

**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 2023**

(Sborník recenzovaných vědeckých prací)

**INFLUENCE OF ABIOTIC AND BIOTIC STRESSES  
ON PROPERTIES OF PLANTS 2023**

*(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:**

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů ČZU v Praze

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

**VLIV ABIOTICKÝCH A BIOTICKÝCH  
STRESORŮ NA VLASTNOSTI ROSTLIN 2023**

(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 SAS in Bratislava**

**Organizers:**

Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources

Institute of Forest Ecology SAS

**INFLUENCE OF ABIOTIC AND BIOTIC  
STRESSES ON PROPERTIES OF PLANTS 2023**

(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: 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:**

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

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

Ing. Margita Kuklová, CSc. (ÚEL)

Mgr. Ivica Pivková, PhD. (ÚEL)

© Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied, v. v. i., 2023  
ISBN: 978-80-89408-37-5

## OBSAH

	Úvodní slovo .....	1
<i>L. Hájková, M. Možný,</i> <i>A. Musilová, V. Vlach,</i> <i>V. Oušková, V.</i> <i>Kožnarová</i>	Variabilita fenologických fází na území ČR .....	2
<i>P. Pavlenda, T. Priwi-</i> <i>tzer, H. Pavlendová</i>	Organický uhlík v lesných pôdach v kontexte mitigačných a adaptačných opatrení na zmenu klímy .....	12
<i>M. Kizeková, N.</i> <i>Britaňák, I. Ilavská, Š.</i> <i>Pollák, E. Jančová, L.</i> <i>Hanzes</i>	Využitie rizobaktérií podporujúcich rast rastlín pre udržateľnú produkciu trávnych porastov .....	18
<i>P. Mezei</i>	Faktory vplývajúce na mortalitu stromov spôsobenú lykožrútom smrekovým – od úrovne stromu po úroveň krajiny .....	23
<i>F. Hnilička, T. Rýgl,</i> <i>H. Hniličková</i>	Využití „antistresových látek“ pro snížení dopadů abiotických stresorů na rostliny .....	29
<i>S. Sajad, G. Jamnická,</i> <i>H. Húdoková, P.</i> <i>Fleischer, Jr., E.</i> <i>Pšidová, M. Ježík</i>	Prejavy stresu suchom na parametroch ihlic a kmeňov sadeníc smreka obyčajného .....	37
<i>I. Pivková, J. Kukla, I.</i> <i>Mihál, F. Hnilička, H.</i> <i>Hniličková, K. Sláde-</i> <i>ková, M. Kuklová</i>	Obsah kadmia v pôdach ovplyvnených megnezitovými imisiami .....	42
<i>M. Zelený, K. Kraus, Š.</i> <i>Ekl, H. Hniličková, F.</i> <i>Hnilička</i>	Sacharidy a jejich vliv na fyziologický stav rostlin při vodním stresu .....	48
<i>L. Maryška, P. Suran,</i> <i>L. Zelený</i>	Vliv meteorologických podmínek na hospodářské vlastnosti vybraných genotypů slivoní v letech 2020-2022 .....	54
<i>T. Salaj, B. Panis</i>	Kryokonzervácia rastlinnej zárodečnej plazmy: spóry, gametofyty a peľová zrná .....	60
<i>K. A. Mocová, Š.</i> <i>Petrová, L. N. A. Sac-</i> <i>key, J. Chumchalová</i>	Fytotoxické činky výluhů štěpky ze dřevin mírného a tropického pásu .....	64
<i>Z. Lukačová, A. Mi-</i> <i>šúthová, M. Vaculík</i>	Fenomén oxidačního stresu v rostlinách .....	69

<i>A. Mišúthová, Z. Lukačová, M. Vaculík</i>	Vplyv arzénu v kombinácii s kremíkom na tvorbu fenolických látok v kukurici siatej .....	73
<i>Z. Sitková, J. Rybár, K. Melová, J. Rozkošný</i>	Lesnícko-ekologický výskum v Tatrách: klimatické trendy, meteorologické merania a prírastok lesných drevín .....	77
<i>M. Kizeková, L. Malovcová, M. Apacsová-Fúzková, N. Britaňák, M. Babulicová</i>	Vplyv počasia na úrodu pšenice ozimnej .....	87
<i>T. Bydžovská, L. Maryška, P. Suran, L. Zelený</i>	Vliv abiotických stresorů na produkční vlastnosti jabloní .....	91
<i>M. Bajus, Z. Vivodová, E. Labancová, Á. Horváthová, D. Hačkuličová, K. Šípošová, R. Vadkertiová, K. Kollárová</i>	Vplyv kvasiniek na rastliny vystavené suchu .....	98
<i>D. Hačkuličová, M. Bajus, E. Labancová, K. Šípošová, Z. Vivodová, K. Kollárová</i>	Effect of biologically active oligosaccharides on plants growing in drought conditions .....	102
<i>E. Labancová, D. Hačkuličová, K. Šípošová, Z. Vivodová, M. Bajus, D. Kučerová, K. Kollárová</i>	Protective and defence molecules - oligosaccharides – modulate the Production of reactive oxygen species in plants .....	106
<i>J. Kubeš, B. Burešová, F. Hnilička, M. Popov</i>	Vliv NSAID na sekundární metabolismus lociky seté in vitro .....	110
<i>V. Šamajová, H. Húdková, E. Pšidová, J. Marešová, P. Fleischer Jr., L. Ditmarová, G. Jamnická</i>	Different responses of photosynthetic features and terpenoids compositions of Norway spruce seedlings in the context of water deficit .....	115
<i>A. Tatoj, B. Barabasz-Krasny, W. Gruszka, I. Turisová</i>	Weeds as stress factors in meadow plants: allelopathic effects of <i>Hordeum murinum</i> L. SUBSP. <i>murinum</i> .....	120

