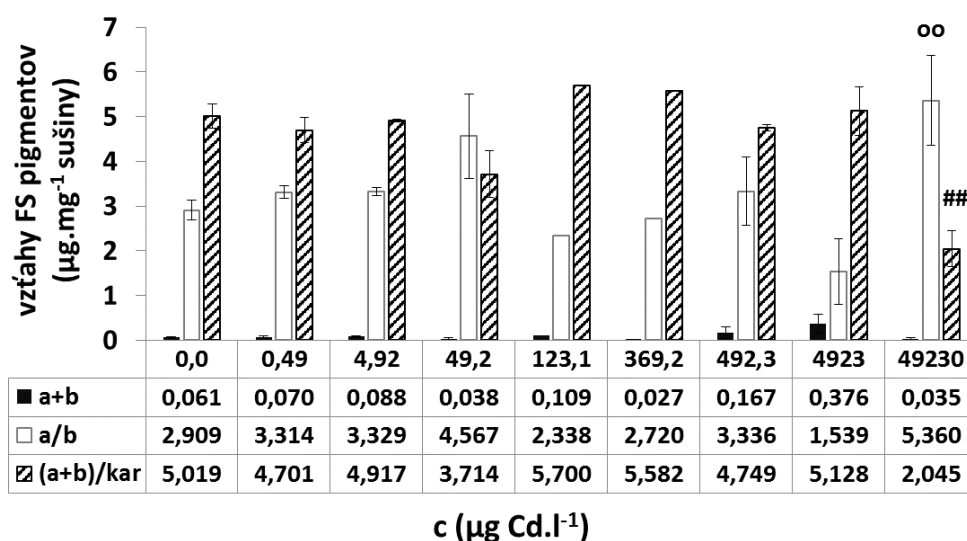
c (Cd) (mg.l^{-1})	Cd (koreň) ($\mu\text{g.g}^{-1}$ sušiny)	Cd (výhonok) ($\mu\text{g.g}^{-1}$ sušiny)	BAF (koreň)	BAF (výhonok)	TF
0,00	nd	nd	0	0	0
0,49	8629 ± 243	185 ± 4	17610	377,55	0,0214
4,92	9738 ± 241	38 ± 3	1979	7,72	0,0039

Kadmium sa prednostne akumulovalo viac v koreňoch ako vo výhonkoch mätonohu trváceho (tab. 2), čo potvrdzuje už známy fakt, že táto rastlina sa považuje za vhodný hyperakumulátor pre toxické kovy. Cd prechádzalo do nadzemnej časti len vo veľmi malej

miere, na čo poukazujú hodnoty translokačného faktora blízke nule a vysvetľuje nízku toxicitu Cd na FS pigmenty v listoch na obr. 1.



Obr. 1: Účinnok Cd na fotosyntetické pigmenty mätonohu trvácom po 2 týždňoch rastu v prítomnosti Cd. V grafe sú uvedené aritmetické priemery spolu s ich štandardnými odchýlkami (SD) ($n \geq 2$). Štatistická významnosť bola vyhodnotená obojstranným Studentovým t -testom, kde * alebo # znamená $p \leq 0,05$ oproti kontrole Chl a, resp. Kar. Legenda: Chl a – chlorofyl a; Chl b – chlorofyl b; Kar – celkové karotenoidy.



Obr. 2: Vzťahy fotosyntetických pigmentov mätonohu trvácom po 2 týždňoch rastu v prítomnosti Cd ($n \geq 2$). Štatistická významnosť bola vyhodnotená obojstranným Studentovým t -testom, kde °° alebo ## znamená $p \leq 0,01$ oproti kontrole a/b, resp. (a+b)/kar. Legenda: a – chlorofyl a; b – chlorofyl b; kar – celkové karotenoidy.

ZÁVER

Naše výsledky potvrdili vhodnosť využitia tejto rastliny na fytoremediáciu Cd kontaminovaného prostredia. Je však potrebné vykonať ešte ďalšie experimenty predovšetkým so zameraním sa na v literatúre /napr. 3/ popisovanú schopnosť kadmia nepriamo zvyšovať úroveň oxidačného stresu v rastlinách. Táto schopnosť by sa mohla následne negatívne prejaviť

na zníženéj tvorbe biomasy, alebo inhibícii fotosyntézy pri vyšších koncentráciách Cd v prostredí alebo na starších rastlinách mätonohu trvácom než aké sme sledovali my.

LITERATÚRA

- /1/ LI, G., Wang, Z., Lv, Y., Jia, S., Chen, F., Liu, Y., Huang, L.: Effect of culturing ryegrass (*Lolium perenne* L.) on Cd and pyrene removal and bacteria variations in co-contaminated soil. *Environmental Technology & Innovation*, 24, 2021: e101963
- /2/ Kapoor, D., Kaur, S., Bhardjwaj, R.: Physiological and biochemical changes in Brassica juncea plants under Cd-induced stress. *BioMed Research International*, 2014: e726070, 13 s.
- /3/ 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
- /4/ Hoagland, D.R., Arnon, D.I.: The water-culture method for growing plants without soil. *Circular. California Agricultural Experiment Station*, 347, 1950: 32 s.
- /5/ STN 83 8303: Skúšanie nebezpečných vlastností odpadov. Ekotoxická. Skúšky akútnej toxicity na vodných organizmoch a skúšky inhibície rastu rias a vyšších kultúrnych rastlín. Úrad pre normalizáciu, metrológiu a skúšobníctvo SR, 1999 (ICS 13.060.40, MDT 628.472)
- /6/ Lichtenthaler, H.K., Wellburn, A.R.: Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11(5), 1983: 591-592
- /7/ Eggink, L.L., LoBrutto, R., Brune, D.C., Brusslan, J., Yamasato, A., Tanaka, A., Hooper, J.K.: Synthesis of chlorophyll b: Localization of chlorophyllide a oxygenase and discovery of a stable radical in the catalytic subunit. *BMC Plant Biology*, 4, 2004: e5.

Pod'akovanie

Uvedená práca bola podporená grantami APVV-20-0081 a Rektora UK v Bratislave UK/59/2022.

UDŽIAVANIE EMBRYOGÉNNYCH PLETÍV *ABIES ALBA* MILL. V PRÍTOMNOSTI RASTOVÝCH REGULÁTOROV 2,4-D A NAA

IN VITRO MAINTENANCE OF ABIES ALBA MILL. EMBRYOGENIC TISSUES IN THE PRESENCE OF GROWTH REGULATORS 2,4-D AND NAA

Terézia Salaj, Martin Galgóci, Ján Salaj

Plant Science and Biodiversity Center, Institute of Plant Genetics and Biotechnology,
Slovak Academy of Sciences, Akademická 2, 950 07 Nitra, terezia.salaj@savba.sk

Summary

The effect of 2,4-D (0.1 or 1 mg.L⁻¹) and NAA (0.1 or 1 mg.L⁻¹) was investigated during the cultivation of embryogenic tissues of *Abies alba* Mill., including four cell lines A01, A30, A31, A32. The tissues were initiated from immature zygotic embryo explants and cultivated on DCR medium containing BA as sole plant growth regulator or BA combined with 2, 4-D or NAA. In the presence of BA alone the tissues showed vigorous growth with fresh mass increase from inoculum 0.5 g to 1.95 g to 4.47g. The dry mass accumulation showed similar pattern. Profound changes were observed after application of 2, 4-D or NAA in the culture medium. 2, 4-D and NAA incorporated into culture medium caused harmful effect on growth and structural characteristics of embryogenic tissues. This phenomenon was apparent mostly using 1 mg.L⁻¹ 2, 4-D or 1 mg.L⁻¹ NAA. Similarly, the structure of early somatic embryos was completely disintegrated.

Key words: conifers, in vitro, synthetic auxins, somatic embryogenesis

Súhrn

Študovali sme vplyv 2, 4-D (0.1 a 1 mg.L⁻¹) a NAA (0.1 a 1 mg.L⁻¹) počas proliferácie embryogénnych pletív (linie A01, A30, A31, A32) jedle bielej (*Abies alba* Mill.). Embryogénne pletivá sa indukovali z nezrelých zygotických embryí na kultivačnom médiu DCR pri použití 1 mg.L⁻¹ BA a následne sa kultivovali na tom istom médiu s obsahom 2, 4-D a NAA. Pri kultivácii pletív na médiu s obsahom iba BA pletivá rástli intenzívne a dosiahli prírastok 1,95 g až 4.47 g z pôvodného inokula 0.5 g. Inkorporácia 2, 4-D a NAA do kultivačného média spôsobila zmeny, ktoré sa prejavili výrazným znížením proliferácie čerstvej a suchej hmoty a silným poškodzovaním štruktúry somatických embryí. Tento jav bol výrazný najmä pri aplikovaní vyšších dávok rastových regulátorov (1 mg.L⁻¹).

Kľúčové slová: auxiny, ihličnany, in vitro, somatické embryogenéza

INTRODUCTION

Somatic embryogenesis (SE) is a developmental pathway of plant embryos formation without sexual fusion of gametes under *in vitro* conditions. The process has been demonstrated in many plant species, including conifer trees. For conifers SE has a special importance for micropropagation, because other micropropagation techniques were less efficient. SE has been initiated in many conifer species, belonging to genera, *Abies*, *Picea*, *Pinus* and *Pseudotsuga*. For initiation of SE regularly plant growth regulators are important, including auxins and cytokinins [1]. In the species belonging to genera *Abies* SE has been initiated in the presence of BA as sole plant growth regulator [2, 3, 4]. Our preliminary experiments indicated the harmful effect of synthetic auxins 2, 4-D or NAA on long-term maintenance of embryogenic tissues of *Abies alba*. These observations were non-systematic, therefore further experiments were devoted to study this phenomenon in details. The experiments were focused on the

proliferation and structural aspects of embryogenic tissues.

MATERIALS AND METHODS

The tissues were initiated from immature zygotic embryos on medium DCR /5/, containing 1 mg.L^{-1} BA (6-benzyladenin) and for the proliferation of cell lines (A01, A30, A31, A32) the same medium was used (details /6/). Tissue initiation and maintenance occurred in culture room, at temperature $23 \text{ }^{\circ}\text{C}$ in dark. For the study of 2,4-D (dichlorophenoxyacetic acid) and NAA (1-naphtalene acetic acid) effect, 0.5 g of vigorously growing tissues was transferred to media containing BA (1 mg.L^{-1}) as well as the mentioned (synthetic) auxins, 0.1 and 1 mg.L^{-1} . The proliferation was followed 7, 14 and 21 days after inoculation by recording the fresh as well as dry mass accumulation. The dry mass was recorded after drying the tissues at 60 to $105 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

For structural observations small pieces of embryogenic tissues placed on glass were stained with a drop of 2% acetocarmine, squashed, covered by cover slip and investigated under microscope Axioplan 2 (Carl Zeiss Microscopy) equipped with a camera system (Sony DXC-5500).

RESULTS AND DISCUSSION

On medium DCR containing sole plant growth regulator BA, the embryogenic tissues proliferated intensively, transferred to fresh media every 2-3 weeks (Fig. 1). During 21 days of proliferation the fresh mass increased from 0.5 g at the beginning of growth cycle to 4.47 g (cell line A1), 2.58 g (cell line A30), 1.95 g (cell line A31), and 2.95 g (cell line A32).

Profound changes were observed after application of 2, 4-D or NAA in the culture medium. 2, 4-D and NAA incorporated into culture medium caused harmful effect on tissue proliferation in respect of fresh as well as dry mass. The inhibition of proliferation was cell line dependent. Very strong inhibition was observed in cell line A01, the remaining cell lines were less but still negatively influenced.

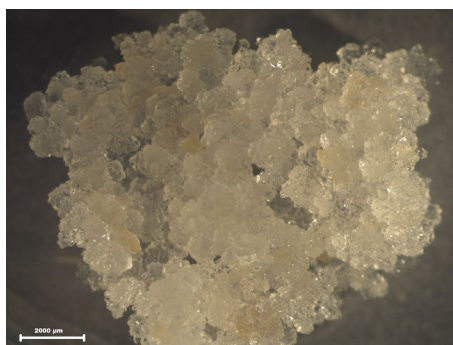


Fig. 1. Embryogenic tissue of *Abies alba* (cell line A01), proliferating on medium containing only BA (1 mg.L^{-1}).

The structural organization of early somatic embryos was also adversely influenced on media containing 2, 4-D and NAA. On medium containing sole BA, somatic embryos were observed as bipolar structures composed of embryonal part and long vacuolized suspensor cells organized into bundles (Fig. 2). Cleavage of embryonal part was also frequently observed. In the presence of 2, 4-D and NAA the structural organization of early somatic embryos was profoundly changed. The embryonal cells were completely disintegrated (Fig. 3) and mostly single vacuolized cells without organization into bundles, were observed. Formation of non-embryogenic callus was also observed.



Fig. 2. Early bipolar somatic embryo observed in embryogenic tissues (cell line A01) proliferating on medium containing only BA (1 mg.L^{-1}).

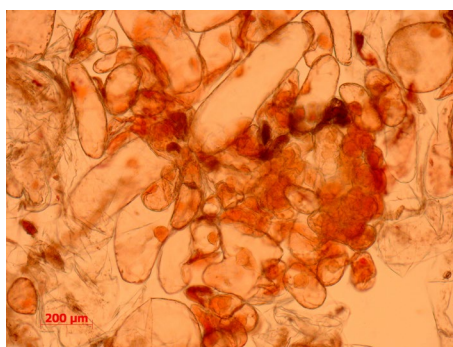


Fig. 3. Disintegrated early somatic embryo (cell line A31) observed on medium supplemented with 2, 4-D (1 mg.L^{-1}). Fig. 4. Long, vacuolized cells, observed in embryogenic tissues (cell line A32) in the presence of 1 mg.L^{-1} NAA in culture medium.

The successful *in vitro* culture of *Abies* embryogenic tissues requires cytokinin BA /2, 4, 7/. It is supposed, the *Abies* embryogenic tissues produce endogenous auxin sufficient for proliferation /3/. Conversely, in *Abies balsamea* embryogenic tissues proliferation was successful in the presence of $10 \mu\text{M}$ NAA /8/. Vondráková et al. /9/ demonstrated positive role of 2, 4-D on the embryogenic tissue proliferation, but the used concentration was very low ($0.25 \mu\text{M}$).

CONCLUSION

Embryogenic tissues were initiated from immature zygotic embryos in *Abies alba* Mill. on nutrient medium DCR containing 1 mg.L^{-1} BA. Four cell lines A01, A30, A31 and A32 were included in the experiments. The *in vitro* maintenance of tissues occurred on medium of the same composition as the initiation. Transfer of tissues to medium containing 2, 4-D or NAA resulted in proliferation suppression, mostly using 1 mg.L^{-1} . The response of tissues was cell line-dependent, but observable in all four cell lines. The structural features were also profoundly affected by culture on 2, 4-D or NAA. The typical bipolar organization of early somatic embryos was completely disintegrated.

REFERENCES

- /1/ Klimaszewska, K., Hargreaves, C., Lelu-Walter, M.A., Trontin, J.F.: Advances in conifer somatic embryogenesis since year 2000. *In* In Vitro Embryogenesis in Higher Plants, Methods in Molecular Biology 1359; Germana, M.A., Lambardi, M., Eds.; Springer Science+Business Media: New York, 2016; pp. 131–166
- /2/ Schuller, A., Reuther, G., Geier, T.: Somatic embryogenesis from seed explants of *Abies alba*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 7, 1989: 53–58

- /3/ Nörsgaard, J.V., Krogstrup, P.: Cytokinin induced somatic embryogenesis from immature embryos of *Abies nordmanniana*. Plant Cell Reports, 9, 1991: 509–513
- /4/ Gajdošová, A., Vooková, B., Kormut'ák, 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
- /5/ 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
- /6/ Salaj, T., Klubicová, K., Panis, B., Swennen, R., Salaj, J.: Physiological and structural aspects of *in vitro* somatic embryogenesis in *Abies alba* Mill. Forests, 11, 2020: 1-15
- /7/ Krajňáková, J., Gömöry, D., Häggman, H.: Somatic embryogenesis in Greek fir. Canadian Journal of Forest Research, 38, 2008: 760–769
- /8/ Guevin, T.G., Micah, V., Kirby, E.G.: Somatic embryogenesis in cultured mature zygotic embryos of *Abies balsamea*. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 37, 1994: 205–208
- /9/ Vondráková, Z., Eliášová, K., Fischerová, L., Vágner, M.: The role of auxins in somatic embryogenesis of *Abies alba*. Central European Journal of Biology, 6, 2011: 587–596

Acknowledement

The work was supported by Slovak Academy of Science in the frame of MVTS-COST CA18201 „An integrated approach to conservation of threatened plants for the 21st Century“.

VLIV PARACETAMOLU NA FYZIOLOGICKÉ PARAMETRY JUVENILNÍCH ROSTLIN KUKUŘICE SETÉ

THE EFFECT OF PARACETAMOL ON PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF JUVENILE MAIZE PLANTS

František Hnilička, Jiří Kudrna, Jan Kubeš, Miroslav Jozífek

Česká zemědělská univerzita v Praze, FAPPZ, Katedra botaniky a fyziologie rostlin, Kamýcká
129, 165 00 Praha - Suchbátka, hnilicka@af.czu.cz

Summary

The effect of different concentrations of paracetamol (0 mg l⁻¹, 200 mg l⁻¹, 400 mg l⁻¹, 600 mg l⁻¹, 800 mg l⁻¹ and 1000 mg l⁻¹ APAP) was observed on juvenile plants of maize (*Zea mays* L.). Gas exchange rate and chlorophyll fluorescence were measured in maize plants. The measured results show that a decrease in net photosynthesis and transpiration occurred in all stressed variants. In the case of fluorescence parameters, it can be stated that the maximum quantum yield of fluorescence (Fv/Fm) in all stressed variants decreased depending on the xenobiotic exposure. A similar trend was also noted for the ratio of fluorescence variable to minimum fluorescence (Fv/F0).

Key words: Zea mays, paracetamol, photosynthesis, transpiration; fluorescence of chlorophyll

Souhrn

U juvenilních rostlin kukuřice seté (*Zea mays* L.) byl sledován vliv rozdílných koncentrací paracetamolu (0 mg l⁻¹, 200 mg l⁻¹, 400 mg l⁻¹, 600 mg l⁻¹, 800 mg l⁻¹ a 1000 mg l⁻¹ APAP) na rychlost výměny plynů, fluorescenci chlorofylu. Z naměřených výsledků vyplývá, že k poklesu čisté fotosyntézy a transpirace došlo u všech stresovaných variant. V případě parametrů fluorescence je možné konstatovat, že maximální kvantový výtěžek fluorescence (Fv/Fm) u všech stresovaných variant se snížil v závislosti na expozici xenobiotika. Obdobný trend byl také zaznamenán u poměru fluorescence variabilní k fluorescenci minimální (Fv/F0).

Klíčová slova: kukuřice setá, paracetamol, fotosyntéza, transpirace, fluorescence

ÚVOD

V posledních letech se výskyt léčiv v životním prostředí považuje za celosvětový problém /1,2/. Léčiva jakožto představitelé široké skupiny moderních kontaminantů povrchových vod se do toků dostávají zejména z lidských sídel a nemocnic. Prescott (2010) /3/ uvádí, že mezi velice rozšířená analgetická léčiva se také považuje paracetamol (acetaminophen). Čističky odpadních vod (ČOV) většinu farmak nedokáží plně odbourat. Jednou z možností pro cílené odbourání některých farmak je použití bioreaktoru, do kterého jsou aplikovány mikroorganismy schopné léčiva odbourat. Podle typu léčiva může být rozloženo na přijatelné formy nebo až na oxid uhličitý a vodu /4/. Dalším způsobem, jak rozložit a zabránit úniku léčiv do životního prostředí je fytořemesiac. Podle /5/ lze takto odstranit i paracetamol.

Léčiva mají prokázaný vliv na fyziologické a biochemické procesy v rostlině. Toto dokazují například /6/ ve svých experimentech, kde léčiva (diclofenac a paracetamol) mají vliv na všechna vývojová stadia rostliny. Nejvíce byly rostliny negativně ovlivněny ve fázi klíčení, tvorby kořenů a růstu mladých rostlin kukuřice. Pino et al. /7/ pozorovali negativní vliv na kořenovou soustavu a hypokotyl lokiky seté a fotosyntetický aparát řas. Jak uvádí /8/, tak kukuřice zalévaná kontaminovanou vodou ukládá léčiva do svého těla a následně i do zrna, které může být využito ve výživě zvířat a lidí. Jedná

se tedy o jednu z možných cest vystavení nežádoucího působení reziduí farmak na zvířata a lidskou populaci. Proto cílem této práce bylo sledovat vliv paracetamolu na vybrané fyziologické parametry kukuřice seté a zjistit míru fyto toxicity jednotlivých koncentrací uvedeného léčiva.

MATERIÁL A METODY

Ve skleníkovém pokusu byl sledován vliv rozdílných koncentrací paracetamolu v záливkové vodě na kukuřici setou genotyp RGT Sixxtus. Pokus byl založen v částečně řízených podmínkách skleníku KBFR FAPPZ, při teplotě 25 °C ve dne a 19 °C v noci a při přirozeném světelném režimu (14 hodiny světlo, 10 hodin tma). Pokusné rostliny byly pěstovány v hydroponickém systému, který byl provzdušňován. Objem nádob byl 15 l. Pokusné rostliny byly pěstovány v rockwoolových kostičkách, kdy do každé pěstební kostky bylo vloženo jedno semeno kukuřice.

Pokus zahrnoval 6 variant: kontrolní a 5 stresovaných. Kontrolní varianta (K) byla v průběhu celého pokusu pěstována v destilované vodě s přidávkem Hoaglandova živného roztoku doplněného o mikroelementy podle Bensona, u stresovaných rostlin byl objem vody a hnojiva totožný, lišil se pouze v koncentracích paracetamolu (APAP): P1 (200 mg l⁻¹), P2 (400 mg l⁻¹), P3 (600 mg l⁻¹), P4 (800 mg l⁻¹) a P5 (1000 mg l⁻¹). Léčivo bylo získáno od firmy Sigma-Aldrich spol. s r.o. a jeho roztok byl připraven dle pokusů /6/. Pokus byl zahájen ve fázi 3 pravých listů (13 BBCH) a uskutečnilo se celkem 6 měření: 0, 1, 3, 7, 10 a 14 dní po zahájení, při zachování 5 opakování

Parametry fluorescence chlorofylu Fv/Fm a Fv/F0 byly měřeny nedestruktivní metodou pomocí fluorometru OS5p+ (Opti-Sciences) a to vždy po předchozím zatemnění místa měření. Doba zatemnění pomocí plastových klipsů byla stanovena na 20 minut /9/. Rychlost výměny plynů byla měřena nedestruktivní metodou pomocí infračerveného analyzátoru plynů LCpro+ (ADC Bioscientific Ltd). Rychlost výměny plynů byla sledována na základě pokusů /10/.

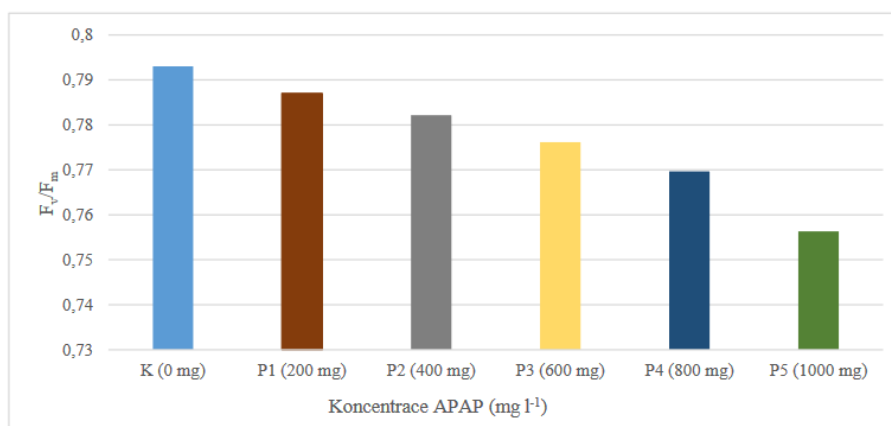
Statistická analýza dat se uskutečnila pomocí softwaru STATISTICA, verze 12 (StatSoft Inc.) při zachování 5 opakování a hladině významnosti $\alpha=0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSE

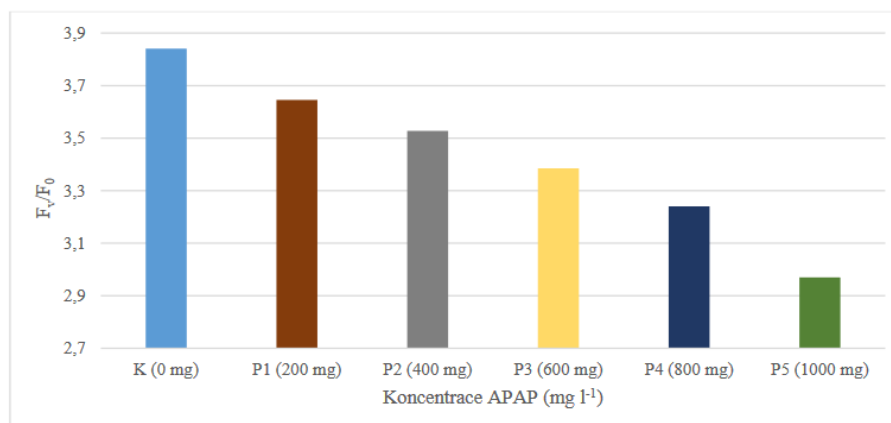
Průměrný poměr fluorescence chlorofylu Fv/Fm v závislosti na variantě pokusu je uveden v grafu 1. Z grafu je patrná nepřímá úměra se zvyšující se dávkou paracetamolu a snižováním fluorescenčního poměru rostlin kukuřice. Kontrolní rostliny vykazovaly nejvyšší průměrný poměr fluorescence Fv/Fm s hodnotou 0,793. Nejnížší odchylka oproti kontrolním rostlinám (K) byla zaznamenána u stresované varianty P1, kdy byla naměřena hodnota 0,787. U dalších variant docházelo k postupnému snižování poměru fluorescence. Varianta P2 měla hodnotu fluorescence 0,782. U rostlin variant P3 dosáhl průměr poměru fluorescence Fv/Fm 0,776. Variantě P4 byl naměřen poměr 0,769. Rostliny s nejvyšší dávkou paracetamolu (P5) byly nejvíce ovlivněny tímto léčivem. Jejich poměr fluorescence Fv/Fm za celý pokus byl 0,756 a jejich rozdíl oproti kontrolní variantě činil 0,037 (4,67 %). Negativní vliv působení farmak na poměr Fv/Fm potvrzují i /11/ s paracetamolem na locice seté (*Lactuca sativa* L.) nebo /12/ na vrbě bílé (*Salix alba* L.) po aplikaci ibuprofenu. Autoři /12, 13/ konstatují, že snížení poměru Fv/Fm je způsobeno snížením maximální kvantové výkonnosti otevřených center fotosystému II (PSII), kdy se nevyužitá energie mění na teplo a indikuje tak poškození fotosyntetického aparátu.

V grafu 2 je uveden průměrný poměr fluorescence chlorofylu Fv/F0 všech variant. Jako u poměru fluorescence Fv/F0 kontrolní rostliny vykazovaly nejvyšší průměrný poměr fluorescence Fv/F0 - 3,841. S navyšujícím se obsahem farmaka se poměr snižoval. U stresované varianty P1 byla zaznamenána nejnížší odchylka oproti kontrolním rostlinám, kdy naměřená

hodnota byla 3,645. U varianty P2 byla naměřena hodnota 3,528. U rostlin variant P3 dosáhl průměr poměru fluorescence F_v/F_0 (3,385). U rostlin z varianty P4 měly průměrnou hodnotu poměru F_v/F_0 ve výši 3,240. Nejvyšší ovlivnění bylo pozorováno u rostlin varianty P5, která obsahovala 1000 mg l⁻¹ paracetamolu ve svém hydroponickém roztoku. Naměřena hodnota byla 2,970, kde rozdíl oproti kontrolní variantě činil 22,68 %. Výsledné hodnoty jsou v souladu s prací /11/. Snížení poměru F_v/F_0 za působením abiotických faktorů včetně rizikových prvků (olovo a kadmium) uvádí ve své práci /14/. Dle /15/ xenobiotikum ve formě pesticidu fenoxaprop-P-ethylu způsobilo snížení poměru F_v/F_0 u rostlin perily křovité.



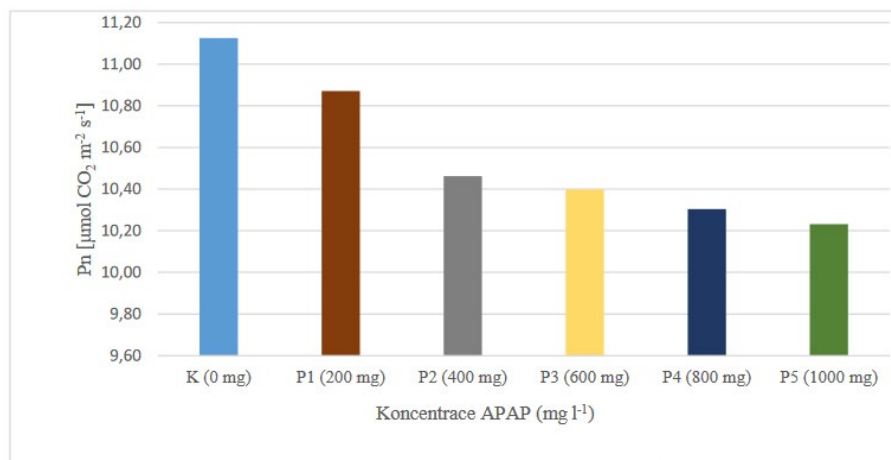
Graf 1: Průměrný poměr fluorescence chlorofylu F_v/F_m variant.



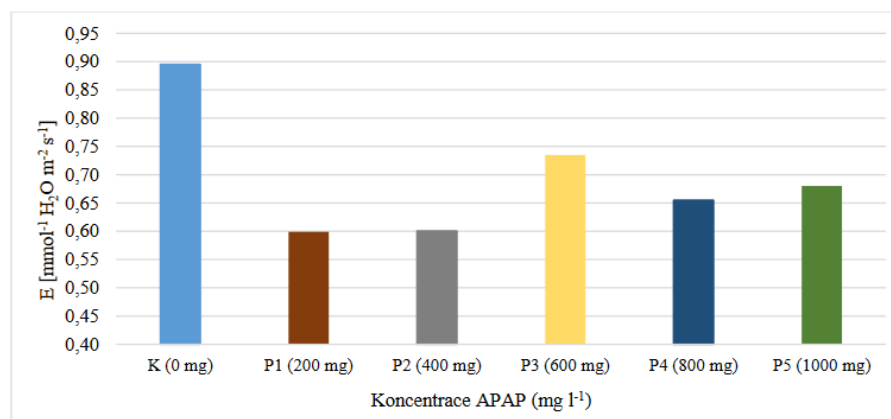
Graf 2: Průměrný poměr fluorescence chlorofylu F_v/F_0 variant.

Průměrná rychlost fotosyntézy v závislosti na variantě pokusu je uvedena v grafu 3. Z tohoto grafu je patrný negativní vliv paracetamolu na fotosyntézu kukuřice. Kontrolní rostliny vykazovaly nejvyšší hodnoty fotosyntézy, kdy průměr fotosyntézy činil 11,13 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Všechny stresované varianty měly nižší fotosyntézu v porovnání s kontrolními rostlinami. U stresované varianty P1 bylo zjištěno nejnižší snížení fotosyntézy - 10,87 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (2,34 %). Průkazné rozdíly v rychlosti fotosyntézy nebyly zaznamenány mezi variantami P2–P5. U varianty P2 byla naměřena hodnota 10,46 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. U rostlin variant P3 dosáhl průměr čisté fotosyntézy 10,40 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Varianta P4 měla hodnotu fotosyntézy ve výši 10,30 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Průměrná hodnota výkonu čisté fotosyntézy rostlin varianty P5 za celý pokus byla 10,23 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Rozdíl oproti kontrolní variantě činil 8,09 %. Byl prokázán nárůst fotosyntézy v závislosti na ontogenetickém vývoji rostlin. Snížení fotosyntézy po aplikaci farmak dokazují pokusy /16/ u rostlin fazolu a lociky seté po aplikaci paracetamolu, jak dokládá práce /11/, /12/ za použití ibuprofenu na vrbu bílou, /17/ při aplikaci antibiotik na pšenici setou.

Důvod snížení čisté fotosyntézy patrně souvisí s fytotoxicitou paracetamolu a jeho delším časem působení na rostliny kukuřice.



Graf 3: Průměrná rychlost fotosyntézy ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) juvenilních rostlin kukuřice ovlivněné rozdílnou koncentrací paracetamolu.



Graf 4: Průměrná rychlost transpirace ($\text{mmol H}_2\text{O, cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) juvenilních rostlin kukuřice ovlivněné rozdílnou koncentrací paracetamolu.

Rozdíl mezi nejvyšší ($0,90 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) a nejnižší ($0,60 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) průměrnou naměřenou rychlostí transpirace kukuřice činil 33,33 % a byl zjištěn mezi kontrolní variantou K (0 mg APAP) a variantami P1 (200 mg APAP) a P2 (400 mg APAP, viz graf 4. Nejnižších hodnot transpirace měly rostliny u variant P1 a P2 ($0,60 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), následně varianta P4 ($0,66 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), poté varianta P5 ($0,68 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) a varianta P3 ($0,73 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). U všech pokusných variant, včetně kontrolní varianty, byl zaznamenán pokles rychlosti transpirace. Dosažené výsledky jsou v souladu s prací /12/ po aplikaci ibuprofenu na klony vrby bílé, lilek rajče /18/. Tito autoři prokázali snížení rychlosti transpirace po aplikaci farmak. Důvodem snížení rychlosti transpirace je patrně dlouhodobý účinek paracetamolu s vysokou koncentrací na rostliny kukuřice, neboť při krátkodobém ošetření v rámci několika hodin nemá koncentrace paracetamolu zásadní vliv, jak uvádí /19/.

ZÁVĚR

Ze získaných výsledků vyplývá, že existuje negativní vliv paracetamolu na primární rychlost výměny plynů juvenilních rostlin kukuřice. Dále byl potvrzen negativní vliv doby expozice a koncentrace paracetamolu v živném roztoku na parametry fluorescence chlorofylů.

LITERATURA

- /1/ Alkimin GD, Daniel D, Dionísio R, Soares AMVM, Barata C, Nunes B. 2019. Effects of diclofenac and salicylic acid exposure on *Lemna minor*: Is time a factor? *Environmental research* (e108609)
- /2/ Streit AFM, Collazzo CG, Druzian SP, Verdi RS, Foletto EL, Oliveira LFS, Dotto GL. 2021. Adsorption of ibuprofen, ketoprofen, and paracetamol onto activated carbon prepared from effluent treatment plant sludge of the beverage industry. *Chemosphere* (e128322)
- /3/ Prescott LF. 2010. Paracetamol: past, present, and future. *American Journal of Therapeutics* 7:143–147.
- /4/ Zhang Y, Geißen S, Gal C. 2008. Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere* 73:1151–1161
- /5/ Vaněk T, Podlípna R, Fialová Z, Petrová S, Soudek P. 2010. Uptake of xenobiotics from polluted waters by plants. Pages 431–444 in Fatta-Kassinos D, Kümmerer K, Bester K, editors. *Xenobiotics in the Urban Water Cycle*. Springer, Dordrecht.
- /6/ Zezulka Š, Kummerová M, Babula P, Hájková M, Oravec M. 2019. Sensitivity of physiological and biochemical endpoints in early ontogenetic stages of crops under diclofenac and paracetamol treatments. *Environmental Science and Pollution Research* 26:3965–3979.
- /7/ Pino MR, Muñiz S, Val J, Navarro E. 2016. Phytotoxicity of 15 common pharmaceuticals on the germination of *Lactuca sativa* and photosynthesis of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environmental Science and Pollution Research* 23:22530–22541.
- /8/ Hammad HM, Zia F, Bakhat HF, Fahad S, Ashraf MR, Wilkerson CJ, Shah GM, Nasim W, Khosa I, Shahid M. 2018. Uptake and toxicological effects of pharmaceutical active compounds on maize. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 258:143–148
- /9/ Roháček K. 2002. Chlorophyll Fluorescence Parameters: The Definitions, Photosynthetic Meaning, and Mutual Relationships. *Photosynthetica* 40:13–29.
- /10/ Holá D, Benešová M, Honnerová J, Hnilička F, Rothová O, Kočová M, Hnilíčková H. 2010. The evaluation of photosynthetic parameters in maize inbred lines subjected to water deficiency: Can these parameters be used for the prediction of performance of hybrid progeny?. *Photosynthetica* 48:545–558.
- /11/ Kudrna J, Hnilicka F, Kubes J, Vachova P, Hnilickova H, Kuklova M. 2020. Effect of Acetaminophen (APAP) on Physiological Indicators in *Lactuca sativa*. *Life* 10:1–14.
- /12/ Iori V, Zacchini M, Pietrini F. 2013. Growth, physiological response and phytoremoval capability of two willow clones exposed to ibuprofen under hydroponic culture. *Journal of Hazardous Materials* 262:796–804.
- /13/ Zhu H, Chen X, Pan X, Zhang D. 2011. Effects of chloramphenicol on pigmentation, proline accumulation and chlorophyll fluorescence of maize (*Zea mays*) seedlings. *International Journal of Agriculture & Biology* 13:677–682.
- /14/ Kalaji HM. 2018. Prompt chlorophyll fluorescence as a tool for crop phenotyping: an example of barley landraces exposed to various abiotic stress factors. *Photosynthetica* 56:953–961.
- /15/ Zhang JH, Guo SJ, Guo PY, Wang X. 2014. The interacting effect of urea and fenoxaprop-P-ethyl on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in *Perilla frutescens*. *Photosynthetica* 52:456–463.
- /16/ Tășchină M, Copolovici DM, Bungău S, Lupitu AI, Copolovici L, Iovan C. 2017. The influence of residual acetaminophen on *Phaseolus vulgaris* L. secondary metabolites. *Farmacia* 65:709–713.
- /17/ Opreș O, Copaciu F, Soran ML, Ristoiu D, Niinemets Ü, Copolovici L. 2013. Influence of nine antibiotics on key secondary metabolites and physiological characteristics *Triticum aestivum*: leaf volatiles as a promising tool to assess toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 87:70–79.

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory projektu NutRisk Centre reg. č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000845.

VLIV PARACETAMOLU NA RYCHLOST VÝMĚNY PLYNŮ LOCIKY SETÉ

PARACETAMOL INFLUENCE ON THE GAS EXCHANGE OF LETTUCE PLANTS

Tomáš Turnovec, František Hnilička, Jiří Kudrna, Adéla Kulhánková

Česká zemědělská univerzita v Praze, FAPPZ, Katedra botaniky a fyziologie rostlin, Kamýcká
129, 165 00 Praha - Suchdol, turnovec@af.czu.cz

Summary

The influence of different concentrations of paracetamol, which was applied in a single and chronic dose, on the rate of gas exchange was monitored in juvenile lettuce plants. The experiment scheme included five variants: control (0 $\mu\text{mol/l}$ paracetamol), S1 (5 $\mu\text{mol/l}$ paracetamol), S2 (50 $\mu\text{mol/l}$ paracetamol), S3 (500 $\mu\text{mol/l}$ paracetamol), S4 (5 mmol/l paracetamol). From the measured results, it is evident that the rate of photosynthesis decreased in plants that were once treated with concentrations of 50 μM , 500 μM and 5 mM paracetamol. On the contrary, plants that received 5 μM paracetamol in the irrigation water showed a gradual increase in the rate of photosynthesis, similar to the control variant. The highest difference in transpiration rate between control and stressed variant (S4) was 1.79 $\text{mmol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. On the contrary, the lowest difference in the transpiration rate between the control and the single stressed variant (S2) was 0.27 $\text{mmol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

Key words: lettuce, paracetamol, photosynthesis, transpiration

Souhrn

U juvenilních rostlin salátu byl sledován vliv rozdílných koncentrací paracetamolu, který byl aplikován v jednorázové a chronické dávce na rychlost výměny plynů. Schéma pokusu zahrnovalo pět variant: kontrolní (0 $\mu\text{mol/l}$ paracetamolu), S1 (5 $\mu\text{mol/l}$ paracetamolu), S2 (50 $\mu\text{mol/l}$ paracetamolu), S3 (500 $\mu\text{mol/l}$ paracetamolu), S4 (5 mmol/l paracetamolu). Z naměřených výsledků je patrné, že k poklesu rychlosti fotosyntézy došlo u rostlin, které byly jednorázově ošetřeny koncentracemi 50 μM , 500 μM a 5 mM paracetamolu. Naopak u rostlin, kterým bylo v závlivkové vodě dodáno 5 μM paracetamolu bylo prokázáno postupné zvýšení rychlosti fotosyntézy podobně jako tomu bylo u kontrolní varianty. Nejvyšší rozdíl v rychlosti transpirace mezi kontrolní a stresovanou variantou (S4) byl 1,79 $\text{mmol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Naopak nejnižší rozdíl v rychlosti transpirace mezi kontrolní a jednorázově stresovanou variantou (S2) činil 0,27 $\text{mmol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

Klíčová slova: locika setá, paracetamol, fotosyntéza, transpirace

ÚVOD

Celosvětová spotřeba léčiv během uplynulých desetiletí v mnoha zemích světa výrazně stoupá. Rozsáhlé užívání širokého spektra léčivých látek vede ke zvyšování pozornosti o osudu léčiv v životním prostředí a ke zkoumání účinků na necílové organismy. Stále častěji může docházet k uvolňování farmaceutických výrobků či jejich metabolitů do životního prostředí a tím ke zvyšování environmentálního a ekotoxikologického rizika pro řadu organismů. Podle /10/ lze považovat za potencionální kontaminanty nesteroidní protizánětlivé léky, antibiotika, pohlavní hormony, antiepileptika, antidepresiva, hypolipidemika, beta-blokátory, antineoplastika a kontrastní látky.

Jedním z významných kontaminantů je např. paracetamol, kdy např. v SRN je jeho roční spotřeba ve výši 641,86 t. A v případě, že nedojde ke kompletní eliminaci v čistírnách odpadních vod, mohou rezidua léčiv a jejich metabolity uniknout do životního prostředí. Na odtocích čistíček odpadních vod lze následně detekovat hodnoty farmak v koncentracích několika ng/l až µg/l /3/. Lze tedy konstatovat, že přítomnost paracetamolu a jiných léčiv v prostředí může představovat velké riziko pro růst a vývoj všech rostlin.

Tašchinā a kol. (2017) /13/ ve své práci prokázali, že paracetamol ovlivňuje fotosyntetické parametry fazolu obecného (*Phaseolus vulgaris* L.). Zezulka a kol. (2019) /14/ konstatují, že působení léčiv může mít vliv na všechna vývojová stádia rostlin. Za kritické stupně vývoje považují především klíčení, tvorbu kořenů a růst mladých rostlin. Kontaminace farmaceutickými přípravky, především v raných stádiích ontogeneze, může negativně ovlivnit růst, vývoj a také produktivitu plodin. Prokázali, že farmaceutické přípravky ovlivňují klíčení semen a délku kořenů u cibule kuchyňské (*Allium cepa* L.), hlávkového salátu (*Lactuca sativa* L.), hrachu setého (*Pisum sativum* L.) a také u lilku rajčete (*Solanum lycopersicum* L.). Proto cílem práce bylo sledovat vliv rozdílných koncentrací paracetamolu na rychlost výměny plynů lociky seté (*Lactuca sativa* L.).

MATERIÁL A METODY

Ve skleníkovém pokusu byl sledován vliv rozdílných koncentrací paracetamolu v závlivkové vodě na lociku setou odrůda Král Máje. Pokus byl založen v částečně řízených podmínkách skleníku KBFR FAPPZ, při teplotě 25 °C ve dne a 19 °C v noci a při přirozeném světelném režimu (14 hodiny světlo, 10 hodin tma). Pokusné rostliny byly pěstovány v plastových nádobách o velikosti 11x11 cm v zahradním substrátu. Jedná se o substrát složený převážně z jemných částic (částice nad 20 mm max. 5 %).

Pokus zahrnoval 5 variant: kontrolní a 4 stresované. Kontrolní varianta byla v průběhu celého pokusu zavlažována 150 ml vody, u stresovaných rostlin byl objem vody stejný a lišil se pouze v koncentracích dodaného paracetamolu: S1 (5 µmol/l), S2 (50 µmol/l), S3 (500 µmol/l), S4 (5 mmol/l). Základní rozdělení pokusu bylo do dvou celků. Kdy polovina rostlin byla zavlažena paracetamolem na počátku pokusu a druhá polovina pokusných rostlin byla pod nepřetržitou závlivkou léčiva. Pokus byl zahájen ve fázi 6 pravých listů (16 BBCH) a uskutečnilo se celkem 6 měření: 0, 1, 3, 7, 10 a 14 dní po zahájení, při zachování 5 opakování

Fotosyntéza a transpirace byla měřena nedestruktivní metodou pomocí infračerveného analyzátoru plynů LCpro+ (ADC Bioscientific Ltd.) Rychlost výměny plynů byla sledována na základě metodiky /2/.