<i>V. Vargová, E. Jančová</i>	Zhodnotenie kvality trvalých trávnych porastov s výskytom borievky obyčajnej	125
<i>L. Hanáková, M. Kummerová, Š. Zezulka, M. Martinka, M. Klemš</i>	Formování strukturních bariér primárního kořene hrachu pod vlivem naproxenu a změn hladin fytohormonů	129
<i>V. Zemanová, D. Pavlíková, M. Novák, M. Pavlík, P. I. Dobrev, V. Motyka</i>	Změny v profilu stresových hormonů <i>Raphanus sativus</i> var. <i>sativus</i> Pers. vlivem toxicity arsenu	134
<i>Y. Zeng, M. Novák, P. E. Šotek, A. Nawaz, M. Molnárová</i>	Hodnotenie fytoxicity medi v žaburinke menšej ( <i>Lemna minor</i> L.)	138
<i>M. Molnárová, A. Nawaz, Z. Ježová, P. Prokop</i>	Dochádza k bioakumulácii (polo)kovov v lovčíkovi hájnom ( <i>Pisaura mirabilis</i> Clerck, 1757) žijúcom na kontaminovanom území?	142
<i>H. Pavlendová, Z. Sitková, P. Pavlenda</i>	Vplyv prízemného ozónu na viditeľné poškodenie buka lesného ( <i>Fagus sylvatica</i> L.) na vybraných plochách ČMS lesy	147
<i>R. Kuna, P. Boleček, P. Mészáros, B. Píršelová</i>	Oxidatívny stres při rostlinách slnečnice pod vplyvom vysokých dávok kadmia	152
<i>K. Stránska, R. Matušová, B. Píršelová, V. Kubová</i>	Hodnotenie tolerancie rajčiaka ( <i>Solanum lycopersicon</i> ) na ióny kadmia	156
<i>A. Diviaková, H. Ollerová, A. Zacharová, S. Stašiov, M. Novikmec</i>	Vplyv environmentálnych faktorov na diverzitu rôzne manažovaných podhorských lúk v Štiavnických vrchoch a na Poľane	160
<i>F. Hnilička, B. Tunklová, J. Kudrna, T. Rýgl</i>	Změny rychlosti výměny plynů u vybraného sortimentu ovocných dřevin	166
<i>F. Hnilička, B. Tunklová, J. Kubeš, T. Rýgl</i>	Vliv vodního deficitu na fyziologické charakteristiky révy vinné	171
<i>B. Šerá, H. Žarnovičan</i>	Bodnoplev hroznatý podél okraje silnice – případová studie Selenec	177

<i>J. Tomaškin, J. Tomaškinová</i>	Trávne porasty a ich tolerancia a adaptácie na environmentálne stresory	.....	179
<i>B. Tunklová, J. Velebil, J. Malat'ák, F. Hnilička</i>	Studium fytoxicity biouhlu z pomerančové kúry ( <i>Citrus sinensis</i> ) L.) na klíčení semen řerichy seté ( <i>Lepidium sativum</i> L.)	.....	185
<i>S. Farkasová, J. Žiarovská, D. Moravčíková, A. Hricová</i>	Markéry retrotranspozónov v hodnotení zmien polymorfizmu pod stresom ťažkých kovov	.....	189
<i>I. Mihál, M. Kuklová, I. Pivková</i>	Aktuálny stav mykobioty pod vplyvom zásaditých imisií v okolí magnezitového závodu v Lubeníku (stredné Slovensko)	.....	194
<i>E. Šiman</i>	Poznatky fyziologie rostlin klíčem ke zvládnutí klimatických zmien	.....	199
<i>D. Krupová, S. Tóthová, J. Luptáková</i>	Vývoj obsahu síry v asimilačných orgánoch buka lesného a smreka obyčajného na území Slovenska	.....	203
<i>J. Herber</i>	Nabídka firmy Ekotechnika	.....	209
<i>M. Barna</i>	Folia Oecologica	.....	210
<i>E. Karská</i>	Vědecké časopisy ČAZV	.....	211



**JMENNÝ REJSTŘÍK**

<b>B</b>			Hricová	.....	189
Barna	.....	210	Húdoková	.....	37, 115
Babulicová	.....	87	<b>CH</b>		
Bajus	.....	98, 102, 106	Chumchalová	.....	64
Boleček	.....	152	<b>I</b>		
Britaňák	.....	18, 87	Ilavská	.....	18
Burešová	.....	110	<b>J</b>		
Bydžovská	.....	91	Jamnická	.....	37, 115
<b>D</b>			Jančová	.....	18
Ditmarová	.....	115	Jančová	.....	125
Diviaková	.....	160	Ježík	.....	37
Dobrev	.....	134	Ježová	.....	142
<b>E</b>			<b>K</b>		
Ekl	.....	48	Karská	.....	211
<b>F</b>			Kizeková	.....	18, 87
Farkasová	.....	189	Klemš	.....	129
Fleischer, Jr.	.....	37, 115	Kollarová	.....	98, 102, 106
Apacsová-Fúzková	.....	87	Kožnarová	.....	2
<b>G</b>			Kraus	.....	48
Gruszka	.....	120	Barabasz-	.....	120
<b>H</b>			Krasny	.....	203
Hačkuličová	.....	98, 102, 106	Krupová	.....	203
Hájková	.....	2	Kubeš	.....	110, 171
Hanáková	.....	129	Kubová	.....	156
Hanzes	.....	18	Kučerová	.....	106
Herber	.....	209	Kudrna	.....	166
Hnilička	.....	29, 42, 48, 110, 166, 171, 185	Kukla	.....	42
Hniličková	.....	29, 42, 48	Kuklová	.....	42, 194
Horváthová	.....	98	Kummerová	.....	129
			Kuna	.....	152
			<b>L</b>		
			Labancová	.....	98, 102, 106
			Lukačová	.....	69, 73

Luptáková	.....	203	Pollák	.....	18
			Popov	.....	110
			Priwitzer	.....	12
			Prokop	.....	142
			Pšidová	.....	37, 115
<b>M</b>					
Malat'ák	.....	185			
Malovcová	.....	87			
Marešová	.....	115			
Martinka	.....	129			
Maryška	.....	54, 91	<b>R</b>		
Matúšová	.....	156	Rozkošný	.....	77
Melová	.....	77	Rybár	.....	77
Mészáros	.....	152	Rýgl	.....	29, 166, 171
Mezei	.....	23			
Mihál	.....	42, 194			
Mišúthová	.....	69, 73	<b>S</b>		
Mocová	.....	64	Sackey	.....	64
Molnárová	.....	138, 142	Sajad	.....	37
Moravčíková	.....	189	Salaj	.....	60
Motyka	.....	134	Sitková	.....	77, 147
Možný	.....	2	Sladeková	.....	42
Musilová	.....	2	Stašiov	.....	160
			Stránská	.....	156
			Suran	.....	54, 91
<b>N</b>					
Nawaz	.....	138, 142			
Novák	.....	134, 138	<b>Š</b>		
Novikmec	.....	160	Šamajová	.....	115
			Šerá	.....	177
			Šiman	.....	199
			Šípošová	.....	98, 102, 106
			Šotek	.....	138
<b>O</b>					
Ollerová	.....	160			
Oušková	.....	2			
<b>P</b>			<b>T</b>		
Panis	.....	60	Tatoj	.....	120
Pavlenda	.....	12, 147	Tomaškin	.....	179
Pavlendová	.....	12, 147	Tomaškinová	.....	179
Pavlík	.....	134	Tóthová	.....	203
Pavlíková	.....	134	Tunklová	.....	166, 171, 185
Petrová	.....	64	Turisová	.....	120
Piršelová	.....	152, 156			
Pivková	.....	42, 194			

**V**

Vaculík	.....	69, 73
Vadkertiová	.....	98
Vargová	.....	125
Velebil	.....	185
Vivodová	.....	98, 102, 106
Vlach	.....	2

**Z**

Zacharová	.....	160
Zelený L	.....	54, 91
Zelený M	.....	48
Zemanová	.....	134
Zeng	.....	138
Zezulka	.....	129

**Ž**

Žarnovičan	.....	177
Žiarovská	.....	189

## ÚVODNÍ SLOVO

Před zahájením letošního ročníku konference se nám dostal do ruky výtisk jednoho nejmenovaného odborného časopisu, který vyšel právě před 20 lety a hodnotil v něm právě uplynulý ročník naší konference. Po přečtení uvedého článku měl člověk pocit, že děláme něco špatně a zbytečně, neboť jediným hodnotícím kritériem byla kritika konference. Kritika se týkala především toho, že je vše teoreticky zaměřené a nic není vhodné a aplikovatelné v praxi. Tak doufáme, že letošní ročník toto hodnocení částečně změní, neboť letošním mottem je právě aplikace a využití antistresových látek v zemědělství a lesnictví.

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, jak již bylo uvedeno výše, zaměřena na problematiku využití podpůrných látek pro snížení negativního vlivu stresorů na rostlinnou produkci. Domníváme se, že právě tato problematika je stále více v popředí zájmu nejenom zemědělců, lesníků, zelinářů, ovocnářů, ale také jejich výrobců. Nesmíme však zapomínat, že tyto látky nejsou vše spásné, záleží také na agrotechnice, výběru vhodných odrůd apod. právě všechny tyto faktory spolurozhodují o kvalitě a výši produkce. 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 přizpůsobení se stresorům.