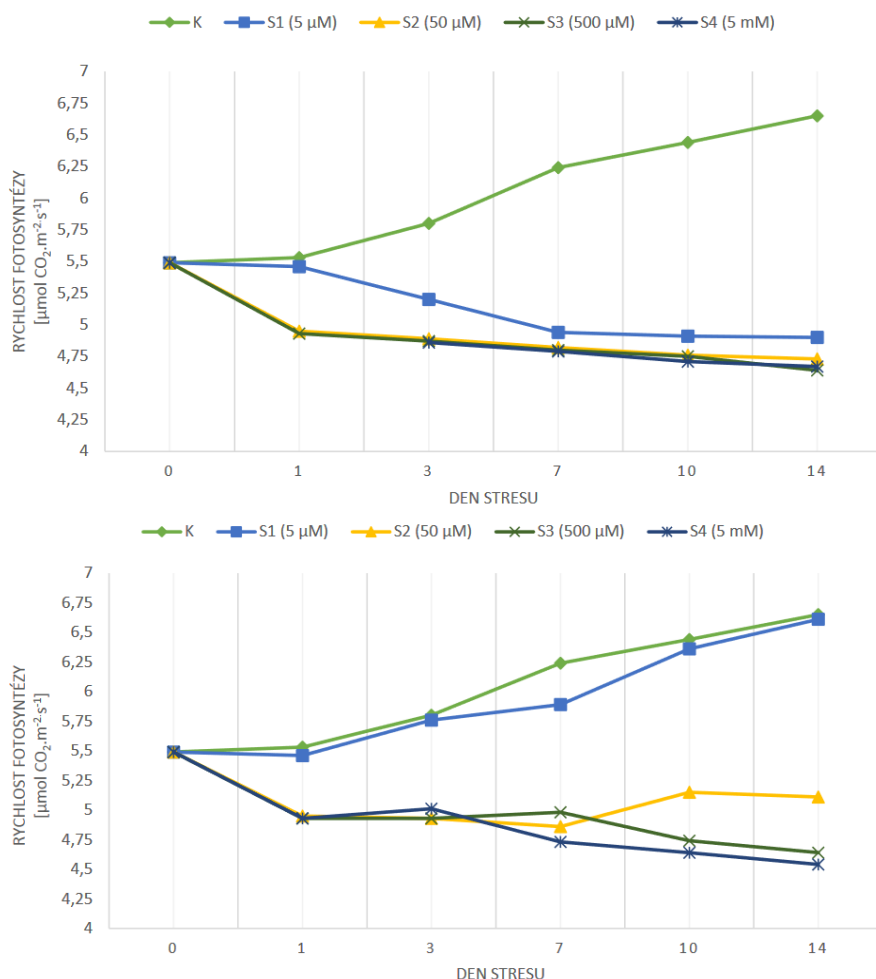
Statistická analýza dat se uskutečnila pomocí softwaru STATISTICA, verze 12 (StatSoft Inc.) při zachování 5 opakování a hladině významnosti $\alpha=0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Z grafu 1 vyplývá, že nejvyšší rychlost fotosyntézy byla naměřena u kontrolních rostlin ve 14. dnu pokusu ($6,65 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). Naopak nejnižší rychlost fotosyntézy byla zaznamenána u varianty S4, která byla ošetřována nejvyšší jednorázovou koncentrací paracetamolu (5 mM), kdy rychlost fotosyntézy byla $4,54 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (14. den). Kontrolní rostliny vykazovaly v průběhu měření téměř lineární zvýšení rychlosti fotosyntézy, a to z důvodu jejich ontogenetického vývoje. Tento závěr potvrzuje také /5, 7/. Podobný trend je u jednorázové aplikace nalezen také u nejnižší koncentrace paracetamolu. V případě ostatních koncentrací dochází k postupnému snižování fotosyntézy až do konce pokusu. Toto konstatování odpovídá závěrům /1/, který uvedl, že aplikace paracetamolu na mungo (*Vigna radiata* L. Wilczek).

Z grafu 1 dále vyplývá, že chronické působení paracetamolu vedlo ke snížení rychlosti fotosyntézy u všech testovaných variant. Nejnižší hodnota $4,67 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ byla

naměřena u varianty S4 14 den. Naopak nejvyšší hodnota byla naměřena u kontrolní varianty, rovněž 14. den, kdy rychlost fotosyntézy byla $6,65 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Rozdíl mezi nejvyšší a nejnižší rychlostí fotosyntézy juvenilních rostlin salátu činil $1,98 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Dle /12/ patří snížení fotosyntézy mezi jeden z projevů v případě, že jsou rostliny vystaveny xenobiotikům. Zhang a kol. (2020) /15/ rovněž dokázali, že aplikace nízkých koncentrací florfenikolu ($0,001 \text{ mg/l}$, $0,01 \text{ mg/l}$, $0,1 \text{ mg/l}$) vede ke zvýšení rychlosti fotosyntézy a stimulaci růstu *Isochrysis galbana*. Obdobný závěr byl potvrzen také u nízké koncentrace paracetamolu a rychlosti fotosyntézy salátu.

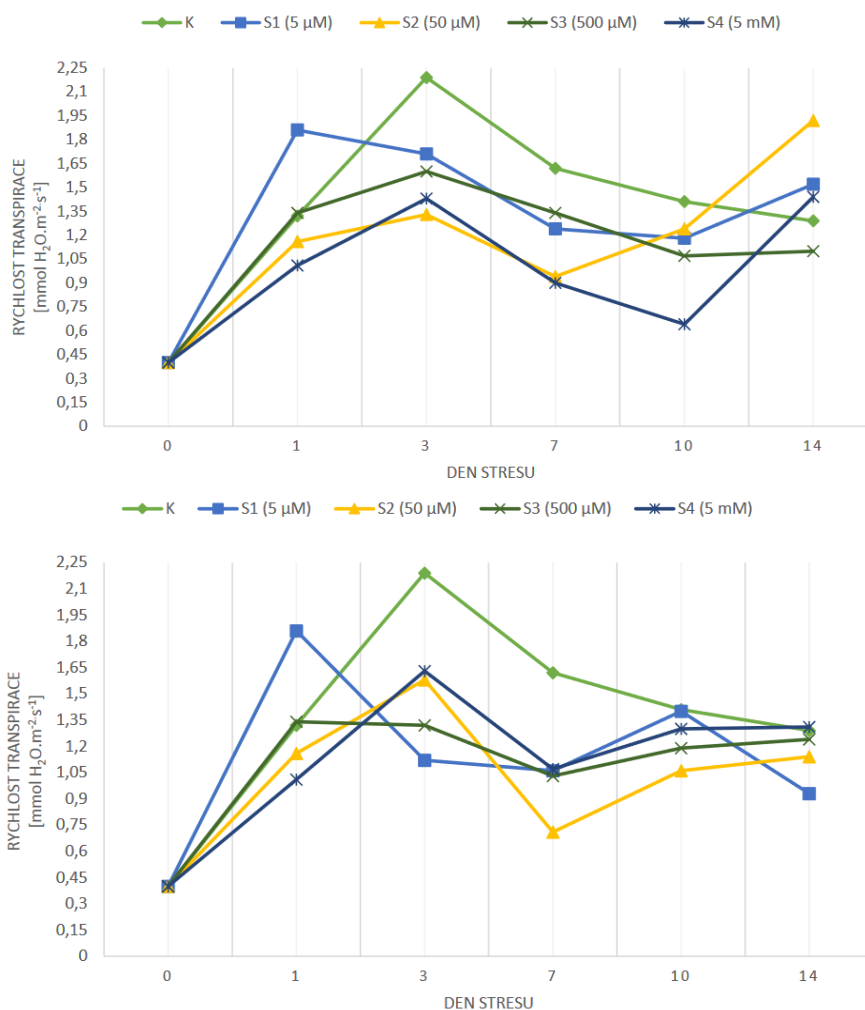


Graf 1: Rychlost fotosyntézy ($\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) juvenilních rostlin lociky seté ovlivněné rozdílnou koncentrací paracetamolu. Horní graf – jednorázová aplikace; dolní graf – chronická aplikace.

Nejvyšší rychlost transpirace byla naměřena 3. den od počátku měření u kontrolní varianty ($2,19 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). Naopak nejnižší hodnoty transpirace bylo dosaženo v 0. dnu měření, kdy transpirace dosáhla hodnoty $0,40 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, jak uvádí graf 2. V porovnání s rychlostí fotosyntézy nevykazuje transpirace jednoznačný trend nárůstu či poklesu hodnot v závislosti na jednorázové aplikaci paracetamolu.

Po aplikaci paracetamolu se u rostlin z varianty S1 výrazně zvýšila rychlost transpirace 3. den měření a vlivem působení paracetamolu i nadále docházelo k postupnému snižování transpirace. Obdobně reagovaly rostliny také z variant S2 a S4. Z grafu 2 je též patrné, že pokles rychlosti transpirace varianty S3 nastal 7. den po aplikaci paracetamolu, kdy se rychlost transpirace snížila na hodnotu $1,34 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Larque-Saavedra (1978) /6/ uvádí, že

v důsledku nepříznivých podmínek pro růst rostlin dochází k poklesu rychlosti transpirace, což potvrzují i získané výsledky.



Graf 2: Rychlost transpirace ($\text{mmol H}_2\text{O}, \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) juvenilních rostlin lociky seté ovlivněné rozdílnou koncentrací paracetamolu. Horní graf – jednorázová aplikace; dolní graf – chronická aplikace.

Rychlost transpirace při chronické aplikaci paracetamolu je uvedena na grafu 2, dole. Z něho je patrné, že u všech testovaných variant se projevil střídavě klesající a rostoucí trend. Nejvyšší rychlost transpirace byla naměřena u kontroly 3. den: $2,19 \text{ mmol H}_2\text{O}, \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Naopak nejnižší rychlost transpirace byla zaznamenána na počátku pokusu ($0,40 \text{ mmol H}_2\text{O}, \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). Z něho je patrné, že k poklesu rychlosti transpirace došlo u varianty S1 3. den po opakované aplikaci paracetamolu s koncentrací $5 \mu\text{M}$ ($1,12 \text{ mmol H}_2\text{O}, \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). U varianty S2 se naopak transpirace 3. den zvýšila ($1,58 \text{ mmol H}_2\text{O}, \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$).

Rychlost transpirace rostlin rostoucích ve variantě S3 ($500 \mu\text{M}$ paracetamolu) se pohybovala v intervalu hodnot od $0,40 \text{ mmol H}_2\text{O}, \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (0. den) do $1,34 \text{ mmol H}_2\text{O}, \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (1. den). Rychlost transpirace se u varianty S4 (5 mM paracetamolu) zvyšovala do 3. dne až na maximální hodnotu $1,63 \text{ mmol H}_2\text{O}, \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$.

Snížení rychlosti transpirace z důvodu přítomnosti léčiv v půdě prokázali například /9/. Shaheen a kol. /11/ potvrzují pokles rychlosti transpirace po aplikaci kyseliny salicylové na listy lilku rajčete a také /4/ u pšenice. Na základě uvedených výsledků lze konstatovat, že

nepřetržité působení paracetamolem způsobilo u pokusných variant výraznější pokles rychlosti transpirace než jednorázová aplikace. Naměřené výsledky jsou v souladu například s prací /8/, kteří prokázali pokles rychlosti transpirace i fotosyntézy ječmene setého po aplikaci kyseliny salicylové.

ZÁVĚR

Ze získaných výsledků vyplývá, že existuje negativní vliv paracetamolu na primární metabolismus rostlin. Aplikace paracetamolu ovlivnila všechny sledované charakteristiky s výjimkou fotosyntézy po jednorázové aplikaci 5 $\mu\text{mol/l}$ paracetamolu, kdy shodně s kontrolními rostlinami se fotosyntéza zvyšovala. Na straně druhé nebyl prokázán výrazný vliv aplikace paracetamolu na rychlost transpirace. Rychlost výměny plynů je výrazněji ovlivněna chronickým působením paracetamolu ve srovnání s jednorázovou aplikací.

LITERATURA

- /1/ Al-Muwayhi MAR. 2018. Paracetamol mediated changes modifies the photosynthetic efficiency of *Vigna radiata* Legume Research-An International Journal. 41. 10.18805/LR-391.
- /2/ Holá D, Benešová M, Honnerová J, Hnilička F, Rothová O, Kočová M, Hniličková H. 2010. The evaluation of photosynthetic parameters in maize inbred lines subjected to water deficiency: Can these parameters be used for the prediction of performance of hybrid progeny? *Photosynthetica*, 48(4), 545-558.
- /3/ Christen V, Hickmann S, Rechenberg B, Fent K. 2010. Highly active human pharmaceuticals in aquatic systems: A concept for their identification based on their mode of action. *Aquat. Toxicol.*, 96(3), 167-181.
- /4/ Kholoptseva ES, Ignatenko AA, Repkina NS, Talanova VV. 2019. Characteristics of wheat plant responses to short-term and prolonged exposure to salicylic acid under optimal and low temperature. *Proceedings of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences*. 19. 10.17076/eb1054.
- /5/ Kosma C, Triantafyllidis V, Papasavvas A, Salachas G, Patakas A. 2013. Yield and nutritional quality of greenhouse lettuce as affected by shading and cultivation season. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. Volume 25, 947-979.
- /6/ Larque-Saavedra A. 1979. Stomatal closure in response to acetylsalicylic acid treatment. *Z. Pflanzenphysiol.* 93 (4), 371–375.
- /7/ Opreș O, Ciorîță A, Soran ML, Lung I, Copolovici L., Copolovici MD. 2019. Evaluation of the photosynthetic parameters, emission of volatile organic compounds and ultrastructure of common green leafy vegetables after exposure to non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *Ecotoxicology*. 28.
- /8/ Pancheva TV, Popova LP, Uzunova AN. 1996. Effects of salicylic acid on growth and photosynthesis in barley plants. *Journal of plant physiology*, 149(1-2), 57-63.
- /9/ Reddy KJ, Rao KVM, Raghavendra AS. 2006. *Physiology and molecular biology of stress tolerance in plants*. Springer, ISBN: 1-4020-4224-8.
- /10/ Santos L, Araujo AN, Fachini A, Pena A, Delerue-Matos C, Montenegro M. 2010. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *J. Hazard Mater* 175: 45-95
- /11/ Shaheen, Ayyub, Hussain, Manan, Mustafa, Sarwar, Ahsan, Sarwar, Imran. (2019). Salicylic acid improved the heat tolerance by enhancing growth, gas exchange attributes and chlorophyll contents of tomato. *Acta Horticulturae*. 10.17660/ActaHortic.2019.1257.23.
- /12/ Skálová L, Boušová, I. 2011. *Metabolismus léčiv a jiných xenobiotik*, Praha: Karolinum. ISBN 978-80-246-1917-0.
- /13/ Tășchină, M., Copolovici, D. M., Bungău, S. , Lupitu, A. I., Copolovici, L., Iovan, C. 2017. The influence of residual acetaminophen on *Phaseolus vulgaris* L. secondary metabolites. *Farmacia*, 65(5), 709-713.
- /14/ Zezulka Š, Kummerová M, Babula P, Hájková M, Oravec M. 2019. Sensitivity of physiological and biochemical endpoints in early ontogenetic stages of crops under diclofenac and paracetamol treatments. *Environ Sci Pollut Res* 26: 3965–3979.
- /15/ Zhang Y, Geissen SU, Gal C. 2008. Carbamazepine and diclofenac: removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bods. *Chemosphere*, 73: 1151–1161.

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory projektu NutRisk Centre reg. č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000845.

Postery

ZMĚNA VE VÝVOJI FENOLOGICKÝCH FÁZÍ VYBRANÝCH DŘEVIN NA ÚZEMÍ ČR

CHANGE IN THE DEVELOPMENT OF PHENOLOGICAL PHASES OF SELECTED TREES IN THE CZECH REPUBLIC

Lenka Hájková, Martin Možný, Veronika Oušková, Adéla Musilová, Vojtěch Vlach
Český hydrometeorologický ústav, oddělení biometeorologických aplikací, Na Šabatce 17,
143 06 Praha 4 Komořany; lenka.hajkova@chmi.cz

Summary

Phenology is a branch of bioclimatology, e.g. the science dealing with the relationship of organic life (the life of plants and animals) to the climate. In this paper leaf unfolding, beginning of flowering and leaves yellowing of silver birch and lime tree were evaluated (in period 1991–2021). The data were processed in the framework of the Czech Republic in period 1991–2021. For shift of phenophases evaluation, the Man-Kendall test was used. Results indicate a shift of spring phases to earlier dates, and conversely the shift to later dates by leaves yellowing (autumn phase). Moreover, change of phenophase onset is more pronounced and statistically significant at Horní Rokytnice station (743 m a.s.l.) compared to lowland Lednice station.

Keywords: silver birch, lime tree, Man-Kendall test, beginning of flowering, leaf unfolding, leaves yellowing

Souhrn

Fenologie (phaenologie) je naukou o životních projevech rostlin a živočichů v široké souvislosti s počasím a podnebím s akcentem na více méně pravidelně se opakující periodické jevy během roku. V příspěvku jsme se zaměřili na zpracování vybraných vegetativních fenologických fází (počátek olisťování a žloutnutí listů) a generativní fenologická fáze počátek kvetení. Data byla zpracována za období 1991 až 2021 na území ČR, a na dvou vybraných stanicích v rozdílných nadmořských výškách a klimatických oblastech. Pomocí Man-Kendall testu bylo zjištěn posun v době nástupu fází za analyzované období, u jarních fází dochází k posunu do dřívějších datumů a u žloutnutí listů dochází naopak k posunu do pozdějších datumů. Na stanici Horní Rokytnice (743 m n. m.) je změna v nástupu vybraných fází výraznější a statisticky významnější ve srovnání s nížinnou stanicí Lednice.

Klíčová slova: bříza bělokorá, lípa srdčitá, Man-Kendall test, počátek kvetení, počátek olisťování, žloutnutí listů

ÚVOD

Fenologie (phaenologie) je naukou o životních projevech rostlin a živočichů v široké souvislosti s počasím a podnebím s akcentem na více méně pravidelně se opakující periodické jevy během roku (1). Fenologické výsledky se v poslední době využívají zejména k výzkumným účelům pro studium klimatické změny a její dopady na vývoj vegetace v budoucnosti.

V příspěvku jsme se zaměřili na zpracování vybraných vegetativních fenologických fází počátek olisťování a žloutnutí listů u břízy bělokoré (*Betula pendula*) a lípy srdčité (*Tilia cordata*). A dále byla zvolena generativní fenologická fáze počátek kvetení (oba druhy patří mezi významné pylové alergenů). Data byla zpracována za období 1991 až 2021 na území ČR

(fenologické normály), a na dvou vybraných fenologických stanicích (Lednice a Horní Rokytnice), které se nacházejí v rozdílných klimatických oblastech a nadmořských výškách.

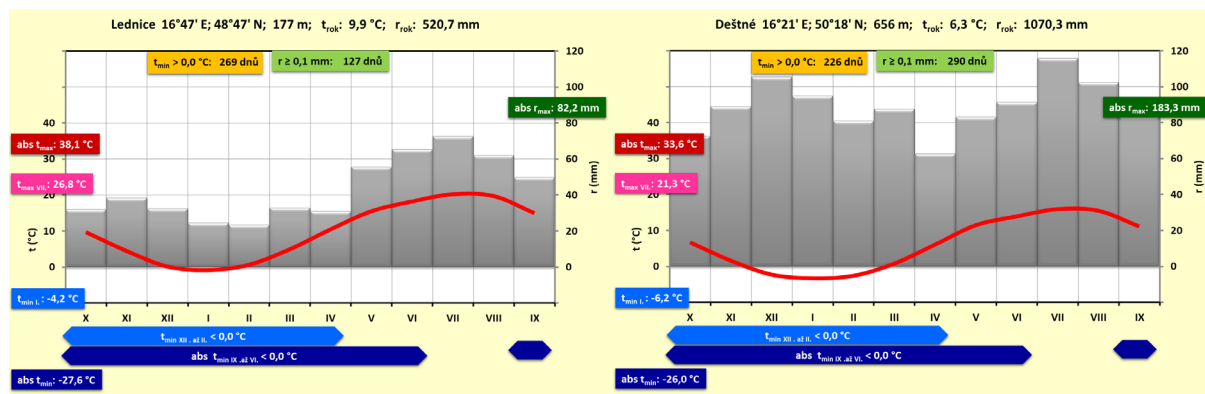
MATERIÁL A METODA

V příspěvku byla použita data z fenologických stanic v pozorovací síti ČHMÚ. Celkem bylo do fenologických normálů (období 1991–2020) zpracováno 29 fenologických stanic, které jsou rovnoměrně rozmístěny na celém území České republiky a nacházejí se v rozmezí nadmořské výšky od 158 m n. m. (Doksany) až 1 102 m n. m. (Modrava, Filipova Huť). Do detailního zpracování byly vybrány 2 stanice – Lednice (165 m n. m.) a Horní Rokytnice (743 m n. m.), geografické charakteristiky včetně nejbližší meteorologické stanice jsou uvedeny v tabulce 1. Klimatologické poměry fenologických lokalit vyjadřují klimagramy (2) na obrázku 1.

Tabulka 1: Geografické charakteristiky fenologických a meteorologických stanic.

Stanice	Zeměpisná délka	Zeměpisná šířka	Nadmořská výška (m n. m.)	Stanice	Zeměpisná délka	Zeměpisná šířka	Nadmořská výška (m n. m.)	Quittova klasifikace (3)
Lednice (F)	16°48'	48°48'	165	Lednice (K)	16°47'	48°47'	177	W4
Horní Rokytnice (F)	16°30'	50°11'	743	Deštné (K)	16°21'	50°18'	656	C7

Poznámka: W4 – teplá oblast; C7 – chladná oblast; F – fenologická stanice; K – klimatologická stanice



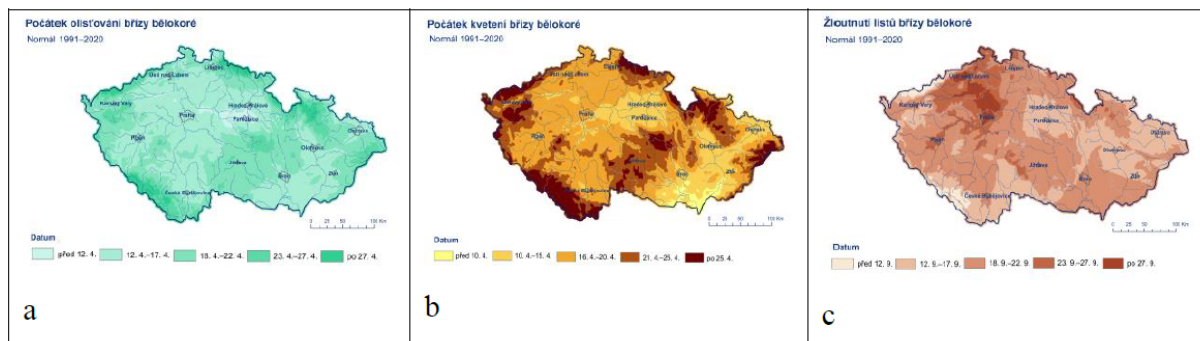
Obr. 1: Klimagramy.

Fenologická data byla exportována z fenologické databáze ČHMÚ FENODATA, podklady pro stanovení klimagramů byly exportovány z klimatologické databáze ČHMÚ CLIDATA. Fenologická pozorování se prováděla na 3-5 jedincích podle stanovené metodiky (4). Data byla vyhodnocena pomocí Man-Kendall testu za období 1991–2021. K plošnému vyjádření vypočtených fenologických normálů bylo využito prostředí Clidata-GIS (ArcGIS 10) a metoda ClidataDEM (za využití lokální lineární regrese) se závislostí na nadmořské výšce.

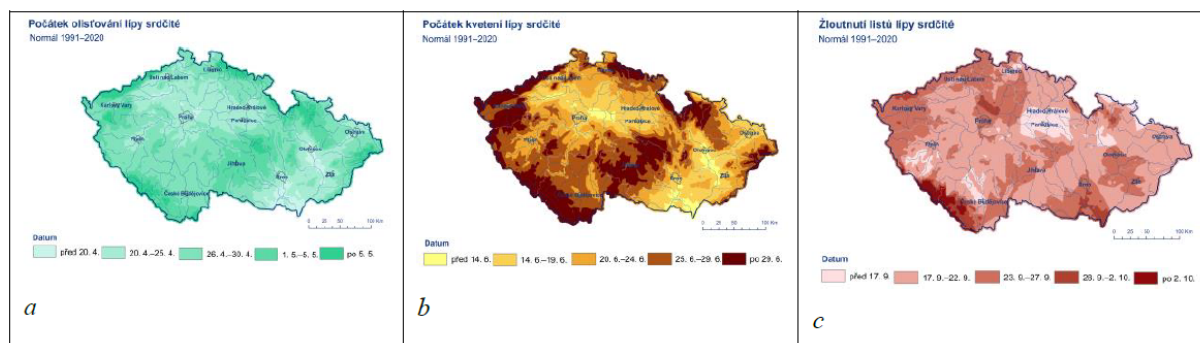
VÝSLEDKY A DISKUSE

Fenologické normály byly stanoveny za ucelené třicetileté období 1991–2020. Výsledky břízy bělokoré jsou uvedeny na obr. 2, na obrázku 3 jsou prezentovány výsledky lípy srdčité. Olisťování, počátek kvetení a žloutnutí listů nastává dříve u břízy bělokoré, a to v následujícím časovém rozmezí: 12. dubna až 27. dubna (počátek olisťování), 10. dubna až 25. dubna (počátek

kvetení – bříza kvete současně při olistování) a 12. září až 27. září u žloutnutí listů (z dřevin nacházejících se na území ČR bříza začíná žloutnou mezi prvními).

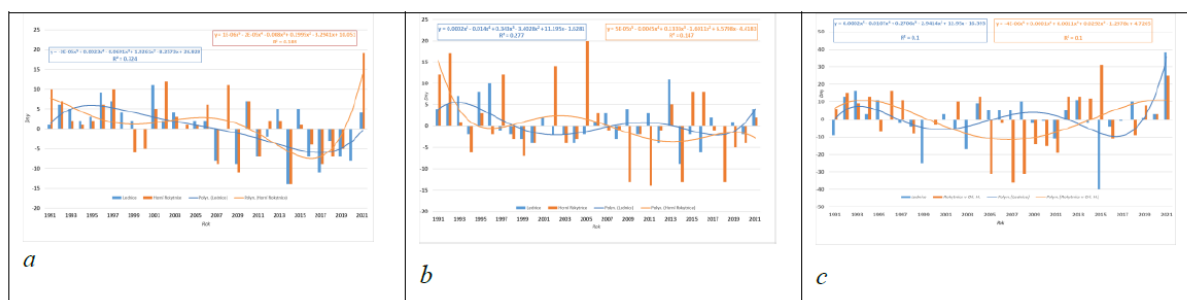


Obr. 2: Počátek olistování, počátek kvetení a žloutnutí listů břízy bělokore (normál 1991–2020).



Obr. 3: Počátek olistování, počátek kvetení a žloutnutí listů lípy srdčité (normál 1991–2020).

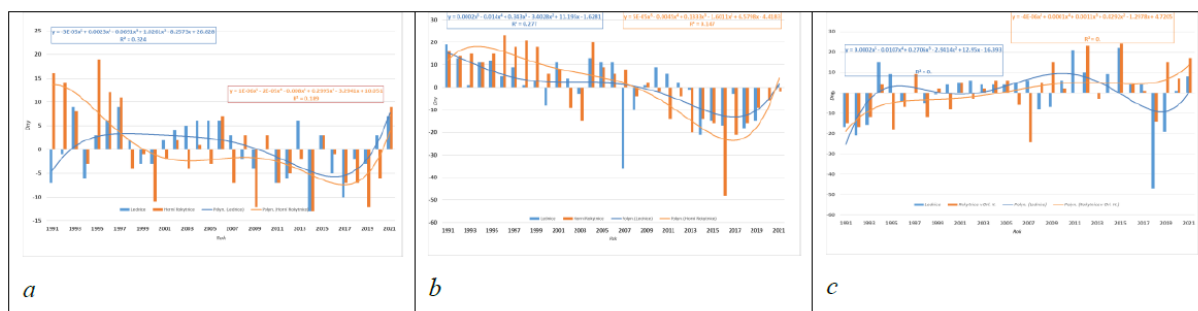
Lípa srdčitá se začíná olistovat mezi 20. dubnem až 5. květnem, kvete mezi 14. červnem a 29. červnem a začíná žloutnou mezi 17. září a 2. říjnem. Obrázky 4 a 5 představují odchylky vybraných fenofází od normálu (1991–2020) na stanicích Lednice a Horní Rokytnice. U jarních fází převládají záporné odchylky (tj. dřívější nástup fenofáze), zejména od roku 2000 dále. U žloutnutí listů naopak převládají kladné odchylky (tj. pozdější nástup fáze).



Obr. 4: Odchylky od normálu počátku olistování (a), počátku kvetení (b) a žloutnutí listů (c) břízy bělokore na stanici Lednice (165 m n. m.) a Horní Rokytnice (743 m n. m.) v období 1991–2021.

V tabulce 2 jsou uvedeny výsledky Man-Kendall testu za období 1991–2021 ze stanic Lednice a Horní Rokytnice. U břízy byl na stanici Lednice zjištěn výraznější posun v počátku olistování u břízy a u počátku kvetení lípy. Žloutnutí listů se posunulo u lípy. Na stanici Horní Rokytnice byly zjištěny statisticky významné posuny nástupů vybraných fází u lípy srdčité (kvetení bylo posunuto více než o měsíc). A žloutnutí listů nastává téměř o 3 týdny později.

Celkově byly změny v nástupech fází statisticky významnější na výše položené stanici Horní Rokytnice.



Obr. 5: Odchyly od normálu počátku olistování (a), počátku kvetení (b) a žloutnutí listů (c) lípy srdčité na stanici Lednice (165 m n. m.) a Horní Rokytnice (743 m n. m.) v období 1991–2021.

Tabulka 2: Výsledky Man-Kendall test (1991–2021).

	Posun za rok	Posun za celé období	p-hodnota	Posun za rok	Posun za celé období	p-hodnota
Fenofáze/stanice	Stanice Lednice, bříza bělokorá			Stanice Horní Rokytnice, bříza bělokorá		
PL10	-0,4**	-12,4	0,0035	-0,273*	-8,455	0,0479
PK10	-0,083	-2,583	0,2944	-0,211	-6,526	0,2071
ZL10	0	0	0,8915	-0,1	-3,1	0,6825
Fenofáze/stanice	Stanice Lednice, lípa srdčitá			Stanice Horní Rokytnice, lípa srdčitá		
PL10	-0,2	-6,2	0,1672	-0,625***	-19,375	0,0007
PK10	-0,8***	-24,8	0,0003	-1,381***	-42,810	0,0000
ZL10	0,25	7,75	0,3891	0,667*	20,667	0,0130

ZÁVĚR

V příspěvku byly zpracovány vybrané vegetativní fenologické fáze (počátek olistování a žloutnutí listů). A dále byla vyhodnocena generativní fenologická fáze počátek kvetení (oba druhy patří mezi významné pylové alergeny). Data byla zpracována za období 1991 až 2021 na území ČR (fenologické normály), a na dvou vybraných fenologických stanicích (Lednice a Horní Rokytnice), které se nacházejí v rozdílných klimatických oblastech a nadmořských výškách. U břízy byl na stanici Lednice zjištěn výraznější posun v počátku olistování u břízy a u počátku kvetení lípy. Žloutnutí listů se výrazněji posunulo u lípy. Na stanici Horní Rokytnice byly zjištěny statisticky významné posuny nástupů vybraných fází u lípy srdčité (kvetení bylo posunuto více než o měsíc). A žloutnutí listů nastává téměř o 3 týdny později. Celkově byly změny v nástupech fenologických fází statisticky významnější na výše položené stanici Horní Rokytnice (743 m n. m.).

LITERATURA

- /1/ Hájková et al. 2012: Atlas fenologických poměrů Česka. ČHMÚ Praha a UP Olomouc. 311 s.
- /2/ Kožnarová V, Klabzuba J 2010: Traditional and modern methods in weather and climate evaluation in biological disciplines. Crop Research Institute, Prague
- /3/ Tolasz et al. 2007. Climate Atlas of Czechia. Prague: CHMI, 1st edition. ISBN 978-80-86690-26-1, 255 s.
- /4/ Anonymus. 2009: Metodický předpis č. 10 „Návod pro činnost fenologických stanic – lesní rostliny“. ČHMÚ, Praha.

Poděkování

Príspevek vznikl za podpory Technologické Agentury ČR – projekt číslo SS02030018 a za podpory Národní agentury pro zemědělský výzkum MZe, projekt číslo QK1910338.

VLIV DIFERENCOVANÉ ZÁVLAHY NA RŮST KOŘENŮ JABLONÍ

EFFECT OF DIFFERTIATED IRRIGATION ON GROWTH OF ROOTS OF APPLES

Pavel Svoboda¹, Jan Haberle¹, Martin Mézsáros²

¹Výzkumný ústav rostlinné výroby, Odbor Systémů hospodaření na půdě, Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně, svoboda@vurv.cz

²Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy, s.r.o., Holovousy 129, 508 01 Holovousy

Summary

In a two-year experiment (2019-2020) the effect of differentiated irrigation on the density and distribution of apple roots (Red Jonaprince) was studied. Three variants were monitored - irrigation rate corresponding to the calculated water loss by evapotranspiration (ETC 100), half water dose (ETC 50) and control without irrigation (K). Soil with roots was taken in a defined orientation and distance from the trunk in spring, before watering, and in autumn, to a depth of at least 80 cm. The roots were washed out with water, their length and dry mass was determined and the density of the roots was calculated. A significant effect of irrigation was found in both years for the values of root density of the vital roots grown in the given year. The effect of irrigation on the overall length was manifested only in the drier year 2019.

Key words: root density, root depth, Malus domestica L., water supply, water demand

Souhrn

Ve dvouletém pokusu (2019-2020) byl studován vliv diferencované závlahy na hustotu a rozložení kořenů jabloní (Red Jonaprince). Byly sledovány tři varianty – dávka závlahové vody odpovídající vypočtené ztrátě vody evapotranspirací (ETC 100), poloviční dávka vody (ETC 50) a kontrola bez závlahy (K). Půda s kořeny byla odebírána v definované orientaci a vzdálenostech od kmene na jaře, před zahájením zavlažování, a na podzim, do hloubky nejméně 80 cm. Kořeny byly vyplaveny vodou na sítěch, stanovena jejich hmotnost, délka (RL) a vypočtena hustota kořenů. Výrazný vliv závlahy byl zjištěn v obou letech v případě hodnot hustoty vitálních čerstvých kořenů, vyrostlých v daném roce. Vliv závlahy na celkovou délku se projevil pouze v sušším roce 2019.

Klíčová slova: hustota kořenů, hloubka kořenů, Malus domestica L., bilance vody, potřeba vody

ÚVOD

Pozoruhodný pokrok v oblasti pěstování jabloní v posledních několika dekádách s sebou přinesl i větší závislost na vstupech, vodě a hnojivech /1/. V podmínkách přechodného klimatu střední Evropy představuje doplňková závlaha stabilizační prvek, a proto je u intenzivních sadů, s vysokou pravidelnou produkcí, nezbytná. V suchých letech jsou ale zdroje vody často omezené, a proto se hledají cesty, jak zvýšit efektivnost závlah, aplikací racionální dávky vody. Pro efektivní využití vody z půdy je jedním z hlavních faktorů dostatečně rozvinutý kořenový systém. Lokální kapková závlaha by mohla ovlivnit rozvoj kořenů a tím i využití zásoby vody z půdy /2/.

Výzkum kořenů, monitoring růstu v celém kořenovém profilu je metodicky pracný a časově náročný; při studiu ovocných dřevin se nejčastěji používá profilová metoda, která ale neposkytuje přímo údaje o hustotě kořenů. V prezentovaném pokusu jsme zvolili metodu půdních výkrojů, která umožňuje přímo stanovit délku a hustotu kořenů do potřebné hloubky, s relativně malým poškozením půdního profilu /5/.

Pracovní hypotézou bylo, že závlaha ovlivňuje růst kořenů. Cílem bylo zjistit, zda odlišné dávky závlahové vody modifikují hustotu a distribuci kořenů v určité vrstvě půdy.

MATERIÁL A METODA

Pokus probíhal v sadu Výzkumného a šlechtitelského ústavu v Holovousích, na jabloních Red Jonaprince, vysazených v roce 2013. Pěstitelský tvar je štíhlé větveno, spon $3,5 \times 1,2$ m; příkmený pás o šířce 0,5 m je udržován bez vegetace.

Růst kořenů byl sledován na třech variantách pokusu: bez závlahy (K), a doplnění 50 % (ETC 50) a 100 % (ETC 100) vypočtené spotřeby vody. Závlaha byla aplikována použitím kapkovacích hadic. Spotřeba vody byla vypočtena jako bilanční rozdíl vypočtené evapotranspirace a pozorovaného množství srážek. V sušším roce 2019 činila 298 mm, v roce 2020 činila 54 mm (pro variantu ETC 100, pro ETC 50 byla dávka poloviční).

Kořeny byly odebrány ve dvou termínech, na počátku jarní vegetace (BBCH 50-60) (2.4.2019, 28.4.2020) a na podzim (11.11.2019, 26. 10. 2020), po sklizni plodů (BBCH 90-92). Odběr půdy s kořeny byl prováděn půdním vrtákem o průměru 4 cm, ve vzdálenosti 10 cm, 30 cm a 60 cm od kmene, kolmo ke směru a vodorovně s řadou stromů, po vrstvách 20 cm, nejméně do hloubky 80 cm. Kořeny byly vyplaveny vodou na sadě síť, vzorky byly dočištěny, byla stanovena jejich délka /6/. Při měření byly rozlišovány kořeny o průměru pod 1 mm a kořeny silnější. Byla vypočtena hustota kořenů (v cm/cm^3) po vrstvách 0-20 cm, 20-40 cm, 40-60 cm a 60-80 cm. Dále byla samostatně měřena délka nových kořenů, vyrostlých v dané sezóně. Tyto vitální kořeny, s hladkým nenarušeným povrchem/kůrou, o průměru pod 1 mm se zřetelně odlišovaly zbarvením od starších kořenů. Byla vypočtena změna délky vitálních kořenů v průběhu vegetační sezóny, mezi jarním a podzimním termínem odběru.

VÝSLEDKY A DISKUSE

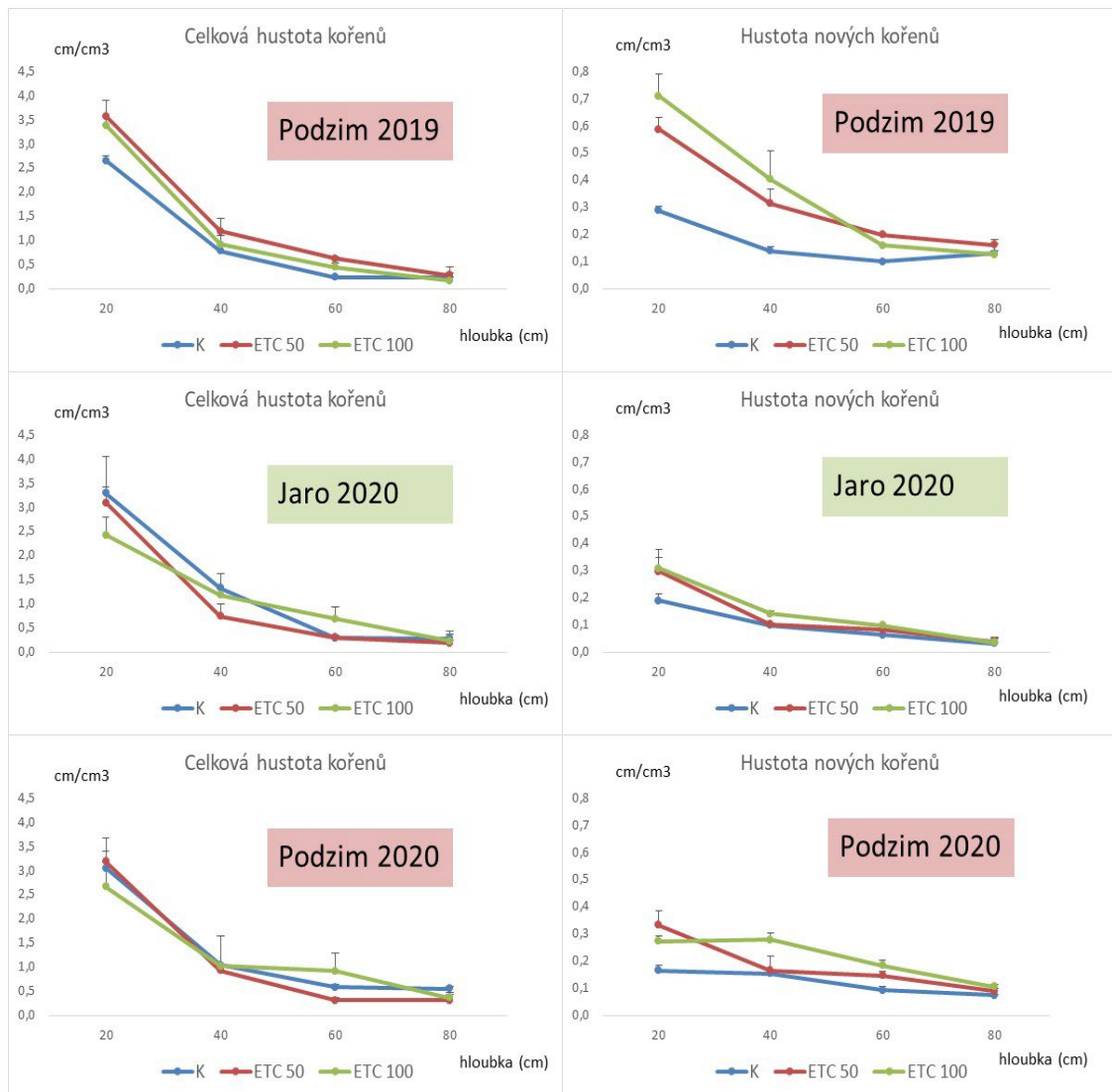
Rok 2019 byl výrazně suchý v červenci a srpnu, červen a srpen měl více srážek. V roce 2020 srážky kolísaly, vysoké byly v červnu a srpnu, nižší v dubnu a červenci.

Vliv diferencované závlahy na hustotu a celkovou délku kořenů

V roce 2019 na podzim (po závlaze) byla zjištěna u stromů na kontrolní variantě bez závlahy menší celková hustota kořenů ve svrchní vrstvě půdy, oproti ostatním zavlažovaným variantám. Nelze z toho vyvozovat, že to bylo bezezbytku způsobeno vlivem závlahy, neboť už výběr omezeného počtu sledovaných jedinců dává předpoklad větších rozdílů v hustotě kořenů (každý strom je v podstatě z tohoto hlediska solitér). Aby se snížila chyba při určování velikosti kořenového systému stromů, byly v daném ročníku sledovány na jaře a na podzim stejní jedinci. V dalším ročníku (i kvůli nežádoucí destrukci okolí stromku) jsou již vybírány jiné stromky na dané variantě. V roce 2020 byly rozdíly v distribuci celkové délky kořenů mezi variantami neprůkazné.

Nové, vitální kořeny

Výsledky prokázaly výrazný pozitivní vliv závlahy na změnu délky vitálních kořenů (graf 1). Celková délka vitálních kořenů se vlivem závlahy zvýšila u variant ETC 50 a ETC 100 v průměru o 92 % a 112 % ve srovnání s kontrolní nezavlažovanou variantou (K) v roce 2019 a o 45 % a 72 % v roce 2020.



Graf 1: Vliv diferencované závlahy na celkovou hustotu kořenů jabloní a hustotu nových, vitálních kořenů.

Literární údaje o vlivu závlahy na kořeny ovocných stromů jsou často nejednoznačné. Například Sokalska et al. /4/ uvádějí, že po 12 letech intenzivní kapkové závlahy stromky jabloní (Gloster) měly na zavlažované straně mělčí kořenový systém než na straně vzdálenější od emitorů vody (kapkovačů), zatímco při nižší dávce tato asymetrie nebyla pozorována. Naše výsledky tento efekt nepotvrdily, jde však o pouze dvouletou závlahu.

Údaje o hloubce a rozložení kořenů umožňují aplikovat takové dávky doplňkové závlahy, které zaručují její optimální využití. Paltineanu et al. /3/ na základě studie kořenů kultivaru Topaz (na M9) uvádějí, že závlaha do hloubky 0,8 m je dostatečná pro využití jabloněmi, pro deficitní zavlažení by hloubka zavlažení měla být 0,4–0,6 m. Autoři ale doporučují, aby voda a živiny byly aplikovány na celý povrch půdy, tak aby byly dostupné pro většinu kořenového systému.

Naše výsledky také ukazují, že rozložení kořenů ovlivňuje orientace v řadě. Menší hustota kořenů byla zjištěna u všech variant ve směru do mezíradí, kde byla hustota kořenů stromů redukována přítomností kořenů trav a plevelů v mezípasu. V průměru to představovalo o 25 % menší hustotu kořenů oproti směru mezi jednotlivými stromy v řadě, v obou ročnících.

ZÁVĚR

Sledování prokázala, že závlaha jabloní ovlivnila velikost kořenového systému, ale podstatně jen z hlediska růstu nových vitálních kořenů v daném roce. Zjištěný podíl nových kořenů na celkové délce kořenů je malý, takže v důsledku moc neovlivnil celkovou velikost kořenového systému. Výsledky naznačují, že při studiu vlivu závlahy na kořeny ovocných dřevin je nutné se zaměřit nejen na celkovou délku, ale i změny v dynamice růstu jednotlivých morfologických kategorií kořenů. Při sledování kořenů již dospělých ovocných stromů (délka sledování 2 ročníky) u diferencované závlahy se ukázalo, že vzhledem ke krátké době zálivky nelze očekávat větší změny ve velikosti kořenového systému (hloubce a hustotě kořenů v jednotlivých vrstvách půdního profilu). Redistribuci kořenů v půdním profilu vlivem intenzivnější závlahy lze očekávat až po delší době.

LITERATURA

- /1/ Lauri, P-É., Pitchers, B., Dufour, L., Simon, S.: Apple farming systems – current initiatives and some prospective views on how to improve sustainability. *Acta Horticulturae*, 1281, 2020: 307-322. [10.17660/ActaHortic.2020.1281.42](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2020.1281.42).
- /2/ Lecaros-Arellano, F., Holzapfel, E., Fereres, E., Rivera, D., Muñoz, N., Jara J.: Effects of the number of drip laterals on yield and quality of apples grown in two soil types. *Agricultural water management*, 248, 106781, 2021. doi: [10.1016/j.agwat.2021.106781](https://doi.org/10.1016/j.agwat.2021.106781).
- /3/ Paltineanu, C., Nicolae, S., Tanasescu, N., Chitu, E., Ancu, S.: Investigating root density of plum and apple trees grafted on low-vigor rootstock to improve orchard management. *Erwerbs-Obstbau*, 59, 2017: 29-37. [10.1007/s10341-016-0293-7](https://doi.org/10.1007/s10341-016-0293-7)
- /4/ Sokalska, D.I., Haman, D.Z., Szewczuk, A., Sobota, J., Dereń D.: Spatial root distribution of mature apple trees under drip irrigation system. *Agricultural Water Management*, 96, 2009: 917-924, <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2008.12.003>.
- /5/ Středa, T., Haberle, J., Klimešová, J., Svoboda, P., Středová, H., Khel, T.: Metodika odběru a hodnocení kořenového systému polních plodin. Certifikovaná metodika. Mendelova univerzita v Brně, VÚRV, v.v.i., VÚMOP, v.v.i., 2017. <https://docplayer.cz/108112700-Metodika-odberu-a-hodnoceni-korenoveho-systemu-polnich-plodin.html>
- /6/ Tennant, D.: A test of a modified line intersect method of estimating root length, *Journal of Ecology*, 63, 1975: 995–1001

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory projektu MZeČR QK1910165 a výzkumného záměru CRI RO0418.

VLYV TEPLOTNÉHO STRESU A SUCHA NA SADENICE SMREKA OBYČAJNÉHO S RÔZNYM PÔVODOM

IMPACT OF HEAT AND DROUGHT STRESS ON NORWAY SPRUCE SEEDLINGS WITH DIFFERENT ORIGINS

Hana Húdoková^{1,2}, Alena Konôpková³, Peter Fleischer jr.^{1,3}, Eva Pšidová¹, Marek Ježík¹, Gabriela Jammnická¹, Ľubica Ditmarová¹

¹Institute of Forest Ecology, Slovak Academy of Sciences, Ľ. Štúra 2, 960 01 Zvolen, Slovakia

²Faculty of Ecology and Environmental Sciences, Technical University in Zvolen, T. G. Masaryka 24, 960 01 Zvolen, Slovakia

³Faculty of Forestry, Technical University in Zvolen, T.G. Masaryka 24, 960 01 Zvolen, Slovakia

Summary

Young seedlings of trees are often more vulnerable to abiotic stress factors than mature forest stands. Therefore, we decided to use physiological approach to assess the impact of heat and drought stress on Norway spruce (*Picea abies* L. H.Karst) seedlings originated from different provenances. The half of them was exposed to drought conditions (D) for 3 weeks and their chlorophyll *a* fluorescence parameters were assessed using the method of RLC. At the end of the experiment, seedlings were exposed also to heat stress. Analyses showed that parameters of chlorophyll fluorescence the yield - ϕ PSII and NPQ are more sensitive to heat than to drought. The PSII of all tested provenances reflected the higher damage after heat stress. However, provenances originated from higher altitudes responded better to drought than provenances from lower stands.

Key words: climate change, Norway spruce, heat stress, drought, photosystem II

Súhrn

Mladé sadenice stromov sú často zraniteľnejšie voči abiotickým stresovým faktorom ako dospelé lesné porasty. Preto sme sa rozhodli použiť fyziologický prístup na posúdenie vplyvu teplotného stresu a sucha na sadenice smreka obyčajného (*Picea abies* L. H.Karst), ktorý pochádza z rôznych proveniencií. Polovica z nich bola vystavená suchu (D) na 3 týždne a ich parametre chlorofylu a fluorescencie boli hodnotené metódou RLC. Na konci experimentu boli sadenice vystavené aj tepelnému stresu. Analýzy ukázali, že parametre fluorescencie chlorofylu výťažok - ϕ PSII a NPQ sú citlivejšie na teplo ako na sucho. PSII všetkých testovaných proveniencií odrážalo vyššie poškodenie po tepelnej záťaži. Proveniencie pochádzajúce z vyšších nadmorských výšok však lepšie reagovali na sucho ako proveniencie z nižších porastov.

Kľúčové slová: klimatická zmena, smrk, teplotní stress, sucho, fotosystém II

INTRODUCTION

Climate-change scenarios predict decline of Norway spruce (*Picea abies* L. H. Karst) due to its environmental requirements and increasing frequency of weather extremes (wind storms, heat a drought periods) and other damaging agents such are bark beetles /1/. In the ecosystem level, drought and heat stress affect many processes which always lead also to change of functional plants responses based on their genetic variability and phenotypic plasticity. Especially, young trees are vulnerable to extreme heat and drought events which can cause also their damages, growth reduction or dieback mainly on sun-exposed forest stands. The

survivability and physiological responses to changing environment are genetically and individually conditioned by the adaptation and the acclimation. Some studies describe that population originated from humid and colder environment are able to cope with high temperatures and drought stress with adjusting their physiological processes, while populations originated from more arid and warmer environments have developed better protection mechanisms /2, 3, 4/. Obviously, the best understanding of photosynthesis modifications during drought and heat stress provides the study of assimilation apparatus of tree species. Reactions in photosystem II reflects changes and damages caused by high temperatures and drought in detail because its components are very sensitive to these abiotic stress factors /2, 5, 6/.

Chlorophyll fluorescence measurements represent the group of effective methods to assess the function of the photosystem II (PSII) under various types of and can also provide new insights into the fundamental process of photosynthesis for forestry purposes /7, 8/. Pulse-amplitude modulated fluorescence (PAM) is a reliable and rapid method which represents processes between stroma of chloroplasts and thylakoid membrane /9/. In our study, we focused on the assessment of drought period and heat stress impact on the PSII and its components among six provenances of Norway spruce seedlings.

MATERIAL AND METHODS

Sixty individuals (10 individuals per provenance) of Norway spruce seedlings (5-years old) originated from six different localities in Western Carpathians were used in the laboratory experiment. Five individuals per provenance were chosen to assess chlorophyll fluorescence parameters under simulated drought for 3 weeks (July-August) and five individuals were chosen for control (C) measurements without simulation of drought. The measurements of soil water potential (Ψ_w [MPa]) were carried out using gypsum blocks (*Delmhorst Inc.*, USA) in every pot under drought treatment (D) and a *MicroLog SP3* data logger (*EMS*, Brno, Czech Republic) in control pots at 1-hour intervals. At the end of the experiment also heat stress (46°C) was simulated using the waterbath (*Memmert WNE 22*, Germany) for 30 minutes.

Parameters of chlorophyll *a* fluorescence were recorded on five individuals per provenance in two replicates at the end of the experiment for both C and D seedlings, using a portable chlorophyll fluorometer MINI-PAM® (*Heinz Walz GmbH*, Germany). Rapid light curves (RLCs) were measured automatically under the control of an internal programme. The actinic illumination was applied in eight steps, with light intensities increasing from 38 to 616 $\mu\text{mol (photon) m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and duration of 10 s. The illumination periods were separated by a 0.8-s saturating flash from a white halogen lamp (2000-3000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). The following parameters were determined and/or calculated in RLCs measurements: (i) effective quantum yield of the PSII (ϕ_{PSII} , $\text{PSII}=\Delta F/F'm$) /10, 11/; (ii) non-photochemical quenching (NPQ). The RLCs were quantified using: (i) the initial point for RLCs of Φ_{PSII} ; and (ii) value of the end point–measured at 616 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR – for RLCs of NPQ.

STATISTICAL ANALYSES

Variability of the fluorescence data were tested by two-way analysis of variance (*ANOVA*) with the factors of the variants (Control (C), Drought (D), Heat and Drought+Heat) and all six provenances, as well as between-factors interaction. Subsequently, the differences were tested by the Tukey's HSD post hoc test. The statistical analyses were performed using the *Statistica 7* program (*StatSoft*, Tulsa, USA).

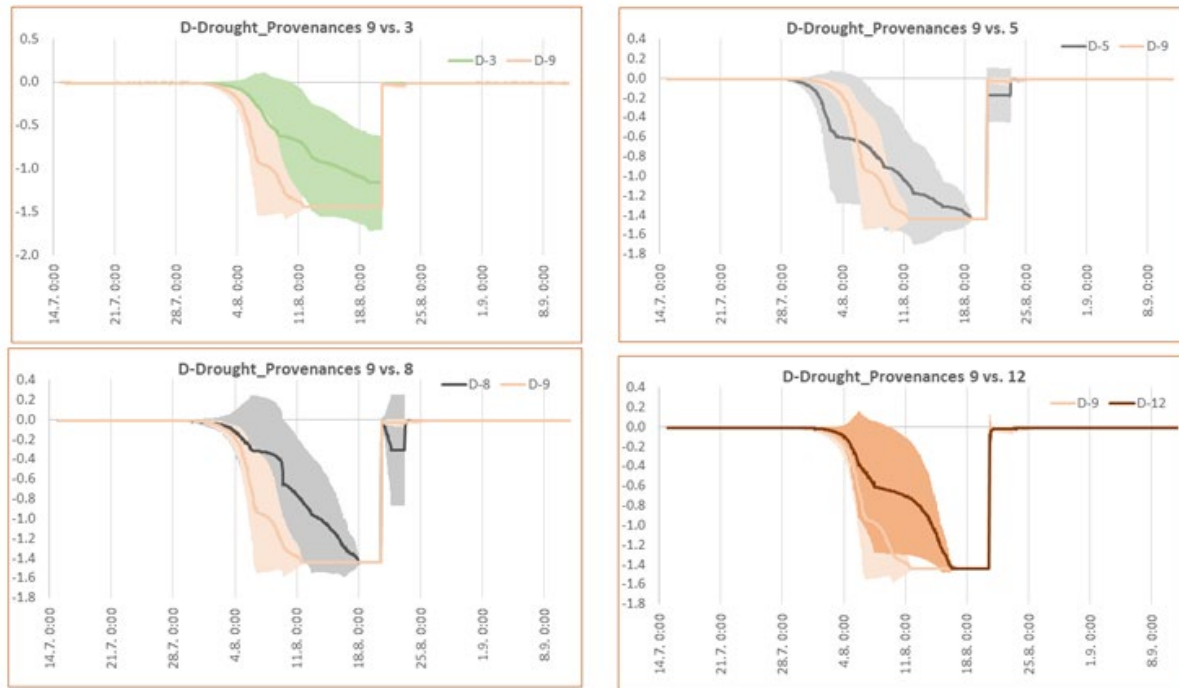


Fig 1: Soil water potential (SWP) values during the experiment among provenances under drought treatment (D).

RESULTS AND DISCUSSION

The physiological measurements were performed on 19th August at the end of the experiment when soil water potential (SWP) of seedlings in D variant decreased under -1.5 MPa (Fig 1).

The yield - ϕ PSII – the actual efficiency of PSII photochemistry decreased significantly in two (PV3 and PV8) from six tested provenances after drought stress. However, simulated heat stress caused the significant decrease of the yield - ϕ PSII in all tested provenances, what corresponds with the study of /11, 13/, because the parameter ϕ PSII of chlorophyll *a* fluorescence is more sensitive to high temperature than to drought. Synergistic effect of heat and drought cause significant changes of the yield - ϕ PSII also in all tested provenances than heat stress separately. The effect of heat and drought together can cause irreversible damages not only on PSII structures but also in synthesis of new proteins and components after their damage (Fig 2, Fig 3a,b). While PVs originated from lower altitudes responded to drought stress by significant decrease of the yield (especially PV3 and PV5), PVs originated from higher altitudes did not respond so sensitive to drought period (PV9, PV12, PV13).

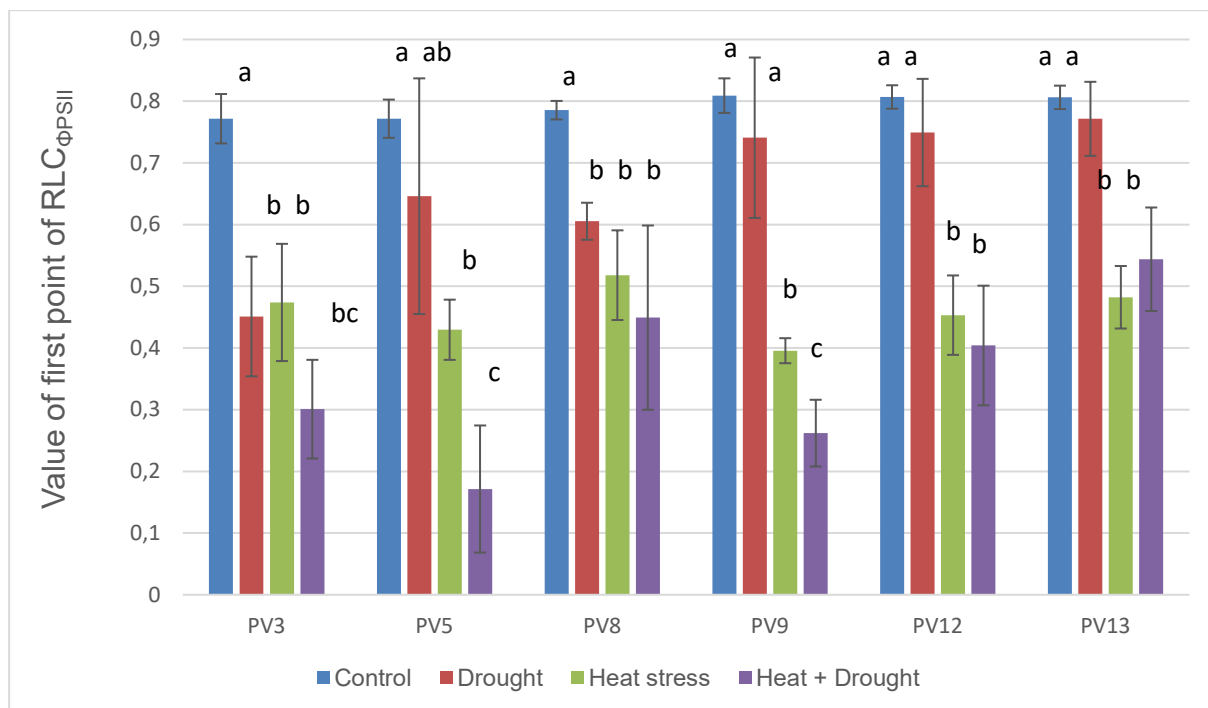


Fig 2: Differences of the value of first point of RLC_{φPSII} among provenances under control (C), drought treatment (D), heat stress and simultaneous effect of heat + drought tested by two-way ANOVA. Different letters represent statistically significant differences.

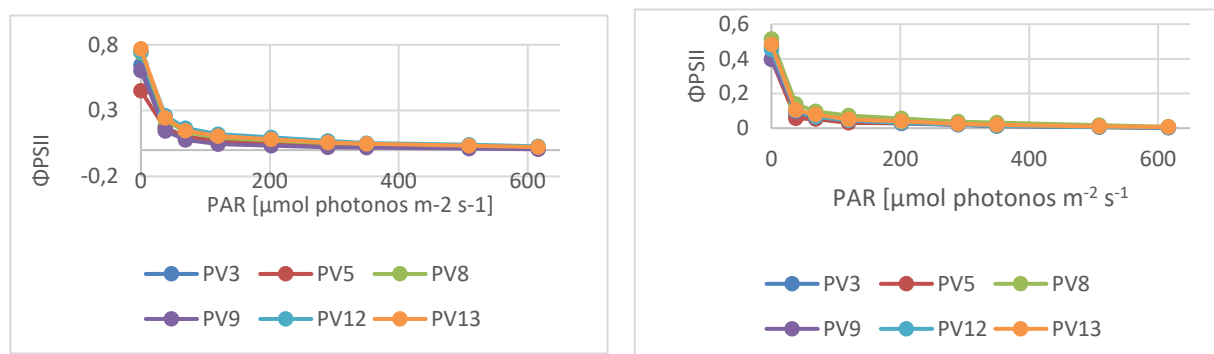


Fig 3: Changes of rapid light curves (RLC) of the yield – ϕ_{PSII} among tested provenances with increasing illumination of PAR [$\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$] after drought (a) and after heat stress (b).

The non-photochemical quenching (NPQ) parameter was assessed using the value of the end point of RLC_{NPQ}. The highest values are presented in control conditions in all tested provenances, however after drought treatment value of the NPQ decreased significantly only in one tested provenance (PV3). Heat stress and simultaneous effect of drought and heat treatment caused significant decrease of NPQ in all tested provenances, although in the provenances from wet and colder areas (PV8, PV12, PV13), a higher capacity to dissipate excess energy in the antenna system was also observed (Fig 4, 5a, b). The parameter of NPQ is more responsive to heat than to drought stress. When components of the PSII are injured by high temperatures, captured light energy can be emitted from the PSII in the form of the heat to the environment. Similarly, results were found in the study of /2/, /3/ and /5/ on spruce and fir provenances under water deficit conditions.

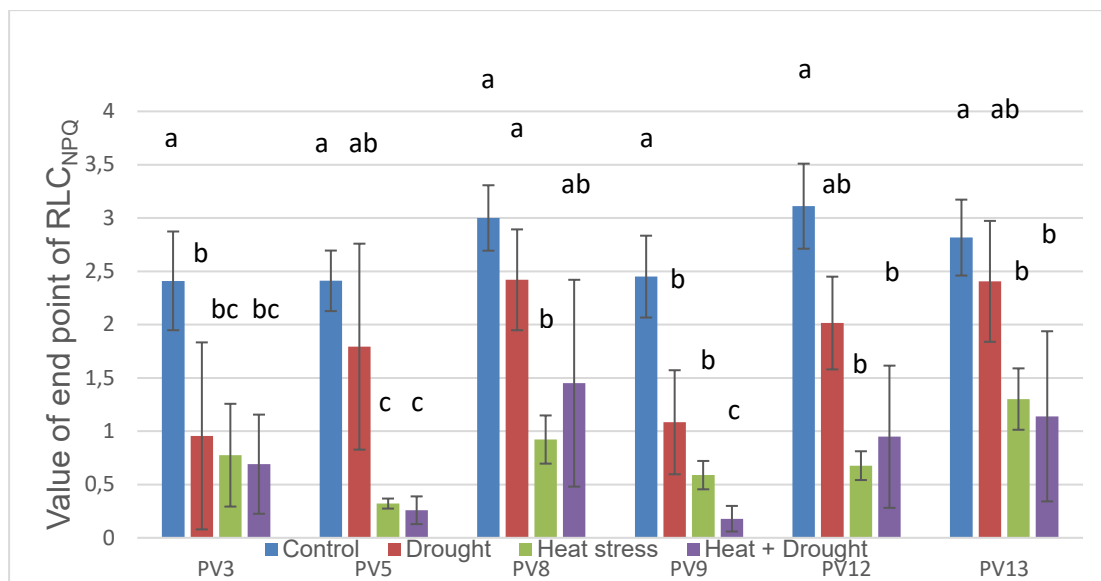


Fig 4: Differences of the value of end point of RLC_{NPQ} among provenances under control (C), drought treatment (D), heat stress and simultaneous effect of heat + drought tested by two-way ANOVA. Different letters represent statistically significant differences.

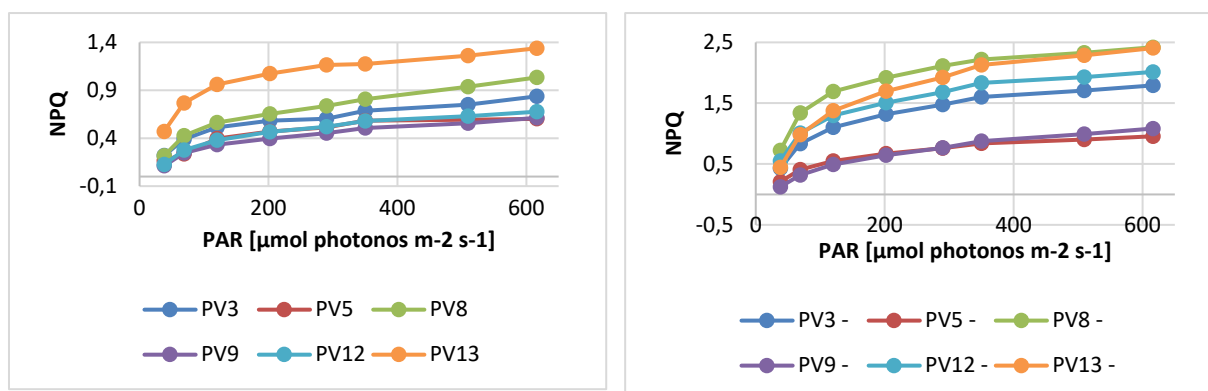


Fig 5: Changes of rapid light curves (RLC) of NPQ among tested provenances with increasing illumination of PAR [$\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$] after drought (a) and after heat stress (b).

The provenance originated from the highest altitude and cold environment showed higher values of RLC_{NPQ} in all of measured points and stayed stable after 3 weeks of drought treatment.

CONCLUSION

A significant negative effect of heat stress on the PSII thermostability was confirmed in all tested provenances. Drought stress had significant negative impact in all assessed chlorophyll *a* fluorescence parameter in provenances originated from lower altitudes and warmer environments (PV3 and PV8), while provenances from higher altitudes responded insensitive to 3 weeks of drought treatment. Simultaneous heat and drought stress treatment caused the biggest changes on PSII and its components due to the synergy effect.

REFERENCES

- /1/ Čermák, P., Kolář, T., Žid, T., Trnka, M., Rybníček, M. 2019. Norway spruce responses to drought forcing in areas affected by forest decline. *Forest Systems*, Volume 28, Issue 3, e016. <https://doi.org/10.5424/fs/2019283-14868>
- /2/ Jammická, G., Fleischer, P. Jr., Konôpková, A., Pšidová E., Kučerová, J., Kurjak, D., Ťivčák, M., Ditmarová, L. 2019. Norway Spruce (*Picea abies* L.) Provenances Use Different Physiological Strategies to Cope with Water Deficit. *Forests*. 10(8): 651. <https://doi.org/10.3390/f10080651>
- /3/ Konôpková, A., Húdoková, H., Ježík, M., Kurjak, D., Jammická, G., Ditmarová, L., Gömöry, D., Longauer, R., Tognetti, R., Pšidová, E. 2020. Special issue in honour of Prof. Reto J. Strasser – Origin rather than mild drought stress influenced chlorophyll a fluorescence in contrasting silver fir (*Abies alba* Mill.) provenances. *Photosynthetica*, 58:549-59.
- /4/ Niinemets, Ü. 2010. Responses of forest trees to single and multiple environmental stresses from seedlings to mature plants: Past stress history, stress interactions, tolerance and acclimation. *Forest Ecol. Manag.* 260:1623–1639
- /5/ Konôpková, A., Kurjak, D., Kmeť, J., Klump, R., Lonauer, R., Ditmarová, L., Gömöry, D. 2017. Differences in photochemistry and response to heat stress between silver fir (*Abies alba* Mill.) provenances. *Trees*. 32: 73–86. <https://doi.org/10.1007/s00468-017-1612-9>
- /6/ Kurjak, D., Konôpková, A., Kmeť, J., Macková, R., Frýdl, J., Živčák, M. 2019. Variation in the performance and thermostability of photosystem II in European beech (*Fagus sylvatica*) provenances is influenced more by acclimation than by adaptation. *J. For. Res.* 138: 79–92
- /7/ Kalaji, H. M., Schansker, G., Ladle, R. J., Goltsev, V., Bosa, K., Allakhverdiev, S. I. et al., 2014: Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence: practical issues. *Photosynthetic Research*, 122:121–158.
- /8/ Bussotti, F., Gerosa, G., Digrado, A., Pollastrini, M., 2020: Selection of chlorophyll fluorescence parameters as indicators of photosynthetic efficiency in large scale plant ecological studies. – *Ecological Indicators*. 108:105686.
- /9/ Baker, N.R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annu Rev Plant Biol.* 2008;.59:89-113. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759.
- /10/ Genty B., Briantais J.M., Baker N.R. (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim et Biophysic. Acta – General Subjects*, 990: 87-92. – doi: 10.1016/S0304-4165(89)80016-9
- /11/ Zivcak M, Brestic M, Balatova Z, Drevenkova P, Olsovska K, Kalaji HM, Yang X, Allakhverdiev SI (2013). Photosynthetic electron transport and specific photoprotective responses in wheat leaves under drought stress. *Photosynthesis Research* 117: 529-546. - doi: 10.1007/s11120-013-9885-3
- /12/ Genty, B., Goulas, Y., Dimon, B., Peltier, J.M., Moya, I. 1992. Modulation efficiency of primary conversion in leaves, mechanisms involved at PSII. In Murata N. (ed.) *Research in Photosynthesis*, Vol. 4, pp. 603-610. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.
- /13/ Brestic, M., Zivcak, M. 2013. PSII Fluorescence Techniques for Measurements of Drought and High Temperature Stress Signal in Crop Plants: Protocols and Applications., *Mol. Stres. Physiol. Plants*. 87-131

Funding

The experiment was supported by grants from the Slovak Agency for Research and Development, No. APVV 18/0390, VEGA 1/0535/20 and Doktograd APP 0306.

OXIDAČNÁ STABILITA BOROVICE HORSKEJ (*Pinus mugo* Turra) A BOROVICE LIMBY (*Pinus cembra* L.) VO VYSOKOHORSKOM PROSTREDÍ

OXIDATIVE STABILITY OF DWARF MOUNTAIN PINE (*Pinus mugo* Turra) AND SWISS PINE (*Pinus cembra* L.) IN THE HIGH-MOUNTAIN ENVIRONMENT

Svetlana Bičárová^{1*}, Veronika Lukasová¹, Katarína Adamčíková², Anna Buchholcerová¹,
Milan Onderka¹, Dušan Bilčík¹

¹Ústav vied o Zemi SAV, Dúbravská cesta 9, Bratislava SK-840 05
svetlana.bicarova@savba.sk

²Ústav ekológie lesa SAV, Oddelenie fytopatológie a mykológie, Akademická 2, Nitra
SK-949 01

Summary

The combined action of stress factors including the effect of air pollution due ground-level ozone (O₃) affects mountain vegetation in the High Tatra Mts. In this paper, we present the results of an experiment aimed at testing the sensitivity of mountain pine species (*Pinus mugo* Turra and *Pinus cembra* L.) to ozone-induced oxidative stress. We determined the Oxidation Stability Index (OxS) which indicates a relatively good tolerance of the observed *Pinus* species to oxidative effect due to ozone. We also examined the signs of visible damage (VIN) on needles caused by biotic, abiotic factors, and specific O₃ injury. Biotic pests predominated among these factors. In addition, we modeled ozone doses (MO₃D) potentially absorbed by trees during the growing season. The phytotoxic effect of MO₃D on considered *Pinus* species seems to be mild with respect to the OxS and VIN results.

Key words: ozone-induced oxidative stress, electrolyte leakage method, harmful agents

Súhrn

Vegetácia vo Vysokých Tatrách je vystavená synergickému účinku viacerých stresových činiteľov, ku ktorým zaraďujeme aj znečistenie ovzdušia prízemným ozónom (O₃). V tejto práci uvádzame výsledky testovania citlivosti horských druhov borovíc (*Pinus mugo* Turra a *Pinus cembra* L.) na oxidačný stres vyvolaný ozónom. Určili sme index oxidačnej stability (OxS), ktorý naznačuje pomerne dobrú toleranciu sledovaných druhov na oxidačné účinky O₃. Na vzorkách ihlíc sme skúmali tiež znaky viditeľného poškodenia (VIN) spôsobené biotickými, abiotickými činiteľmi a ozónom. Z uvedených činiteľov prevládali biotickí škodcovia. Okrem toho sme modelovali ozónové dávky (MO₃D), ktoré potenciálne v danom prostredí prijme drevina počas vegetačného obdobia. Na základe OxS a VIN môžeme považovať zistené MO₃D za dávky s miernym fyto toxickým účinkom na sledované druhy borovíc.

Kľúčové slová: oxidačný stres vyvolaný ozónom, metóda úniku elektrolytu, škodlivé činitele

ÚVOD

Vitalitu horskej vegetácie ovplyvňujú rôzne biotické a abiotické stresové faktory /6, 8, 9/. Relatívne vysoká koncentrácia ozónu (O₃) vo vysokohorskom prostredí prispieva k prekročeniu indexov pre hodnotenie vplyvu O₃ na lesnú vegetáciu /10/ a zvyšuje riziko poškodenia bunkových štruktúr v dôsledku oxidačného stresu /4/. Reakcie rastlinného tkaniva na stresové činitele je možné otestovať pomocou metódy úniku elektrolytu (z angl. electrolyte leakage –

EL) /5, 7/. Okrem toho, špecifické symptómy ozónového poškodenia boli zistené aj pri vizuálnom skúmaní povrchu listovej plochy /3/.

Cieľom tejto štúdie bolo zistiť oxidačnú stabilitu (OxS) s využitím modifikovanej EL metódy, ďalej vyhodnotiť mieru viditeľného poškodenia (VIN) a modelovať ozónové dávky (MO_3D) pre vybrané druhy horských borovíc v oblasti Vysokých Tatier.

MATERIÁL A METÓDY

Na testovanie odolnosti horských drevín voči oxidačnému stresu sme použili vzorky ihličia z dospelých jedincov borovice horskej (*Pinus mugo*) a borovice limbovej (*Pinus cembra*) rastúcich vo výškovom pásme od 1 500 do 2 100 m n. m. v oblasti Skalnatej doliny vo Vysokých Tatrách. Odber vzoriek sme uskutočnili začiatkom júna po roztopení snehu a začiatkom októbra na konci hlavnej vegetačnej sezóny 2021. Na vzorkách ihličí boli vizuálne hodnotené znaky viditeľného poškodenia zatriedené do troch základných skupín škodlivých činiteľov: i) VINbio – biotickí škodcovia (huby, hmyz, pavúky), ii) VINabio – abiotické poškodenie predovšetkým mechanické, iii) $VINO_3$ – poškodenie spôsobené ozónom (svetložlté škvrny s nevýrazným ohraničením). Pre každú vzorku a každý stresový činiteľ bolo určené VIN skóre podľa plochy poškodenej oblasti (%): 0 – bez poškodenia; 1 – slabé poškodenie (1-5%); 2 – stredné poškodenie (6-50%); 3 – rozsiahle poškodenie (51-100%).

Modifikovaná metóda kontroly úniku elektrolytu (EL) a oxidačná stabilita (OxS)

V tejto štúdii predpokladáme, že meranie vodivosti vodného výluhu vzoriek ihličia je úmerné poškodeniu bunkových membrán EL (%) = $[(C_f - C_i/C_t - C_i)] \times 100$, pričom C_i je vodivosť ultračistej vody, C_f je finálna vodivosť a C_t je totálna vodivosť vodného roztoku vylúhovaného rastlinného materiálu: C_f pred a C_t po totálnej 100% deštrukcii buniek v autokláve. Vodivosť vodného výluhu bola meraná kalibrovaným konduktometrom TDS Testr 11. Každá vzorka bola rozdelená na dve časti, jedna časť bola spracovaná podľa štandardného EL postupu, druhá časť bola pred vylúhovaním ozonizovaná v laboratórnej prietokovej komore pri regulovanom prietoku O_3 . Počas ozonizácie boli vzorky vystavené extrémne vysokej koncentrácii O_3 cca 150 ppm po dobu 60-80 min, čo približne zodpovedá kumulatívnej O_3 dávke, ktorú borovice prijmu počas vegetačného obdobia. Umelý ozón bol vyrobený v zariadení Koizon 300, Gemke Technik GmbH a koncentrácia O_3 bola kontrolovaná O_3 analyzátorom typu Thermo Electron Environmental 49C. Na základe nameraných hodnôt vodivosti ($\mu S\ cm^{-1}$) vodného roztoku po vylúhovaní boli odvodené indexy poškodenia: INX pre vzorky exponované O_3 v prirodzenom prostredí, t. j. vzorky bez dodatočnej ozonizácie a $INXO_3$ pre vzorky vystavené dodatočnej ozonizácii v laboratórnej komore. Index oxidačnej stability (OxS) sme definovali ako medián rozdielov medzi indexmi poškodenia pred a po dodatočnej umelej ozonizácii ($OxS = INX - INXO_3$) a to pre vzorky odobraté na začiatku a konci vegetačného obdobia.

Modelovaná ozónová dávka (MO_3D)

Ozónové dávky sme modelovali pomocou DO_3SE modelu /11/ s parametrizáciou pre kosodrevinu /1/ a limbu /2/ pre vegetačné obdobie od 01. 06. do 30. 09. 2021. Model využíva multiplikatívny algoritmus, ktorý zohľadňuje vplyv environmentálnych faktorov na stomatálnu vodivosť. Vstupné údaje do modelu sme získali z meraní koncentrácie O_3 pomocou analyzátoru Thermo Electron Environmental 49C a automatickej meteorologickej stanice Physicus na observatóriu Skalnaté Pleso.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Analýza viditeľného poškodenia VIN (Tab. 1) ukazuje, že najvýraznejšie stopy na povrchu ihličí zanechali biotickí škodcovia. Zaznamenané skóre VINbio v rozsahu 1 – 2 predstavuje slabé až stredné poškodenie, pričom skóre 2 sa v októbrom odbere vyskytovalo vo väčšom počte vzoriek ako v prípade júnového odberu. K zhoršeniu skóre z 0 (bez

poškodenia) na 1– 2 (slabé až stredné poškodenie) došlo v priebehu letnej sezóny aj v prípade VINabio. Nárast poškodenia počas vegetačného obdobia súvisí s vhodnými podmienkami pre existenciu a rozmnožovanie biotických škodcov a zároveň potvrdzuje citlivosť študovaných druhov borovíc na hubové choroby ako aj mechanické poškodenia. Výskyt O₃ symptómov bol menej výrazný, medián VINO₃ s hodnotou 1 znamená, že škodlivý vplyv O₃ sa na povrchu ihlič obidvoch druhov borovíc prejavil v minimálnej miere (slabé poškodenie) a to ako na začiatku tak aj na konci vegetačného obdobia. Vplyv miesta odberu ako aj nadmorskej výšky na VIN sme nezistili.

Indexy poškodenia INX (Tab. 1), ktoré reflektujú koncentrácie O₃ a oxidačný stres v prirodzenom prostredí, sa pohybovali v rozsahu 9% – 17% . Hodnoty mediánov INX naznačujú mierne zhoršenie stavu v prípade borovice horskej (nárast z 12% na 14%) a naopak mierne zlepšenie stavu v prípade borovice limbovej (pokles z 13% na 11%) v období od júna do októbra. Účinok extrémne vysokých koncentrácií O₃ pri umelo vyvolanom oxidačnom strese sa prejavil na zvýšených hodnotách INXO₃ (12% – 28%) v porovnaní s INX. Ak uvažujeme indexy INX a INXO₃ v desatinnom formáte, odvodená hodnota OxS by mala byť v rozmedzí od -1 do 1, pričom OxS = 0 znamená, že skúmané rastlinné tkanivo je oxidačne stabilné, OxS < 0 označuje mieru nestability alebo citlivosti rastlinného tkaniva na oxidačný stres indukovaný ozonizáciou. Záporné hodnoty OxS v blízkosti hraničnej hodnoty 0 (Tab. 1) poukazujú na miernu citlivosť horských borovíc na ozónom indukovaný oxidačný stres. Napriek silnej oxidácii umelo generovaným ozónom, v súbore júnových vzoriek došlo k malej zmene OxS (-0,05), v súbore vzoriek z októbra boli zmeny OxS síce väčšie (-0,06 pre kosodrevinu a -0,08 pre limbu), ale nie výrazne. Relatívne dobrá tolerancia na oxidačný stres môže súvisieť s aktiváciou antioxidantného mechanizmu, ktorý je schopný ochrániť vnútorné štruktúry buniek pred ich rozsiahlejšou deštrukciou.

Výsledky modelového výpočtu MO₃D (Tab. 1) pre vegetačné obdobie ukazujú, že limba prijala o niečo vyššiu ozónovú dávku (12,8 mmol m⁻²) ako borovica horská (11,0 mmol m⁻²). Rozdiel môže súvisieť s určitými odlišnosťami v parametrizácii modelu (výška koruny, hĺbka koreňového systému, maximálna stomatálna vodivosť). Na základe výsledkov OxS a VINO₃ možno uvedeným ozónovým dávkam pripísať mierny fyto toxický účinok.

Tab. 1: Skóre viditeľného poškodenia (VIN), indexy poškodenia (INX, INXO₃), oxidačná stabilita (OxS) a modelovaná ozónová dávka (MO₃D) za obdobie 01/06/-30/09/2021 pre horské druhy borovíc *P. mugo* a *P. cembra* vo Vysokých Tatrách .

Pinus sp.	č.	Začiatok vegetačného obdobia - Jún 2021						Koniec vegetačného obdobia - Október 2021						MO ₃ D (mmol m ⁻²)
		VINbio	VINabio	VINO ₃	INX %	INXO ₃ %	OxS	VINbio	VINabio	VINO ₃	INX %	INXO ₃ %	OxS	
<i>P. mugo</i>	1	2	0	1	12%	12%	0	2	2	0	14%	17%	-0.03	:
	2	2	1	1	16%	28%	-0.12	2	1	2	17%	19%	-0.03	:
	3	1	0	0	14%	16%	-0.02	1	2	0	15%	26%	-0.11	:
	4	2	0	1	13%	18%	-0.05	2	1	1	13%	21%	-0.07	:
	5	2	1	1	10%	16%	-0.06	2	1	1	13%	21%	-0.08	:
	6	1	1	1	9%	17%	-0.07	2	1	1	14%	21%	-0.06	:
	7	1	0	0	12%	15%	-0.02	2	1	1	12%	16%	-0.04	:
<i>P. cembra</i>	1	2	1	1	13%	20%	-0.08	2	1	1	11%	19%	-0.08	:
	2	2	0	1	12%	17%	-0.05	2	1	1	11%	18%	-0.07	:
	3	2	1	1	13%	16%	-0.03	2	1	1	11%	21%	-0.09	:
Súhm	:	medián						medián						
<i>P. mugo</i>	1_7	2	0	1	12%	16%	-0.05	2	1	1	14%	21%	-0.06	11.0
<i>P. cembra</i>	1_3	2	1	1	13%	17%	-0.05	2	1	1	11%	19%	-0.08	12.8

ZÁVER

Výsledky OxS naznačujú, že horské druhy borovic vo Vysokých Tatrách relatívne dobre odolávajú oxidačnému účinku ozónu. Potvrďuje to aj sporadický výskyt O₃ symptómov zistený pri hodnotení viditeľného poškodenia na vzorkách ihlíc, pričom z uvažovaných škodlivých činiteľov prevládali biotickí škodcovia. S ohľadom na hodnoty indexov INX, OxS a VINO₃ usudzujeme mierny fyto toxický účinok prijatých ozónových dávok MO₃D pre skúmané druhy horských borovic *Pinus mugo* a *Pinus cembra*. Predpokladáme, že nepriaznivý vplyv ozónu tieto dreviny eliminujú aktiváciou antioxidačného mechanizmu.

LITERATÚRA

- /1/ Bičárová, S., Sitková, Z., Pavlendová, H., Fleischer, P.-j., Fleischer, P.-s., and Bytnerowicz, A.: The role of environmental factors in ozone uptake of *Pinus mugo* Turra. *Atmospheric Pollution Research*(10), 2019: 283-293. <https://doi.org/10.1016/j.apr.2018.08.003>
- /2/ Buchholcerová, A., Fleischer, P.jr., Štefánik, D., Bičárová, S., Lukasová, V.: Specification of modified jarvis model parameterization for *Pinus cembra*. In *Atmosphere*, 2021, vol. 12, 2021: 1388. <https://doi.org/10.3390/atmos12111388>
- /3/ Dalstein, L., and Ciriani, M. L.: Ozone foliar damage and defoliation monitoring of *P.cembra* between 2000 and 2016 in the southeast of France. *Environmental Pollution* (244), 2019: 451-461. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.081>
- /4/ Demidchik, V., Straltsova, D., Medvedev, S., Pozhvanov, G.-A., Sokolik, A., and Yurin, V.: Stress-induced electrolyte leakage: the role of K⁺-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. *Journal of Experimental Botany*(65), 2014: 1259-1270. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru004>
- /5/ Escandón, M., Cañal, M. J., Pascual, J., Pinto, G., Correia, B., Amaral, J., and Meijón, M.: Integrated physiological and hormonal profile of heat-induced thermotolerance in *Pinus radiata*. *Tree Physiology*, 2016: 63-77. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpv127>
- /6/ Fleischer, P., Pichler, V., Fleischer Jr, P., Holko, L., Máliš, F. G., Holeksa, J., . . . Hlaváč, P.: Forest ecosystem services affected by natural disturbances, climate and land-use changes in the Tatra Mountains. *Climate Research*, 73(1), 2017: 1–15. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3354/cr01461>
- /7/ Flint, H. L., Boyce, B. R., and Beattie, D. J.: Index of injury—a useful expression of freezing injury to plant tissues as determined by the electrolytic method. *Can. J. Plant Sci.*(47), 1967: 229-230. <https://doi.org/10.4141/cjps67-043>
- /8/ Lukasová, V., Bucha, T., Mareková, E., Buchholcerová, A., Bičárová, S.: Changes in the Greenness of Mountain Pine (*Pinus mugo*Turra) in the Subalpine Zone Related to the Winter Climate. In *Remote Sensing : Open Access Journal*, 2021: 1788. <https://doi.org/10.3390/rs13091788>
- /9/ Mezei, P., Jakuš, R., Pennerstorfer, J., Havašová, M., Škvarenina, J., Ferenčík, J., . . . Netherer, S.: Storms, temperature maxima and the Eurasian spruce bark beetle *Ips typographus*—An infernal trio in Norway spruce forests of the Central European High Tatra Mountains. *Agricultural and Forest Meteorology*(242), 2017: 85-95. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2017.04.004>.
- /10/ Pavlendová, H., Bičárová, S., Sitková, Z.: Prekračovanie kritických úrovní ozónu na výškovom tranzekte vo Vysokých Tatrách. In *Meteorologické zprávy*, 2019, roč. 72, č. 1, 2019: 19-25.
- /11/ SEI (2014). DO3SE (Deposition of ozone for stomatal exchange). <https://www.sei-international.org/do3se>

Pod'akovanie

Táto práca vznikla s podporou Vedeckej grantovej agentúry Ministerstva školstva SR a SAV: VEGA projekt 2/0093/21.

OBSAH ESENCIÁLNEHO OLEJA V PLODOCH A IHLIČÍ BORIEVKY OBYČAJNEJ V RÔZNYCH LOKALITÁCH

THE CONTENT OF ESSENTIAL OIL IN JUNIPER BERRIES AND NEEDLES IN DIFFERENT LOCALITIES

Vargová Vladimíra¹, Kováčiková Zuzana¹, Panghyová Elena², Baxa Stanislav², Dimitrov Filip³

¹Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva, Mládežnícka 36, 974 21 Banská Bystrica, vladimira.vargova@nppc.sk

²Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav potravinársky, Odbor technologických inovácií a spolupráce s praxou;

³Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav potravinársky, Odbor chémie a analýzy potravín

Summary

The aim of the research was to review essential oil content in the Juniper berries and needles (*Juniperus communis* L.) in different localities in Slovakia. The following research sites with different altitude were monitored: Kišovce (667 m), Ostrá hora (568 m), Priečhod (576 m) and Iliáš (440 m). In locations, 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). The content of essential oils ranged from 1.1 % in the locality of Iliáš to 2.2 % in the locality Ostrá hora. Higher content of essential oil was in the young needles in the localities of Ostrá hora, Iliáš and Kišovce with significant confirmation ($P < 0.05$). The essential oil in berries content had a negative low correlation containing with the content of essential oil in the young and old needles ($r = -0,4082$, $r = -0,3698$).

Key words: Juniperus communis L., soil reaction, essential oil, needles, berries

Souhrn

Cieľom výskumu bolo preskúmať obsah esenciálneho oleja v plodoch a ihličí borievky obyčajnej (*Juniperus communis* L.) v rôznych lokalitách na Slovensku. Sledované boli lokality s rôznou nadmorskou výškou: Kišovce (667 m), Ostrá hora (568 m), Priečhod (576 m) a Iliáš (440 m). Na lokalitách sa pôda vyznačovala 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 vysoký obsah horčíka (Mg). Obsah esenciálneho oleja sa pohyboval od 1,1 % na lokalite Iliáš do 2,2 % na lokalite Ostrá hora. Vyšší obsah esenciálneho oleja bol v mladom ihličí na lokalitách Ostrá hora, Iliáš a Kišovce so signifikantným potvrdením ($P < 0,05$). Obsah esenciálneho oleja v plodoch mal negatívnu nízku koreláciu s obsahom esenciálneho oleja v mladom a starom ihličí ($r = -0,4082$, $r = -0,3698$).