V závěru úvodního slova nám dovoluňte připomenout našeho dlouholetého recenzenta, bez kterého si již přípravu sborníku nedokážeme představit. Tímto recenzentem byl doc. RNDr. Jan Novák, DrSc., který se podílel na revizi a kontrole jednotlivých příspěvků. Na konci června by oslavil 80 let, bohužel zákeřná nemoc jeho život přerušila, a to v právě v den jeho narozenin. Vzpomínejme na něj s láskou a úctou.

Naším přáním je, aby i letošní ročník byl inspirující, podnětný a přátelský. Na shledanou v roce 2024 ve Zvolenu

Organizační výbor konference

**VARIABILITA FENOLOGICKÝCH FÁZÍ NA ÚZEMÍ ČR****VARIABILITY OF PHENOLOGICAL PHASES IN THE CZECH REPUBLIC**

Lenka Hájková<sup>1</sup>, Martin Možný<sup>1</sup>, Adéla Musilová<sup>1</sup>, Vojtěch Vlach<sup>1</sup>,  
Veronika Oušková<sup>1</sup>, Věra Kožnarová

<sup>1</sup> Český hydrometeorologický ústav, OBA, Na Šabatce 17, 143 06 Praha 4 – Komořany 1  
lenka.hajkova@chmi.cz

**Summary**

This study analyses the change in the sprouting, leaf unfolding, beginning of flowering and leaves colouring of the lime tree (*Tilia cordata*) in the period 1991–2022 in the Czech Republic. The selected phenological phases are monitored within the CHMI phenological network (wild plants). Temporal and spatial evaluation in timing of the beginning and duration of flowering was investigated in the different altitude zones of the Czech Republic. Mann-Kendall test and geographic information system methods were used. The selected phases of lime tree were very variable in the period 1991–2022, and their onsets occurred earlier ( $p < 0.001$ ). The shift is more than 15 days for sprouting and leaf unfolding, and more than 30 days for beginning of flowering. The leaves colouring starts later, the shift is more than 20 days.

*Key words: phenology, trend, climate change, altitude zone, Czech Republic*

**Souhrn**

Lípa srdčitá (*Tilia cordata*) je hojně rozšířena téměř na celém území České republiky a vybrané fenologické fáze jsou sledovány v rámci fenologické sítě ČHMÚ (lesní rostliny). Ve studii bylo provedeno časové a prostorové vyhodnocení vybraných fenologických fází lípy srdčité rostoucí v různých výškových pásmech České republiky. K analýze byly použity geografické informační systémy (ArcGIS) a Mann-Kendall test. Sledované fenologické fáze lípy srdčité byly v období 1991–2022 velmi variabilní a v jejich nástupech došlo v analyzovaném časovém intervalu k výraznému posunu ( $p < 0,001$ ) do ranějšího období. U fázi rašení a počátku olistování o více než 15 dní, u počátku kvetení o více než 30 dní. Žloutnutí listů začíná později, posun je o více než 20 dní.

*Klíčová slova: fenologie, trend, výškové pásmo, Česká republika*

**ÚVOD**

Na lípu narazíme v České republice doslova všude – od nížin po nižší hory. Lípy však nejsou jen českou (resp. českomoravskoslezskou) doménou, rostou totiž v celém mírném pásmu severní polokoule, kde se vyskytuje přibližně až 40 druhů /10/. Na západě zasahuje až do Anglie, na severu do jižní Fennoskandinávie, k jihu sestupuje po severní Španělsko, jižní Francii, střední Itálii a severní Řecko, roste také na Korsice, Krymu a na Kavkaze. Na východě se areál táhne přes Povolží a Ural až do západní Sibíře k Omsku /9/. V České

republike jsou původní pouze dva druhy, lípa velkolistá (*Tilia platyphyllos* Scop.) a lípa malolistá neboli srdčitá (*Tilia cordata* Mill.).

Už od pradávna je lípa vysazována v kulturní krajině, při lidských sídlech jako strom návesní, rodový, památný, jako součást alejí, v minulosti byla také sázena do blízkosti poutních míst. Lípy byly vysazovány na návsi, ke křížkům, kapličkám, kostelům, s oblibou i do alejí u cest. Zdobily parky a sady paláců již v 19. století, kde jim dodávaly na majestátu. Vjíždět do paláců lipovou alejí bylo dovoleno jen těm nejváženějším a nejvzácnějším hostům. Lípa byla vysazována také u vesnických studní, v tomto případě byla stromem ochraňujícím vodu jako životadárnou tekutinu. Lípy jsou dlouhověkové stromy, na pietních místech významných pro národ, narazíme na prastaré památné stromy, což v jejich případě umožňuje vytváření výmladků. A právě výmladky jsou schopny nahradit odumřelý, vymýcený hlavní kmen. Není proto výjimkou, že narazíme i na lípy staré téměř tisíc let /1/.

Listy všech druhů lip (*Tilia*) připomínají symbolický tvar srdce. Květy mají opojnou vůni a jejich pyl je významným zdrojem potravy pro včely. Proto byla lípa odedávna nazývána **královnou medonosných rostlin**. Na druhou stranu se pyl lípy srdčité řadí mezi významné alergeny, které se šíří vzduchem. V současné době je alergie na pyl v celosvětovém měřítku velmi závažným problémem. Vědecké publikace uvádějí, že za posledních třicet let se počet alergiků a astmatiků v Evropě zvýšil čtyřnásobně a nyní postihuje 15–40 % populace /1/.