Kľúčové slová: Juniperus communis L., pôdna reakcia, esenciálny olej, ihličie, plody

ÚVOD

Juniperus má asi 60 druhov vždyzelených stromov alebo kríkov, široko rozšírených na severnej pologuli, v Európe vrátane ostrovov Stredomoria, Severnej Ameriky a východnej Afriky /1/. Borievky rastú v širokej ekologickej amplitúde, čiže v rôznych nadmorských výškach s rôznymi pôdnymi typmi /2/. V našich podmienkach sa najčastejšie nachádza na ťažko

prístupných lokalitách. Plody borievky obyčajnej sa používajú v kozmetickom, potravinárskom a farmaceutickom priemysle na získavanie éterických olejov. Pri výrobe alkoholických nápojov vzniká ako druhý komerčný produkt borievkový olej, ktorý sa využíva najmä vo farmaceutickom priemysle. Zloženie éterického oleja z plodov borievok je veľmi variabilné, je závislé od zemepisného pôvodu rastlín, od pôdnoklimatických podmienok, štádia zrelosti, veku rastliny, spôsobu ošetrovania. Rovnako je rôznorodá aj výťažnosť oleja získaného z plodov borievok. Množstvo oleja získaného destiláciou vodnou parou sa pohybuje od 0,5 % až do 3,8 % /4,10/. Podmienky biotopov a vývojové štádiá rastlín majú vplyv na kvalitatívne zloženie a množstvo éterických olejov /7/. Éterický olej nesie zodpovednosť za typickú arómu a chuť borievok. Cieľom príspevku bolo preskúmať obsah esenciálneho oleja v plodoch a ihličí borievky obyčajnej na rôznych miestach.

MATERIÁL A METÓDY

Monitoring lokalít sme vykonali na miestach s rozdielnou nadmorskou výškou v období rokov 2020 – 2021. Monitorovali sme lokality - Kišovce (667 m, 49,0294444 N, 20,3827778 E), Ostrá hora (568 m, 48,9944444 N, 20,7722222 E), Iliáš (440 m, 48,700161 N, 19,162821 E) a Priechod (576 m, 48,786645 N, 19,214618 E). Lokality patria do mierne teplej (Ostrá hora, Priechod, Iliáš) a chladnej (Kišovce) agroklimatickej oblasti. 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 (podľa Vyhlášky MPRV SR Zz. č. 151/2016), z ktorých sme určili štatistickú významnosť rozdielu jednotlivých lokalít metódou analýzy rozptylu ANOVA pomocou Tukeyovho testu na hladine významnosti 0,05 a na určenie vzájomných vzťahov bol použitý Pearsonov korelačný koeficient. Zber ihličia sme realizovali na jar a plody na jeseň. Obsah esenciálneho oleja bol stanovený hydrodestiláciou vodnou parou na zariadení na stanovenie silíc. K 25 g plodov bolo pridané 150 cm³ destilovanej vody. Hydrodestilácia sa vykonala v priebehu 1 hodiny.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Lokalita Kišovce mala neutrálnu pôdnu reakciu (pH 6,94) so stredným obsahom humusu (21,60 g.kg⁻¹ C_{ox}) a dusíka (Tab. 1). Zásoba prijateľného fosforu v pôde bola nízka, s vyhovujúcim obsahom prijateľného draslíka (252,82 mg.kg⁻¹) a horčíka. Neutrálnu pôdnu reakciu (pH 6,63 – 6,77) sme zaznamenali na lokalite Ostrá hora. Obsah humusu v pôde bol stredný až vysoký (22,50 – 57,60 g.kg⁻¹ C_{ox}) a rovnako aj zásoba dusíka bola vysoká. Nízky obsah sme zaznamenali pri zásobe fosforu. Obsah prijateľného draslíka bol vyhovujúci až dobrý. Zásoba horčíka sa pohybovala od vyhovujúceho obsahu až po veľmi vysoký. Iliáš je lokalita s neutrálnou pôdnu reakciou (pH 6,87), s vysokým obsahom humusu a dusíka (3,07 g.kg⁻¹). Zásoba fosforu v pôde bola nízka. Obsah K bol vysoký s veľmi vysokým obsahom prijateľného horčíka (1167,86 mg.kg⁻¹). Naše pôdy sú dobre zásobené horčíkom čo potvrdzujú aj naše zistenia /5/. Vysoký obsah humusu, prijateľného dusíka, draslíka a horčíka v pôde súvisí s pasením zvierat, čím sa zvyšujú zásoby živín v pôde.

Na stanovišti Priechod sa zistila neutrálna pôdna reakcia. Obsah humusu bol veľmi vysoký s vysokou až veľmi vysokou zásobou dusíka (3,31 – 4,75 g.kg⁻¹). V pôde bola nízka koncentrácia prijateľného P, s dobrým obsahom K a veľmi vysokým obsahom Mg. Dostupnosť živín v pôde sa môže meniť aj vplyvom zrážok, teploty, pôdneho typu a pôdnej reakcie /6/.

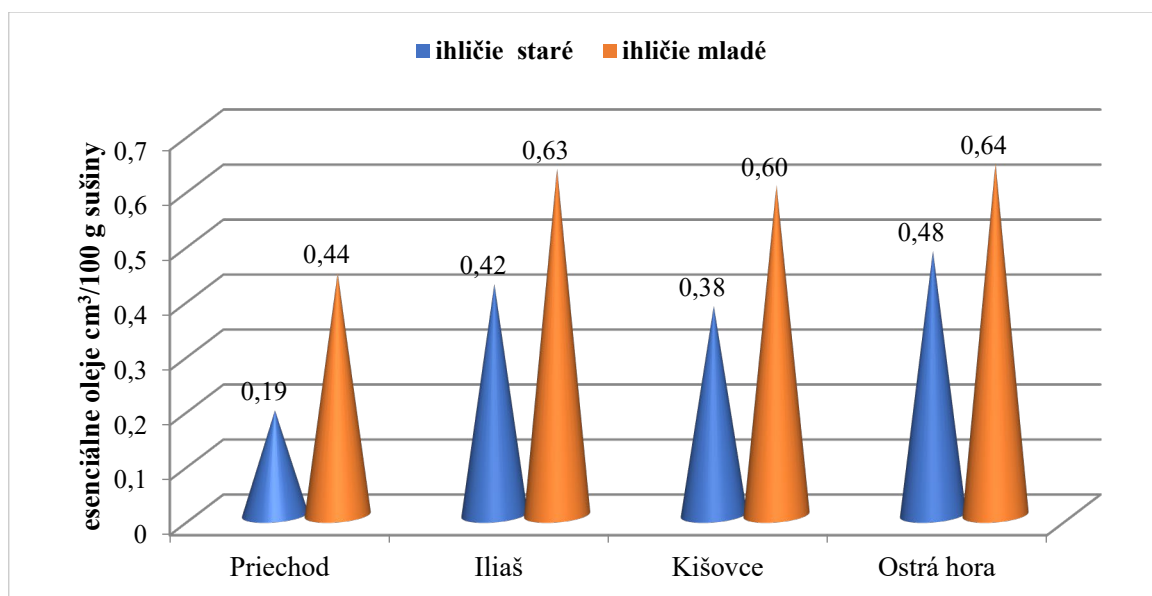
Obsahy esenciálnych olejov (EO) v sušine v mladom ihličí (0,44 – 0,64 %) boli vyššie ako v starom ihličí (0,19 – 0,48 %). Najnižší obsah EO v mladom (0,19 %) aj starom (0,44%) ihličí sme stanovili na lokalite Priechod (graf 1). Na lokalite Ostrá hora sme zaznamenali maximálny obsah EO v mladom (0,64 %) aj v starom ihličí (0,48 %). Rozdiel medzi nimi bol najnižší, len 0,16 %. Na ostatných lokalitách tento rozdiel osciloval od 0,21 – 0,25 %. Maximálny rozdiel bol evidovaný na lokalite Priechod, s 1,3-násobne vyšším obsahom EO

v mladom ihličí oproti starému. Na lokalite Iliáš mladé ihličie obsahovalo o polovicu viac esenciálneho oleja ako staré ihličie. Pri hodnotení obsahu EO v mladom a starom ihličí borievky sme zistili rozdiely. Ich obsah je závislý na sušine, preto mladé ihličie obsahuje viac vody ako staré. V mladom ihličí obsah vody osciloval od 61 - do 66g/100 g, zatiaľ čo staré ihličie obsahovalo o 21 % menej vody ako mladé.

Tab. 1: Agrochemické vlastnosti pôdy na jeseň 2021.

Lokalita	pH/KCl	Cox g.kg ⁻¹	N g.kg ⁻¹	P mg.kg ⁻¹	K mg.kg ⁻¹	Mg mg.kg ⁻¹
Kišovce	6,81 ^a	28,18 ^a	2,55 ^a	1,46 ^a	240,61 ^a	324,02 ^a
Ostrá hora	6,70 ^a	48,17 ^a	5,03 ^a	2,03 ^a	244,36 ^a	270,33 ^a
Iliáš	6,87 ^a	49,11 ^a	3,44 ^a	2,70 ^a	261,80 ^a	1168,18 ^b
Priečhod	6,67 ^a	58,19 ^a	7,07 ^a	0,98 ^a	225,14 ^a	1413,37 ^b

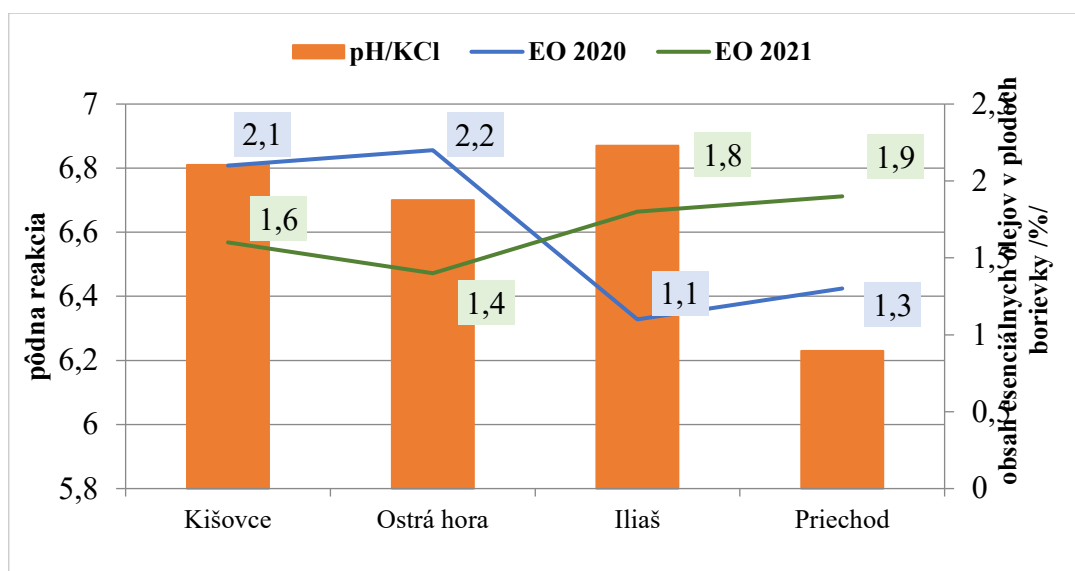
Rozdielne indexy znamenajú štatisticky preukazné rozdiely medzi úrovňami faktorov (Tukey t-test, P = 0,05).



Graf 1: Obsah esenciálneho oleja (EO) v mladom a starom ihličí *J. communis* L. v roku 2021.

V plodoch borievok nazbieraných v roku 2020 bol obsah esenciálneho oleja vyšší ako v roku 2021, okrem lokalít - Iliáš a Priečhod (graf 2). Najvýraznejší nárast obsahu esenciálneho oleja, o 63,60 %, bol stanovený v borievkach z lokality Iliáš. Na lokalite Ostrá hora sme zistili pokles EO o 0,8 %, čo predstavuje takmer 36 %-né zníženie obsahu EO v roku 2021. Nameraný obsah esenciálneho oleja 2,1 – 1,6 % bol na lokalite Kišovce. Obdobné výsledky uvádzajú aj autori /7/, ktorí zistili v roku 2016 na lokalite Chrámeč obsah esenciálneho oleja 0,9 – 1,6 %. Esenciálny olej z plodov borievky je väčšinou tvorený monoterpénmi (asi 58%), hlavne α -pinénom, β -myrcénom a sabinénom /3/. Získané esenciálne oleje mali svetlú farbu s výraznou borievkovou arómou.

Pôdna reakcia vykazovala negatívny stredný stupeň závislosti k obsahu esenciálneho oleja v plodoch a EO v starom ihličí ($r = -0,4082$, $r = -0,3698$) bez štatistickej preukaznosti (Tab. 2).



Graf 2: Pôdna reakcia a obsah esenciálneho oleja (EO) v plodoch *J. communis* L. v období 2020 a 2021.

Tab. 2: Pearsnov korelačný koeficient medzi obsahom esenciálneho oleja v plodoch, ihličí *J. communis* L a pôdnej reakcie.

	EO v plodoch	EO v ml. ihličí	EO v st. ihličí	pH
EO v plodoch				
EO v ml. ihličí	-0.2647			
EO v st. ihličí	-0.4193	0,9586*		
pH	-0.4082	0.0766	-0.3698	

Pearsnov korelačný koeficient ukázal vysokú pozitívnu koreláciu medzi obsahom EO v mladom a EO v starom ihličí ($r = 0,9586$) a slabú negatívnu koreláciu medzi obsahom EO v plodoch a EO v mladom a starom ihličí ($r = -0,4193$, $r = -0,2647$). Lokality Ostrá hora, Iliáš a Kišovce mali vyšší obsah esenciálneho oleja v mladom ihličí (Tab. 3) so signifikantným potvrdením ($P < 0,05$). Nesignifikantne vyšší obsah esenciálneho oleja v plodoch sme zistili na lokalite Kišovce.

ZÁVER

Borievka obyčajná (*J. communis* L.) sa vyskytovala na lokalitách s rozdielnou nadmorskou výškou (440 – 667 m) s neutrálnou pôdnou reakciou. Pôdy boli charakteristické vysokým obsahom humusu, dusíka, nízkym až veľmi nízkym obsahom prijateľného fosforu, s dobrým až vysokým obsahom draslíka a veľmi vysokým obsahom horčíka. Pôdna reakcia vykazovala strednú negatívnu koreláciu s obsahom esenciálneho oleja v plodoch a starom ihličí. Vyšší obsah esenciálneho oleja bol zistený v roku 2020, osciloval od 1,1 % na lokalite Iliáš do 2,2 % na lokalite Ostrá hora. Na lokalitách Ostrá hora, Iliáš a Kišovce so signifikantným potvrdením ($P < 0,05$) bol vyšší obsah esenciálneho oleja v mladom ihličí. V mladom ihličí bol stanovený vyšší obsah esenciálneho oleja ako v starom ihličí. Pozitívne s vysokým stupňom závislosti koreloval obsah esenciálneho oleja v mladom a starom ihličí. Obsah esenciálneho oleja v plodoch vykazoval zápornú nízku koreláciu s obsahom EO v mladom a starom ihličí.

LITERATÚRA

- /1/ Adams, R. P.: Junipers of the World: The Genus *Juniperus*. Bloomington, Vancouver, BC, Canada: Trafford Publishing, 2011, pp, 436.
- /2/ Cooper, F., Stone, RE., McEvoy, P., Wilkins, T., Reid, N.: The conservation status of juniper formations in Ireland. 1st Edition, Irish Wildlife Manuals, 2012, 63, p. 1-224.
- /3/ Duke, J. A., Bogenschultz-Godwin M. J., DuCellier, J., Duke, P. A., Handbo: Book of Medicinal Herbs. 2nd ed. Boca Raton, London, New York, Washington D.C.: CRC Press, 2002.
- /4/ Falasca, A., Caprari, C., Felice, V., Fortini, P., Saviano, G., Zollo, F., Iorizzi, M.: GC-MS analysis of the essential oils of *Juniperus communis* L. berries growing wild in the Molise region: Seasonal variability and in vitro antifungal activity. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2016, 69, p.166-175. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2016.07.026>
- /5/ Kobza, J. *et al.*: Aktuálny stav a vývoj obsahu fosforu, draslíka a horčíka v poľnohospodárskych pôdach Slovenska. In *Agrochémia*, 50 (1), 2010, p. 3-8.
- /6/ Maathuis, F.: Physiological function of mineral macronutrients. In *Current Opinion in Plant Biology*, 2009, 12 (3), p. 250-258.
- /7/ Šalamon I., Petruška P.: Quality of juniper essential oil (*Oleum Juniperi*) in the South slovakia and its curative and industrial utilization. *Indian J. Pharmaceut. Edu. and Res.*, 2017, 51, vol. 3, p 136-140.
- /8/ Zheljzskova, Valtcho D., Kacaniova, M., Dinchevad, I., Radoukova, T., Semerdjievaf, I. B., Astatkieg, T., Sclegelh, V.: Essential oil composition, antioxidant and antimicrobial activity of the galbuli of six juniper species. *Industrial Crops & Products*, 2018, 124, p. 449–458.

Pod'akovanie

Tento príspevok bol spracovaný vďaka podpore projektu APVV-19-0471 „Využitie potenciálu borievky (*Juniperus communis* L.) v potravinárskom priemysle“.

MONITORING ÚZEMÍ S VÝSKYTEM BORIEVKY OBYČAJNEJ**MONITORING OF TERRITORIES WITH OCCURRENCE OF JUNIPER**

Zuzana Kováčiková¹, Vladimíra Vargová¹

¹Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva, Mládežnícka 36, 974 21 Banská Bystrica, zuzana.kovacikova@nppc.sk

Summary

The aim of the research was to evaluate the floristic composition and quality of phytomass of localities with mass occurrence of juniper at various altitudes: Ostrá hora (568 m a.s.l.), Kišovce (667 m a.s.l.), Priechod (576 m a.s.l.) and Iliáš (440 m a.s.l.). Grasslands with juniper were specific for a higher percentage of grass species. Species from the floristic group of other meadow herbs and legumes had a minimum percentage in the grass. In terms of assessing the quality of grass phytomass, the concentration of nitrogenous substances was low. As well as the production of dry matter.

Keywords: grassland, botanical composition, quality, altitude, Juniperus communis L.

Souhrn

Cieľom výskumu bol monitoring území s hromadným výskytom borievky obyčajnej v rôznych nadmorských výškach, zhodnotenie botanického zloženia a kvality trávnych porastov. Sledovanými lokalitami boli Ostrá hora (568 m n. m.), Kišovce (667 m n. m.), Priechod (576 m n. m.) a Iliáš (440 m n. m.). Trávne porasty s výskytom borievky boli špecifické vyšším percentuálnym zastúpením trávnych druhov. Druhy z floristickej skupiny ostatných lúčnych bylín a leguminóz mali v porastoch minimálne percentuálne zastúpenie. Z hľadiska hodnotenia kvality trávnej fytomasy bola koncentrácia dusíkatých látok na nízkej úrovni. Rovnako aj produkcia sušiny nadzemnej fytomasy.

Kľúčové slová: trávny porast, floristické zloženie, kvalita fytomasy, nadmorská výška, borievka obyčajná

ÚVOD

V našich podmienkach sa borievka najčastejšie nachádza na ťažko prístupných lokalitách, tam kde je predovšetkým dostatok svetla, je extrémne nenáročná na pôdu a vlahu /2/. Uprednostňuje suché pôdy, kamenisté podložie a vlhké podmienky obýva zriedkavo. Z hľadiska areálu jej rozšírenia možno povedať, že je najrozšírenejším ihličnanom na svete, a to aj napriek tomu, že je z domácich drevín najmenej konkurencieschopná. Pôvodne borievka rástla iba tam, kde extrémne podmienky prostredia (sucho a veľký nedostatok živín) nedovolili rásť iným drevinám. Väčšie rozšírenie dosiahla hlavne vďaka odlesňovaniu človekom /2/. Na Slovensku sa borievka rozšírila spontánne na pastvinách a lúkach odlesnených počas valašskej kolonizácie. Odborníci uvádzajú, že ešte v polovici minulého storočia bola borievka obyčajná u nás hojne rozšírená ako neoddeliteľná súčasť našich trvalých trávnych porastov. Po ústupe pastvy však mnohé pasienky začali zarastať ďalšími drevinami a priestor pre svetlomilnú borievku sa začal výrazne znižovať. K jej úbytku významne prispelo aj tzv. čistenie pasienkov a lúk od náletových drevín. Veľmi podobná situácia bola aj vo viacerých ďalších európskych krajinách a aj preto boli porasty borievky obyčajnej zaradené medzi biotopy európskeho významu. Doterajšie zistenia z mapovania lokalít hromadného výskytu borievok

potvrďujú predpoklad, že vitálne porasty borievok vhodné pre produkciu plodov je možné najefektívnejšie obhospodarovať ako agrolesnícke systémy v kombinácii s pasením hospodárskych zvierat. Bez zámerného manažmentu hrozí v blízkej budúcnosti väčšine produkčných borievkových porastov zánik prostredníctvom prirodzenej sukcesie týchto plôch ďalšími drevinami. Výnimkou sú porasty borievok na extrémnych stanovištiach, ktoré neumožňujú sukcesiu ostatných drevín. Cieľom príspevku bol monitoring územia s výskytom borievky obyčajnej nachádzajúcej sa v rôznych nadmorských výškach, zhodnotenie floristického zloženia a kvality fytomasy z trávnych porastov.

MATERIÁL A METÓDY

Monitoring trávnych porastov s výskytom borievky obyčajnej sme realizovali na lokalitách Ostrá hora, Kišovce, Priechod a Iliáš nachádzajúcich sa v rôznej nadmorskej výške. Pomocou redukovanej projektívnej dominancie podľa Malocha (1953) /4/ sme analyzovali floristické zloženie hlavných floristických skupín tráv, leguminóz, ostatných lúčnych bylín a prázdnych miest. Odobrali sme priemerné vzorky zelenej fytomasy (cca 500 g) na stanovenie produkcie sušiny podľa STN 47 7007.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

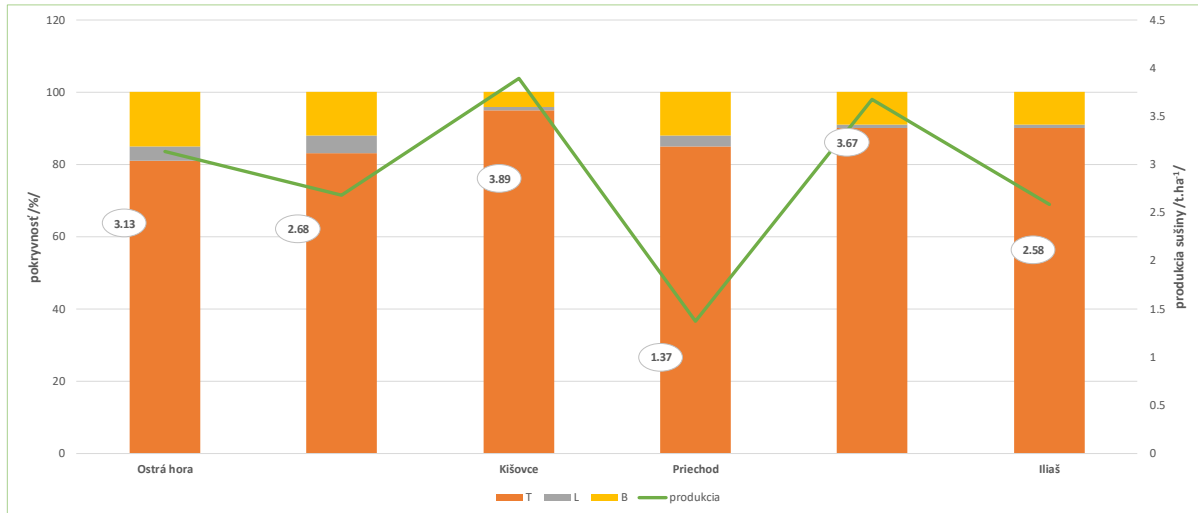
Monitorované lokality Kišovce, Ostrá hora, Priechod a Iliáš sa nachádzajú v nadmorskej výške, od 440 m do 667 m (Tab. 1). Do agroklimatického okrsku M2 (mierne teplej a mierne vlhkej oblasti, so studenou zimou, typ kotlinovej klímy) zaraďujeme Ostrú Horu (568 m n. m.). Chladnú agroklimatickú oblasť, okrsk C1 (mierne chladného, veľmi vlhkého) s teplotou v júli ≥ 12 °C až < 16 °C a dlhodobým ročným úhrnom zrážok 955 mm predstavuje lokalita Kišovce (667 m n. m.). Lokalitu Priechod (576 m n. m.) a lokalita Iliáš (440 m n. m.) patrí do mierne teplej agroklimatickej oblasti, agroklimatického okrsku M7 (mierne teplého silne vlhkého vrchovinového) s dlhodobým ročným úhrnom zrážok 795 mm a priemernou ročnou teplotou vzduchu 8,1 °C.

Tab. 1: Lokality s výskytom borievky obyčajnej.

Lokalita	Nadmorská výška (m)	Zem. šírka	Zem. dĺžka
Kišovce	667	49.029444	20.382777
Priechod	576	48.786645	19.214618
Ostrá hora	568	48.994444	20.772222
Iliáš	440	48.700161	19.162821

Monitorovaná lokalita Kišovce, sa nachádza za obcou, v katastrálnom území obce Hôrka pri Poprade. Z fytoecologického hľadiska bol porast tvorený najmä trávnymi druhmi (98 %). Z nich dominovali *Arrhenatherum elatius* L., *Bromus ramosus* L. a *Festuca rubra* L. V poraste sme evidovali aj výskyt leguminóz (*Vicia tenuifolia* L.). V prvom odbere sme zaznamenali produkciu sušiny 3,89 t.ha⁻¹ (graf 1), v druhom odbere nastalo zníženie, o 1,01 t.ha⁻¹. Dusíkaté látky sú jedným z rozhodujúcich ukazovateľov výživnej hodnoty vyprodukovanej fytomasy /1/. Koncentrácia dusíkatých látok bola nízka, 97,70 g.kg⁻¹ sušiny a v druhom odbere ešte poklesla, na hodnotu 80,63 g.kg⁻¹ sušiny. Na lokalite Priechod mal trávny porast 85 až 90 %-nú pokrývnosť trávnych druhov. Percentuálne zastúpenie bolo 12 % a leguminózy mali opäť minimálne zastúpenie (3 %). Ku koncu vegetačného obdobia mierne stúpol podiel trávnych druhov (87 %), bylinné druhy a leguminózy naopak poklesli. Z tráv na jar dominovali *Festuca rubra* L., *Bromus ramosus* L., *Arrhenatherum elatius* L. a *Bothriochloa ischaemum* (L.) Keng. Floristickú skupinu leguminóz tvorili *Anthyllis vulneraria* L. a *Medicago falcata* L.

Dominantnými bylinnými druhmi boli *Agrimonia eupatoria* L., *Salvia pratensis* L., *Leontodon hispidus* L. Na jeseň *Bromus ramosus* L., *Bothriochloa ischaemum* (L.) Keng. a *Briza media* L. zvýšili svoju pokryvnosť v poraste. V prvom odbere bola produkcia sušiny na úrovni 1,37 t.ha⁻¹ až 3,69 t.ha⁻¹ s obsahom dusíkatých látok od 97,71 do 103,42 g.kg⁻¹. Na jeseň produkcia sušiny poklesla (o 0,6 t.ha⁻¹), rovnako nastal aj pokles v koncentrácii dusíkatých látok v sušine fytomasy, na 96,44 g.kg⁻¹.



Graf 1: Pokryvnosť floristických skupín a produkcia sušiny.

Trávny porast na monitorovanej lokalite Ostrá hora bol zložený predovšetkým z trávnych druhov, ktoré mali 81 až 83 %-né zastúpenie. Podiel druhov z floristickej skupiny bylín bol od 12 do 15 % a leguminózy mali opäť len minimálny výskyt (1–4 %). Z tráv v poraste v prvom odbere dominovali *Festuca pratensis* L., *Festuca rubra* L., *Nardus stricta* L., *Deschampsia caespitosa* (L.) P. Beauv., *Arrhenatherum elatius* L. a *Briza media* L. Z leguminóz prevládali predovšetkým *Trifolium repens* L., *Trifolium pratense* L. a *Vicia tenuifolia* L. Z ostatných lúčnych bylín mali dominantné postavenie v poraste *Cirsium pratense* L., *Agrimonia eupatoria* L., *Salvia pratensis* L., *Tragopogon orientalis* L., *Daucus carota* L., *Leontodon autumnalis* L. V druhom odbere sa mierne znížila pokryvnosť trávnych druhov, s dominanciou *Arrhenatherum elatius* L., *Deschampsia caespitosa* (L.) P. Beauv. Produkcia sušiny bola na úrovni 3,13 t.ha⁻¹ (prvý odber) a 1,46 - 4,10 t.ha⁻¹ (druhý odber). Kvalita fytomasy bola ale nepostačujúca, s hodnotou dusíkatých látok 95,48 g.kg⁻¹ sušiny. Aj na lokalite Iľiaš v poraste prevládali trávne druhy (90 %), s minimálnym zastúpením leguminóz. Podiel bylín bol 10 %. Z trávnych druhov v poraste dominovali *Bromus ramosus* L., *Festuca rubra* L., *Arrhenatherum elatius* L. Z dominantných bylinných druhov prevládali najmä *Cirsium pratense* L., *Jacea pratensis* L., *Agrimonia eupatoria* L., *Daucus carota* L. a *Galium molugo* L. Produkcia sušiny pri prvom odbere bola 2,58 t.ha⁻¹ a pri druhom odbere bola len 0,84 t.ha⁻¹. Kvalita fytomasy počas vegetácie bola nepostačujúca, s obsahom N-látok v rozmedzí od 84,85 do 91,80 g.kg⁻¹ sušiny

ZÁVER

Monitoring území s hromadným výskytom borievky obyčajnej (*Juniperus communis* L.) sa uskutočnil na lokalitách ležiacich v nadmorskej výške od 440 do 667 m. Trávne porasty boli špecifické vyššou prezenciou menej kvalitných trávnych druhov. Druhy z floristickej skupiny ostatných lúčnych bylín a leguminóz mali v porastoch len minimálne percentuálne zastúpenie.

Z hľadiska hodnotenia kvality trávnej fytomasy bola koncentrácia dusíkatých látok v sušine nadzemnej fytomasy nepostačujúca. Rovnako aj produkcia sušiny z uvedených trávnych porastov bola na veľmi nízkej úrovni.

LITERATÚRA

- /1/ Holúbek, R., Jančovič, J., Gregorová, H., Novák, J., Ďurková, E. 2007. Krmovinnárstvo – manažment pestovania a využívania krmovín. 1. vyd. Nitra : SPU, 2007, 420 s.
- /2/ Jankovič, J., Čaboun, V. 2017. Poznatky z mapovania borievkových porastov na Slovensku. In: Dlhodobý ekologický výskum a monitoring lesov, zborník recenzovaných príspevkov z konferencie 7. - 8. november, NLC Zvolen, S.67-71.
- /3/ Maloch, M. 1953. Krmovinnárstvo. II. Diel. Bratislava : Príroda. 1982, 488 s.
- /4/ Thomas, Pa., El-Barghathi, M., Polwart, A. 2007. Biological flora of the british isles: *Juniperus communis* L. J. Ecol., 95 (6): 1404 - 1440.

Pod'akovanie

Tento príspevok bol spracovaný vďaka podpore projektu APVV-19-0471 „*Využitie potenciálu borievky (Juniperus communis L.) v potravinárskom priemysle*“.

VLIV KADMIA NA VYBRANE OBSAHOVE LÁTKY MÁKU SETEHO 'MARATÓN'

EFFECT OF CADMIUM ON SECONDARY METABOLITES OF POPPY 'MARATÓN'

Jan Kubeš, Jiří Kudrna, František Hnilička

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

Summary

The content of cadmium in the poppy plants 'Maratón' was monitored in the container experiment as well as the effect of this metal on the concentration of malondialdehyde (MDA), total phenolic content (TPC) and total flavonoids content (TFC) over the course of five weeks. The plants were treated with a single dose with CdCl₂ solutions (0.15, 0.3, 1.5 and 15 mg/l) and cadmium was determined using the ICP-MS method, other analyzes were evaluated by a spectrophotometer. During the experiment, there was an increase in the cadmium content of all monitored variants. Given that the MDA content increased during monitoring even in the control variant, the effect of other factors cannot be ruled out, which could also affect the formation of the monitored groups of secondary metabolites.

Key words: poppy, heavy metals, cadmium accumulation, membrane damage, secondary metabolites

Souhrn

V rámci nádobového pokusu byl v průběhu pěti týdnů sledován u máku setého, odrůdy 'Maratón', obsah kadmia v rostlinách a jeho vliv na koncentraci malondialdehydu (MDA), celkových fenolických látek (TPC) a celkových flavonoidů (TFC). Rostliny byly ošetřeny jednorázovou závlahou roztoku CdCl₂ (0,15; 0,3; 1,5 a 15 mg/l) a stanovení kadmia bylo provedeno pomocí metody ICP-MS, ostatní analýzy byly vyhodnoceny spektrofotometricky. V průběhu experimentu došlo k nárůstu obsahu kadmia u všech sledovaných variant této odrůdy. Vzhledem k tomu, že i u kontrolní varianty došlo během sledování k zvýšení obsahu MDA, nelze vyloučit vliv dalších faktorů, které pak mohly ovlivnit i tvorbu sledovaných skupin sekundárních metabolitů.

Klíčová slova: mák, těžké kovy, akumulace kadmia, poškození membrán, sekundární metabolismus

ÚVOD

Mák setý patří mezi plodiny, které nacházejí své uplatnění jak v oblasti potravinářské, tak i jako zdroj látek využitelných v medicíně jako analgetika (morfin) nebo antitusika (kodein) /1/. Tradičně se používají jeho semena obsahující množství vysychavého oleje se zastoupením kyseliny linolové a olejové, tokoferolů, fytosterolů a dalších látek /2/.

Dle ČSÚ byl mák pěstován v roce 2020 na 40 255 ha, což představuje nárůst o zhruba 5000 ha ve srovnání s rokem 2019 a i v roce 2021 byla zaznamenána větší osevnická plocha této plodiny /3/. S tím je nutné brát v patrnost kvalitu zemědělské půdy, na které je mák setý produkován vzhledem k tomu, že u něj byla pozorována schopnost akumulace těžkých kovů, zejména kadmia, které se následně dostávají do semen /4/. To může mít negativní vliv jak na růst a vývoj rostlin samotných, tak i v konečném důsledku na kvalitu semen a jejich bezpečnost pro konzumenta. Běžný obsah Cd v půdě v ČR (mimo místo kontaminace) je 0,2-1,5 µg.kg⁻¹,

zdrojem kadmia však může být i atmosférická depozice z dalších zdrojů, jako je přirozené zvětrávání hornin či antropogenní zdroje znečištění /5/.

Kadmium může mít negativní vliv na klíčení semen, růst kořenů u rostlin včetně inhibice aktivity enzymů, které se podílejí na ochraně rostlin před volnými radikály /6/. Rovněž může snížit i obsah jiných prvků, jak bylo popsáno například u salátu /7/. Oproti tomu u nízkých koncentrací byly v případě semenáčků pšenice /8/ pozorovány před viditelnými toxickými projevy změny v metabolismu, které se projeví zvýšením obsahu malondialdehydu nebo změnami v množství glutathionu. U některých z testovaných variant došlo i k nárůstu obsahu biomasy a délky rostlin.

Pro sledování stresů různého původu lze u rostlin využít různých fyziologických či biochemických analýz. V rámci provedeného experimentu byla pozornost zaměřena na stanovení malondialdehydu, a fenolických látek a flavonoidů, které vznikají při působení abiotického i biotického stresu a hrají důležitou roli při obranných mechanismech rostlin.

MATERIÁL A METODA

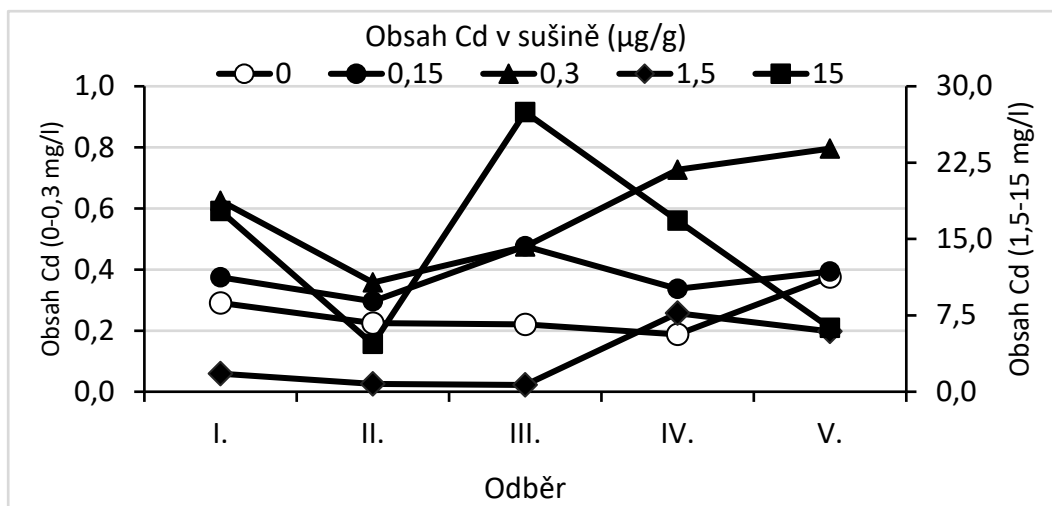
Vliv kadmia byl sledován u rostlin *Papaver somniferum* L. 'Maratón'. Jedná se polopozdní odrůdu se středně vysokým obsahem oleje, která je využitelná jak v potravinářství, tak i ve farmacii. Pokus probíhal v prostředí skleníku katedry botaniky a fyziologie rostlin (KBFR) na jaře 2021. Semena máku byla vyseta do nádob o objemu 1 l a naplněna standardním zahradnickým substrátem. Po 45 dnech, kdy byla již plně vyvinutá (BBCH 30-35) listová růžice, byly k rostlinám jednorázově aplikovány čtyři roztoky chloridu kademnatého o koncentraci 0,15; 0,3; 1,5 a 15 mg/l nebo destilovaná voda jako kontrolní varianta.

Hodnocení obsahu kadmia a vybraných látek bylo prováděno v průběhu dubna a května po dobu 5 týdnů. V rámci každého odběru byly odebrány celé rostliny na stanovení obsahu kadmia pomocí mineralizace vzorku, kdy byly nejprve usušeny a zhomogenizovány. Mletá sušina byla následně mineralizována směsí 3 mL HNO₃ + 3 mL H₂O₂ v mikrovlnné rozkladné jednotce, mineralizát naředěn do objemu 40 mL MilliQ vodou, a kadmium stanoveno technikou ICP-MS.

Z čerstvé biomasy (0,5 g) homogenizované v tekutém dusíku byl z každé varianty připraven ethanolový (80 %, 10,5 ml) extrakt, ve kterém byl sledován obsah malondialdehydu (MDA; 9), celkový obsah fenolických látek počítaných jako ekvivalent kyseliny gallové (TPC – total phenolic content; 10) a celkový obsah flavonoidů počítaných jako ekvivalent kvercetinu (TFC – total flavonoid content; 11).

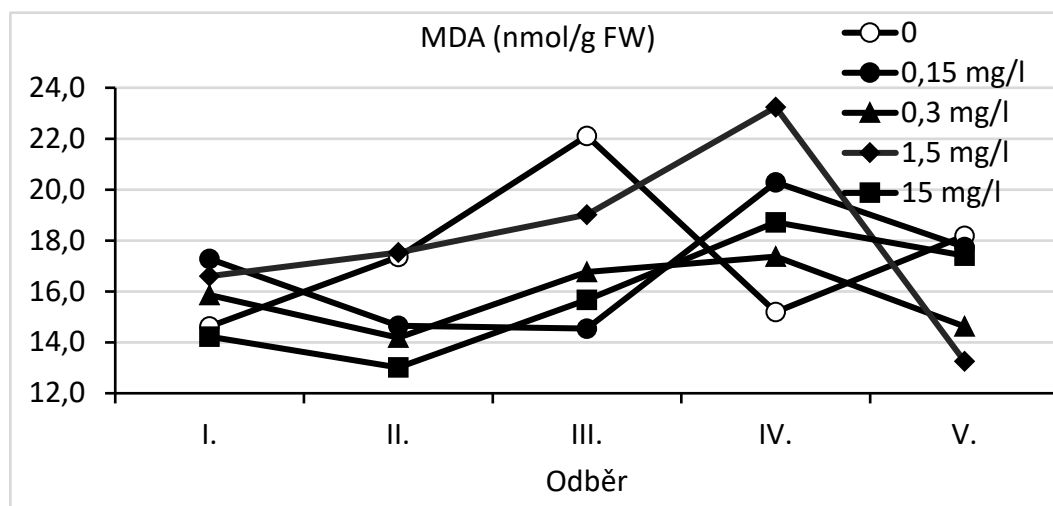
VÝSLEDKY A DISKUSE

Jak ukazuje Graf 1, nejvyšší obsah kadmia byl zaznamenán v sušině vzorků pěstovaných v substrátu kontaminovaném nejvyšší koncentrací CdCl₂. U této varianty došlo k nejvyššímu nárůstu u 3. odběru (4. týden po začátku experimentu), v rostlinách ve zbývajících odběrech bylo kadmia méně, nicméně jeho množství stále přesahovalo obsah u zbývajících variant. Podobný trend v obsahu kadmia byl pozorován i v případě varianty 0,15 mg/l. Oproti tomu u rostlin, kde byly aplikovány roztoky 1,5 a 0,3 mg/l, se obsah kadmia postupně zvyšoval. Graf 1 rovněž ukazuje, že určité množství kadmia bylo i v kontrolní variantě zalévané destilovanou, kdy jako zdroj sekundární kontaminace mohl být použitý substrát /12/. Přestože nebyl stanoven obsah kadmia v rostlinách před přidáním testovaných roztoků, lze z hodnot kontrol říci, že se zvyšujícím se zatížením substrátu tímto těžkým kovem se zvyšovala s postupem času i jeho přítomnost v rostlinách. To bylo pozorováno například i u *Pistia stratiotes* /13/, kde v případě kořenů se dvojnásobně použitá koncentrace aplikovaného roztoku kadmia (10 μM) v případě prvního odběru nelišila od nejnižší (5 μM). Příjem kadmia mohl být ovlivněn i vybranou odrůdou máku, dle /14/ 'Maratón' patřil mezi ty, které měly nízký obsah kadmia v semenech i tobolkách.



Graf 1: Obsah kadmia v µg/g sušiny. 0-15 mg/l – koncentrace CdCl₂ použitého na ošetření vzorku.

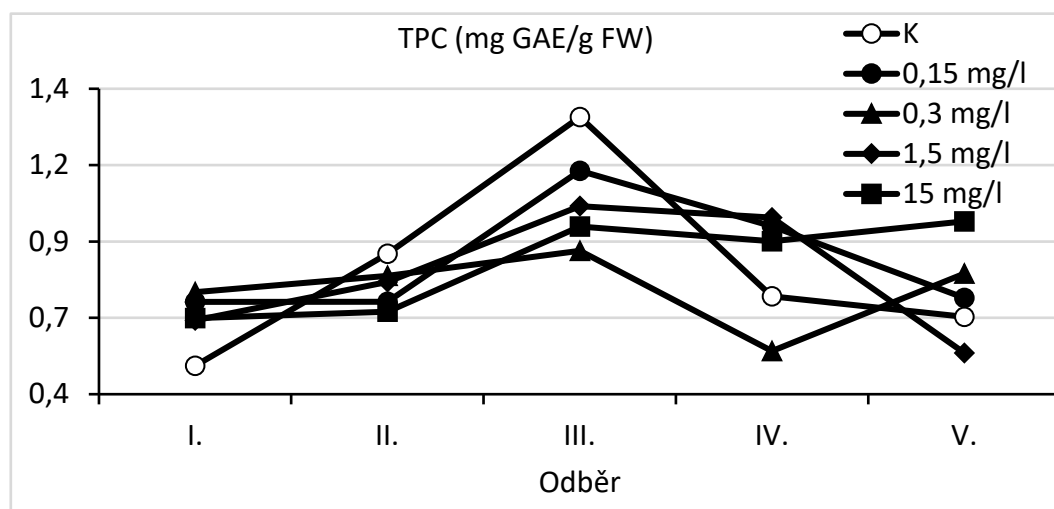
Z hlediska obsahu malondialdehydu (Graf 2) došlo u všech variant ošetřených CdCl₂ k jeho postupnému nárůstu. Oproti obsahu kadmia v rostlinách máku bylo nejvyšší množství MDA zjištěno v případě varianty 1,5 mg/l ve čtvrtém odběru, tento nárůst byl zaznamenán i u dalších kadmium vystavených rostlin. Určitěmu stresu spojenému s tvorbou MDA byly vystaveny i kontrolní varianty, jak je vidět u 3. odběru. Oproti /15/, nebyl u sledovaných rostlin máků pozorován postupný nárůst odpovídající použitým koncentracím kadmia, nicméně v dané práci byl u pšenice obsah MDA sledován pouze v rámci jednoho odběru. Jak uvádí /6/, některé nižší koncentrace kadmia v případě ředkve nebo mrkve způsobily také pokles obsahu této látky, což bylo dáno do souvislosti s aktivací protektivních reakcí.



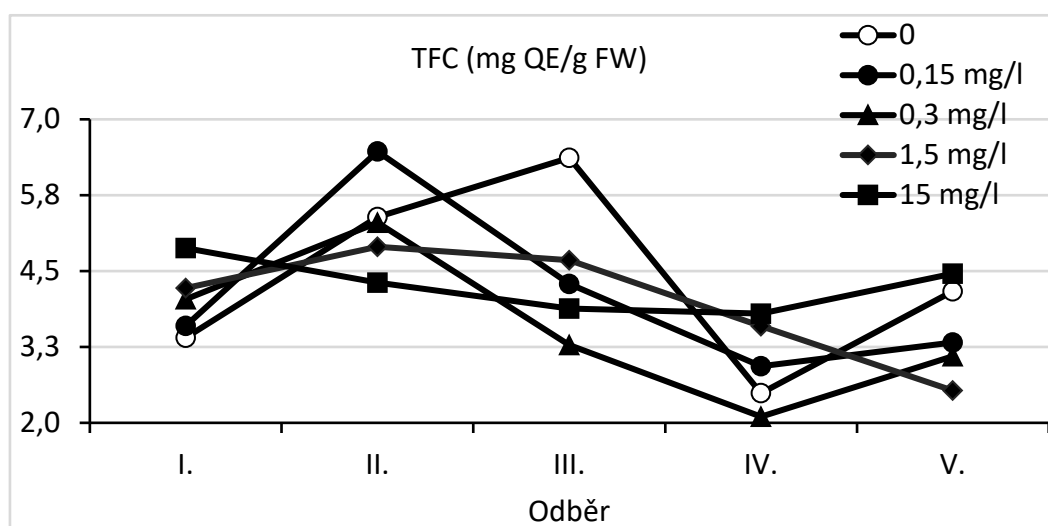
Graf 2: Obsah MDA v nmol/g FW. 0-15 mg/l – koncentrace CdCl₂ použitého na ošetření vzorku.

Zvýšený obsah MDA mohl u kontroly souviset i s nárůstem TPC (Graf 3). U této skupiny látek se případný vliv neprojevil u varianty 1,5 mg/l, ale nejvyšší hodnoty v rámci ošetřených rostlin byly zaznamenány u varianty 0,15 mg/l. U rostlin, které byly vystaveny nejvyšší koncentraci CdCl₂ pak docházelo k postupnému nárůstu, který se oproti ostatním variantám ve dvou zbývajících odběrech již příliš nezměnil. Nárůst TPC v souvislosti s MDA a vzrůstající koncentrací kadmia byl popsán i u salátu /7/, kde byl opět pouze jeden odběr. Vliv těžkých kovů na produkci sekundárních metabolitů byl popsán v řadě studií, kdy právě tyto prvky měly v určitém množství stimulační vliv na jejich produkci /16/. Fenolické látky, stejně jako

flavonoidy, jsou syntetizovány pomocí řady enzymů, jednu z hlavních rolí hraje fenylalaninamoniolyáza (PAL). U heřmánku zvyšující se koncentrace kadmia aktivitu tohoto enzymu podporovala, stejně tak byl zvýšen i obsah fenolických sloučenin. Množství MDA se v případě různých odběrů a koncentrací kadmia nezměnilo. Oproti tomu byly v případě kořenů heřmánku po aplikaci mědi pozorovány jak zvýšené hodnoty MDA, tak i PAL a fenolických átek /17/.



Graf 3: Obsah TPC v mg/g FW. 0-15 mg/l – koncentrace CdCl₂ použitého na ošetření vzorku.



Graf 4: Obsah TFC v mg/g FW. 0-15 mg/l – koncentrace CdCl₂ použitého na ošetření vzorku.

V případě celkového obsahu flavonoidů (Graf 4) došlo u kontaminovaných variant rovněž k nejvyššímu nárůstu u aplikace roztoku 0,15 mg/l, a to již u druhého odběru. Podobný trend byl zaznamenán i u variant 1,5 a 0,3 mg/l. U kontroly byl pak nárůst a pokles obsahu TFC

v rámci jednotlivých odběrů obdobný jako u TPC. Nejvyšší použitá koncentrace CdCl₂ pak hodnoty snížila. Kromě fenolických látek se na ochraně proti volným radikálům podílejí také příslušné enzymy a jiné látky s touto aktivitou (vitamín C). U *Kandelia obovata* /18/ bylo pozorováno, že u nižších koncentrací kadmia jsou do antioxidační aktivity zapojeny spíše enzymy, zatímco u vyšších dávek se na obranném mechanismu u této rostliny podílely fenolické kyseliny. Vzhledem k tomu, že aktivita enzymů jako jsou kataláza nebo superoxiddismutáza sledovány nebyly, nelze s jistotou říci míru jejich možného zapojení. U výše zmíněné studie pak s rostoucí koncentrací kadmia, vzrostl i TFC, naopak poklesly hodnoty vitamínu C.

ZÁVĚR

Prvková analýza ukázala, že se stoupající koncentrací kadmia v zálivce došlo k odpovídajícímu navýšení obsahu tohoto kovu v sušině rostlin máku setého. Přes toto navýšení nebyl pozorován nárůst malondialdehydu v čerstvé biomase, který by odpovídal použitým koncentracím aplikovaných roztoků. Podobně ani obsah fenolických látek ani flavonoidů neukázal průkaznou závislost na stoupajícím množství kadmia. Vzhledem k možnému zapojení dalších mechanismů, které se mohou podílet na ochraně před působením tohoto prvku či jiných stresů, bude pozornost zaměřena i na stanovení aktivity antioxidačních enzymů či dalších stresových markerů.

LITERATURA

- /1/ Labanca, F., Ovesna, J., Milella, L.: Papaver somniferum L. taxonomy, uses and new insight in poppy alkaloid pathways. *Phytochemistry reviews*, 17, 2018: 853–871.
- /2/ Dąbrowski, G., Czaplicki, S., Konopka, I.: Composition and quality of poppy (*Papaver somniferum* L.) seed oil depending on the extraction method. *LWT*, 134, 2020: 110167.
- /3/ <https://www.czso.cz/csu/czso/cri/odhady-sklizni-cervenec-2021>
- /4/ Pavlíková D., Tlustoš P., Száková J., Balík J.: The effect of application of potassium humate on the content of cadmium, zinc and arsenic in plants. *Rostlinná Výroba*, 43, 1997: 481–486.
- /5/ European Food Safety Authority (EFSA): Cadmium in food-Scientific opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *EFSA Journal*, 7, 980, 2009: 1–139.
- /6/ Chen, Y. X., He, Y. F., Luo, Y. M., Yu, Y. L., Lin, Q., Wong, M. H.: Physiological mechanism of plant roots exposed to cadmium. *Chemosphere*, 50, 2003: 789–793.
- /7/ Jibril, S. A., Hassan, S. A., Ishak, C. F., Megat Wahab, P. E.: Cadmium toxicity affects phytochemicals and nutrient elements composition of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Advances in Agriculture*, 2017, 2017: 1–17.
- /8/ Lin, R., Wang, X., Luo, Y., Du, W., Guo, H., Yin, D.: Effects of soil cadmium on growth, oxidative stress and antioxidant system in wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). *Chemosphere*, 69, 2007: 89–98.
- /9/ Du, Z., Bramlage, W. J.: Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 1992: 1566–1570.
- /10/ Ribarova, F., Atanassova, M., Marinova, D., Ribarova, F., Atanassova, M.: Total phenolics and flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *JU Chem. Metal*, 40, 2005: 255–260.
- /11/ Ying, C., & Wan, D.: Quantitative determination of total and individual flavonoids in stems and leaves of *Buddleja davidii* and *Buddleja albiflora*. *Pharmacognosy Magazine*, 8, 2012: 273–279.
- /12/ Škarpa, P., Lošák, T., Richter, R.: Effect of Magnesium and Cadmium Supplementation on Yields and Quality of Poppy (*Papaver somniferum* L.). *Ecological Chemistry and Engineering. A*, 16, 2009: 671–679.
- /13/ Li, Y., Zhang, S., Jiang, W., Liu, D.: Cadmium accumulation, activities of antioxidant enzymes, and malondialdehyde (MDA) content in *Pistia stratiotes* L. *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 2013: 1117–1123.
- /14/ Lachman, J., Hejtmankova, A., Miholova, D., Koliňová, D., Tluka, P.: Relations among alkaloids, cadmium and zinc contents in opium poppy (*Papaver somniferum* L.). *Plant Soil and Environment*, 52, 2006: 282–288.
- /15/ Amirjani, M.: Effects of cadmium on wheat growth and some physiological factors. *International Journal of Forest, Soil and Erosion (IJFSE)*, 2, 2012: 50–58.
- /16/ Khare, S., Singh, N. B., Singh, A., Hussain, I., Niharika, K., Yadav, V., Bano, Ch., Yadav, R. K., Amist, N.: Amist, N. (2020). Plant secondary metabolites synthesis and their regulations under biotic and abiotic constraints. *Journal of Plant Biology*, 63, 2020: 203–216.

- /17/ Kováčik, J., Bačkor, M.: Phenylalanine ammonia-lyase and phenolic compounds in chamomile tolerance to cadmium and copper excess. *Water, Air, and Soil Pollution*, 185, 2007: 185–193.
- /18/ Chen, S., Lin, R., Lu, H., Wang, Q., Yang, J., Liu, J., Yan, C.: Effects of phenolic acids on free radical scavenging and heavy metal bioavailability in *Kandelia obovata* under cadmium and zinc stress. *Chemosphere*, 249, 2020: 126341–126353.

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory Centra pro studium vzniku a transformací nutričně významných látek v potravním řetězci v interakci s potenciálně rizikovými látkami antropogenního původu: komplexní posouzení rizika kontaminace půdy pro kvalitu zemědělské produkce, reg. č.: CZ.02.1.01 / 0.0 / 0.0 / 16_019 / 0000845 a S-projektem MŠMT.

VPLYV GALAKTOGLUKOMANÁNOVÝCH OLIGOSACHARIDOV NA VITALITU NADZEMNÝCH ČASTÍ RASTLÍN KUKURICE (*ZEA MAYS* L.) V PODMIENKACH STRESU Z KADMIA

IMPACT OF GALACTOGLUCOMANNAN OLIGOSACCHARIDES ON MAIZE SHOOT (ZEA MAYS L.) VITALITY UNDER THE CADMIUM STRESS

Diana Hačkuličová, Eva Labancová, Zuzana Vivodová, Kristína Šípošová, Marko Bajus,
Danica Kučerová, Karin Kollárová

Chemický ústav Slovenskej akadémie vied, v. v. i., Dúbravská cesta 9, 845 38 Bratislava,
Slovenská republika; diana.hackulicova@savba.sk

Summary

The aim of this work was to determine impact of cadmium (Cd) and galactoglucomannan oligosaccharides (GGMOs) on maize (*Zea mays* L.) shoot growth, hydrogen peroxide (H₂O₂) concentration and activity of antioxidant enzymes, such as superoxid dismutase (SOD), catalase (CAT), and ascorbate peroxidase (APX). The plants were grown for 7 days in hydroponic system, the accumulation of H₂O₂ and the enzyme activity were determined spectrophotometrically. Application of GGMOs positively influenced the dry mass of aboveground plant parts. In Cd treatment, the concentration of H₂O₂ as well as the activity of enzymes were the highest; whereas, in the combined Cd + GGMOs treatment, the concentration of H₂O₂ and activity of enzymes decreased.

Key words: antioxidant enzymes, cadmium, oligosaccharides, hydrogen peroxide, maize

Súhrn

Cieľom tejto práce bolo zistiť vplyv kadmia (Cd) a galaktogluukomanánových oligosacharidov (GGMOs) na rast nadzemných častí kukurice siatej (*Zea mays* L.), koncentráciu peroxidu vodíka (H₂O₂) a aktivitu antioxidantných enzýmov, ako sú superoxid dismutáza (SOD), kataláza (CAT) a askorbát peroxidáza (APX). Rastliny sme kultivovali 7 dní v hydroponii a koncentráciu H₂O₂ a aktivitu enzýmov sme stanovili spektrofotometricky. Aplikácia GGMOs pozitívne ovplyvnila suchú hmotnosť nadzemných častí rastlín. Koncentrácia H₂O₂, ako aj aktivita antioxidantných enzýmov bola najvyššia v Cd variante, zatiaľ čo v kombinácii Cd + GGMOs sa znížila.

Kľúčové slová: antioxidantné enzýmy, oligosacharidy, kadmium, kukurica siata, peroxid vodíka

ÚVOD

Katióny kadmia (Cd²⁺), ktoré sa nachádzajú v rastlinných substrátoch, sú prostredníctvom xylémových ciev transportované z koreňov do nadzemných častí rastlín, kde sa akumulujú prevažne v listoch a trichómoch /1/. Už prítomnosť nízkych koncentrácií Cd²⁺ vyvoláva v rastlinách stresové odpovede, medzi ktoré patria poškodenia, ako sú redukcia klíčenia, rastu a vývinu rastlín, zníženie fotosyntetickej aktivity, či zmena aktivity štruktúrnych proteínov a antioxidantných enzýmov /2/. Takéto zmeny znižujú kvalitu a produkciu poľnohospodársky významných plodín, ku ktorým patrí aj kukurica siata (*Zea mays* L.). Medzi prvé odpovede rastlinnej bunky na zvýšenú koncentráciu Cd²⁺ patrí zvýšená produkcia reaktívnych foriem kyslíka (ROS) v bunke, medzi ktoré patria napr. peroxid vodíka (H₂O₂), hydroxylový anión alebo superoxid /3/. Rastliny si proti zvýšenej koncentrácii ROS (oxidačný stres) vyvinuli neenzymatické (glutatión, kyselina askorbová, fytochelatíny a iné)

a enzymatické (superoxid dismutáza – SOD, kataláza – CAT, askorbát peroxidáza – APX a iné) obranné systémy, ktorých úlohou je vycytávať ROS a premieňať ich na netoxické konečné produkty /4/. Využitie galaktoglukomanánových oligosacharidov (GGMOs), ktoré v prítomnosti Cd^{2+} zlepšujú rast koreňov kukurice /5/, je jedna z možností obrany rastlín proti stresu /5/. Cieľom tejto práce bolo porovnanie vplyvu GGMOs na rast nadzemnej časti kukurice sietej a na zmeny v aktivite antioxidantných enzýmov SOD, CAT, APX a koncentrácie H_2O_2 v stresových aj nestresových podmienkach.

MATERIÁL A METÓDY

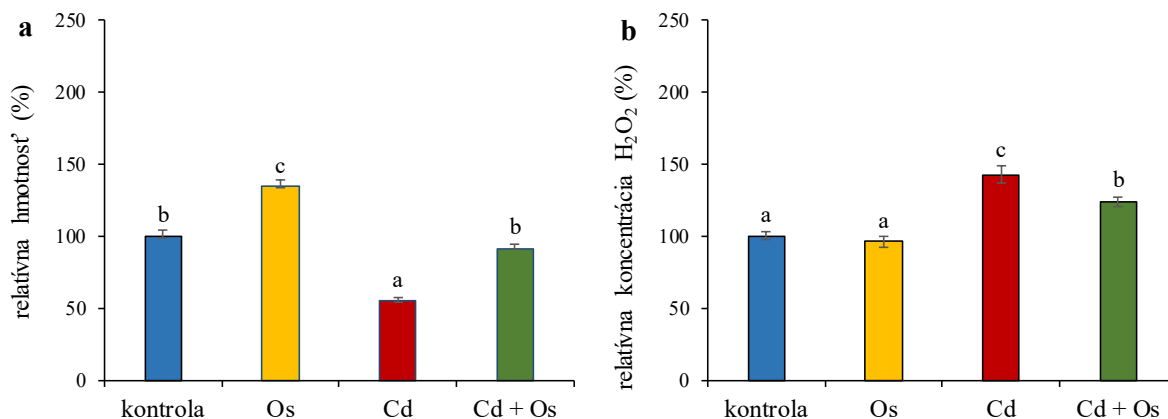
Rastlinný materiál – klíčence kukurice sietej (*Zea mays*. L, hybrid Novania) – sme kultivovali v Hoaglandovom živnom roztoku /6/ s pH 6,2 v kultivačnej komore po dobu 7 dní, pri 16-hodinovej fotoperióde s intenzitou svetla $130\text{--}140 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, pri teplote $25 \text{ }^\circ\text{C}/20 \text{ }^\circ\text{C}$ a 70 % vlhkosti. Na kultiváciu rastlín v hydroponii sme použili Hoaglandov živný roztok (kontrola), do ktorého sme pridali 10^{-9} M GGMOs (Os variant), 5×10^{-5} M $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ (Cd variant) alebo 10^{-7} M GGMOs spolu s 5×10^{-5} M $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ (Cd + Os variant). Používali sme rôzne koncentrácie GGMOs (10^{-7} M a 10^{-9} M), pretože v predchádzajúcich experimentoch sme zistili, že pôsobili najúčinnšie na zlepšovanie rastu koreňov kukurice /5/. Po skončení kultivácie sme stanovili suchú hmotnosť nadzemných častí rastlín kukurice. V druhom liste rastlín kukurice sme stanovili koncentráciu H_2O_2 spektrofotometricky, na základe modifikovaných metód podľa Velikovej et al. /7/ a Kováčika /8/. Aktivitu antioxidantných enzýmov sme stanovili spektrofotometricky modifikovanými metódami – SOD /9/, CAT /10/ a APX /11/. Dáta sme vyjadrili priemerom a strednou chybou priemeru. Rozdiely medzi variantami sme štatisticky vyhodnotili pomocou Tukey testu jednofaktorovej analýzy variancie (ANOVA) v programe Statistica.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

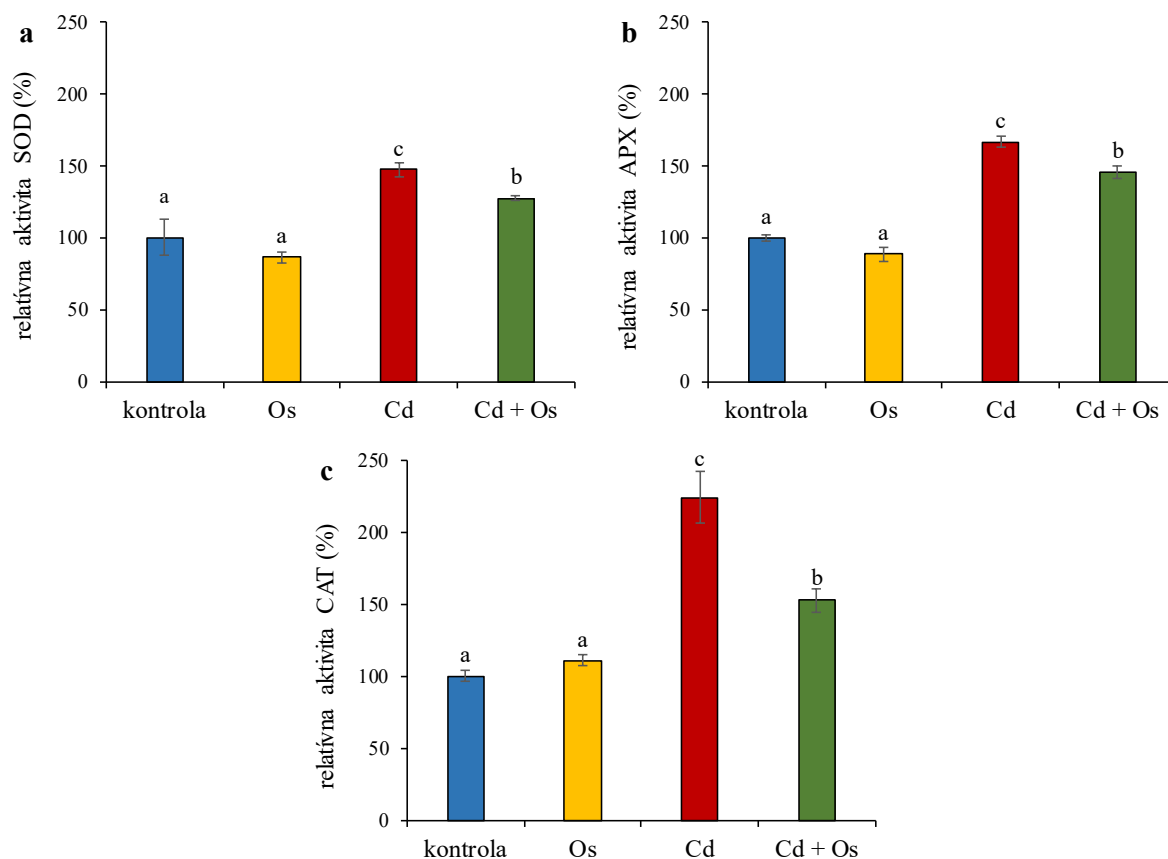
Kadmium negatívne ovplyvnilo rast rastlín; suchá hmotnosť nadzemných častí bola v Cd variante až o 45,1 % nižšia v porovnaní s kontrolou (Graf 1a), ale v Cd + Os variante sa zvýšila o 66,8 % v porovnaní s Cd variantom. Okrem toho, suchá hmotnosť nadzemnej časti v Os variante bola vyššia o 34,3 % v porovnaní s kontrolou. Uvedené výsledky korešpondujú so zlepšením rastu koreňov rastlín kukurice /5/ ako aj *Arabidopsis* /12/ v stresových aj nestresových podmienkach.

Počas pôsobenia stresu sa v bunkách rastlín zvyšuje produkcia ROS. Relatívna koncentrácia H_2O_2 bola najvyššia v Cd variante (o 42,8 % v porovnaní s kontrolou) (Graf 1b). V Cd + Os variante sa znížila o 13 % v porovnaní s Cd variantom. Zníženie koncentrácie H_2O_2 môže súvisieť s tým, že biologicky aktívne oligosacharidy pravdepodobne spúšťajú reakcie vedúce k vycytávaniu ROS, napr. ovplyvňujú aktivitu antioxidantných enzýmov /13/.

Aktivita antioxidantných enzýmov (SOD, APX, CAT) bola najvyššia v Cd variante, pričom ich aktivita sa v Cd + Os variante v porovnaní s Cd variantom znižovala (Graf 2). Zvýšenú aktivitu antioxidantných enzýmov spôsobenú prítomnosťou Cd^{2+} zaznamenali aj v listoch dvoch kultivarov kukurice /14/. Podobne ako alginátové oligosacharidy /15/, GGMOs znižovali aktivitu uvedených enzýmov v prítomnosti Cd^{2+} . Miera stimulácie aktivity SOD vo variantoch Cd, ako aj Cd + Os bola v porovnaní s kontrolou vyššia (Graf 2a) ako stimulácia aktivít APX a CAT. Pôsobenie týchto enzýmov je komplementárne. Enzým SOD katalyzuje premenu (dismutáciu) superoxidového aniónu na kyslík a H_2O_2 , čím predchádza tvorbe hydroxylového radikálu /13/. Takto vytvorený H_2O_2 je následne vycytávaný enzýmami APX a CAT. Keďže obidva enzýmy sa podieľajú na odstraňovaní tej istej molekuly, pôsobia zosynchronizovane a preto môže byť ich aktivita rôzna /16/.



Graf 1: Relatívna suchá hmotnosť nadzemných častí rastlín kukurice siatej (a) a relatívna koncentrácia peroxidu vodíka (H₂O₂) (b) po 7 dňoch kultivácie. Hodnoty v grafoch sú prepočítané percentuálne ku kontrole (hodnota kontroly predstavuje 100 %). Rozdielne písmená vyjadrujú štatisticky preukazné rozdiely medzi jednotlivými variantmi na hladine preukaznosti $P < 0,05$.



Graf 2: Relatívna aktivita superoxid dismutázy (SOD) (a), askorbát peroxidázy – APX (b) a katalázy – CAT (c) po 7 dňoch kultivácie. Hodnoty v grafoch sú prepočítané percentuálne ku kontrole (hodnota kontroly predstavuje 100 %). Rozdielne písmená vyjadrujú štatisticky preukazné rozdiely medzi jednotlivými variantmi na hladine preukaznosti $P < 0,05$.

ZÁVER

Na základe našich experimentov sme zistili, že GMOs zvyšujú vitalitu nadzemných častí rastlín kukurice, či už v stresových alebo nestresových podmienkach a môžu byť zapojené do reakcií vedúcich k vychytávaniu ROS.

LITERATÚRA

- /1/ Dong, Q., Fang, J., Huang, F., Cai, F. Silicon amendment reduces soil Cd availability and Cd uptake of two *Pennisetum* species. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2019, 16(9): 1624.
- /2/ Haider, F. U., Liqun, C., Coulter, J. A. et al. Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 211: 111887.
- /3/ Gutsch, A., Sergeant, K., Keunen, K. et al. Does long-term cadmium exposure influence the composition of pectic polysaccharides in the cell wall of *Medicago sativa* stems? *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1): 1–17.
- /4/ Das, K., Roychoudhury, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*, 2014, 2: 53.
- /5/ Kollárová, K., Kamenická, V., Vatehová, Z., Lišková, D. Impact of galactoglucomannan oligosaccharides and Cd stress on maize root growth parameters, morphology, and structure. *Journal of Plant Physiology*, 2022, 222: 59–66.
- /6/ Hoagland, D. R., Arnon, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. *Circular California agricultural experiment station*, 1950, 347: 1–39.
- /7/ Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 2000, 151(1): 59–66.
- /8/ Kováčik, J. *Stresová fyziológia rastlín*. Košice, UPJŠ, 2012. 50 s. ISBN 978-80-7097-941-9
- /9/ Mad Madamanchi, N. R., Donahue, J. L., Cramer, C. L. et al. Differential response of Cu, Zn superoxide dismutases in two pea cultivars during a short-term exposure to sulfur dioxide. *Plant Molecular Biology*, 1994, 26(1): 95–103.
- /10/ Hodges, D. M., Andrews, C. J., Johnson, D. A. et al. Antioxidant enzyme and compound responses to chilling stress and their combining abilities in differentially sensitive maize hybrids. *Crop Science*, 1997, 37(3): 857–863.
- /11/ Nakano, Y., Asada, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 1981, 22(5): 867–880.
- /12/ Kučerová, D., Kollárová, K., Zelko, I. et al. Galactoglucomannan oligosaccharides alleviate cadmium stress in *Arabidopsis*. *Journal of Plant Physiology*, 2014, 171(7): 518–524.
- /13/ Kolahi, M., Kazemi, E. M., Yazdi, M., Goldson-Barnaby, A. Oxidative stress induced by cadmium in lettuce (*Lactuca sativa* Linn.): Oxidative stress indicators and prediction of their genes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, 146: 71–89.
- /14/ Anjum, S. A., Tanver, M., Hussain, S. et al. Cadmium toxicity in maize (*Zea mays* L.): consequences on antioxidative systems, reactive oxygen species and cadmium accumulation. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22.21: 17022–17030.
- /15/ Ma, L. J., Li, X. M., Bu, N., Li, N. An alginate-derived oligosaccharide enhanced wheat tolerance to cadmium stress. *Plant Growth Regulation*, 2010, 62(1): 71–76.
- /16/ Gill, S. S., Tuteja, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 2010, 48(12): 909–930.

Pod'akovanie

Táto práca vznikla za finančnej podpory Vedeckej grantovej agentúry VEGA 2/0055/22.

VPLYV KREMÍKA A ANTIMÓNU NA FYZIOLOGICKÉ PARAMETRE FAZULE MUNGO (*VIGNA RADIATA* (L.) WILCZEK)

*INFLUENCE OF SILICON AND ANTIMONY ON THE PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF MUNGO BEAN (*VIGNA RADIATA* (L.) WILCZEK)*

Marko Bajus, Eva Labancová, Danica Kučerová, Diana Hačkuličová, Kristína Šípošová, Zuzana Vivodová, Karin Kollárová
Chemický ústav Slovenskej akadémie vied, v. v. i., Dúbravská cesta 9, 845 38 Bratislava, Slovenská republika; marko.bajus@savba.sk

Summary

The aim of this work was to determine the effects of silicon (Si), a non-essential element, on plants exposed to stress caused by antimony (Sb). Silicon was used in the form of $\text{Na}_2\text{O}(\text{SiO}_2)_x \cdot \text{XH}_2\text{O}$ in 2.5 mM concentration. The antimony treatment in 5 mg l^{-1} concentration was selected as a mild stress and the antimony treatment in 25 mg l^{-1} concentration as severe stress for mung bean plants. The most evident effect of silicon in both antimony treatments was the decrease of the concentration of carotenoids. The influence of silicon on the fresh and dry weight of shoots and leaf area depended on the type of the stress (mild, severe). Silicon increased the growth of mung bean plants under antimony stress.

Key words: antimony; fresh and dry weight; chlorophyll; leaf area; silicon; Vigna radiata

Súhrn

Cieľom tejto práce bolo zistiť účinky kremíka (Si), neesenciálneho prvku, v rastlinách vystavených stresu spôsobeného antimónom (Sb). Kremík sme aplikovali vo forme $\text{Na}_2\text{O}(\text{SiO}_2)_x \cdot \text{XH}_2\text{O}$ a v koncentrácii 2,5 mM. Ošetrovanie antimónom v koncentrácii 5 mg l^{-1} vyvolalo mierny stres a ošetrovanie antimónom v koncentrácii 25 mg l^{-1} vysoký stres v rastlinách fazule mungo. Najvýraznejším účinkom kremíka pri oboch antimónových ošetrovaniach bolo zníženie koncentrácie karotenoidov. Vplyv kremíka na čerstvú a suchú hmotnosť nadzemných častí a listovej plochy závisel od typu stresu (mierny, vysoký). Kremík zlepšil rast rastlín fazule mungo vystavených stresu vyvolaného antimónom.

Kľúčové slová: antimón, čerstvá a suchá hmotnosť, chlorofyl, kremík; plocha listu; Vigna radiata

ÚVOD

Mungo (*Vigna radiata* (L.) Wilczek), inak aj fazuľa mungo, je jednou z najrozšírenejších strukovín pestovaných v oblasti Indie a Východnej Ázie, ktorej klíčky obsahujú vitamíny skupiny B, vitamín A, vitamín E a minerálne látky ako je napríklad horčík, železo, draslík a zinok. Nezanedbateľný je aj obsah proteínov (24 g v 100 g čerstvých klíčkov) a vysoké zastúpenie vlákniny /1/.

Antimón (Sb) je polokov metalického vzhľadu s potenciálne toxickými vlastnosťami. Najväčším zdrojom Sb je ťažba kovov a polokovov, pri ktorej sa Sb spolu s ďalšími toxickými látkami dostáva do ovzdušia, vôd ale hlavne do pôd uložených v ťažobných haldách /2,3/. Zvýšená koncentrácia Sb v pôde, vode a kultivačnom médiu, spôsobuje rôzne fyziologické zmeny a deformity rastlín, ktoré vedú k zníženiu poľnohospodárskej produkcie /4/.

Kremík (Si) ako druhý najrozšírenejší prvok v pôde nie je považovaný za esenciálny prvok vyšších rastlín, ale rôzne štúdie dokázali jeho pozitívny vplyv pri reakcii na zasolenie

a kontamináciu pôdy ťažkými kovmi. Rastlinami je prijímaný z pôdneho roztoku, kde sa najčastejšie nachádza vo forme kyseliny kremičitej (H_4SiO_4). Podiel sa hlavne na spevňovaní rastlinných pletív, na zvyšovaní mechanickej pevnosti a tým pozitívne ovplyvňuje odolnosť proti škodcom a hubovým ochoreniam /5,6/. Cieľom tejto práce bolo porovnanie vplyvu Si v prítomnosti Sb v rôznych koncentráciách (mierny a vysoký stres) na rast nadzemnej časti fazule mungo a na zmeny v koncentrácii karotenoidov.

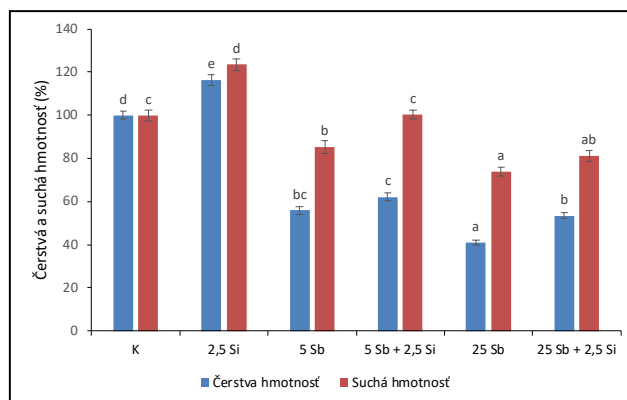
MATERIÁL A METÓDY

Semená fazule mungo (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) sme povrchovo sterilizovali v 4,7 % roztoku chlórnanu sodného (Savo) (20 min), premyli destilovanou vodou a následne imbibovali v tme pri izbovej teplote 2 hodiny. Po imbibícii, sme semená nechali klíčiť v tme pri teplote 25 °C. Predklíčené uniformné rastliny sme preniesli do nádob s Hoaglandovým živným roztokom /7/. Kremík sme pridávali vo forme $\text{Na}_2\text{O}(\text{SiO}_2)_x \cdot X \text{H}_2\text{O}$ v koncentrácii 2,5 mM a antimón vo forme $\text{K}_2(\text{SbO})_2 \text{C}_8\text{H}_4\text{O}_{10} \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ v koncentráciách 5 mg l⁻¹ a 25 mg l⁻¹ Sb^{III}. Porovnávali sme rast rastlín vo variantoch: kontrola (Hoaglandov živný roztok), variant Si (Si v koncentrácii 2,5 mM), variant 5 Sb (Sb v koncentrácii 5 mg l⁻¹), variant 5 Sb + 2,5 Si (Sb v koncentrácii 5 mg l⁻¹ a Si v koncentrácii 2,5 mM), variant 25 Sb (Sb v koncentrácii 25 mg l⁻¹), variant 25 Sb + 2,5 Si (Sb v koncentrácii 25 mg l⁻¹ a Si v koncentrácii 2,5 mM). Živné roztoky sme nechali prevzdušňovať počas celej kultivácie a živné médium sme vymenili na 4. deň kultivácie. Po 7 dňoch kultivácie pri konštantných podmienkach (teplota 25/20 °C, fotoperiódka 16 h svetlo/8 h tma, intenzita svetla 130–140 μmol m⁻² s⁻¹ a 60 % vlhkosti vzduchu) sme odmerali dĺžku a šírku 1. listu z prvého páru a vypočítali jeho plochu /8/. Stanovili sme čerstvú hmotnosť nadzemnej časti rastlín a po vysušení rastlinného materiálu (pri teplote 105 °C do konštantnej hmotnosti) sme stanovili suchú hmotnosť nadzemnej časti. Koncentráciu karotenoidov (%) sme stanovili spektrofotometricky podľa dostupných vzorcov /9/. Rozdiely medzi jednotlivými experimentálnymi skupinami sme štatisticky vyhodnotili Tukey testom jednofaktorovej analýzy rozptylu s využitím štatistického programu Statistica.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

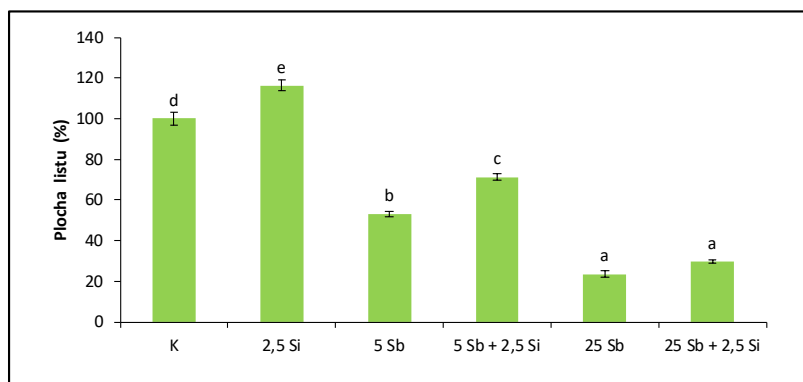
Suchá aj čerstvá hmotnosť nadzemných častí rastlín sa v 2,5 Si variante zvýšila v porovnaní s kontrolou, pričom v 5 Sb a 25 Sb variantoch sme zaznamenali výrazné zníženie oboch parametrov (graf 1). Čerstvá hmotnosť bola vyššia vo variante 25 Sb + 2,5 Si v porovnaní s variantom 25 Sb, zatiaľ čo vo variantoch s nižšou koncentráciou Sb sme nezaznamenali štatisticky preukazný rozdiel. Suchá hmotnosť bola vyššia vo variante 5 Sb + 2,5 Si v porovnaní s variantom 5 Sb. Podobne ako v našom experimente, kremík znížil inhibičný účinok aj iných polokovov /10/.

Koncentrácia karotenoidov, ako jedného z markerov stresu, sa zvýšila v Sb variantoch (5 Sb, 25 Sb a 25 Sb + Si) v porovnaní s kontrolou, pričom najvyššiu koncentráciu sme zaznamenali vo variante 25 Sb (graf 3). Kremík preukazne znižoval koncentráciu karotenoidov t.j. vo variante 5 Sb + 2,5 Si bola koncentrácia karotenoidov nižšia o 45 % v porovnaní s variantom 5 Sb a vo variante 25 Sb + 2,5 Si o 24 % v porovnaní s variantom 25 Sb.



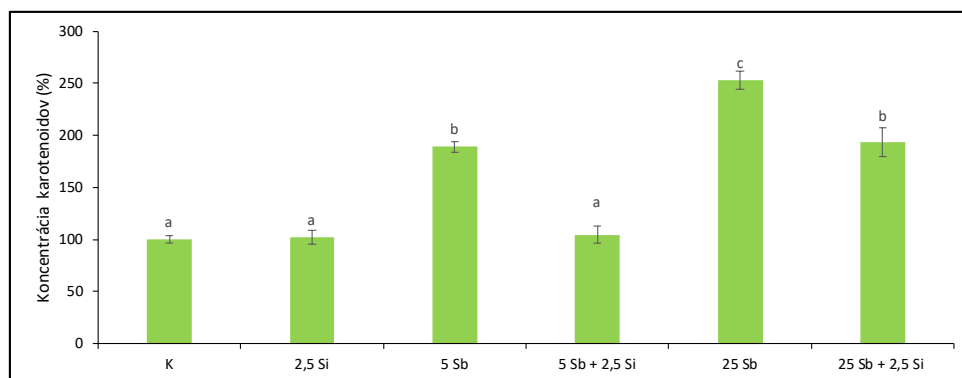
Graf 1: Čerstvá a suchá hmotnost' nadzemných částí rastlín fazule mungo po pôsobení rôznych koncentrácií antimónu a kremíka.

K= kontrola; 2,5 Si= 2,5 mM Si; 5 Sb= 5 mg l⁻¹ Sb; 5 Sb + 2,5 Si= 5 mg l⁻¹ Sb + 2,5 mM Si; 25 Sb= 25 mg l⁻¹; Sb 25 Sb + 2,5 Si= 25 mg l⁻¹ Sb + 2,5 mM Si. Hmotnosti sú uvedené v percentách ku kontrole. Kontrola = 100 %. Rozdielne malé písmená vyjadrujú štatisticky preukazné rozdiely medzi jednotlivými variantmi na hladine preukaznosti P < 0,05.



Graf 2: Plocha listu z prvého páru listov rastlín fazule mungo po pôsobení rôznych koncentrácií antimónu a kremíka.

K= kontrola; 2,5 Si= 2,5 mM Si; 5 Sb= 5 mg l⁻¹ Sb; 5 Sb + 2,5 Si= 5 mg l⁻¹ Sb + 2,5 mM Si; 25 Sb= 25 mg l⁻¹; Sb 25 Sb + 2,5 Si= 25 mg l⁻¹ Sb + 2,5 mM Si. Plocha listu je uvedená v percentách ku kontrole. Kontrola = 100 %. Rozdielne malé písmená vyjadrujú štatisticky preukazné rozdiely medzi jednotlivými variantmi na hladine preukaznosti P < 0,05.



Graf 3: Konzentrácia karotenoidov v listoch rastlín fazule mungo.

K= kontrola; 2,5 Si= 2,5 mM Si; 5 Sb= 5 mg l⁻¹ Sb; 5 Sb + 2,5 Si= 5 mg l⁻¹ Sb + 2,5 mM Si; 25 Sb= 25 mg l⁻¹; Sb 25 Sb + 2,5 Si= 25 mg l⁻¹ Sb + 2,5 mM Si. Obsah karotenoidov je uvedený percentách ku kontrole. Kontrola = 100 %. Rozdielne malé písmená vyjadrujú štatisticky preukazné rozdiely medzi jednotlivými variantmi na hladine preukaznosti P < 0,05.

ZÁVER

Kremík pozitívne ovplyvňoval suchú a čerstvú hmotnosť nadzemnej časti rastlín fazule mungo ako aj plochu listov v prítomnosti antimónu. Jeho účinok závisel od použitej koncentrácie antimónu. Potvrdili sme účasť kremíka na zmiernení stresu vyvolanom zvýšenou koncentráciou antimónu v dvojkličnolistových rastlinách, nakoľko, doterajšie experimenty preukázali jeho účinnosť najmä na jednokličnolistové rastliny.

LITERATÚRA

- /1/ Lim, T. K.: Edible medicinal and non-medicinal plants. Springer, 2012: 656- 687.
- /2/ Bradl, H.: Heavy metals in the environment: origin, interaction and remediation. Elsevier, 2005.
- /3/ Jurkovič, E., Majzlan, J., Hiller, E., Klimko, T., Voleková-Lalinská, B., Méres, Š., Steininger, R.: Natural attenuation of antimony and arsenic in soils at the abandoned Sb-deposit Poproč. Environmental Earth Sciences, 78, 2019: 1-13.
- /4/ Hiller, E., Lalinska, B., Chovan, M., Jurkovič, E., Klimko, T., Jankulár, M., Hovorič, R., Šottník, P., Fláková, R., Ženišová, Z., Ondrejková I.: Arsenic and antimony contamination of waters, stream sediments and soils in the vicinity of abandoned antimony mines in the Western Carpathians. Applied Geochemistry, 27, 2012: 598-614.
- /5/ Liang, Y., Wong, J. W. C., Wei, L.: Silicon-mediated enhancement of cadmium tolerance in maize (*Zea mays* L.) grown in cadmium contaminated soil. Chemosphere, 58, 2005: 475-483.
- /6/ Epstein, E.: The anomaly of silicon in plant biology. Proceedings of the National Academy of Sciences, 91, 1994: 11-17.
- /7/ Hoagland, D. R., Arnon, D. I.: The water-culture method for growing plants without soil. Circular, 2, 1950: 347.
- /8/ Květ J., Nečas J.: (1966) Measurement of leaf area. In: Šesták Z., Čatský, S. (edited) Methods of Studying Photosynthetic Production of Plants. Academia, 1966: 315.
- /9/ Lichtenthaler, H. K.: Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in enzymology, 148, 1987: 350-382.
- /10/ Vaculík, M., Lux, A., Luxová, M., Tanimoto, E., Lichtscheidl, I.: Silicon mitigates cadmium inhibitory effects in young maize plants. Environmental and Experimental Botany, 67, 2009: 52-58.
- /11/ Vaculík, M., Lukačová, Z., Bokor, B., Martinka, M., Tripathi, D. K., Lux, A.: Alleviation mechanisms of metal (loid) stress in plants by silicon: a review. Journal of Experimental Botany, 71, 2020: 6744-6757.

Pod'akovanie

Táto práca vznikla za podpory projektu vedeckej grantovej agentúry APVV-17-0164.

OBSAH TOXICKÝCH PRVKŮ V KAPRADINĚ *PTERIS CRETICA* (L.) 'ALBO-LINEATA'

CONTENT OF TOXIC ELEMENTS IN FERN *PTERIS CRETICA* (L.) 'ALBO-LINEATA'

Veronika Zemanová¹, Milan Novák¹, Daniela Pavlíková¹, Milan Pavlík¹, Hana Zámečníková¹
¹ Česká zemědělská univerzita v Praze, FAPPZ, Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin, Kamýcká 129, 165 00 Praha 6 – Suchdol, zemanovav@af.czu.cz

Summary

Accumulation of toxic elements in biomass of *Pteris cretica* (L.) 'Albo-lineata' was observed in a pot experiment with three soil types – uncontaminated (locality Prague – Suchdol) and two levels of anthropogenic contamination (locality Příbram – Podlesí and Příbram – Litavka). The accumulation factors showed different orders of toxic elements accumulation in *P. cretica* according to contamination levels. In fronds, the highest accumulation showed As and Zn with Cu. Accumulation of other toxic elements was variable with levels of contamination. In roots, the order of accumulation was more variable – As > Cd > Ni (Suchdol), Cr > As > Ni (Podlesí) and Cr > Ni > As (Litavka). Results showed a change of As accumulation in *P. cretica*, As-hyperaccumulator, due to higher content of other toxic elements. For all variants, the content of As in fronds and roots was under As hyperaccumulation limit – < 1000 mg/kg DW.

Key words: bioaccumulation, fern, hyperaccumulator, risk elements, Pteridaceae

Souhrn

Akumulace toxických prvků v biomase *Pteris cretica* (L.) 'Albo-lineata' byla sledována v nádobovém pokusu se třemi typy půd – nekontaminovaná (lokalita Praha – Suchdol) a dvě úrovně antropogenní kontaminace (lokalita Příbram – Podlesí a Příbram – Litavka). Dle akumulčních faktorů se pořadí akumulace toxických prvků v *P. cretica* lišilo dle úrovně kontaminace půdy. V nadzemní biomase byl nejvíce akumulován As a následně Zn s Cu. Akumulace ostatních toxických prvků byla variabilní dle úrovně kontaminace. U kořenů bylo pořadí více variabilní – As > Cd > Ni (Suchdol), Cr > As > Ni (Podlesí) a Cr > Ni > As (Litavka). Výsledky ukazují změnu v akumulaci As u *P. cretica*, prokázaného hyperakumulátoru As, vlivem přítomnosti zvýšeného obsahu jiných toxických prvků. Obsah As v nadzemní biomase i kořenech byl u všech půd pod limitem hyperakumulace As – < 1000 mg/kg DW.

Klíčová slova: bioakumulace, kapradina, hyperakumulátor, rizikové prvky, Pteridaceae

ÚVOD

Akumulace toxických prvků, jako je As, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb a Zn, se liší dle rostlinného druhu /1/. Dle Chang et al. /2/ jsou kapradiny dobrými ekologickými indikátory kontaminace toxickými prvky, zejména As, v oblastech bývalé těžby. Řada autorů /3-5/ potvrdila schopnost hyperakumulace As u kapradiny *Pteris cretica*, avšak tito autoři se zabývali pouze akumulací As jako hlavního kontaminantu v půdě. O příjmu toxických prvků a jejich vlivu na akumulaci As u *P. cretica* existuje omezené množství informací /6/. Tato problematika byla sledována zejména u kapradiny *P. vittata* /6-9/, prvního objeveného hyperakumulátoru As /4/.