Význam sledování vývoje lípy srdčité proto roste, v ČR je součástí fenologického pozorování Českého hydrometeorologického ústavu (ČHMÚ) v síti lesních rostlin. Probíhající klimatické změny ovlivňují nástupy a dobu trvání jednotlivých fenologických fází a u různých druhů rostlin dochází k jejich posunům.

V tomto příspěvku jsme se zaměřili na vyhodnocení změny vybraných vegetativních a generativních fází u lípy: rašení, počátku olistění 10 %, počátku kvetení 10 % a žloutnutí listů 10 %.

## MATERIÁL A METODIKA

Pro analýzu byla zvolena lípa srdčitá (*Tilia cordata* Mill.) z čeledi *Malvaceae*.

Lípa srdčitá roste na humózních a vlhčích půdách, v lesích suťových, lužních, v dubohabřinách, druhotně ve městech, parcích i podél cest. Jedná se o statný strom s pravidelnou korunou, vysoký až 30 m, kde kmen má hladkou borku, která později ve stáří puká a praská. Při bázi kmene, nebo větví se často zmlazuje výmladky. Letorosty lípy jsou načervenalé, lysé. Řapík listů je 2–4,6 m dlouhý, listová čepel je okrouhlá, 3,8–7 cm dlouhá a 3,7–6,8 cm široká, na bázi mírně asymetrická, srdčitá, výjimečně i uťatá, se 4–6 páry postranních žilek. Okraj listu je pilovitý až dvojitě pilovitý, zuby jsou trojúhelníkovité, tupé, s hrotem dlouhým nanejvýše 0,4 mm. Na líci jsou listy tmavě zelené, lysé, na rubu světle zelené a šedo-zelené, nejprve hvězdovitě chlupaté, ale záhy olýsalé, jen s hnědooranžovými chlupy v paždí hlavních žilek. Kveté od června do července, a to zhruba o dva týdny později než lípa velkolistá. Květenství je vzpřímené, 5–8(–30) květů. Plody jsou kulovité, elipsoidní až obvejcovité, dlouhé 6–7 mm, hnědě plstnaté, hladké až nezřetelně žebernaté, v prstech lehce smáčkutelné /9/.

Vývoj lípy popisuje celkem 12 různých vegetativních a generativních fenologických fází v průběhu celé vegetační sezony (od rašení po opad listů) podle předepsané metodiky /2/. Mezi ně patří následující fenologické fáze: *rašení, počátek olistování 10 %, počátek kvetení 10 % a žloutnutí listů 10 %*. Podle metodického pokynu je popis fenologických fází následující:

- rašení - sledují se jen terminální pupeny, ve spojitosti s růstem orgánů (stonek, listy) skrytých uvnitř v pupenu došlo k částečnému rozevření obalných šupin, takže jsou vidět špičky listů

- počátek olist'ování (obr.1) - sledují se jen listy vyvíjející se z terminálních pupenů. Při pohledu na líc listu je právě vidět celé listové žebro. Čepel listu je již částečně rozvinuta, avšak způsob složení listu v pupenu (řasnaté složení, svinutí) je stále náznakově patrný. List ještě nedosáhl své konečné velikosti.

- počátek kvetení 10 % (obr. 1) - květy jsou rozevřené, prašníky jsou viditelné, alespoň některé z nich se právě otevírají a uvolňují pyl.

- žloutnutí listů 10 % - 10 % listů na stromě zežloutlo (zhnědlo či jinak se probarvilo).



Obr. 1 Lipa srdčitá: a) habitus, b) počátek olist'ování, c) počátek kvetení



Obr. 2 Fenologické stanice ČHMÚ použité k analýze vybraných fenologických fází lípy srdčité

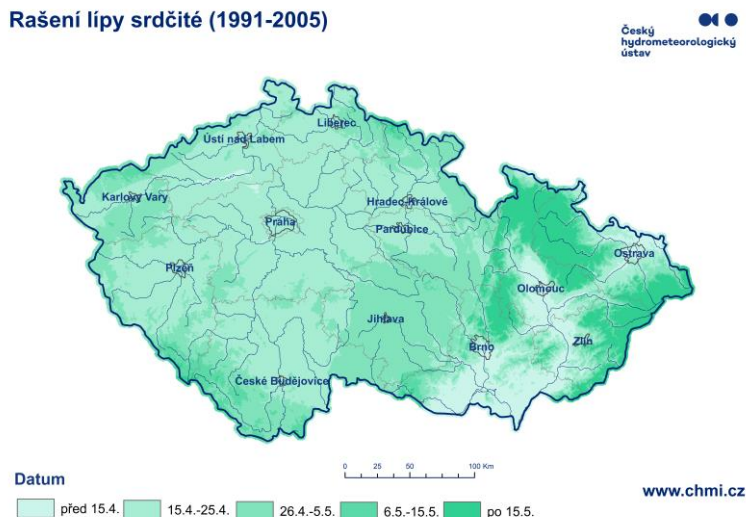
Fenologická data byla exportována z fenologické databáze ČHMÚ (Fenodata) a byla vyhodnocena pomocí geografických informačních systémů (ArcGIS) a Mann-Kendall testu /5/. Fenologických stanic bylo 29 (obr. 2) a nacházely se v nadmořské výšce od 155 m (Doksany) do 830 m (Měděnec). V geografickém zpracování byla využita metoda se

závislostí na nadmořské výšce /8/. Analýza a zpracování dat bylo provedeno za období 1991–2020 včetně vyhodnocení v období 1991–2005 a 2006–2020.