MATERIÁL A METODA

Kapradina *Pteris cretica* (L.) 'Albo-lineata' byla pěstována 219 dní v nádobovém pokusu s půdami z vybraných lokalit ČR, jejichž charakteristika je uvedena v tab. 1. Kontaminovaná

půda byla odebrána z lokalit Příbram – Podlesí (49°42'24" N, 13°58'32" E) a Příbram – Litavka (49°43'07" N, 14°00'47" E), které se liší úrovní kontaminace toxickými prvky. Kontrolní variantou byla půda z lokality Praha – Suchdol (50°8'8" N, 14°22'43" E), jejíž pseudo-totální obsah toxických prvků je pod limitem preventivních hodnot rizikových prvků v zemědělských půdách ČR (Vyhláška č. 153/2016 Sb.) a lze ji považovat za nekontaminovanou. Do nádob s půdou (5 kg; 6 opakování/varianta) byla aplikována dávka živin 0,5 g N, 0,16 g P a 0,4 g K na 1 kg půdy (NH₄NO₃ a K₂HPO₄). Obsah toxických prvků v nadzemní biomase a kořenech kapradin byl stanoven metodou ICP-OES (Agilent 720, Agilent Technologies Inc.) po nízkotlakém mikrovlákném rozkladu (0,5 ± 0,05 g DM, 10 mL HNO₃ + H₂O₂, 4:1 v/v; Ethos 1). Akumulační faktor (AF) byl vypočten jako podíl obsahu toxického prvku v příslušné části kapradiny (nadzemní biomasa, kořeny) a jeho obsahu v půdě /1/. Data byla vyhodnocena v programu Statistica 12.0 (one-way ANOVA s Fisherovým LSD post-hoc testem, $p \leq 0,05$) a CANOCO 4.5 (analýza hlavních komponent – PCA).

Tab. 1: Základní charakteristika půd z vybraných lokalit České republiky.

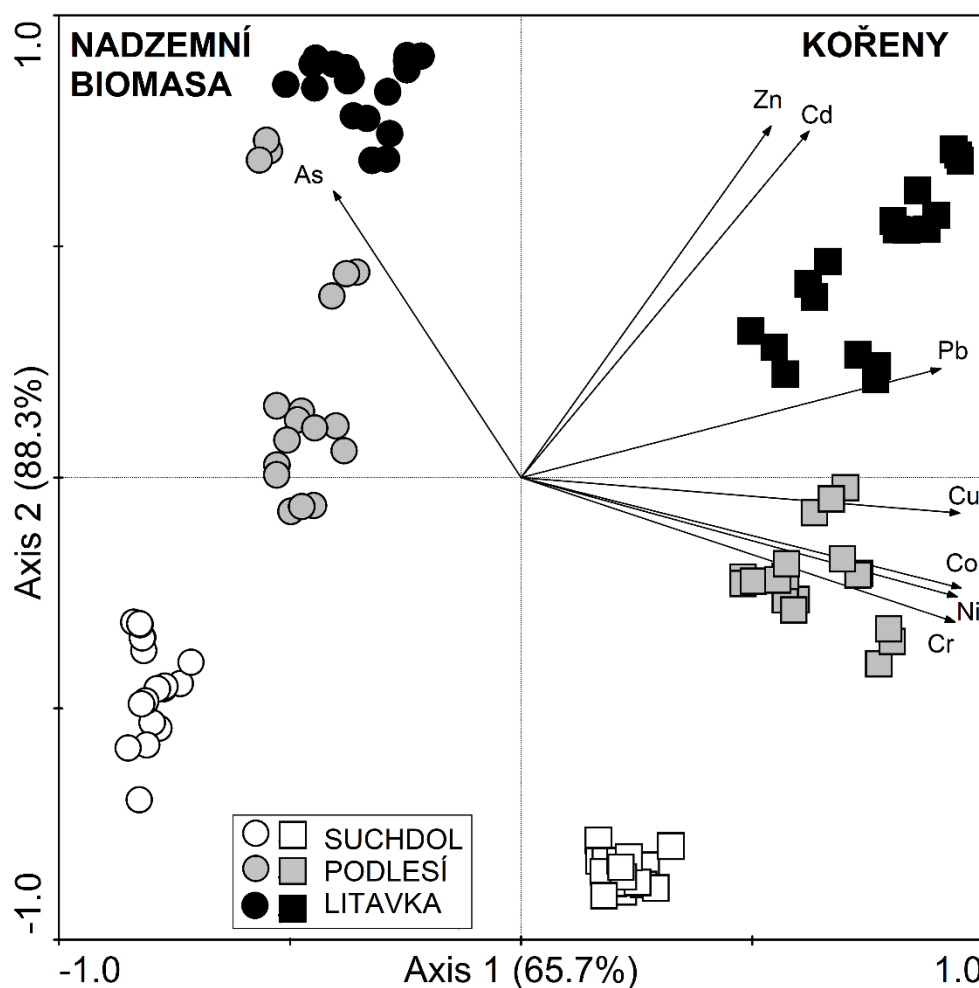
parametr	lokality		
	Suchdol	Podlesí	Litavka
půdní typ	černozem haplická	kambizem modální	fluvizem glejová
pH _{H2O} (-)	7,6 ± 0,04	6,0 ± 0,05	5,8 ± 0,04
C _{org} (%)	1,8 ± 0,3	4,1 ± 0,1	3,6 ± 0,4
KVK (mmol ₍₊₎ /kg)	230,1 ± 5,0	165,8 ± 15,1	109,0 ± 31,9
As _{Tot} (mg/kg)	16,4 ± 1,0	40,7 ± 0,8 [#]	165,6 ± 17,4 [#]
Cd _{Tot} (mg/kg)	0,4 ± 0,01	2,8 ± 0,7 [#]	32,2 ± 1,1 [#]
Co _{Tot} (mg/kg)	10,2 ± 0,04	8,0 ± 0,3	18,6 ± 0,6
Cr _{Tot} (mg/kg)	56,4 ± 0,6	22,4 ± 1,6	26,9 ± 0,9
Cu _{Tot} (mg/kg)	46,5 ± 0,01	25,7 ± 1,7	57,0 ± 2,4
Ni _{Tot} (mg/kg)	28,5 ± 1,7	19,6 ± 0,5	28,3 ± 1,2
Pb _{Tot} (mg/kg)	39,9 ± 1,0	506,7 ± 13,7 [#]	1849,4 ± 32,8 [#]
Zn _{Tot} (mg/kg)	103,6 ± 1,5	134,8 ± 0,7 [#]	2881,7 ± 25,5 [#]

KVK – kationtová výměnná kapacita. Tot – pseudo-totální obsah prvku. Preventivní hodnoty (mg/kg DM) dle Vyhláška č. 153/2016 Sb. (běžná půda/lehká půda): As – 20/15; Cd – 0,5/0,4; Co – 30/20; Cr – 90/55; Cu – 60/45; Ni – 50/45; Pb – 60/55; Zn – 120/105. # - pseudo-totální obsah toxického prvku je nad limitem preventivní hodnoty.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Akumulace toxických prvků měla statisticky významný vliv na výnos nadzemní biomasy *P. cretica* pouze u Podlesí – snížení o 17,8 % v porovnání s variantou Suchdol. U kořenů došlo k statisticky významné změně u obou kontaminovaných variant. Kořeny jsou první částí rostliny vystavené vlivu toxických prvků /7/, který se negativně projevil u nejvíce kontaminované půdy (Litavka) 21 % snížením výnosu. Naopak u Podlesí došlo k 19 % nárůstu biomasy kořenů. Podobně variabilní výsledky vlivu kombinace toxických prvků na výnos nadzemní biomasy a kořenů zjistili i další autoři u *P. vittata* /7-9/.

Data v grafu 1 zobrazují výsledky PCA analýzy, z nichž je dle rozdělení symbolů pro nadzemní biomasu a kořeny *P. cretica* na opačných stranách diagramu patrný rozdíl v akumulaci toxických prvků, jejichž obsah uvádí tab. 2. Symboly pro jednotlivé varianty dle seskupení ukazují na rozdíl mezi nekontaminovanou a kontaminovanou půdou, u které již rozdíl není tak jednoznačný, jak potvrzují výsledky statistického vyhodnocení v tab. 2.



Graf 1: Ordinační diagram výsledků PCA analýzy obsahu toxických prvků v nadzemní biomase a kořenech *P. cretica* 'Albo-lineata'.

U všech variant převažovala akumulace toxických prvků v kořenech, s výjimkou As, který byl více akumulován v nadzemní biomase, jak potvrzují výsledky AF (5,7; 4,3; 0,7) a data v grafu 1 a tab. 2. Akumulační faktory As byly vyšší v nadzemní biomase v porovnání s kořeny, avšak tento rozdíl se snížil u nejvíce kontaminované půdy – Litavka (AF 0,7 > 0,6). Podobný vliv na As byl zjištěn pro Cu u *P. vittata* /7/. Kontaminované půdy – Podlesí a Litavka, měly mimo As i vyšší obsahy Cd, Pb a Zn, jejichž AF byly vyšší v kořenech než v nadzemní biomase. Tyto toxické prvky mimo Zn byly u varianty Suchdol akumulovány pouze v kořenech. Sun et al. /6/ zjistili vysokou akumulaci As v nadzemní biomase *P. cretica* (AF > 1) a zároveň nízkou akumulaci Cd, Cu, Pb a Zn (AF < 1).

Wu et al. /9/ zjistili snížení akumulace Zn u kořenů *P. vittata* se zvyšující se koncentrací Zn v prostředí. Podobný trend ukázaly kořeny *P. cretica* v našem pokusu – 65 a 71 % pokles AF u nejvíce kontaminované půdy (Litavka) oproti variantě Suchdol a Podlesí. V nadzemní biomase byl trend akumulace toxických prvků podobný u všech variant, kdy AF klesaly v pořadí: As > Zn > Cu > Ni > Cr (Suchdol), As > Zn > Cu > Cd > Ni > Cr > Pb (Podlesí), As > Zn ~ Cu > Cd > Ni > Cr > Pb (Litavka). U kořenů byl trend pořadí AF variabilní dle varianty: As > Cr > Ni > Zn > Cd > Cu > Co > Pb (Suchdol), Cr > As > Ni > Cd > Cu > Zn > Pb > Co (Podlesí), Cr > Ni > As > Cu > Zn > Cd > Co > Pb (Litavka).

Tab. 2: Obsah toxických prvků v nadzemní biomase a kořenech *P. cretica* 'Albo-lineata'.

		lokality		
		Suchdol	Podlesí	Litavka
As (mg/kg)	nadzemní biomasa	93,9 ± 13,3 ^a	177,9 ± 82,6 ^b	119,7 ± 19,4 ^a
	kořeny	68,9 ± 7,3 ^a	87,3 ± 11,6 ^b	92,1 ± 11,4 ^b
Cd (mg/kg)	nadzemní biomasa	< 0,1	0,7 ± 0,2 ^a	3,5 ± 0,8 ^b
	kořeny	0,2 ± 0,07 ^a	2,3 ± 0,4 ^b	6,2 ± 1,5 ^c
Co (mg/kg)	nadzemní biomasa	< 0,5	< 0,5	< 0,5
	kořeny	1,8 ± 0,2 ^a	2,6 ± 1,0 ^b	2,8 ± 0,7 ^b
Cr (mg/kg)	nadzemní biomasa	1,0 ± 0,3 ^a	2,5 ± 1,8 ^b	1,0 ± 0,5 ^a
	kořeny	40,4 ± 6,9 ^a	64,8 ± 23,2 ^b	50,8 ± 13,9 ^a
Cu (mg/kg)	nadzemní biomasa	5,5 ± 0,7 ^a	8,9 ± 1,7 ^c	7,3 ± 0,7 ^b
	kořeny	15,8 ± 1,4 ^a	18,4 ± 1,8 ^b	20,9 ± 1,7 ^c
Ni (mg/kg)	nadzemní biomasa	0,8 ± 0,1 ^a	3,2 ± 0,9 ^c	1,7 ± 0,3 ^b
	kořeny	17,8 ± 2,4 ^a	25,4 ± 7,8 ^b	18,5 ± 4,1 ^a
Pb (mg/kg)	nadzemní biomasa	< 2,0	6,5 ± 1,8 ^a	7,8 ± 4,9 ^a
	kořeny	5,7 ± 0,7 ^a	325,9 ± 69,5 ^c	183,7 ± 84,1 ^b
Zn (mg/kg)	nadzemní biomasa	24,1 ± 3,1 ^a	58,7 ± 5,6 ^b	379,6 ± 31,7 ^c
	kořeny	60,9 ± 10,8 ^a	94,1 ± 13,5 ^a	586,9 ± 263,7 ^b

Statisticky významný rozdíl mezi variantami vyjadřují rozdílná písmena ($p \leq 0,05$).

ZÁVĚR

Vlivem přítomnosti dalších toxických prvků v půdě dochází ke změně v akumulaci As u hyperakumulátoru *P. cretica* v nadzemní biomase i kořenech, jak ukazují výsledky obsahu As, který byl u všech variant pod limitem hyperakumulace – < 1000 mg/kg DW. V kořenech *P. cretica* kontaminovaných variant byla zvýšená akumulace Cr a Ni – AF > 1.

LITERATURA

- /1/ Balkhair KS, Ashraf MA: Field accumulation risks of heavy metals in soil and vegetable crop irrigated with sewage water in western region of Saudi Arabia. Saudi Journal of Biological Sciences, 23, 2016: 32-44
- /2/ Chang JS, Yoon IH, Kim KW: Heavy metal and arsenic accumulating fern species as potential ecological indicators in As-contaminated abandoned mines. Ecological Indicators, 9, 2009: 1275-1279
- /3/ Zemanová V, Pavlíková D, Pavlík M: Free amino acid regulation in fronds and roots of two *Pteris cretica* L. ferns under arsenic stress. Plant, Soil and Environmental, 66, 2020: 483-492
- /4/ Luongo T, Ma LQ: Characteristics of arsenic accumulation by *Pteris* and non-*Pteris* ferns. Plant and Soil, 277, 2005: 117-126
- /5/ Srivastava M, Ma LQ, Santos JAG: Three new arsenic hyperaccumulating ferns. Science of The Total Environment, 364, 2006: 24-31
- /6/ Sun L, Liao XY, Yan XL, Zhu GH, Ma D: Evaluation of heavy metal and polycyclic aromatic hydrocarbons accumulation in plants from typical industrial sites: potential candidate in phytoremediation for co-contamination. Environmental Science and Pollution Research, 21, 2014: 12494-12504
- /7/ Xu M, Lin Y, da Silva EB, Cui Q, Gao P, Wu J, Ma LQ: Effects of copper and arsenic on their uptake and distribution in As-hyperaccumulator *Pteris vittata*. Environmental Pollution 300, 2022: 118982
- /8/ Wan XM, Lei M, Chen TB, Zhou GD, Yang J, Zhou XY, Zhang X, Xu RX: Phytoremediation potential of *Pteris vittata* L. under the combined contamination of As and Pb: beneficial interaction between As and Pb. Environmental Science and Pollution Research, 21, 2014: 325-336
- /9/ Wu FY, Leung HM, Wu SC, Ye ZH, Wong MH: Variation in arsenic, lead and zinc tolerance and accumulation in six populations of *Pteris vittata* L. from China. Environmental Pollution 157, 2009: 2394-2404

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory projektu NutRisk Centre reg. č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000845.

ANTROPOGENNÍ KONTAMINACE RIZIKOVÝMI PRVKY A JEJÍ VLIV NA FYZIOLOGII LISTU KAPRADIN *PTERIS CRETICA*

INFLUENCE OF ANTHROPOGENIC CONTAMINATION BY RISK ELEMENTS ON LEAF PHYSIOLOGY OF FERN *PTERIS CRETICA*

Marie Lhotská¹, Veronika Zemanová², František Hnilička¹, Daniela Pavlíková²

¹Česká zemědělská univerzita v Praze, FAPPZ, Katedra botaniky a fyziologie rostlin, Kamýcká 129, 165 00 Praha 6, lhotskamarie@af.czu.cz

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

Summary

The greenhouse pot experiment with the soil originating from anthropogenic contamination near the Příbram city, was conducted in 2 levels of contamination (Příbram – Podlesí a Příbram – Litavka locality). The experiment was conducted for 219 days. The high content of arsenic, cadmium, lead and zinc was found by soil analysis. Hyperaccumulator *Pteris cretica* 'Albo-lineata' was used as an experimental plant. Before harvest, the measuring of maximum quantum yield of photosystem II was carried out. Subsequently, the total content of chlorophyll and content of risk elements was analyzed in dry mass of fronds. Anthropogenic contamination had a significant negative effect on fluorescence of chlorophyll *a* in all treatments. The effect was observed on total content of chlorophyll in Litavka treatment, compared with control. The hyperaccumulator ability of *P. cretica* was proven by the results.

Key words: risk elements, total chlorophyll content, Fv/Fm, fern

Souhrn

Skleníkový nádobový pokus s půdou pocházející z oblasti antropogenního znečištění v okolí města Příbram, byl proveden ve 2 úrovních kontaminace (lokalita Příbram – Podlesí a Příbram – Litavka). Délka pokusu byla 219 dní. Analýzou byl v půdě zjištěn vysoký obsah arsenu, kadmia, olova a zinku. Jako pokusná rostlina byl zvolen hyperakumulátor arsenu, *Pteris cretica* 'Albo-lineata'. V závěru pokusu se uskutečnilo měření maximálního kvantového výtěžku fotosystému II a stanovení obsahu celkových chlorofylů a obsahu vybraných rizikových prvků v sušině nadzemní biomasy. Antropogenní kontaminace měla prokazatelně negativní vliv na fluorescenci chlorofylu *a* ve všech variantách a dále na snížení obsahu celkových chlorofylů ve variantě Litavka ve srovnání s kontrolou. Výsledky ověřily hyperakumulační schopnost *P. cretica*.

Klíčová slova: rizikové prvky, celkové chlorofyly, Fv/Fm, kapradina

ÚVOD

Půdy na Příbramsku jsou historicky znečištěny činností člověka. Oblast kolem řeky Litavky byla v minulosti využívána k hutnickým účelům /1/. Kromě toho, ve 2. polovině 20. století několikrát došlo k protržení odkalovací nádrže, jejíž obsah se dostal do řeky Litavky a širokého okolí, čímž byla půda opět znečištěna. Také oblast kolem Kovohutí Příbram je kontaminována podobným složením prvků. V obou oblastech byl naměřen vysoký obsah arsenu, kadmia, olova a zinku /2, 3/. První tři zmíněné jsou definovány jako rizikové prvky pro rostliny, poslední z nich, zinek, je v přiměřeném množství pro rostliny mikroprvkem /4/. V

testované oblasti však došlo k přesazení povoleného limitu, proto i on je v uvedeném pokusu považován za rizikový pro rostliny.

Rostliny *Pteris cretica* a *Pteris vittata* jsou mnohokrát ověřeny jako hyperakumulátory arsenu /5, 6/. Hyperakumulátor je schopen akumulovat mnohonásobně vyšší množství daného rizikového prvku, aniž by došlo k významnému narušení životaschopnosti rostliny /7/.

Účelem uvedené práce bylo zhodnocení reakce rostliny *Pteris cretica*, rostoucí na kontaminovaných půdách z vybraných oblastí Příbramska. Reakce rostliny byly zachyceny pomocí vybraných fyziologických parametrů vztažených k listu rostliny.

MATERIÁL A METODY

Pro nádobový pokus byla použita kapradina z čeledi *Pteridaceae*, *Pteris cretica* 'Albolineata'. Pokus probíhal ve skleníku při kontrolovaných podmínkách teplota 22-24 °C/18 °C (den/noc), relativní vzdušná vlhkost kolem 60 %, přirozená fotoperioda (březen-říjen), ve 2 odlišných úrovních antropogenní kontaminace půd České republiky: Příbram – Podlesí (49°42'24" N, 13°58'32" E) a Příbram – Litavka (49°43'07" N, 14°00'47" E). Jako kontrolní varianta byla vybrána půda z lokality Praha-Suchdol (50°8'8" N, 14°22'43" E). Na počátku pokusu byla do nádob s půdou (5 kg; 6 opakování/varianta) aplikována dávka živin 0,5 g N, 0,16 g P a 0,4 g K na 1 kg půdy (NH₄NO₃ a K₂HPO₄). Ostatní charakteristiky použitých půd jsou uvedeny v tabulce 1. Sklizeň a následné analýzy proběhly po 219 dnech.

Obsah rizikových prvků v nadzemní biomase kapradin byl stanoven metodou ICP-OES (Agilent 720, Agilent Technologies Inc.) podle Pavlíkové et al. /6/. Biokoncentrační faktor (BCF) byl vypočten jako poměr průměrného množství daného prvku v půdě a množství daného prvku v nadzemní biomase /8/. Maximální kvantový výtěžek fotosystému II (Fv/Fm) byl zjištěn na základě měření fluorescence chlorofylu *a* přenosným fluorometrem OS1-FL. Následně byl pak dopočítán podle vzorce (Fm-F0)/Fm. Obsah celkových chlorofylů byl stanoven spektrofotometricky, destruktivní metodou dle Porra et al. /9/.

Data byla statisticky vyhodnocena v programu Statistica 12.0 pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA) s LSD post hoc testem ($p \leq 0,5$).

Tabulka 1: Základní charakteristiky vybraných půd ČR. Legenda: KVK - kationtová výměnná kapacita, total - pseudototální obsah prvku.

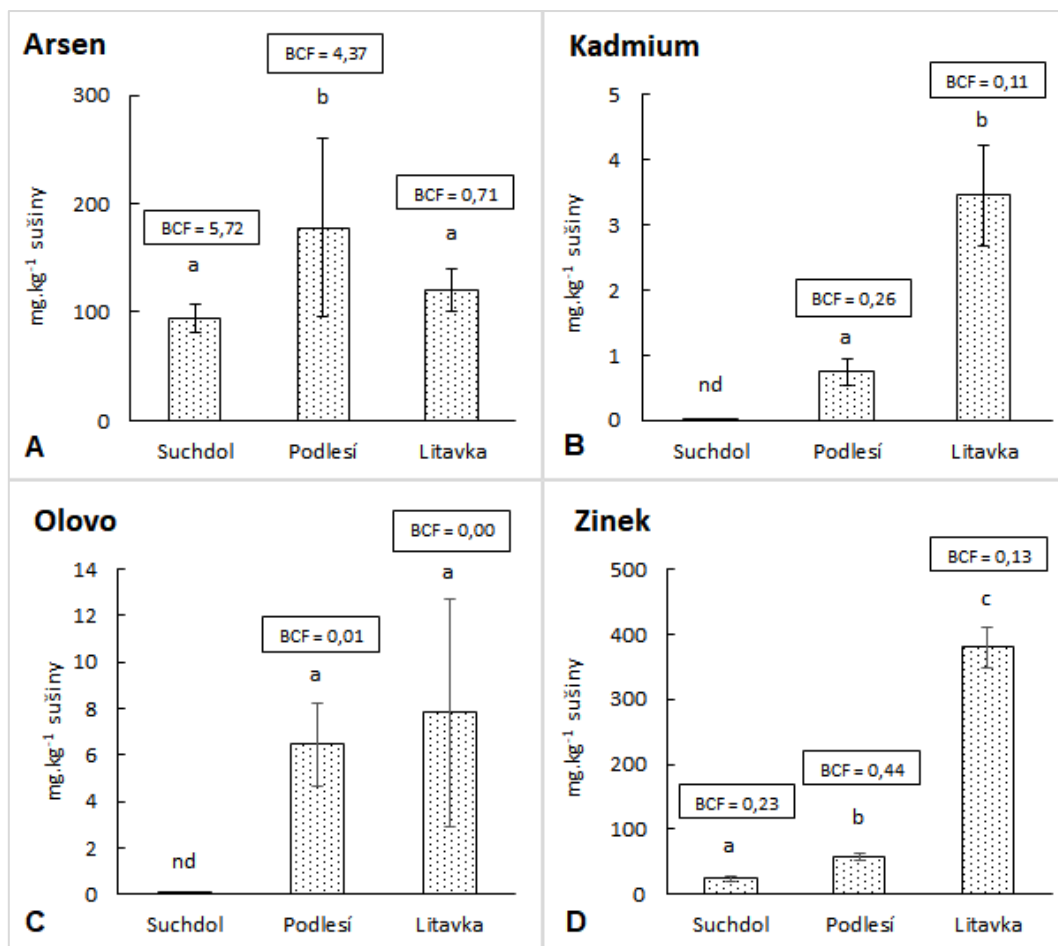
Varianta	půdní typ	pH _{H2O} (-)	C _{org} (%)	KVK (mmol(+) /kg)	A _{Stotal} (mg/kg)	Cd _{total} (mg/kg)	Pb _{total} (mg/kg)	Zn _{total} (mg/kg)
Suchdol	černozem haplická	7,6 ± 0,04	1,8 ± 0,3	230 ± 5	16,4 ± 1,1	0,3 ± 0,02	54,4 ± 7,7	128,5 ± 10,5
Podlesí	kambisol modální	6,0 ± 0,05	4,1 ± 0,1	166 ± 15	41,9 ± 1,5	2,4 ± 0,2	504,3 ± 17,4	134,9 ± 0,8
Litavka	fluvisol glejová	5,8 ± 0,04	3,6 ± 0,4	109 ± 32	156,9 ± 20,5	31,9 ± 1,1	1827,5 ± 44,2	2873,5 ± 25,6

VÝSLEDKY A DISKUZE

Rozdíly ve fluorescenci chlorofylu *a* byly průkazné ve všech třech testovaných variantách (Tabulka 2). Hodnota maximálního kvantového výtěžku fotosystému II (Fv/Fm) byla pod 0,83, což naznačuje snížení efektivity průběhu světelné reakce při fotosyntéze, které může být spojeno se stresem rostlin /10/. Ke vzniku tohoto stresu mohl přispět i příjem rizikových prvků (Graf 1) /6/. Snížení obsahu celkových chlorofylů bylo průkazné pouze ve variantě Litavka, která zastupuje lokalitu s nejvyšší úrovní kontaminace. V porovnání s kontrolní variantou (Suchdol) poklesl obsah celkových chlorofylů o 14,39 % (Tabulka 2).

Tabulka 2: Fluorescence chlorofylu a obsah celkových chlorofylů (Chl_{tot}).

	Fv/Fm	Fv/F0	Chl _{tot} (mg/m ²)
Suchdol	0,74 ± 0,01a	2,81 ± 0,16a	274,13 ± 62,49a
Podlesí	0,80 ± 0,01c	4,07 ± 0,28c	290,25 ± 56,41a
Litavka	0,78 ± 0,02b	3,56 ± 0,46b	234,68 ± 64,08b



Graf 1: Obsah prvků zjištěných v sušině nadzemní biomasy a biokoncentrační faktor testovaných rostlin *Pteris cretica*. Legenda: BFC – biokoncentrační faktor, nd – hodnota byla pod mezí detekce (Cd: <0,1 mg/kg; Pb: <2 mg/kg).

Zvyšující se trend v příjmu rizikových prvků ve vztahu k variantě byl zjištěn pouze v případě kadmia a zinku (Graf 1 B, D). V případě olova byl zvýšený příjem mezi variantou Podlesí a Litavka neprůkazný (Graf 1 C).

Zvýšení obsahu arsenu bylo statisticky průkazné pouze u varianty Podlesí. Rostliny přijaly v průměru o 89,26 % více, než kontrolní varianta Suchdol (Graf 1 A). Takto vysoký příjem lze vysvětlit především známým faktem, že rostliny *P. cretica* jsou ověřenými hyperakumulátory arsenu, translokující daný rizikový prvek do nadzemní části /5/. Celkové množství přijatého arsenu v uvedeném pokusu však nedosáhlo limitu hyperakumulace (<1000 mg/kg DW). Biokoncentrační faktory uvedené v grafu 1 naznačují, že k translokaci rizikových prvků do nadzemní části došlo pouze v případě arsenu, a to pouze ve variantě Suchdol a Podlesí (Graf 1), ostatní prvky zůstaly po příjmu především v kořenech.

Přestože varianta Podlesí je považována za kontaminovanou lokalitu, celkově zde došlo spíše ke stimulačnímu vlivu přijatých prvků vzhledem k uvedeným fyziologickým parametrům (tabulka 2).

ZÁVĚR

Z uvedených výsledků vyplývá, že vliv antropogenní kontaminace nemá vždy jednotný vliv pro rostlinu. Vysvětlením může být známý fakt, že některé rizikové prvky v nízké koncentraci mají spíše stimulační efekt na rostliny. Z výsledků je patrný vliv *Pteris cretica*, u něhož je potvrzena hyperakumulace rizikových prvků.

LITERATURA

- /1/ Nováková, T., Kotková, K., Elznicová, J., Strnad, L., Engel, Z., Matys Grygar, T.: Pollutant dispersal and stability in a severely polluted floodplain: A case study in the Litavka River, Czech Republic. *Journal of Geochemical Exploration*, 156, 2015: 131–144.
- /2/ Hejeman, M., Vondráčková, S., Müllerová, V., Červená, K., Száková, J., Tlustoš, P.: Effect of quick lime and superphosphate additives on emergence and survival of *Rumex obtusifolius* seedlings in acid and alkaline soils contaminated by As, Cd, Pb, and Zn. *Plant, Soil and Environment*, 58, 2012: 561–667.
- /3/ Kubátová, P., Száková, J., Břendová, K., Krouhliková-Vondráčková, S., Drešlová, M., Tlustoš, P.: Effect of tree harvest intervals on the removal of heavy metals from a contaminated soil in a field experiment. *Plant, Soil and Environment*, 64, 2018: 132–137.
- /4/ Vries, W., Römkens, P.F.A.M., van Leeuwen, T., Bronswijk, J.J.B.: Heavy metals in Haygarth, P.M. and Jarvis, S.C., editors. *Agriculture, hydrology and water quality*. 2002. CABI, Netherlands, 107–132.
- /5/ Singh, N., Ma, L. Q.: Arsenic speciation and arsenic and phosphate distribution in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. and non-hyperaccumulator *Pteris ensiformis* L. *Environmental Pollution*, 141, 2006: 238–246
- /6/ Pavlíková, D., Zemanová, V., Pavlík, M., Dobrev, P. I., Hnilička, F., Motyka, V.: Response of cytokinins and nitrogen metabolism in the fronds of *Pteris* sp. under arsenic stress. *PLoS ONE*, 15, 2020: e0233055.
- /7/ Baker, A.J.M., McGrath, S.P., Reeves, R.D. and Smith, J.A.C.: *Metal Hyperaccumulator Plants: A Review of the Ecology and Physiology of a Biological Resource for Phytoremediation of Metal-Polluted Soils* in Terry, N. and Banuelos, G., editors. *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*. 2000. Lewis Publishers, London, 85–107.
- /8/ Szwalec, A., Mundała, P., Kędzior, R.: Suitability of selected plant species for phytoremediation: A case study of a coal combustion ash landfill. *Sustainability*, 14, 2022: 7083.
- /9/ Porra, R.J., Thompson, W.A., Kriedemann, P.E.: Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics*, 975, 1989: 384–394.
- /10/ Ritchie, G.A.: Chlorophyll fluorescence: What is it and what do the numbers mean? *USDA Forest Service Proceedings*. 2006: 34–43.

Poděkování

Uvedení práce vznikla za finanční podpory NutRisk Centre reg. č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000845.

Příspěvky do sborníku

HODNOTENIE TOLERANCIE VYBRANÝCH HYBRIDOV SLNEČNICE ROČNEJ NA IÓNY KADMIA

ASSESSMENT OF TOLERANCE OF SELECTED SUNFLOWER HYBRIDS TO CADMIUM IONS

Beáta Piršelová, Libuša Lengyelová, Ľudmila Galuščáková, Peter Boleček, Patrik Mészáros,
Roman Kuna

Univerzita Konštantína filozofa v Nitre, Fakulta prírodných vied a informatiky, Katedra
botaniky a genetiky, Nábřežie Mládeže 91, 949 74 Nitra, Slovenská republika, e-mail:
bpirselova@ukf.sk

Summary

In this work, we focused on the evaluation of the tolerance of six cultivars of sunflower (*Helianthus annuus* cvs. P64HE144, P64LE136, P64HE118, P64HE133, P62LE122 and P63LE25) to Cd²⁺ ions (100 mg/kg soil). After cultivating the cultivars in contaminated soil for 62 days, we evaluated the growth parameters (shoot length, fresh weight and dry matter content of roots and shoots, leaf area size) and determined the tolerance index (TI). In general, all tested cultivars show a high tolerance to Cd (TI 83,4-124,3 %). The inhibitory effect of Cd was manifested only in the case of cultivars P64HE118, P62LE122 and P64HE133 (shoot growth inhibition by 5,6-7,3 %) and cultivar P64HE144 (decrease in fresh weight of shoots by 10,5 %). The given results are the starting point for evaluating the remediation potential of the tested sunflower cultivars for soils contaminated with cadmium.

Key words: cadmium, Helianthus annuus L., growth, tolerance

Súhrn

V práci sme sa zamerali na hodnotenie tolerancie šiestich odrôd slnečnice ročnej (*Helianthus annuus* cvs. P64HE144, P64LE136, P64HE118, P64HE133, P62LE122 a P63LE25) na ióny Cd²⁺ (100 mg/kg pôdy). Po 62 dňoch pestovania v kontaminovanej pôde sme hodnotili rastové parametre (dĺžku výhonkov, čerstvú hmotnosť a obsah sušiny koreňov a výhonkov, veľkosť listovej plochy) a stanovili tolerančný index (TI). Všeobecne všetky odrody prejavili vysokú toleranciu na Cd (TI 83,4-124,3 %). Inhibičný účinok Cd sa prejavil iba v prípade odrôd P64HE118 a P64HE133 (inhibícia rastu výhonkov o 5,6 a 7,3 %) a odrody P64HE144 (pokles čerstvej hmotnosti výhonkov o 10,5 %). Dané výsledky sú východiskom pre zhodnotenie remediačného potenciálu testovaných odrôd slnečnice pre pôdy kontaminované kadmiumom.

Klíčová slova: kadmium, Helianthus annuus L., rast, tolerancia

ÚVOD

Kontaminácia pôd rizikovými prvkami predstavuje globálny problém. Predpokladá sa, že v celej EÚ je kontaminovaných vyše pol milióna lokalít, a pokiaľ tieto lokality nebudú identifikované a vyhodnotené, budú naďalej predstavovať potenciálne závažné environmentálne a zdravotné riziká. Ekologické problémy súčasnosti ako aj čoraz väčší dôraz na zdravie človeka vytvárajú tlak smerom k hľadaniu prírode blízkych spôsobov využitia resp. dekontaminácie zamorených pôd. Jednou z možných techník je použitie fyto-remediácie, t.j. pestovanie rastlín, ktoré sa vyznačujú schopnosťou hyperakumulácie ťažkých kovov na kontaminovanej pôde. Rastliny potenciálne vhodné na remediáciu pôd by mali vyhovovať nasledovným požiadavkám: vysoká akumulácia rizikových prvkov v pletivách bez výrazného

poškodenia rastlín, rýchly rast a značná produkcia biomasy, jednoduchosť agronomického manažmentu a ekonomický záujem o zbernú biomasu /1/. Doterajšie štúdie poukazujú na veľké rozdiely v akumulácii kovov medzi rastlinnými druhmi a tiež odrodami. Viaceré neúspešné experimenty s tolerantnými rastlinami v remedičných programoch sú pripisované práve prehliadnutiu environmentálnych interakcií špecifických pre genotyp.

Kadmium (Cd) je neesenciálny prvok pre rastliny a je považovaný za jeden z najtoxickejších ťažkých kovov v prostredí vďaka jeho vysokej mobilite v prostredí a schopnosti vyvolávať toxicitu už pri nízkych koncentráciách v organizmoch /2/. K zvyšovaniu obsahu kadmia v pôdach prispieva najmä aplikácia fosforečných hnojív, rôzne odpady vo forme kompostov a kaly z čistiarní odpadových vôd).

Slnečnica ročná (*Helianthus annuus*) patrí medzi plodiny s vysokým potenciálom pre remediáciu pôd kontaminovaných rizikovými prvkami (najmä Cd, Pb a Zn), je tolerantná voči viacerým kovom, je schopná ich akumulovať vo svojich pletivách, má veľkú biomasu a rýchly rast, pričom hybridné formy všeobecne vykazujú vyšší úrodový potenciál a vyššiu toleranciu voči rôznym abiotickým a biotickým faktorom prostredia. Mnohé doterajšie experimenty /3, 4/ poukázali na fyto-remedičný potenciál slnečnice, pričom praktických aplikácií v prirodzených podmienkach je zatiaľ pomerne málo /5, 6/. Problémom priamych aplikácií je často skutočnosť, že výsledky laboratórných testov nie sú reprezentatívne pre in situ podmienky a tiež vyššie spomínané prehliadnutie environmentálnych interakcií špecifických pre genotyp. Využitelnosť slnečnice v procese remediácie kadmia z metalicky zaťažených území je limitovaná toxicitou vyšších koncentrácií tohto prvku. Pri hodnotách 200 mg/kg pôdy dochádza k výraznému poklesu biomasy a objavujú sa evidentné symptómy toxicity typické aj pre iné rastliny /7/. Cieľom práce bolo zhodnotiť toleranciu štyroch hybridov slnečnice ročnej na ióny kadmia na základe rastových parametrov.

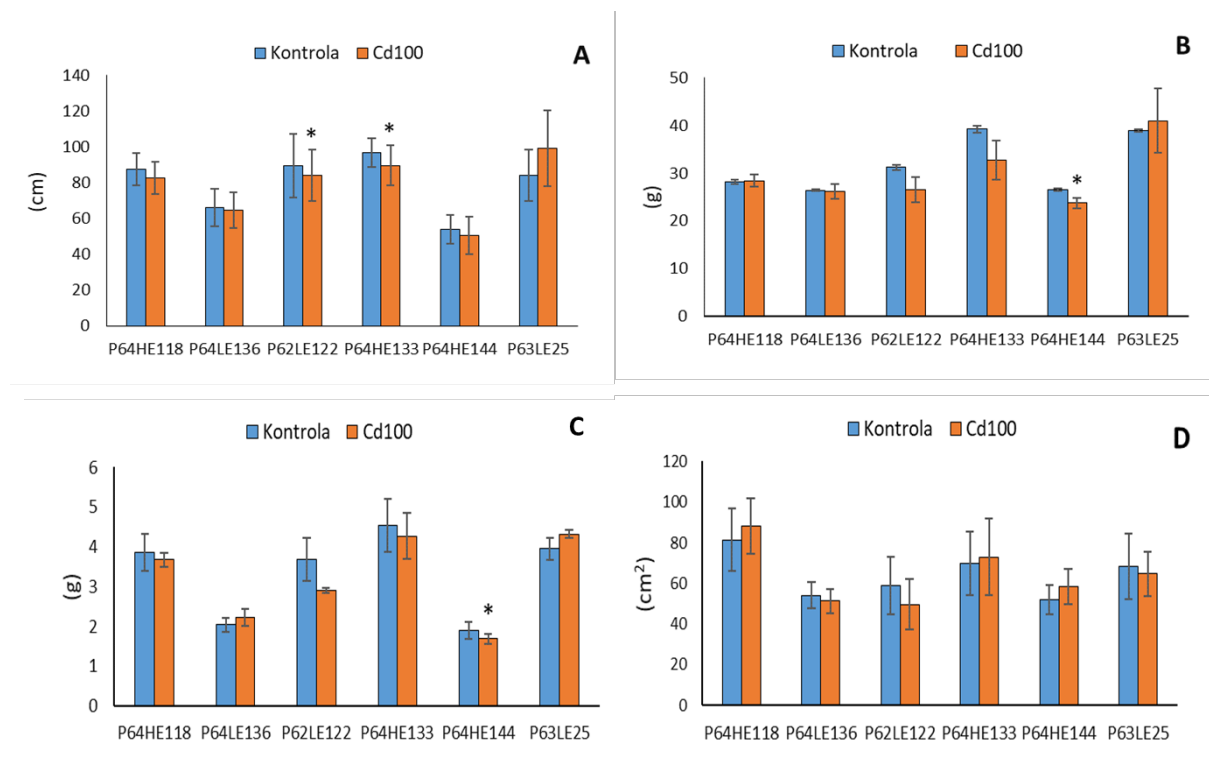
MATERIÁL A METÓDA

Semená šiestich odrôd slnečnice ročnej (*Helianthus annuus* cvs. P64HE144, P64LE136, P64HE118, P64HE133, P62LE122 a P63LE25) sme zasiali do pôdneho substrátu (TS2, Klasmann-Deilmann, Germany, EC 400 μ S, pH 6.5, stopové množstvá rizikových prvkov, vlhkosť max. 75 %) a pestovali po dobu 62 dní v rastovej komore Fitotron HGC 1514 (UK) pri fotoperióde 12/12 h, teplote 23 °C, priemernej intenzite osvetlenia 18 200 lx a vlhkosti vzduchu 60 %. Podmienky stresu boli v prípade stresovaných rastlín navodené aplikáciou 100 mg Cd^{2+} /kg substrátu vo forme $\text{CdCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ v prvej zálievke. Ďalšie zálievky boli aplikované podľa potreby v objeme maximálnej sorpčnej kapacity pôdy. Po ukončení pestovania sme výhonky oddelili od koreňov a určili nasledovné parametre: dĺžka výhonkov, obsah biomasy koreňov a výhonkov, relatívny obsah vody vo výhonkoch. Dĺžku výhonkov sme stanovili pomocou pásového metra. Po stanovení čerstvej hmotnosti koreňov a výhonkov sme pletivá sušili 48 hodín pri teplote 60 °C a stanovili obsah sušiny. Tolerančný index (TI) sme stanovili pre všetky hodnotené parametre podľa vzorca: $TI = (\text{hodnota parametra kontroly} / \text{hodnota parametra stresovanej rastliny}) \times 100$. Listovú plochu sme stanovili nepriamo (gravimetricky) na základe plochy a hmotnosti papiera veľkosti 10x10cm. Získané údaje sme podrobili štatistickým analýzám využitím programu MS Excel. Štatistickú významnosť rozdielov pri porovnávaní súborov sme stanovili Studentovým t-testom pri hladine $p < 0,05$. Analýzám sme podrobili 30 rastlín z troch biologických opakovaní experimentu.

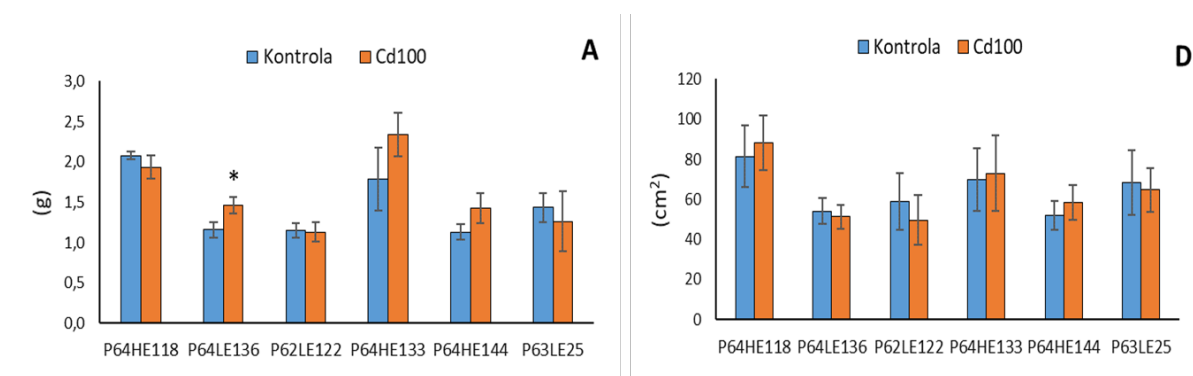
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na základe hodnotených parametrov sme zaznamenali pomerne vysokú toleranciu testovaných hybridov slnečnice na ióny Cd^{2+} . Inhibičný vplyv kadmia sa prejavil skrátením výhonkov o 5,6-7,3 % v prípade odrôd P64HE118, P62LE122 a P64HE133 a čerstvej hmoty výhonkov o 10,5 % u odrody P64HE144 (obr. 1A, tab. 1). V prípade hybridov P64LE136

a P64HE133 došlo k zväčšeniu biomasy koreňov o 26,5 % a 24,3 % (obr. 2, tab. 1). Najväčšiu biomasu výhonkov vytvorili za sledované obdobie odrody P64HE118, 64HE133 a P64LP140 (obr. 2 A-C). Nezaznamenali sme žiadne štatisticky významné zmeny vo veľkosti listovej plochy a tiež v obsahu sušiny výhonkov (obr. 1C, D, tab. 1). Zaujímavým zistením boli nepatrné zmeny v biomase koreňov, nakoľko väčšia časť Cd sa u slnečnice akumuluje v koreňoch /8/. Stimuláciu v rastových parametroch vplyvom nižších dávok Cd zaznamenali aj /9/.



Obr. 1: Vplyv kadmia-Cd (100 mg/kg pôdy) na dĺžku (A), čerstvú hmotnosť (B), obsah sušiny (C) výhonkov a veľkosť listovej plochy (D) hybridov slnečnice ročnej. Údaje zodpovedajú aritmetickému priemeru ± SDEV. * - štatisticky významný rozdiel oproti kontrole pri $p < 0,5$.



Obr. 2: Vplyv kadmia-Cd (100 mg/kg pôdy) na čerstvú hmotnosť (A) a obsah sušiny (B) koreňov hybridov slnečnice ročnej. Údaje zodpovedajú aritmetickému priemeru ± SDEV. * - štatisticky významný rozdiel oproti kontrole pri $p < 0,5$.

Viacere doterajšie štúdie /9, 10, 11/ poukázali na vysokú toleranciu slnečnice na Cd. V rámci iných štúdií /6/ však bola zaznamenaná signifikantná inhibícia rastu už pri dávke Cd 10 mg/kg pôdy /7/. Výsledky doterajších výsledkov tiež poukazujú na veľké rozdiely v akumulácii kovov medzi rastlinnými druhmi a tiež odrodami. Okrem genetického pozadia rastlín zohrávajú významnú úlohu v tolerancii a v akumulácii kovu ďalšie faktory: fyzikálno-

chemické vlastnosti pôdy (najmä pH), pôdna mikroflóra, koncentrácia kovov v pôde, klimatické podmienky atď.

Tab. 1: Hodnoty tolerančných indexov pre rastové parametre vybraných odrôd slnečnice ročnej.

	Dĺžka výhonov	Čerstvá hmotnosť výhonkov	Obsah sušiny výhonkov	Listová plocha	Čerstvá hmotnosť koreňov	Obsah sušiny koreňov
P64HE144	94,4	101,2	96	108,5	93	91,2
P64LE136	97,9	99,1	109,5	94,7	126,5	109,2
P64HE118	115,7	85,1	79,1	84,4	98,3	99,4
P64HE133	92,7	83,4	94,4	104,5	130,9	124,3
P62LE122	93,4	89,5	89,2	112,6	126,2	103,8
P64LP140	117,7	105,6	109,3	94,6	88	92,5

Farebne označené údaje predstavujú štatisticky významné zmeny oproti kontrole (100 %) pri $p < 0,5$

ZÁVER

Záverom možno skonštatovať, že testované hybridy slnečnice prejavili na základe hodnotených parametrov vysokú toleranciu (83,4-124,3) na ióny Cd, čo je prvým predpokladom využitia tejto plodiny v remedičných programoch. Stanovenie obsahu Cd v pletivách slnečnice umožní zhodnotiť aj ich akumulčný potenciál s cieľom vyselektovať hybridy s najnižšou a najvyššou schopnosťou akumulovať Cd.

LITERATÚRA

- /1/ Raskin, I., Smith R.D., Salt D. E.: Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment, *Current Opinion in Biotechnology*, 8, 1997: 221–6.
- /2/ Ducsay, L.: Obsah chlorofylu, kadmia a zinku v listoch slnečnice v podmienkach Cd a Zn stresu. *Chemické Listy*, 105, 2011: 269–272.
- /3/ De Maria, S., Puschenreiter, M., Rivelli, A.R.: Cadmium accumulation and physiological response of sunflower plants to Cd during the *vegetative growing cycle*. *Plant Soil and Environment*, 59, 2013: 254–261
- /4/ Rivelli, A.R., Puschenreiter, M., De Maria, S.: Assessment of cadmium uptake and nutrient content in sunflower plants grown under Cd stress, 60, 2014, 80–86.
- /5/ Nehnevajova, E., Herzig, R., Bourigault, C., Bangerter, S., Schwitzgubel, J.P.: Stability of enhanced yield and metal uptake by sunflower mutants for improved phytoremediation. *International Journal of Phytoremediation*, 11, 2009: 329–346.
- /6/ Kacáľková, L., Tlustoš, Jiřina Száková: Chromium, nickel, cadmium, and lead accumulation in maize, sunflower, willow, and poplar, *Polish Journal of Environmental Studies*, 23, 2014: 753-761.
- /7/ Alaboudi, K.A., Ahmed, B., Brodie, G.: Phytoremediation of Pb and Cd contaminated soils by using sunflower (*Helianthus annuus*) plant. *Annals of Agricultural Sciences*, 63, 2018: 123–127.
- /8/ de Andrade, S.A.L., da Silveira, A.P.D., Jorge, R.A., de Abreu, M.F. Cadmium accumulation in sunflower plants influenced by arbuscular mycorrhiza. *International Journal of Phytoremediation*, 10, 2008: 1-13.
- /9/ Chhotu, D., Jadia, M., Fulekar, H.: Phytoremediation: the application of vermicompost to remove zinc, cadmium, copper, nickel and lead by sunflower plant. *Environmental Engineering and Management Journal*, 7, 2008: 547–558.
- /10/ Chirakkara, R.A., Reddy, K.R.: Biomass and chemical amendments for enhanced phytoremediation. *Ecological Engineering*, 85, 2015: 265-274.
- /11/ Rizwan, M., Ali, S., Rizvi, H., Rinklebe, J., Tsang, D.C.W., Meers, E., Ok, Y.S., Ishaque, W.: Phytomanagement of heavy metals in contaminated soils using sunflower: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 46(18), 2016: 1498-1528.

/12/ Govarthanana, M., Mythilib, R., Selvankumarb, T., Kamala-Kannanc, S., Kima, H.: *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 151, 2018: 279-284.

Pod'akovanie

Uvedená práca bola podporená projektom VEGA 1/0415/18 a APVV18-0154.

ZBLOCHANEC ODDÁLENÝ A ROSIČKA KRVAVAVÁ ROSTOUCÍ V TĚSNÉM OKRAJI SILNIC

PUCCINELLIA DISTANS AND DIGITARIA SANGUINALIS GROWING IN THE CLOSE EDGE OF ROADS

Božena Šerá, Lenka Laxová

Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislavě, Ilkovičova 6, Bratislava,
Slovensko, bozena.sera@uniba.sk

Summary

The aim of the work was the determination of phenological phases and the exchange of dominance during the growing season in *Puccinellia distans* and *Digitaria sanguinalis*. Both grass species were monitored in the common area of linear vegetation around roads with increased salt content in the soil. The method of procedure and exchange of phenological phases confirmed the adaptation of the native (*P. distans*) and invasive (*D. sanguinalis*) species to the conditions of the saline soil.

Key words: *Digitaria sanguinalis*, halophyte, phenological phase, *Puccinellia distans*, road, soil salinity

Souhrn

Předmětem práce bylo stanovení fenologických fází a výměny dominance během vegetační sezóny u zblochance oddáleného (*Puccinellia distans*) a rosičky krvavé (*Digitaria sanguinalis*). Oba travní druhy byly sledovány ve společném prostoru liniových vegetačních porostů kolem silnic se zvýšeným obsahem solí v půdě. Způsob postupu a výměny fenologických fází potvrdil přizpůsobení původního (*P. distans*) a invazivního (*D. sanguinalis*) druhu podmínkám zasolené půdy.

Klíčová slova: *Digitaria sanguinalis*, fenologická fáze, halofyt, *Puccinellia distans*, salinita půdy, silnice

ÚVOD

Silnice představují poměrně výrazný antropogenní prvek v krajině, který zpravidla narušuje celistvost okolní krajiny /1/. Významným faktorem ovlivňujícím vegetaci v okolí komunikací je zimní údržba, zvláště pak ošetřování vozovky solením. K chemickému ošetřování zmrzlých vozovek se používá zejména posypová sůl (např. chlorid sodný). Po aplikaci posypové soli se chlorid sodný při tání sněhu a ledu dostává do okolní půdy. Zvýšené množství chloridu sodného v půdě, mění její salinitu a strukturu /1,2/. Závažnost vlivu na vegetaci při okraji silnic má přítomnost nebo naopak absence odtokových kanálů. V případě, že k silnici nepřiléhá odtokový kanál či obrubník, který by odváděl splachy z vozovky, je umožněno přímé vstřebávání roztoků soli do půdy.

Rostliny ve vegetačním pásu přiléhajícím k silnici jsou zvýšenou salinitou stresovány a reagují adaptací na toto ojedinělé prostředí. Vznikají tak specifická lineární společenstva rostlin rostoucích na takto kontaminované půdě. Následně dochází ke kompetici mezi jednotlivými druhy, přičemž jsou zvýhodněny halofytní či sůl tolerantní druhy.

Přibližně 1 % pevninských rostlinných druhů je schopno přežít a rozmnožovat se v zasolených půdách /3/. Zvýšená salinita půdy je pro ně nezbytnou podmínkou k životu. Jedná se halofytní (slanobytné) rostliny, které jsou vázány na slaná stanoviště a jsou schopné růst v půdě

s koncentrací solí více než 0,2-0,5 % /4,5/. Hlavními půdními faktory pro rozšíření halofytních rostlin je zastoupení chlorných, draselných a siřičitanových iontů /6/. Ve vegetaci těsného okraje dominují zpravidla nepůvodní halofytní druhy rostlin, které jsou přizpůsobené k extrémním životním podmínkám, které jsou svázané navíc se sluneční radiací a vysokou vysychavostí substrátu /7/.

METODIKA

Na okraji silnic (první, druhé i třetí třídy) v okolí města České Budějovice bylo sledováno sedm lokalit; jednalo se o pruhy v těsné blízkosti asfaltu široké 15-50 cm a dlouhé cca 200 m. Monitorován byl vývoj zblochance oddáleného (*Puccinellia distans* (Jacq.) Parl.) a rosičky krvavé (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.), určeno dle /8/. Při návštěvě lokalit byla měřena konduktivita, vlhkost a teplota půdy. Pro měření těchto parametrů půdy byl použit měřicí přístroj Moisture meter MH2, ver. 4.0 SM300. Detailní metodický postup (viz /9/).

Vývoj rostlin byl charakterizován jako sled identifikovaných fenologických fází, kdy fenologické fáze *P. distans* byly kompletně převzaty /10/ a pro fenologické fáze *D. sanguinalis* byl použit modelový druh srha říznačka (*Dactylis glomerata* L.) /10/, s doplněním tří mezistupňů tak, aby došlo k detailnějšímu popisu fenologických fází v průběhu vegetační sezóny (viz Appendix).

VÝSLEDKY

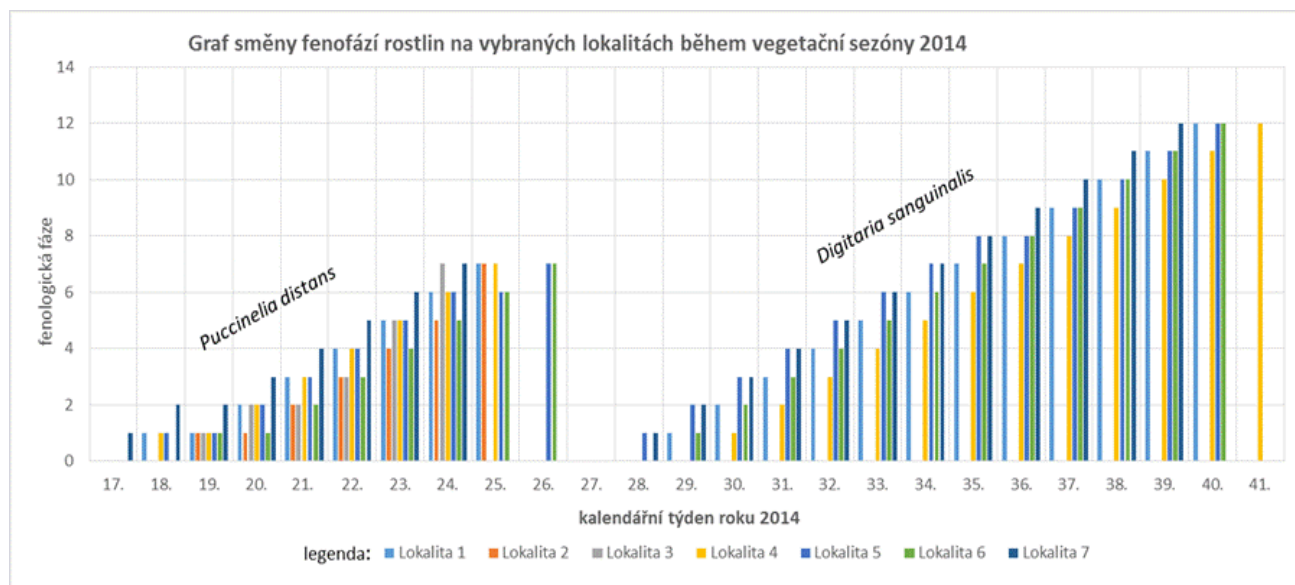
Průměrné hodnoty konduktivity, teploty a vlhkosti půdy naměřené na sledovaných lokalitách jsou prezentovány v Tabulce 1.

Druh *P. distans* rostl na všech sedmi lokalitách. Jeho vegetační sezóna začala v 17. týdnu (21.4.–27.4.) a končila v 26. týdnu (23.6.–29.6.). Výskyt *D. sanguinalis* se potvrdil na pěti lokalitách, přičemž vegetační sezóna začala v 28. týdnu (7.7.–13.7.) a končila v 41. týdnu (6.10.–12.10.). Směna fenologických fází zblochance oddáleného a rosičky krvavé v časovém sledu po jednotlivých týdnech je graficky vyjádřena na Grafu 1.

Nepotvrdily se korelace fenologických fází s některými charakteristikami lokalit. Typ silnic (první, druhá nebo třetí třída) se nijak neprojevil na velikosti populací, či nástupu fenologických fází. Rovněž nebyl zjištěn vztah mezi nástupem počátečních fenofází a orientací silnice vzhledem ke světovým stranám.

Tab. 1: Průměrné hodnoty parametrů půdy těsného okraje u sledovaných silnic.

Roční období	Zima	Jaro	Léto	Podzim
Konduktivita půdy (dS/m ²)	6,55	4,85	1,61	1,02
Teplota půdy (°C)	6,74	12,41	28,97	12,46
Vlhkost půdy (%)	31,3	29,74	26,26	20,09



Graf 1: Časový sled jednotlivých fenologických fází rosičky krvavé a zblochance oddáleného. Přehled označení fenologických fází je v Appendixu.

DISKUSE

Mezi typická stanoviště výskytu *P. distans* patří slané, mírně podmačené, jílovité až písčité půdy. Hojně se vyskytuje i na slaniskách ve vnitrozemí a tím pádem i na těsném okraji silnic. Přírodním stanovištěm pro *P. distans* jsou mořská pobřeží, vnitrozemská slaniska a slané stepi. Díky zimní údržbě je poměrně hojnou trávou i u nás. U okraje silnic se tvoří 20 až 30 cm široký pás, který je tímto druhem hojně osidlován /12/. *D. sanguinalis* se často vyskytuje v plevelových společenstvech zahrad, polí, vinic a na urbanizovaných travnatých plochách. Tento invazivní druh se původně vyskytoval pouze v mediteránní oblasti, avšak dnes je rozšířen téměř do celého světa /11,12/.

Počátek, konec a průběh vegetační sezóny obou druhů *P. distans* a *D. sanguinalis* se pravděpodobně vyvíjí nejen od teplotních podmínek a množství srážek, ale také od ročního období a množství solí v půdě. Druh *P. distans* vegetačně předchází druhu *D. sanguinalis*, a pokud rostou na společném stanovišti, tak se během vegetační sezóny vystřídají (Graf 1). Každý rok bude průběh růstu obou druhů probíhat pravděpodobně přibližně ve stejném období. Tato směna dominant na jednom stanovišti je možná jednak díky posunu růstu druhů, ale také díky měnící se salinitě půdy během roku (Tabulka 1).

Míra konduktivity v půdě měla na lokalitách od zimy do podzimu klesající trend (Tabulka 1). V zimě probíhá chemická údržba vozovek posypovou solí. Ta se postupně spolu s tajícím sněhem dostává do půdy a nasýtí půdní roztok. Během jara a léta je srážkovou vodou množství iontů vymýváno z půdního profilu a konduktivita klesá. Na podzim je hodnota konduktivity nejnižší, což svědčí o poklesu množství soli v půdě vymýváním srážkovou vodou z povrchových vrstev. Následující zimu opět probíhá chemická údržba, která opět půdní profil dosytí solnými ionty.

Nutno zmínit, že významné jsou také splachyz přílehlých zemědělských pozemků. Kvůli přihnojování jsou zemědělské půdy bohaté na různé ionty, které ovlivní depozici iontů v půdním profilu. Následně dochází k zúrodnění půdy na některých lokalitách /13/.

Výskyt druhů v těsném okraji silnic je také ovlivněn činností majitelů přílehlých pozemků, kteří pečují o nevídané plevelné druhy sečením nebo herbicidy. Faktorem, který pravděpodobně velmi silně ovlivňuje růst a vývoj druhů je sečení těsných okrajů silnic. V případě posečení rostliny v určité fenologické fázi, může dojít k posunu nebo k výpadku nějaké

z následujících fází. V neposlední řadě mohou vývoj rostlin ovlivňovat automobily, které vyjíždí mimo vozovku, dopravní nehody, výkopové práce apod.

ZÁVĚR

Zblochanec oddálený (*P. distans*) a rosička krvavá (*D. sanguinalis*) jako fenomén těsného okraje silnice jsou zajímavým příkladem fungování ekologických vztahů v rostlinném společenstvu. Oba druhy rostoucí v těsném okraji silnice ukázaly, že mezi nimi nedochází k zásadní kompetici. Jedná se o příklad populační dynamiky, kdy se dva druhy ve svých životních cyklech na společném prostoru střídají. Děje se takto pravděpodobně každou vegetační sezónu na základě jejich biologických hodin a mění se salinity půdy.

LITERATURA

- /1/ Forman R.T. et al.: Road ecology: science and solutions. Washington DC: Island Press, 2003.
- /2/ Spellerberg I.F.: Ecological effects of roads. Enfield NH: Science, Publishers, 2002
- /3/ Flowers T.J., Colmer T.D.: Salinity tolerance in halophytes. New Phytologist 2008, 179: 945-963.
- /4/ Cacador I., Vale C., Catarino F.: Seasonal variation of Zn, Pb, Cu and Cd concentrations in the root-sediment system of *Spartina maritima* and *Halimione portulacoides* from Tagus estuary salt marshes. Marine Environment Research 2000, 49: 279.
- /5/ Motřková K., Podlípá R., Vaněk T., Kafka Z.: Halofytní rostliny a jejich možné využití ve fytořemediacích. Chemické Listy 108, 2014: 586-591.
- /6/ Piernik A.: Inland halophilous vegetation as indicator of soil salinity. Basic and Applied Ecology 2003, 4(6): 525-536.
- /7/ Šerá, B.: Road-side herbaceous vegetation: Life history groups and habitat preferences. Polish Journal of Ecology 2010, 58: 69-79.
- /8/ Kaplan Z. et al.: Klíč ke květeně České republiky. Praha: Academia, 2019.
- /9/ Laxová L.: Zblochanec oddálený a rosička krvavá jako fenomén těsného okraje silnice. MS, Pedagogická fakulta JU v Č. Budějovicích, 2015.
- /10/ Coufal L.: Fenologický atlas. Praha: Český hydrometeorologický ústav, 2004.
- /11/ Grau J.: Trávy: lipnicovité, šáchorovité, sítinovité a rostliny podobné travám Evropy. Praha: Knižní klub, 2002.
- /12/ Pyšek P. et al.: Catalogue of alien plants of the Czech Republic (2nd edition): checklist update, taxonomic diversity and invasion patterns. Preslia 2012, 84: 155-255.
- /13/ Akbar K.F., Hale W.H.G., Šerá B., Asfrat I.: Phytometric assessment of fertility of roadside soils and its relationship with major nutrients. Polish Journal of Environmental Studies 2012, 21: 1141-1145.

Poděkování

Výzkum byl podpořený projektem VEGA 1/0155/19 „Vplyv cestných komunikácií na biotu poľnohospodárskej krajiny v podmienkach zmeny klímy“

APPENDIX

Přehled použitých fenologických fází pro *P. distans* (tabulka A) a *D. sanguinalis* (tabulka B).

Číselné označení fenologické fáze	Označení fenologické fáze	Název fenologické fáze	Popis fenologické fáze
1	1 PL	První listy	Mezi loňskou sušinou začínají vyrážet první listy svinuté do pochvy.
2	1 A	Butonizace a prodlužování	Květenství částečně vyčnívá z pochvy nejvyššího listu, je směštané, má zcela zelenou barvu.
3	2 FK	Počátek kvetení	Květenství výrazně přečnívá nejvyšší list, je rozvolněné, z klásků vyčnívají tyčinky.

A

4	2 A	Průběh kvetení	Plně rozvinuté květenství.
5	3 KK	Konec kvetení	Vadnutí tyčinek, ztráta jejich barvy, jejich postupné odpadávání.
6	3 A	Počátek zrání	Téměř všechny tyčinky odpadly, klásek začíná ztrácet jasně zelenou barvu, postupně zraje.
7	4 ZP	Zralost plodů	Stébla jsou nahoře zaschlá, květenství jsou částečně směštaná a dají se z nich poměrně lehce uvolnit zralé obilky.

B

Číselné označení fenologické fáze	Označení fenologické fáze	Název fenologické fáze	Popis fenologické fáze
1	1 VZ	Vzcházení	Na povrchu půdy jsou vidět první rozvíjející se listy.
2	2 OD	Počátek odnožování	Založení odnože v paždí koleoptile
3	3 PP	Počátek prodlužování	Pochva předposledního, již vyvinutého listu vyčnívá asi o 2 až 3 cm z pochvy listu.
4	4 FN	První kolénko	Rozšířené a na omak tvrdé místo nad bází naznačuje, kam až uvnitř rostliny prorostl vzrostlý vrchol.
5	5 DN	Druhé kolénko	Vznik druhého kolénka.
6	6 NP	Naduření pochvy	Pochva posledního listu je většinou naduřelá, ještě se však nerozevírá.
7	7 ME	Metání	Z rostliny vyčnívá zhruba polovina květenství.
8	8 FK	Počátek kvetení	Nenápadné kvetení, pozorovatelné tyčinky s prašníky.
9	9 KK	Konec kvetení	Tyčinky jsou již zaschlé i v dolní části klásku, v jeho střední části se již začínají nalévat zrna.
10	10 ZM	Méčná zralost	Rostlina je převážně ještě zelená, plody jsou však již dorostlé do konečné velikosti.
11	6 NP	Žlutá zralost	Plevy již žloutnou, zrno má tvárný obsah.
12	12 ZP	Plná zralost	Kolénka v dolní a střední části jsou již zaschlá a zežloutlá, zrno je tvrdé.

PROFILY PBA POLYMORFIZMU SLOVENSKÝCH ODRŮ LÁSKAVCA V PROSTŘEDÍ RASTU KONTAMINOVANÉHO KADMIOM

PBA POLYMORPHISM PROFILES OF SLOVAK AMARANTH VARIETES GROWING UNDER CADMIUM

Jana Žiarovská¹, Veronika Štefúnová¹, Andrea Hricová²

¹Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FAPZ, ÚREV, Tr. A. Hlinku 2; 949 76 Nitra;
jana.ziarovska@uniag.sk

²Slovenská akadémia vied, CBRB, ÚGBR, Akademická 969, 949 01 Nitra

Summary

In this study, application potential of generate the polymorphism of PBA technique was screened for amaranth plants growing under the stress of cadmium. Two slovak varieties of amaranth were used – „Pribina“ (*A. cruentus*) and „Zobor“ (*A. hypochondriacus x A. hybridus*). Three different primer combinations were used and for all of them, different fingerprints were generated among control and stressed plants. In the case of one primer combination, unique fragments were generated.

Key words: cadmium, amaranth varieties, PBA polymorphism

Súhrn

V práci bol hodnotený aplikačný potenciál PBA markérovacej techniky na účely analýzy celogenómového polymorfizmu láskavca rastúceho v prostredí kontaminácie kadmium. Analyzované boli dve slovenské odrody láskavca „Pribina“ (*A. cruentus*) and „Zobor“ (*A. hypochondriacus x A. hybridus*). Použité boli tri primérové kombinácie a v prípade všetkých boli zaznamenané odlišné profily pre kontrolné rastliny a rastliny vystavené stresovému faktoru prítomnosti kadmia v rastovom médiu. V prípade jednej z použitých primérových kombinácií bol zaznamenané jedinečné fragmenty.

Kľúčová slova: kadmium, láskavec, profily PBA, odrôdy

ÚVOD

Kontaminácia pôd ťažkými kovmi sa stala vážnou hrozbou pre ľudskú populáciu, poľnohospodárstvo a potravinovú bezpečnosť. Antropogénne aktivity sú významnými zdrojmi kovov a metaloidov v životnom prostredí, a to najmä prostredníctvom rýchlej industrializácie a urbanizácie, baníctva a poľnohospodárskych postupov, ako je nekontrolovaná aplikácia hnojív a pesticídov /1,2/. Najnebezpečnejšie sú neesenciálne kovy ako kadmium (Cd), olovo (Pb), ortuť (Hg) a arzén (As). Tieto prvky nemajú žiadnu biochemickú ani fyziologickú funkciu a spôsobujú významné poškodenie živých systémov, na rozdiel od esenciálnych kovov (Mn, Zn, Fe a Cu), ktoré sú v nízkych koncentráciách prospešné /3/.

Rastliny sa dokážu vyrovnat' s kontamináciou pôdy ťažkými kovmi rôznymi spôsobmi na základe ich schopnosti detoxikovať toxické kovy. Vo všeobecnosti boli opísané tri skupiny rastlín: a) indikátory charakterizované ako citlivé na prítomnosť ťažkých kovov v pôde, b) vylučovače schopné tolerovať vysoké zaťaženie ťažkých kovov bez ich akumulácie a c) hyperakumulátory schopné nie len tolerovať, ale aj akumulovať vysoké koncentrácie špecifických ťažkých kovov /4,5/. Definícia ideálneho hyperakumulátora je rýchlo rastúca rastlina s vysokou produkciou biomasy s rozsiahlou koreňovou architektúrou, ktorá akumuluje

většinu těžkých kovů ve výhoncích /6/. V současnosti se v rámci krytosemenných rostlin uvádí přibližně 500 hyperakumulátorů /7,8/.

V případě *Amaranthus* spp. bylo realizovaných více štúdií zameraných na špecifiká rastu, transportovateľnosť a akumuláciu kovů ako aj schopnosť ich odstraňovania /9-11/.

Tvorba celogenómových profilů rastlín je v súčasnosti aktuálna vo veľmi širokých aplikačných smeroch, od základnej charakteristiky odrůd až po špecifické otázky asociálneho mapovania /12,13/. V štúdiu boli na účely celogenómového mapovania odrůd ľaskavca rastúceho pod záťažou kadmia v rastovom médiu PBA markéry /14/, ktoré analyzujú dĺžkový polymorfizmus medzi sekvenciami cytochrómu P450.

MATERIÁL A METÓDY

Pre analýzy PBA boli použité koreňky slovenských odrůd ľaskavca „Pribina“ (*A. cruentus*) and „Zobor“ (*A. hypochondriacus* x *A. hybridus*), ktoré boli dopestované v hydroponickom režime vo verzii kontrolných rastlín a pri koncentrácii kadmia 15 mg/L na základe výsledkov analýzy exprese vybraných génů /15/. Izolácia genomickej DNA bola uskutočnená ako zmesná DNA z piatich koreňkų izoláčným kitom GeneJet Plant Genomic Purification kit podľa protokolu výrobcu a metodický postup aplikácie PBA markérov bol realizovaný podľa metodiky /16/.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na analýzu profilů dĺžkového polymorfizmu odrůd ľaskavca rastúceho pod záťažou kadmia v rastovom médiu pomocou techniky PBA bola použitá sekvencia cytochrómu P450, ktorá bola predlohou design primérov v tejto markérovacej technike. Cytochróm P450 gény sú v genóme rastlín bohato zastúpené, čo vytvára predpoklad tvorby polymorfných genetických odtlačkov použitím univerzálnych prajmerů. Univerzálné použiteľné prajmery pre techniku polymorfizmu analógů cytochróm P450 mono-oxigenáz sú navrhované tak, aby susedili s oblasťami intrónů. Tieto mono-oxigenázy sú vysoko zastúpené v rastlinách, živočíchoch aj mikroorganizmoch, čo robí tento markérovací systém univerzálné použiteľným. V rastlinách sa mono-oxigenázy zúčastňujú procesů oxidatívnej detoxikácie a biosyntézy sekundárnych metabolitů /17/ a boli popísané aj ako súčasť modulačných mechanizmov odpovede na stres vyvolávaný ťažkými kovmi /18/.

Počet úrovni amplifikovaných fragmentů získaných kombináciou jednotlivých primérov bol v rozpätí 25-34 fragmentů (tabuľka 1), pričom vo všetkých profiloch bola zaznamenaná zmena rastlín rastúcich pod záťažou kadmia v porovnaní s kontrolnými rastlinami.

Tabuľka 1. Charakteristiky PBA amplifikačných profilů analyzovaných odrůd ľaskavca.

Primérová kombinácia	Pribina		Zobor		Odlíšenie kontrolných a ovplyvnených rastlín
	Počet fragmentů celkovo	Jedinečné fragmenty	Počet fragmentů celkovo	Jedinečné fragmenty	
CYPA1F+R	25	nie	28	nie	áno
CYP2BF+R	29	áno	25	áno	áno
CYP2CF+R	34	nie	32	nie	áno

V prípade primérovej kombinácie CYP2BF+R boli pri oboch analyzovaných odrodách okrem odlišných amplifikačných profilů zaznamenané aj jedinečné fragmenty, ktoré odlišovali odrody kontrolných rastlín medzi sebou. V prípade ostatných dvoch primérových kombinácií boli PBA profily pri kontrolných rastlinách oboch odrůd zhodné, odlišnosť bola zaznamenaná len pre rastliny vystavené stresu pôsobenia kadmia. V prípade všetkých troch primérových kombinácií sa primárne amplifikovali lokusy s dĺžkou nad 500 bp. Pri rastlinách

rastúcich v podmienkach stresu boli v profiloch zaznamenané najmä adície lokusov v dĺžkach 850 bp (Pribina) a 1020 bp (Zobor) pre primérovú kombináciu CYP1F+R; 1000 bp (Pribina, Zobor) a 1500 (Pribina, Zobor) bp pre primérovú kombináciu CYP2BF+R a 700 bp (Zobor) pre primérovú kombináciu CYP2CF+R.

V predchádzajúcej štúdií /16/ bolo pre obe analyzované odrody láskavca preukázaná schopnosť prijať značné množstvo Cd, pričom väčšina Cd zistená analýzou ICP-OES bola uložená v koreňových tkanivách, len s malou distribúciou do nadzemnej biomasy, so stanovenými hodnotami translokačného faktora < 1 . Druhy rastlín s malým podielom bočných koreňov a s $TF < 1$ vykazujú fytostabilizačný potenciál a rastliny s $TF > 1$ sú klasifikované ako akumulátory/hyperakumulátory /19/. Väčšina rastlín však patrí do skupiny, ktorá je schopná tolerovať ťažké kovy v pôde s obmedzenou translokáciou /20/. Pre translokáciu kadmia z koreňov do výhonkov bola pre obe analyzované odrody láskavca pozorovaná negatívna korelácia medzi koncentráciou kadmia a hodnotami translokačného faktora, pričom v prípade odrody Pribina výsledky štúdie /16/ vynikajúcu schopnosť transportu kadmia z koreňov.

ZÁVER

V štúdií sme sa zamerali na možnosti aplikácie PBA markérov a ich schopnosti generovať polymorfizmus v prípade rastlín láskavca rastúceho pod stresom ťažkého kovu prítomného v rastovom médiu. V prípade oboch analyzovaných slovenských odrôd láskavca boli získané rozdielne profily pre kontrolné rastliny a rastliny rastúce v prostredí stresu prítomnosti kadmia.

LITERATÚRA

- /1/ Wuana RA, Okieimen FE. Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. ISRN Ecol. 2011.
- /2/ Khan MA, Khan S, Khan A, Alam M. Soil contamination with cadmium, consequences and remediation using organic amendments. *Sci. Total Environ.* 2017, 601, 1591–1605.
- /3/ Ali H, Khan E, Sajad MA. Phytoremediation of heavy metals—Concepts and applications. *Chemosphere.* 2013, 91, 869–881.
- /4/ Küpper H, Leitenmeier B. Cadmium-Accumulating Plants. In *Cadmium: From Toxicity to Essentiality*; Sigel, A., Sigel, H., Sigel, R.K.O., Eds.; Springer Science Business Media: Dordrecht, The Netherlands, 2013.
- /5/ Leitenmeier B, Küpper H. Compartmentation and complexation of metals in hyperaccumulator plants. *Front. Plant Sci.* 2013, 4, 374.
- /6/ Yang X, Feng Y, He Z, Stoffella PJ. Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2005, 18, 339–353.
- /7/ Rascio N, Navari-Izzo F. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Sci.* 2011, 180, 169–181.
- /8/ Muszynska E, Hanus-Fajerska E. Why are heavy metal hyperaccumulating plants so amazing? *Bio Technol.* 2015, 4, 265–271.
- /9/ Jonnalagadda S, Nenzou G. Studies on arsenic rich mine dumps. II. The heavy element uptake by vegetation. *J. Environ. Sci. Health* 1997, 32, 455–464.
- /10/ Bigaliev A, Boguspaev K, Znanburshin E. Phytoremediation potential of *Amaranthus* sp. for heavy metals contaminated soil of oil producing territory. In *Proceedings of the 10th Annual International Petroleum Environmental Conference*, Houston, TX, USA, 12–14 November 2013.
- /11/ Prasad M. Phytoremediation of Metal-Polluted Ecosystems: Hype for commercialization. *Russ. J. Plant Physiol.* 2003, 50, 686–700.
- /12/ Gupta PK, Kulwal PL, Jaiswal V. Association mapping in crop plants: opportunities and challenges. *Advances in Genetics*, 2014, 85, 109–147.
- /13/ Balážová Ž, Gálová Z, Vivodík M, Petrovičová L, Hornýák Gregáňová R. Molecular variability of oat based on genetic specific markers. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 2017, 11, 332–337.
- /14/ Inui H, Komada T, Ohkawa Y, Ohkawa H. Herbicide metabolism and cross-tolerance in transgenic potato plants co-expressing human CYP1A1, CYP2B6 and CYP2C19. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2000, 66, 116–129.
- /15/ Lancíková V, Tomka M, Žiarovská J, Gažo J, Hricová A. Morphological response and gene expression of grain amaranth (*Amaranthus* spp.) growing under Cd. *Plants*, 2020, 9, 572.

- /16/ Žiarovská J, Štefůnová, V. Kysel, M. Bežo, M. Analýza odrůd pšenice letnej s rôznou odolnosťou voči suchu markérmí kódujúcich oblastí. In: Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2017. Praha: ČZU, 2017, 212-215. ISBN 978-80-213-2767-2.
- /17/ Yamanaka S, Suzuki E, Tanaka M, Takeda Y, Watanabe JA, Watanabe KN. Assessment of cytochrome P450 sequences offers a useful tool for determining genetic diversity in higher plant species. *Theoretical and Applied Genetics*, 2003, 108, 1–9.
- /18/ Rai A, Singh R, Shirke PA, Tripathi RD, Trivedi PK, Chakrabarty D. Expression of rice CYP450-like gene (os08g01480) in arabidopsis modulates regulatory network leading to heavy metal and other abiotic stress tolerance. *PLoS ONE*. 2015;10:e0138574.
- /19/ Baker AJM, Walker PL. Ecophysiology of Metal Uptake by Tolerant Plants. In *Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects*; Shaw, A.J., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 1990; pp. 155–177.
- /20/ Baker AJM. Accumulators and excluders-strategies in the response of plants to heavy metals. *J. Plant Nutr.* 1981, 3, 643–654.

Pod'akovanie

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory projektu VEGA 2/0013/22 Plasticita láskavca v odpovedi na ťažké kovy: viacstupňová analýza od ekofyziologických po molekulárne aspekty.

MÔŽE ALGINIT ELIMINOVAŤ SOĽNÝ STRES PRI KLÍČENÍ SEMIEN LUCERNY SIATEJ (*MEDICAGO SATIVA* L.)?

CAN ALGINITE ELIMINATE SALT STRESS DURING SEED GERMINATION OF ALFALFA (*MEDICAGO SATIVA* L.)?

Peter Kovár, Ľuboš Vozár, Peter Hric

Ústav agronomických vied, FAPZ SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra,
peter.kovar@uniag.sk

Summary

The effect of crushed alginite on the elimination of salt stress during seed germination was observed under controlled conditions of the climatic chamber (26 °C/15 °C; 12 h light/12 h dark; 70 % rh) in an experiment with alfalfa (*Medicago sativa* L.). A 10 mM NaCl solution was used to simulate salt stress. For this experiment, 5 treatments were designed: V1 – control without alginite; V2 – 1.95 g of alginite; V3 – 3.90 g of alginite; V4 – 5.85 g of alginite; and V5 – 7.80 g of alginite per 1 dish with size 120 x 120 mm. Overall, there was a positive effect of alginite with the most pronounced effect at the dose of 1.95 g alginite on total germination (+13.99%) and germination rate (+0.45 seeds.day⁻¹) of alfalfa seeds and at the dose of 5.85 g alginite on root length (+35 mm) compared to the control without alginite.

Key words: germination, alginite, salt stress, alfalfa

Súhrn

V riadených podmienkach klimakomory (26 °C/15 °C; 12 h svetlo/12 h tma; 70 % rh) v pokuse s lucernou siatou (*Medicago sativa* L.) sa sledoval vplyv drveného alginitu na elimináciu soľného stresu pri klíčení semien. Na simuláciu soľného stresu sa použil 10 mM roztok NaCl. Pre tento experiment bolo vytvorených 5 variantov: V1 – kontrola bez alginitu; V2 – 1,95 g alginitu; V3 – 3,90 g alginitu; V4 – 5,85 g alginitu a V5 – 7,80 g alginitu na 1 misku s veľkosťou 120 x 120 mm. Z celkového hľadiska sa prejavil pozitívny účinok alginitu s najvýraznejším prejavom pri dávke 1,95 g alginitu na celkovú klíčivosť (+13,99 %) a rýchlosť klíčenia (+0,45 semien.deň⁻¹) semien lucerny siatej a pri dávke 5,85 g alginitu na dĺžku koreňa (+35 mm) v porovnaní s kontrolou bez alginitu.

Kľúčové slová: klíčenie, alginit, soľný stres, lucerna siata

ÚVOD

Zasolenie pôdy sa v čoraz väčšej miere stáva hrozbou pre pestovanie rastlín vo svete. Dôvodom salinity je predovšetkým nevhodný režim zavlažovania. Poľnohospodárske i iné pôdy môžu byť vážne kontaminované i v dôsledku nadmerného používania pesticídov a priemyselných hnojív /7/. Ak sa v rastline vplyvom zasolenia hromadia soli, dochádza tiež k osmotickému stresu, nutričnej nerovnováhe a k oxidatívne stresu /12/. Osmotický stres vyvolaný zasolením spôsobuje zníženie rýchlosti delenia a predlžovania koreňových buniek, znižuje primárny rast koreňov a v konečnom dôsledku inhibuje rast a vývoj rastliny /2/. Hlavnou formou soli, ktorá sa v pôde vyskytuje, je chlorid sodný (NaCl), a teda hlavnú rolu zohráva kation sodíka (Na⁺) a jeho transport cez bunkové membrány. Ak sa semená nachádzajú v zasolenej pôde, sú rovnako vystavené stresu. Zasolenie zvyšuje vonkajší osmotický potenciál, kvôli ktorému je následne znížená absorpcia vody semenom počas imbibície /8/. Zvýšená koncentrácia sodných kationov pôsobí v semene toxicky a ovplyvňuje tak jeho klíčenie

a životaschopnosť embrya rastliny. Soľný stres má za následok spomalenie alebo úplnú inhibíciu klíčenia /1/. Na zvýšenie prirodzenej schopnosti pôd eliminovať kontaminanty existuje niekoľko spôsobov. Jedným z nich je aj využívanie materiálov s vysokou sorpčnou kapacitou (napr. kaolinit, zeolity, bentonit) v snahe vytvoriť predpoklady pre zníženie koncentrácie niektorých iónov v pôdnom roztoku a tým znížiť ich príjem rastlinami /10/. Vzhľadom na skutočnosť, že aj alginít ako prírodná látka sa vyznačuje vysokou sorpčnou kapacitou /4/, cieľom príspevku je zhodnotiť účinok alginitu pri klíčení semien lucerny siatej (*Medicago sativa* L.), našej najvýznamnejšej krmoviny, v prostredí vyššej koncentrácie soli (soľný stres).

MATERIÁL A METÓDY

Experiment sa realizoval na Katedre rastlinnej výroby a trávnych ekosystémov (Ústav agronomických vied) FAPZ SPU v Nitre.

Ako biologický materiál boli použité semená lucerny siatej (*Medicago sativa* L.). Na simuláciu soľného stresu sa použil roztok (O) NaCl s koncentráciou 100 mM (0,5844 %). V experimente sa použil drvený alginit frakcie 2 mm získaný preosiatím alginitu cez sito s veľkosťou ôk 2 mm.

Alginit (z Pincinej) – sivá až sivo-čierna organicko-minerálna vrstevnatá hornina, ktorá vznikala približne pred šiestimi miliónmi rokov z fosílnych rias v priestore dnešnej Panónskej panvy /4/. Je to prírodný produkt z kategórie horľavých bridlíc s vynikajúcimi sorpčnými vlastnosťami, s pomerne vysokým zastúpením biogénnych, ale aj stopových prvkov a nízkou koncentráciou ťažkých kovov. Vo frakčnom zložení prevládajú fulvokyseliny nad humínovými kyselinami /6, 11/.

Pre tento experiment bolo vytvorených nasledovných 5 variantov:

- variant 1: 100 mM O NaCl + 0 g alginitu na 1 Petriho misku (kontrola),
- variant 2: 100 mM O NaCl + 1,95 g alginitu na 1 Petriho misku = 1,354 t.ha⁻¹,
- variant 3: 100 mM O NaCl + 3,90 g alginitu na 1 Petriho misku = 2,708 t.ha⁻¹,
- variant 4: 100 mM O NaCl + 5,85 g alginitu na 1 Petriho misku = 4,062 t.ha⁻¹,
- variant 5: 100 mM O NaCl + 7,80 g alginitu na 1 Petriho misku = 5,416 t.ha⁻¹.

Semená lucerny siatej (po 100 ks semien v 2 opakovaníach) boli rovnomerne rozložené na filtračný papier v Petriho miske veľkosti 120 x 120 mm. Filtračný papier bol zvlhčený 10 ml 100 mM roztoku NaCl. Uložené semená boli následne zasypané drveným alginitom v množstve podľa vyššie uvedených variantov.

Petriho misky so semenami boli umiestnené do rastovej komory (Climacell 404) a inkubované pri teplote 26 °C (deň)/15 °C (noc) s fotoperiódou 12 hod. svetlo/12 hod. tma a relatívnou vlhkosťou vzduchu rh = 70 %.

Počet vyklíčených semien bol zisťovaný v 4., 8., 12., 18. a 22. deň trvania experimentu.

Hodnotili sa nasledovné parametre:

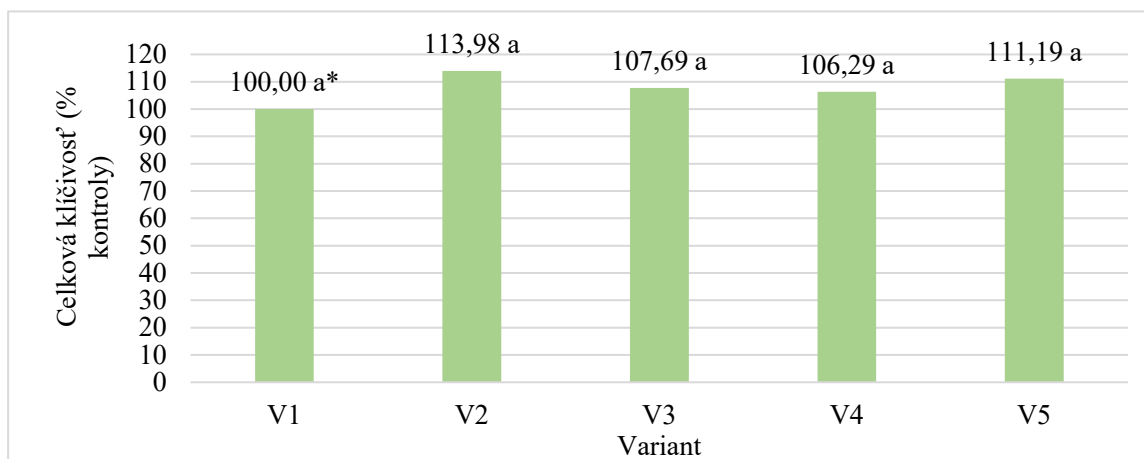
- celková klíčivosť semien vyjadrená ako % kontroly;
- rýchlosť klíčenia zrn podľa vzťahu $S = (N_n - N_{n-1}) / (t_n - t_{n-1})$, kde S je rýchlosť klíčenia [počet zrn.deň⁻¹], N je počet vyklíčených zrn pri n -tom a $n-1$ hodnotení, $t_n - t_{n-1}$ je počet dní medzi n -tým a $n-1$ hodnotením;
- dĺžka koreňov klíčencov na konci experimentu (mm).

Hodnoty jednotlivých parametrov sa vyhodnotili v programe Statistica /9/ jednofaktorovou analýzou rozptylu (ANOVA) s následným testovaním preukaznosti rozdielov Tukeyovým HSD testom pri 95 % hladine pravdepodobnosti ($\alpha = 0,05$).