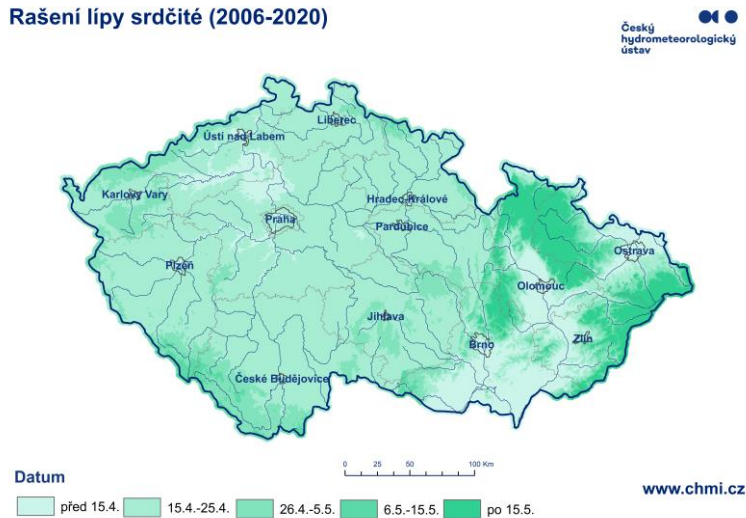
## VÝSLEDKY A DISKUSE

Průměrná data dvou sledovaných fenofází: *rašení*, *počátek olisťování*, *počátek kvetení* a *žloutnutí listů* lípy srdčité v období (1991–2005, 2006–2020 and 1991–2020) jsou uvedeny

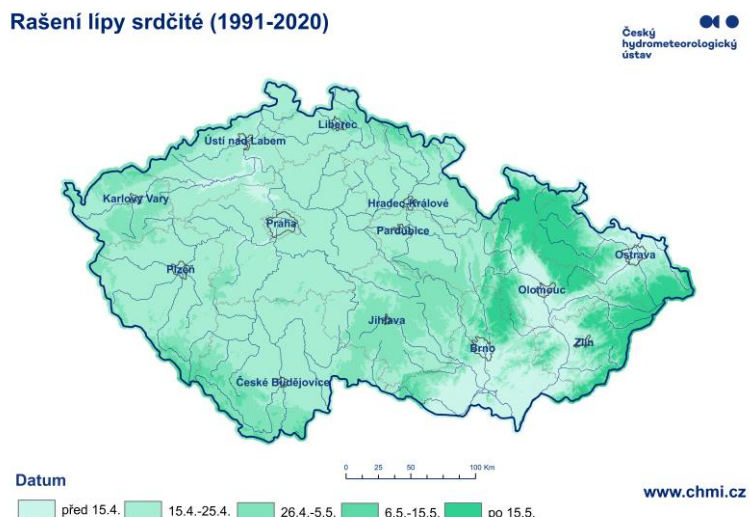
**Rašení lípy srdčité (1991-2005)**



**Rašení lípy srdčité (2006-2020)**

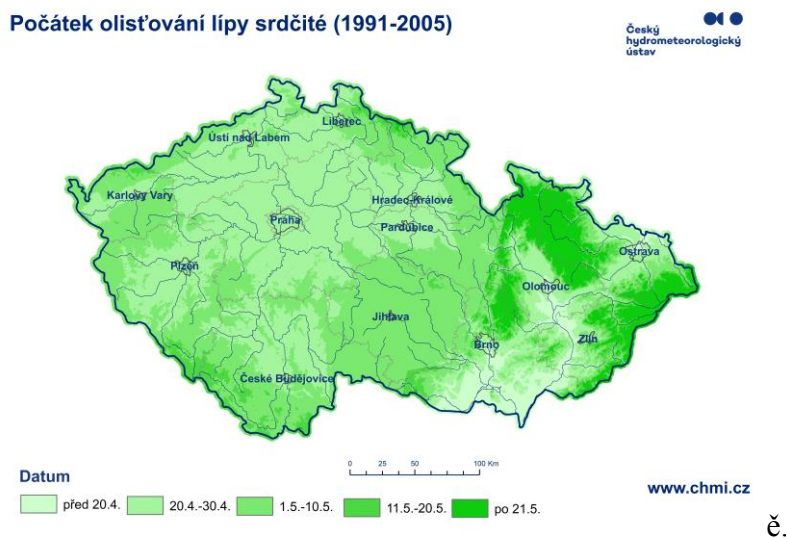






Obr. 3 Rašení lípy srdčité (*Tilia cordata*) v období: a) 1991–2005, b) 2006–2020, c) 1991–2020

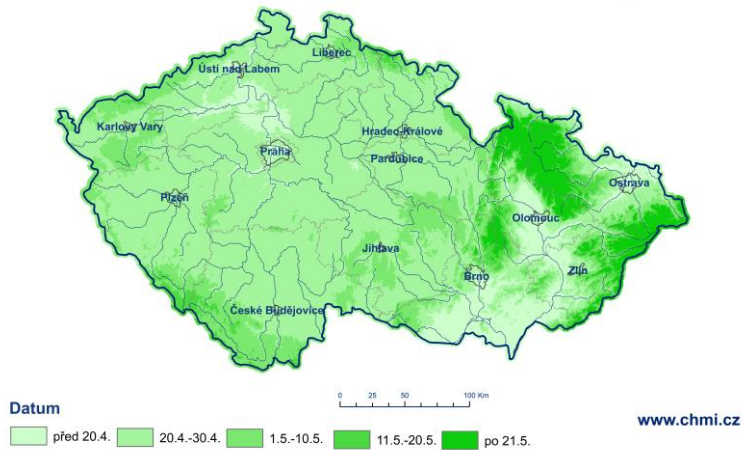
na obr. 3 až 6. Časové rozmezí rašení a počátku olisťování lípy srdčité v České republice (ČR) je 30 dní. Hranice intervalu byly stanoveny u rašení na 15. duben (pořadový den v roce = 105) a 15. květen (pořadový den v roce = 135). U počátku olisťování byly hranice intervalu stanoveny na 20. duben (pořadový den v roce = 105) a 21. květen (pořadový den v roce = 141). V období 2006–2020 je vidět posun v nástupu fází rašení a počátku olisťování zejména v Polabí a na jižní Moravě.



ě.

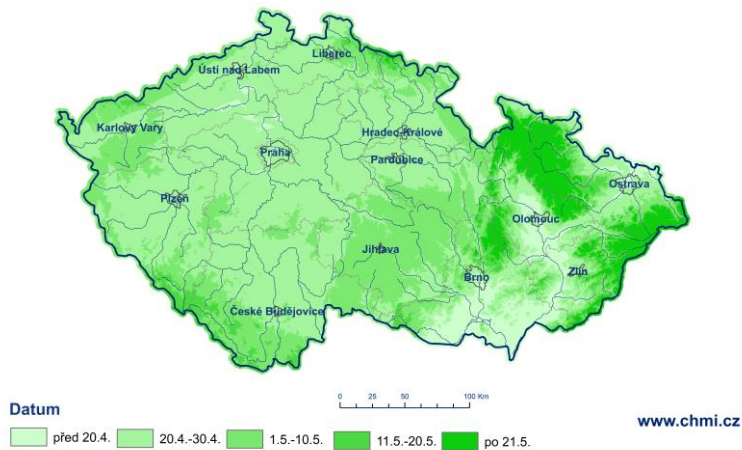
Počátek olisťování lípy srdčité (2006-2020)

Český hydrometeorologický ústav



Počátek olisťování lípy srdčité (1991-2020)

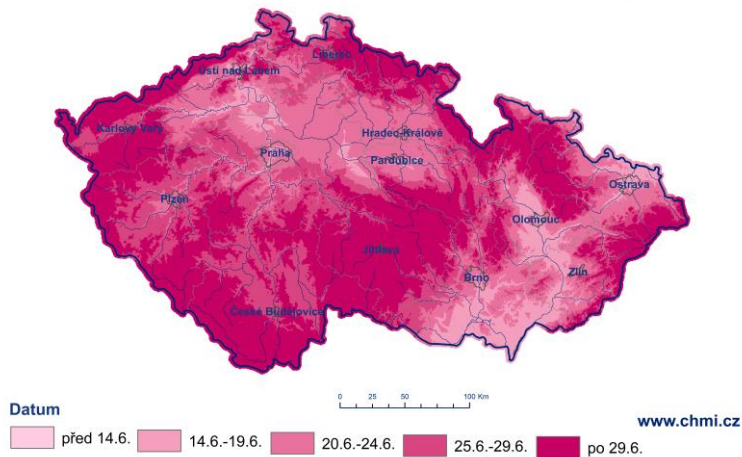
Český hydrometeorologický ústav



Obr. 4 Počátek olisťování lípy srdčité (*Tilia cordata*) v období: a) 1991–2005, b) 2006–2020, c) 1991–2020

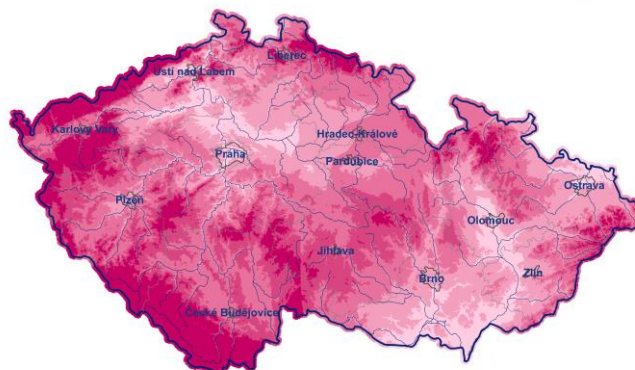
Počátek kvetení (10 %) lípy srdčité (1991-2005)

Český hydrometeorologický ústav



Počátek kvetení (10 %) lípy srdčité (2006-2020)