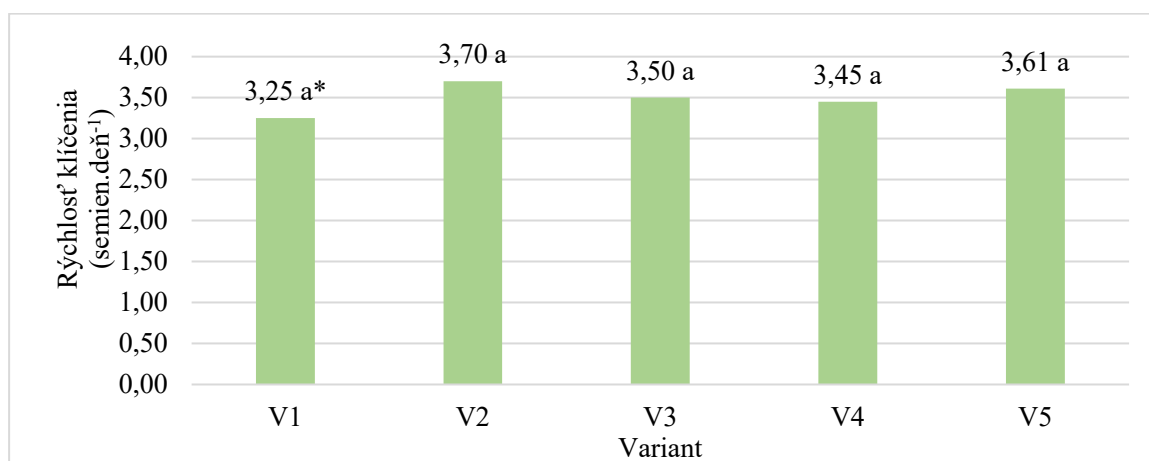
Grafické spracovanie výsledkov bolo robené pomocou programu MS Excel.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z porovnania hodnôt celkovej klíčivosti semien lucerny satej (Graf 1) vidieť zvýšenie klíčivosti semien vo všetkých variantoch s prídavkom drveného alginitu (V2 – V5), pričom rozdiely medzi jednotlivými variantmi boli štatisticky nepreukazné ($p = 0,784131$). Z hľadiska eliminácie soľného stresu pri klíčení semien účinkom drveného alginitu sa zistilo najefektívnejšie pôsobenie pri množstve $1,95 \text{ g.miska}^{-1}$ (V2), čo zodpovedá množstvu približne $1,354 \text{ t.ha}^{-1}$. V tomto variante sa zaznamenala o 13,98 % vyššia celková klíčivosť v porovnaní s kontrolným variantom bez alginitu, ktorého hodnota celkovej klíčivosti predstavuje 100 %. Viac ako 10%-né zvýšenie klíčivosti v porovnaní s kontrolou sa zistilo aj vo variante V5, kde sa aplikovalo $7,80 \text{ g}$ alginitu (t.j. $5,416 \text{ t.ha}^{-1}$).



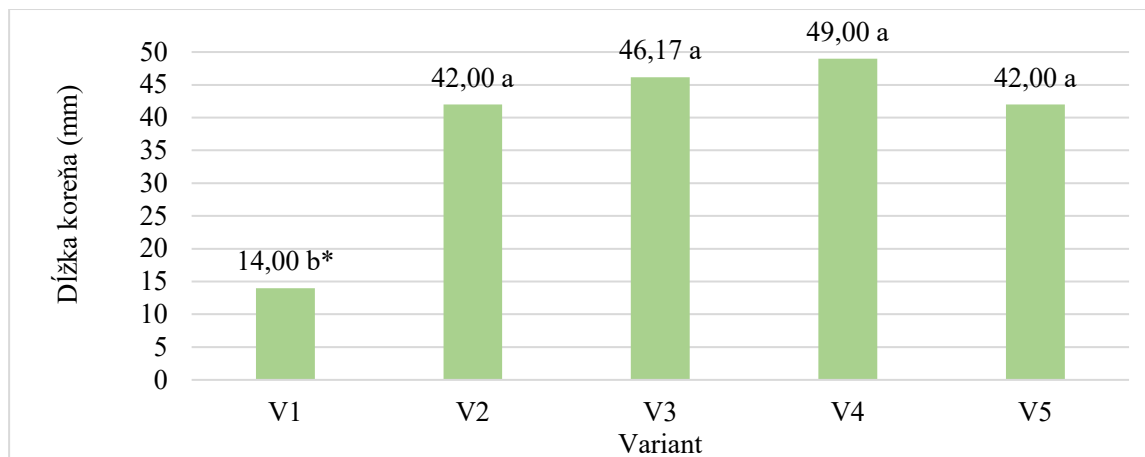
Graf 1: Celková klíčivosť semien lucerny satej vyjadrená ako % kontroly. Legenda: V1 – kontrola bez alginitu; V2 – 2,5 ml alginitu = $1,354 \text{ t.ha}^{-1}$; V3 – 5 ml alginitu = $2,708 \text{ t.ha}^{-1}$; V4 – 7,5 ml alginitu = $4,062 \text{ t.ha}^{-1}$; V5 – 10 ml alginitu = $5,416 \text{ t.ha}^{-1}$; *Rozdielne indexy pri priemerných hodnotách znamenajú štatisticky preukazný rozdiel medzi variantmi (Tukeyov HSD test, $\alpha=0,05$).



Graf 2: Rýchlosť klíčenia semien lucerny satej (počet semien.deň⁻¹). Legenda: ako Graf 1; *Rozdielne indexy pri priemerných hodnotách znamenajú štatisticky preukazný rozdiel medzi variantmi (Tukeyov HSD test, $\alpha=0,05$).

V prípade druhého hodnoteného znaku – rýchlosť klíčenia zŕn (graf 2) – mala lucerna siata rýchlosť klíčenia od $3,25 \text{ semien.deň}^{-1}$ (V1) do $3,70 \text{ semien.deň}^{-1}$ (V2) s nepreukaznými ($p = 0,436718$) rozdielmi medzi variantmi. Vo všetkých variantoch s aplikáciou drveného alginitu sa rýchlosť klíčenia semien zvýšila (o $0,20 - 0,45 \text{ semien.deň}^{-1}$) v porovnaní

s kontrolou bez alginitu. Rovnako ako pri predchádzajúcom hodnotenom znaku, aj v tomto prípade sa najvyšší účinok prejavil vo variante V2 (3,70 semien.deň⁻¹), kde sa použilo 1,95 g drveného alginitu na 1 miskú. Z praktického hľadiska môže zvýšenie rýchlosti klíčenia zlepšiť uplatnenie sa vzhádzajúcich rastlín v poraste. Zvlášť je to významné pri pestovaní rastlín v menej priaznivých podmienkach /12/.



Graf 3: Dĺžka koreňov klíčencov lucerny siatej (mm). Legenda: ako Graf 1; *Rozdielne indexy pri priemerných hodnotách znamenajú štatisticky preukazný rozdiel medzi variantmi (Tukeyov HSD test, $\alpha=0,05$).

Z výsledkov prezentovaných v grafe 3 vidieť štatisticky preukazný ($p = 0,000033$) pozitívny účinok drveného alginitu na rast koreňov lucerny siatej v podmienkach soľného stresu. Vo variantoch s alginitom mali klíčence lucerny siatej o 28 – 35 mm dlhšie korene v porovnaní s kontrolou bez alginitu s najvýraznejším prejavom vo variante V4 (49 mm). Možno predpokladať, že práve v dôsledku vysokej sorpčnej schopnosti alginitu sa znížila koncentrácia iónov Na⁺ v okolí koreňov a zmiernil sa tak ich toxický účinok k čomu sa prikláňajú aj niektorí autori /3, 5/.

ZÁVER

Výsledky experimentu ukazujú pozitívny účinok drveného alginitu na celkovú klíčivosť, rýchlosť klíčenia a dĺžku koreňov lucerny siatej v podmienkach soľného stresu. Najefektívnejšie na celkovú klíčivosť a rýchlosť klíčenia pôsobil alginit už pri najnižšej aplikovanej dávke zodpovedajúcej v prepočte 1,354 t.ha⁻¹, zatiaľ čo dĺžka koreňov bola najviac pozitívne ovplyvnená pri vyššej dávke alginitu (v prepočte 4,062 t.ha⁻¹). Z celkového hľadiska sa tak otvára možnosť využitia drveného alginitu pri zakladaní porastov aj v menej priaznivých podmienkach zasolených pôd, čo však vzhľadom na pilotný experiment bude potrebné overiť aj v prirodzených podmienkach.

LITERATÚRA

- /1/ El-Hendawy, S. et al.: Assessment of the salt tolerance of wheat genotypes during the germination stage based on germination ability parameters and associated SSR markers. *Journal of Plant Interactions*, 14, 2019: 151–163.
- /2/ Jung, J. K. H., McCouch, S.: Getting to the roots of it: Genetic and hormonal control of root architecture. *Frontiers in Plant Science*, 4, 2013: 186.
- /3/ Kłeczek, A., Anielak, A.M.: Humic substances and significance of their application – a review. *Technical Transactions*, 118, 2021: 1–14.
- /4/ Kulich, J., Valko, J., Obernauer, D.: Perspective of exploitation of alginit in plant nutrition. *Journal of Central European Agriculture*, 2, 2001: 199–206.
- /5/ Ladeiro, B.: Saline agriculture in the 21st century: Using salt contaminated resources to cope food requirements. *Journal of Botany*, 2012, 1–7.

- /6/ Litavec, T., Barančíková, G.: Základná charakteristika alginitu. Vedecké práce Výskumného ústavu pôdozvedectva a ochrany pôdy č. 35, 1, 2013: 97–106.
- /7/ Mořková, K. et al.: Halofytní rostliny a jejich možné využití vo fytořemediacích. Chem. Listy, 108, 2014: 586–591.
- /8/ Munns, R., Tester, M.: Mechanisms of Salinity Tolerance. Annual Review of Plant Biology, 59, 2008: 651–681.
- /9/ StatSoft, Inc. (2011). STATISTICA (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com.
- /10/ Szabová, K., Búgel, T., Leščinská, M.: Možnosti využitia zeolitov v ochrane zložiek životného prostredia. Acta Montanistica Slovaca, 4, 1999: 61 – 65.
- /11/ Vass, D. et al.: Alginit – nový zdroj slovenského nerudného surovínového potenciálu (ložisko Pinciná). Mineralia Slovaca, 29, 1997: 1 – 39.
- /12/ Volkov, V.: Salinity tolerance in plants. Quantitative approach to ion transport starting from halophytes and stepping to genetic and protein engineering for manipulating ion fluxes. Frontiers in Plant Science, 6, 2015: 873.

Pod'akovanie

Práca vznikla s podporou projektu KEGA 035SPU-4/2022.

STOMATÁLNA CHARAKTERISTIKA LISTOV KUKURICE SIATEJ (*ZEА MAYS L.*) V PODMIENKACH PÔSOBENIA NÍZKYCH DÁVOK ARZÉNU

*STOMATAL RESPONSE OF MAIZE (*ZEА MAYS L.*) LEAVES TO LOW DOSES OF ARSENIC*

Beáta Piršelová¹, Libuša Lengyelová¹, Ludmila Galuščáková¹, Jitka Hegrová², Vilma Jandová²

¹Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre, FPVaI, katedra botaniky a genetiky, Tr. A. Hlinku 1,
949 01 Nitra, llengyelova@ukf.sk

²Centrum dopravného výzkumu, Líšeňská 2657, 636 00 Brno-Líšeň

Summary

The effects of different concentrations of arsenic (1-5 mg/kg of soil: As1 - As5) on the growth and selected physiological parameters of two maize varieties (*Zea mays* L., Chapalu and MvNK 333) were tested in a container experiment. The reduced length and increased width of the stomata on both sides of the leaves can contribute to the regulation of the water content in the tissues under given conditions. The results showed that neither changes in density of stomata nor stomatal morphology could explain the hormetic response of the tested maize cultivars to As.

Key words: arsenic, corn, stomata, growth

Súhrn

V nádobovom pokuse boli testované účinky rôznych koncentrácií arzénu (1-5 mg/kg pôdy: As1 - As5) na rast a vybrané fyziologické parametre dvoch odrôd kukurice (*Zea mays* L., odrody Chapalu a MvNK 333). Testované odrody prejavili vysokú toleranciu na As. So zvyšujúcou sa dávkou As rástol počet prieduchov na oboch stranách listov odrody Chapalu, naopak klesal v prípade odrody MvNK 333. Skrátene a rozšírenie prieduchov na oboch stranách listov oboch odrôd pravdepodobne prispieva k regulácii obsahu vody v pletivách za daných podmienok. Zaznamenané zmeny v parametroch prieduchov nevyhovujú kritériám hormetického prejavu.

Kľúčové slová: arzén, kukurica, prieduchy, rast

ÚVOD

V životnom prostredí sa arzén (As) vyskytuje v rôznych organických a anorganických formách, pričom najvýznamnejšími sú arzenitan (AsIII) a arzeničnan (AsV) /7/. Plodiny a zelenina pestované v pôde kontaminovanej arzénom akumulujú značné množstvo arzénu, ktorý v konečnom dôsledku vstupuje do potravinového reťazca človeka /10/. Jedným z mnohých zaujímavých paradoxov súvisiacich s toxicitou arzénu je, že rast rastlín je stimulovaný pri jeho nízkych koncentráciách /4,8/. Stimulačný účinok nízkych dávok a toxicita vyšších dávok chemických prvkov na rast rastlín sa označuje ako horméza a prejavuje sa najmä v prípadoch toxických neesenciálnych, často stopových prvkov /3/. Stimulácia je určitým prejavom adaptácie na zmenené podmienky prostredia, dochádza k modulácii obranných mechanizmov s cieľom zmierniť dopady nepriaznivého vplyvu /1/. Vplyv nízkych dávok As v kontexte hormetických prejavov prieduchov je skúmaný zriedkavo. Hlavnými cieľmi práce bolo zhodnotiť účinok relatívne nízkych dávok As (III) na rast rastlín, hustotu a veľkosť prieduchov dvoch genotypov kukurice (odrody Chapalu a MvNK 333) a porovnať prebiehajúce obranné stratégie v týchto dvoch odrodách kukurice v kontexte hormetickej odpovede na As.

MATERIÁL A METÓDY

Pri pokusoch boli plastové kvetináče naplnené substrátom Klamann (pH 6,5, vlhkosť max. 70 %, EC v μS 400, obsah prvkov: As 1,13 mg/kg, N 140 mg/l, P 160 mg/l, K 180 mg/l), do ktorých bolo zasiaty 20 semien *Zea mays* L. (odrody Chapalu a MvNK 333). Do pôdneho substrátu sa následne aplikoval arzén v dávkach: As - 1, 2, 3 a 5 mg/kg pôdy (As1 až As5). Roztoky arzenu (AsIII) boli pripravené z certifikovaného referenčného materiálu pre arzén (Sigma-Aldrich). Kontrolné varianty (K) sa zaliali destilovanou vodou. Experiment v nádobe sa uskutočnil v klimatickom boxe za konštantných podmienok (teplota 23°C, vlhkosť 60-70 %; periódy osvetlenia 12 h svetlo/12 h tma, intenzita žiarenia 400 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Experiment sa uskutočnil v troch opakovaniach. Fyziologické parametre boli hodnotené po 12 dňoch rastu v kontaminovanej pôde.

Primárna dĺžka koreňa sa merala pomocou pravítka a potom sa odvážila ich hmotnosť na analytických váhach. Počet prieduchov bol stanovený v 24 mikroskopických poliach na spodnej (abaxiálnej) a vrchnej (adaxiálnej) strane listov pomocou optického mikroskopu (Zeiss Axioplan) podľa Xu a Zhou /14/. Počet prieduchov bol vyjadrený na mm^2 plochy listu. Na určenie dĺžky a šírky prieduchov sa meralo 50 náhodne vybraných prieduchov na každom liste (variant experimentov) pri celkovo 400-násobnom zväčšení. Obrázky sa získali pomocou mikroskopickej digitálnej kamery Kapa DEM 200 a analyzovali softvérom ToupCam (SCMOSO2000KPA-U-NA-N-M-CP-NA). Tolerančný index bol stanovený podľa Wilkina [13].

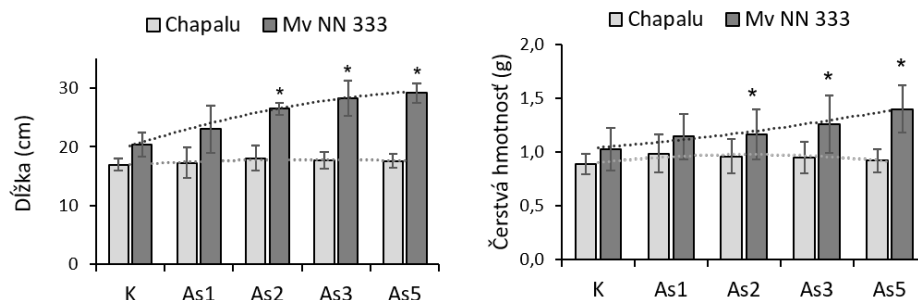
Údaje pre sledované parametre boli štatisticky spracované pomocou programu Microsoft Excel 2010. Rozdiely medzi súbormi dát sme stanovili Studentovým t-testom pri hladine $p < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

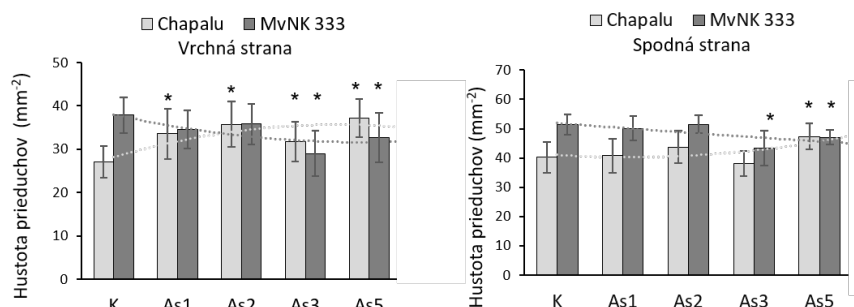
Vplyv toxicity ťažkých kovov na vyššie rastliny možno vyhodnotiť z hľadiska ich vplyvu na rast koreňov a výhonkov v skorých rastových štádiách. V nádobovom experimente testované dávky arzenu stimulovali rast výhonkov cv. Chapalu o 1,77 % (As1), 6,30 % (As2), 4,18 % (As3) a 3,53 % (As5) (dĺžka výhonkov) a zvýšila sa hmotnosť čerstvej hmoty výhonkov o 11,24 % (As1), 7,87 % (As2) 6,74 % (As3) a 3,37 % (As5). Výraznejšia stimulácia rastu bola pozorovaná v prípade odrody MvNK 333, vplyvom As sa predĺžili výhonky (o 12,90 - 43,34 %) a zväčšila sa ich biomasa (o 10,68 - 35,92 %) (obrázok 1). Stimulácia rastu výhonkov vplyvom As u oboch testovaných odrôd naznačuje, že ide o tolerantné odrody, čo aj potvrdzujú hodnoty TI (100 % a vyššie). Stimulácia rastu kukurice bola pozorovaná aj u tolerantnej odrody Dongdan90 ako účinok 2 mg/l As /6/, ako aj v prípadoch dávok do 1 mg/l a dávok 12,5 a 25 mg/kg pôdy /5/. Na druhej strane dávky 2 a 5 mg/l znížili rast výhonkov, plochu listov, biomasu, obsah chlorofylu, karotenoidov a bielkovín v listoch kukurice po piatich dňoch pôsobenia arzenu /12/. Predpoklad, že horméza sa častejšie vyskytuje u tolerantných odrôd sa potvrdila aj v našom pokuse.

V ďalšej časti experimentov sme sa zamerali na stomátalne charakteristiky. Je to preto, že modifikácia počtu a veľkosti prieduchov ako reakcia na environmentálny stres je dôležitým spôsobom, ktorým rastliny kontrolujú absorpciu ťažkých kovov a regulujú stav vody v pletivách /9/. Testované odrody kukurice reagovali rozdielne, čo sa týka počtu prieduchov v listoch. Kým v prípade odrody Chapalu zvyšujúca sa dávka As spôsobila zvýšenie počtu prieduchov na oboch stranách listov (o 25,45-42,51 % na adaxiálnej strane a o 2,65-16,24 % na abaxiálnej strane), v prípade odrody MvNK 333 spôsobila zníženie počtu prieduchov (o 8,52-11,85 % na adaxiálnej strane a o 2,38-9,06 % na abaxiálnej strane) (obrázok 2). Dávky As viedli k zníženiu počtu prieduchov na oboch stranách listov v prípade odrody MvNK 333 a naopak k zvýšeniu v prípade odrody Chapalu (obrázok 2). Aplikácia As viedla aj k rozšíreniu a skráteniu prieduchov na oboch stranách listov oboch testovaných odrôd kukurice (obrázok 3), ale tieto

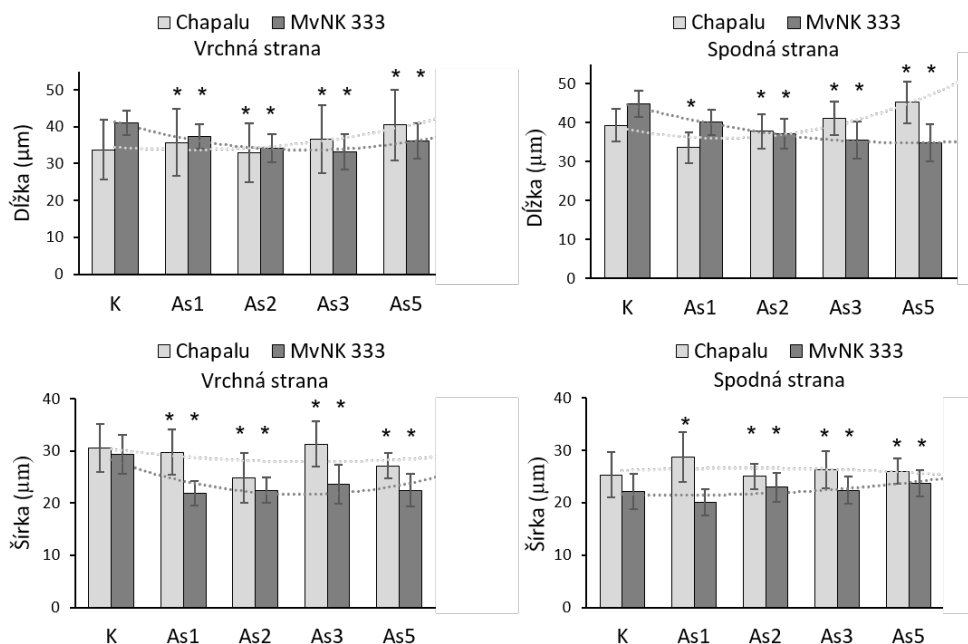
zmeny neboli úmerné zvyšujúcej sa dávke As. Neboli pozorované žiadne abnormality prieduchov, dokonca ani pri najvyšších dávkach arzenu.



Obrázok 1. Vplyv arzenu na dĺžku a čerstvú hmotnosť výhonkov dvoch kultivarov kukurice. Údaje sú prezentované ako priemer \pm SDEV. As 1, As 2, As 3, As 5 – prídavok arzenu do pôdy v mg/kg. * významné rozdiely pri $p < 0,05$. K – kontrola.



Obrázok 2. Vplyv arzenu na hustotu prieduchov na adaxiálnej a abaxiálnej strane listov dvoch kultivarov kukurice. Údaje sú prezentované ako priemer \pm SDEV. As1, As2, As3, As5 - prídavok arzenu do pôdy v mg/kg. Legenda: * významné rozdiely pri $p < 0,05$, K – kontrola.



Obrázok 3. Vplyv arzenu na veľkosť prieduchov na adaxiálnej a abaxiálnej strane listov dvoch odrôd kukurice. Údaje sú prezentované ako priemer \pm SDEV. As 1, As 2, As 3, As 5 – prídavok arzenu do pôdy v mg/kg. * významné rozdiely pri $p < 0,05$, K – kontrola.

Pozorované zmeny veľkosti prieduchov (dĺžka a šírka) boli podobné u oboch odrôd; vplyvom As došlo ku skráteniu a rozšíreniu prieduchov na oboch stranách listov (obrázok 3). Shi a Caia /11/ vo svojej štúdiu uvádzajú aj skrátenie prieduchov na adaxiálnej strane listov *Arachis hypogaea* L. po aplikácii kadmia. Zmeny vo veľkosti prieduchov (podobne ako ich počtu) môžu za daných podmienok prispieť k regulácii obsahu vody v pletivách /2/. Zaznamenané zmeny v parametroch prieduchov nevyhovujú kritériám hormetického prejavu. Rozdiely v odozve oboch odrôd na As bude možné hlbšie zhodnotiť po stanovení množstva As, kt. dané odrody naakumulovali vo svojich pletivách.

ZÁVER

Účinky nízkych dávok arzenu na testované odrody kukurice pestované v kontaminovanej pôde možno považovať za prospešné. Obe testované odrody vykazovali vysokú úroveň tolerancie k testovaným dávkam As (TI 100 % a viac), pričom odroda MvNK 333 vykazovala všeobecne vyššiu toleranciu. Zmeny v hustote a veľkosti prieduchov môžu predstavovať obranné mechanizmy kukurice pri pestovaní v podmienkach ovplyvnených arzenom. Výsledky tiež naznačujú, že samotný hormetický účinok je závislý od odrody, pričom rôzne odrody majú rôzne schopnosti transportovať, akumulovať a tolerovať tieto prvky vo svojich pletivách. Keďže hormetický účinok prvkov je často ovplyvnený dobou pôsobenia takto sledovaného prvku, hodnotenie daného aspektu by mohlo prispieť k hlbšej analýze problematiky. Poznanie mechanizmov hormézy a tiež identifikácia odrôd rastlín tolerantných voči As by sa mali považovať za dôležitú stratégiu pri zvyšovaní tolerancie rastlín voči As.

LITERATÚRA

- /1/ Azmat, R., Haider, S., Nasreen, H., Aziz, F., Riaz, M.: A viable alternative mechanism in adapting the plants to heavy metal environment. *Pak. J. Bot.*, 41(6), 2009: 2729–2738.
- /2/ Bertolino, L.T., Caine, R.S., Gray, J.E.: Impact of stomatal density and morphology on water-use efficiency in a changing world. *Front. Plant Sci.*, 10, 2019: 225.
- /3/ Calabrese, E.J., Blain, R.B.: Hormesis and plant biology. *Environ. Pollut.*, 157, 2009: 42–48.
- /4/ Carbonell-Barrachina, A.A., Burló, F., López, E., Martínez-Sánchez, F.: Arsenic toxicity and, in radish as affected by arsenic chemical speciation. *J. Environ. Sci. Health B*, 34, 1999: 661–679.
- /5/ Ci, X.K.; Liu, H.L., Hao, Y.B., Zhang, J.W., Liu, P., Dong, S.T.: Arsenic distribution, species, and its effect on maize growth treated with arsenate. *J. Integr. Agric.*, 11, 2012: 416–423.
- /6/ Du, L., Xia, X., Lan, M., Liu, M., Zhao, L., Zhang, P., Wu, Y.: Influence of arsenic stress on physiological, biochemical, and morphological characteristics in seedlings of two cultivars of maize (*Zea mays* L.). *Water Air Soil Pollut.*, 228, 2017: 55.
- /7/ Finnegan, P., M., Chen, W.: Arsenic toxicity. The effects on plant metabolism. *Front. Physiol.*, 3, 2012: 1–18.
- /8/ Garg, N., Singla, P.: Arsenic toxicity in crop plants: physiological effects and tolerance mechanisms. *Environ. Chem. Lett.*, 9, 2011: 303–321.
- /9/ Gostin, I.N.: Air pollution effects on the leaf structure of some fabaceae species. *Not. Bot. Horti. Agrobot. Cluj-Napoca*, 37, 2009: 57–63.
- /10/ Meharg, A.A., Hartley-Whitaker, J.: Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytol.*, 154, 2002: 29–43.
- /11/ Shi, G., Caia, Q.: Leaf plasticity in peanut (*Arachis hypogaea* L.) in response to heavy metal stress. *Environ. Exp. Bot.*, 67, 2009: 112–117.
- /12/ Stoeva, N., Berova, M., Zlatev, Z.: Physiological response of maize to arsenic contamination. *Biol. Plant.*, 47, 2003: 449–452.

- /13/ Wilkins, D.A.: The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root length. *New Phytol.*, 80, 1978:623–633.
- /14/ Xu, Z.Z., Zhou, G.S.: Effects of water stress and nocturnal temperature on carbon allocation in the perennial grass, *Leymus chinensis*. *Physiol. Plant.*, 123, 2005: 272-280.

PodĎakovanie

Práca bola podporená výskumným zámerom projektu APVV-18-0154 a tiež finančnou podporou Ministerstva dopravy v rámci programu „dlouhodobého koncepčního rozvoje výzkumných organizací“.

PESTOVANIE PAPRIKY ROČNEJ (*CAPSICUM ANNUUM* L.) V PODMIENKACH SIMULOVANÉHO VODNÉHO STRESU

CULTIVATION OF PEPPER (*CAPSICUM ANNUUM* L.) IN SIMULATED WATER STRESS CONDITIONS

Eleonóra Krivosudská

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FAPZ, Ústav rastlinných a

environmentálnych vied, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, eleonora.krivosudska@uniag.sk

Summary

The aim of this work was to monitor the pepper genotypes (Promontor F1, Bodrog) and their reactions in simulated water stress conditions. During water stress, changes in the content of assimilation pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids) of pepper leaves (*Capsicum annuum* L.) were monitored even after the application of brassinosteroids. The aim of this study was also to determine the value of the SPAD number with a portable chlorophyll meter SPAD-502 for the analysis of photosynthetic pigments and total nitrogen.

Key words: assimilation pigments, pepper, Capsicum annuum L., water stress, brassinosteroids

Súhrn

Cieľom práce bolo sledovať reakcie genotypov papriky (Promontor F1, Bodrog) v podmienkach simulovaného vodného stresu. Počas vodného stresu boli zaznamenané zmeny v obsahu asimilačných pigmentov (chlorofyl a, chlorofyl b, karotenoidy) listov papriky (*Capsicum annuum* L.) aj po aplikácii brassinosteroidov. Cieľom tejto štúdie bolo stanoviť tiež hodnotu SPAD-čísła prenosným chlorofylmetrom SPAD-502 na analýzu fotosyntetických pigmentov a celkového dusíka.

Kľúčové slová: fotosyntetické pigmenty, paprika, Capsicum annuum L., vodný stres, brassinosteroidy

ÚVOD

V prírode patria medzi najvýznamnejšie limitujúce faktory produkcie rastlín predovšetkým nedostatok vody a vysoká teplota. Vodný deficit sa môže prejavovať krátkodobým i dlhodobým nedostatkom zrážok i zníženou hladinou spodnej vody. Sucho je jedným z najčastejších stresov rastlín. Je tiež najväčším a najaktuálnejším problémom súčasného poľnohospodárstva. Sucho sa definuje ako prostredie, alebo obdobie s malým množstvom zrážok, ktoré nepriaznivo ovplyvňuje vegetáciu. Za nedostatkom vody a jej nedostupnosťou treba hľadať najčastejšie klimatické pomery a priebeh počasia. Vlastný príjem vody taktiež závisí aj od obsahu živín a solí v pôde a pôdnej reakcie. Pri pôsobení vodného stresu je spomaľovaný hlavne rast a fotosyntéza /4/. Odolnosť rastlín voči rôznym biotickým a abiotickým stresorom zvyšujú okrem iných regulačných látok aj brassinosteroidy /5/. Sú to endogénne hormóny, ktoré majú steroidnú štruktúru. Do roku 2000 bolo objavených 56 natívnych brassinosteroidov a v roku 2007 už viac ako 70 týchto látok /2/. Prvý brassinosteroid bol objavený v roku 1979 a bol označený ako brassinolid. Tieto látky znižujú negatívny dopad nepriaznivých faktorov vonkajšieho prostredia, ako napríklad vysoká a nízka teplota, sucho, zasolenie, znižujú vplyv reziduí pesticídov a pôsobenie patogénnych organizmov. Spôsob účinku je ale zatiaľ málo známy. Tiež môže hrať úlohu pri získavaní odolnosti rastlín na iné stresory pôsobiace z okolitého prostredia. Brassinosteroidy (BR) sú všadeprítomné rastlinné

steroidné hormóny, ktoré hrajú rôzne úlohy v raste, vývoji a stresových reakciách rastlín /1/. Brassinosteroidy preukázateľne zvyšujú úrodu mnohých kultúrnych plodín. Ide o látky, ktoré sú prirodzene obsiahnuté v rastlinách a neškodia životnému prostrediu /8/. Defekty v biosyntéze alebo signalizácii BR majú za následok fyziologické a fenotypové abnormality. K dnešnému dňu mnohé štúdie zdôraznili toleranciu stresu vyvolaného BR voči rôznym extrémom prostredia, ako je vysoká teplota, chlad, sucho, slanosť a ťažké kovy v rade rastlinných druhov. Hĺbkové mechanizmy tolerancie stresu vyvolanej BR však stále zostávajú do značnej miery neznáme. Teraz je jasné, že stresové reakcie vyvolané BR sú prísne závislé od koncentrácie a optimálna koncentrácia na zlepšenie adaptability rastlín sa môže líšiť v závislosti od druhu rastliny, vývojových štádií a podmienok prostredia. Konfliktné dôkazy týkajúce sa regulácie adaptácie na stres pomocou BR si vyžadujú ďalšie objasnenie mechanizmu účinku BR v reakcii na environmentálne stresy v rastlinách /7/. Nedávne pokroky vo výskume fytohormónov naznačujú, že účinok BR na toleranciu stresu závisí vo veľkej miere od ich súhry s inými hormónmi. Brassinosteroidy sú považované za antistresové látky s rastovým regulačným účinkom, ktoré sú štrukturálne podobné živočíšnym steroidným hormónom a boli nájdené v celej rade rastlinných rodov /10/. Ide o gaštanovník, čajovník, slnečnicu, borovicu, ryžu, jelšu, fazuľu, morské riasy, ale aj včelí med.

MATERIÁL A METÓDY

V rámci experimentu boli vo vykurovanom skleníku použité a vysiate genetické zdroje papriky ročnej (*Capsicum annuum* L.). Výsev konkrétnych genotypov Promontor F1 a Bodrog sa uskutočnil začiatkom februára do špeciálnych nádob. Následne boli v polovici mája vzídené priesady vyjednotené a vysiate do nádob s objemom 10 litrov po 10 rastlín na nádobu. Rastliny papriky sme najskôr nechali v skleníku a následne premiestnili a pestovali v prirodzených klimatických podmienkach. Predmetom výskumu bolo sledovanie reakcie rastlín na podmienky sucha, a preto sme pred začiatkom fenofázy kvitnutia v rámci oboch genotypov indukovali vodný stres zamedzením akejkoľvek závlahy. Taktiež sme na listy časti rastlín, vystavených postupnej dehydratácii aplikovali postrek brassinolidom (Sigma-Aldrich, USA). Po ukončení experimentálnych meraní v rámci vodného stresu sme nastavili podmienky pre rehydratáciu dehydratovaných rastlín sledovaných genotypov.

Charakteristika genotypov papriky:

Genotyp Promontor F1 je indeterminantný hybrid s rýchlou intenzitou rastu a je určená na rýchlé i na poľné pestovanie. Má vysoký úrodový potenciál, vyžaduje intenzívne pestovateľské podmienky. Rastliny tvoria mohutnú koreňovú sústavu a pevné vetvenie, hybrid je odolný voči stresu. Plody majú predĺžený kužeľovitý tvar, sú previslé, mimoriadne veľké, sladké, dobrej chuti s priemernou hmotnosťou 120-150 g. V trhovej (zberovej) zrelosti sú svetlozelené, v botanickej (semennej) zrelosti červené.

Genotyp Bodrog je indeterminantný hybrid, určený na poľné pestovanie, ale i na rýchlé vo vykurovaných aj v nevykurovaných fóliových krytoch počas celého roka (v každom ročnom období) aj do chladnejších podmienok. Dobré znáša nízky slnečný svit, oplodnenie kvetov je spoľahlivé aj v zime pri nedostatku svetla. Pre menšiu náročnosť na svetelné podmienky je vhodná i na jesenné a zimné rýchlé. Hybrid je odolný voči stresu, rastliny tvoria pevnú stonku a vetvenie, plody nie sú náchylné k zdobnatiu.

Koncentráciu asimilačných pigmentov v listoch papriky sme stanovili spektrofotometrickou metódou /9/. Počas experimentu sme stanovili obsah asimilačných pigmentov meraním absorbcie acetónového extraktu pri vlnových dĺžkach 663 nm (chlorofyl a), 647 nm (chlorofyl b) a 470 nm (celkové karotenoidy). Koncentrácie jednotlivých pigmentov boli vypočítané v mg.l^{-1} a následne prepočítané na jednotku listovej plochy (mg.m^{-2}).

Merania obsahu chlorofylu chlorofylmetrom sú na rozdiel od klasického spektrofotometrického merania nedeštruktívne. Na tento účel bol použitý chlorofylmeter typu SPAD-502, ktorým sme zmerali obsah chlorofylu *a* a *b* v listoch v relatívnych hodnotách.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

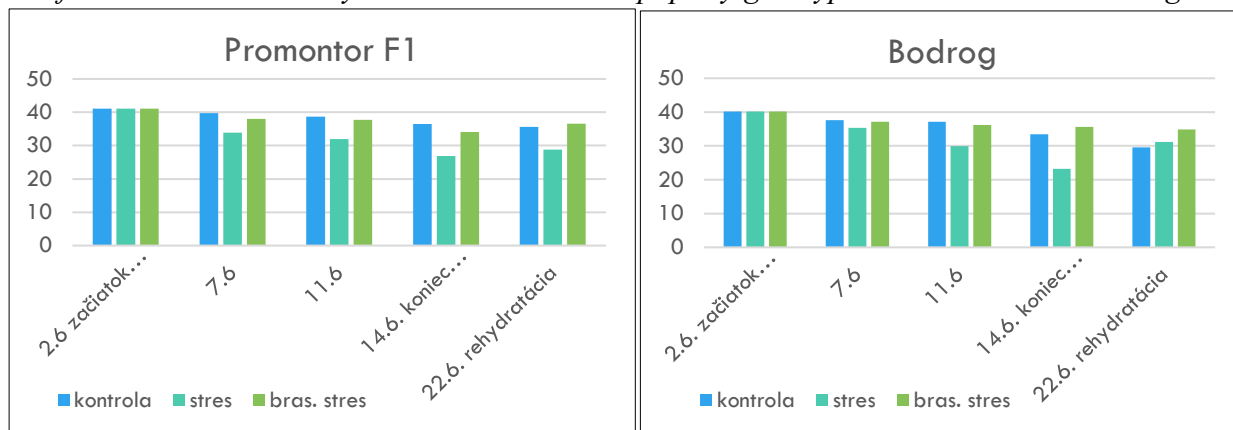
Počas dehydratácie bolo sledovaných viacero fyziologických parametrov, indukujúcich vodný stres rastlín, pričom tento príspevok je zameraný hlavne na zmeny v obsahu asimilačných pigmentov počas dehydratácie rastlín papriky s ohľadom na ďalšie parametre, ktoré boli signálom pre zmeny typické pre prebiehajúci stres v rastlinách. Namerané hodnoty sledovaných fyziologických parametrov stresovaných rastlín papriky sú uvedené v tabuľke 1.

GENOTYPY		Chlorofyl a	chlorofyl b	chlorofyl a+b	karotenoidy	chlorofyl a/b	chlorofyl a+b / karotenoidy
Obdobie merania		[mg.m ⁻²]	[mg.m ⁻²]	[mg.m ⁻²]	[mg.m ⁻²]		
BODROG	začiatok dehydratácie	326,3	129,9	466,3	106,6	2,4	4,4
	koniec dehydratácie						
	Stres	64,1	158,3	222,5	263,9	0,4	0,8
	B-S	74,5	74,0	148,5	227,9	1,0	0,7
rehydratácia	Stres	195,3	42,4	237,7	79,1	4,6	3,0
	B-S	202,9	61,0	264,0	77,4	3,3	3,4
PROMONTOR F1	začiatok dehydratácie	308,3	120,8	429,1	105,7	2,6	4,1
	koniec dehydratácie						
	Stres	53,7	110,7	164,4	173,1	0,5	1,0
	B-S	73,8	184,5	258,2	168,2	0,4	1,5
rehydratácia	Stres	201,1	29,6	230,7	87,6	6,8	2,6
	B-S	187,6	60,1	247,8	71,0	3,1	3,5

Tab. 1: Priemerný obsah asimilačných pigmentov v listoch papriky počas dehydratácie.

Z nich vyplýva, že po prerušení zálievky a navodení postupnej dehydratácie zamedzením akejkoľvek zálievky boli zistené zmeny v obsahu asimilačných pigmentov. Na základe dostupných zdrojov /3/ bol zistený signifikantne vyšší obsah karotenoidov aj u rastlín paradajok ošetrených BS pri strese suchom v porovnaní s kontrolnými rastlinami. Podobný trend bol zaznamenaný aj v našom experimente. Stratu pigmentov možno považovať za indikátor nedostatku vody a starnutia /6/.

Graf 1: Priemerné hodnoty SPAD-čísła v listoch papriky genotypu Promontor F1 a Bodrog.



Hodnota SPAD představuje bezrozměrné číslo, které se vypočítá na základě kvantity světla, které je transmittované listem v dvou vlnových délkách, přičemž absorpce chlorofylů je rozdílná. V rámci genotypů Promontor F1 a Bodrog byl zaznamenán pokles asimilačních pigmentů v podmínkách vodního stresu, přičemž vyšší hodnoty SPAD čísla byly v podmínkách sucha zaznamenány po aplikaci brassinosteroidů (graf 1) v porovnání s rostlinami bez brassinolidu.

ZÁVER

Počas dehydratácie rastlín papriky boli zistené zmeny v obsahu asimilačných pigmentov. Obsah chlorofylu „a“ bol výraznejšie znížený vplyvom stresu zo sucha, naopak vyššie hodnoty pigmentov boli namerané pri karotenoidoch pri rastlinách, vystavených dehydratácii po aplikácii brassinosteroidov v porovnaní s kontrolou. Po opätovnej rehydratácii bol pozorovaný stúpajúci trend sledovaných hodnôt asimilačných pigmentov aj hodnôt SPAD-čísla.

LITERATÚRA

- /1/ Ahammed, G., Xia, X., Li, X., Shi, K., Yu, J., Zhou, Y.: Role of brassinosteroid in plant adaptation to abiotic stresses and its interplay with other hormones. *Curr Protein Pept Sci* 2014. 16(5):462–473. DOI: 10.2174/1389203716666150330141427
- /2/ Bajguz, A., Tretyn, A.: The chemical characteristic and distribution of brassinosteroids in plants. *Phytochemistry*, 65 (7), 2003, s. 1027–1046.
- /3/ Behnamnia, M., Kalantari, K., Rezanejad, F.: Exogénna aplikácia brassinosteroidu zmiernuje oxidačný stres vyvolaný suchom v *Lycopersicon esculentum* L. *General and Applied Plant Physiology*. 2009. 35: 22–34.
- /4/ Bláha, L., Bocková, R., Hnilíčková, H., Hnilička, F., Holubec, V., Möllerová, J., Štolcová, J., Zieglerová, J.: *Rostlina a stres*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2003. ISBN 80-865-5532-1.
- /5/ Bláha, L., Hnilička, F., Martinková, J.: *Současné možnosti fyziologie a zemědělského výzkumu přispět k produkci rostlin (vybrané kapitoly)*. Vyd. 1. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2010. ISBN 978-80-7427-023-9.
- /6/ Campostrini, E., Glenn, D. M., Yamanishi, O. K.: Papaya: Ecophysiology of growth and production. In: *Nova Science Publishers: Inc., Hauppauge, NY*. s. 285-307. Hayat, S.A., Hasan, M., Yusuf, Q., Hayat, A.: Effect of 28-homobrassinolide on photosynthesis, fluorescence and antioxidant system in the presence or absence of salinity and temperature in *Vigna radiata* *Environ. Exp. Bot.*, 69 (2) 2010. pp. 105-112. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.03.004>
- /7/ Khripach, V. A., Zhabinskii, V. N., Khripach, N. B.: *Brassinosteroids: Bioactivity and Crop Productivity*. 2014. 264s. ISBN 9401709491.
- /8/ Lichtenthaler, H. K.: Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. In *Methods in Enzymology*, vol. 148, 1987. pp. 350-382.
- /9/ Singh, I., Shono, M.: Physiological and molecular effects of 24-epibrassinolide, a brassinosteroid on thermotolerance of tomato, In: *Plant Growth Regul.*, 47 (2005), pp. 111-119.

Pod'akovanie

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory grantovej agentúry VEGA 1-0683-20, VEGA 1-0664-22 a APVV-18-465.

Sponzoři



Půda



Voda



Rostliny



Meteorologie



Sedimenty



Geotechnika

EkoTechnika

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, inženýrství 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

Folia Oecologica publishes original research on forest ecology science. While the emphasis is on forest ecosystems, the journal covers a wide range of topics from the underlying biology to the conservation aspects of forest and nature. The Journal publishes full-text papers, short communications and review articles. *Folia Oecologica* is indexed in Scopus™, Web of Science and other databases.

<https://ife.sk/research/edited-journals/fovia-oecologica/>

Volume 49, Number 1, 2022

**FOLIA
OECOLOGICA**

Arctic

Initial parent material, underlayed by permafrost → 5-10 years → O Cg → 10-25 years → O Ah CR Cg → 30-40 years → O Ah CR [H] Cg

Initial parent material, Without permafrost → 5-10 years → O COX → 10-25 years → O Aao BF COX → 30-40 years → O Aao (e) BFW Cg

Zonal Soil

Abakumov, E.V., Koptseva, E.M., 2022. Ecogenesis and primary soil formation on the East European Plain. A review.

 **Institute of Forest Ecology**
Slovak Academy of Sciences

 sciendo

Název: Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2022

Editor: František Hnilička

Vydavatel: Česká zemědělská univerzita v Praze

Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied, v.v.i.

Odborní recenzenti: doc. RNDr. Jan Novák, DrSc.; Mgr. Jana Šlégrová

Tisk: Power Print

Počet stran: 164

Vydání: první

Rok vydání: 2022

ISBN: 978–80–89408–36–8 Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied, v.v.i.

Texty příspěvků neprošly jazykovou úpravou