Český  
hydrometeorologický  
ústav

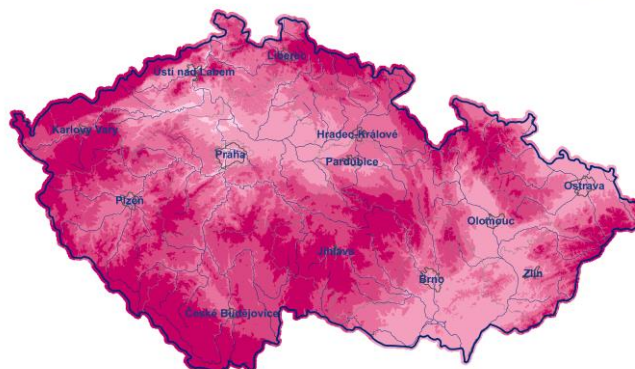


Datum



Počátek kvetení (10 %) lípy srdčité (1991-2020)

Český  
hydrometeorologický  
ústav



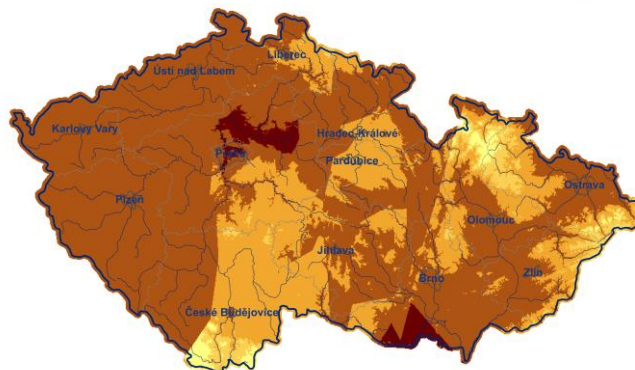
Datum



Obr. 5 Počátek kvetení lípy srdčité (*Tilia cordata*) v období: a) 1991–2005, b) 2006–2020, c) 1991–2020

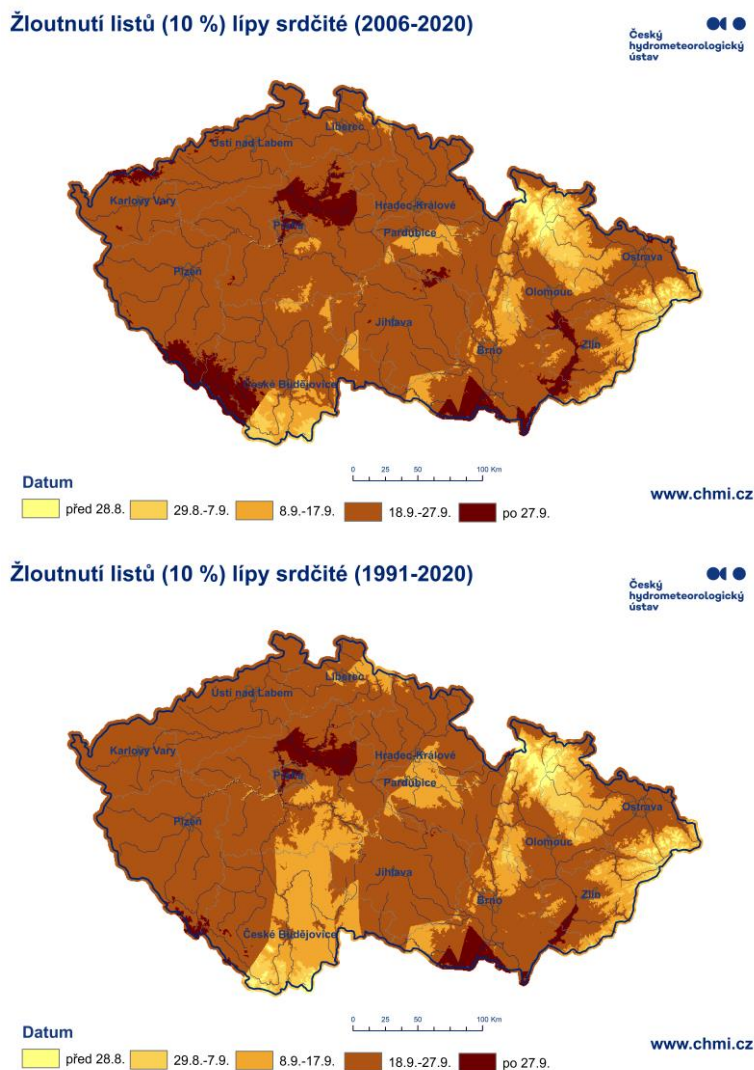
Žloutnutí listů (10 %) lípy srdčité (1991-2005)

Český  
hydrometeorologický  
ústav



Datum





Obr. 6 Žloutnutí listů 10 % lípy srdčité (*Tilia cordata*) v období: a) 1991–2005, b) 2006–2020, c) 1991–2020

Tab. 1 Mann-Kendall test (uvedeno ve dnech) vegetativních fenologických fází

Stanice	Změna / rok (dny)	Změna / období (dny)
<b>Rašení</b>		
<b>Lednice (165 m n. m.)</b>	<u>-0,04</u>	<u>-1,3</u>
<b>Běleč nad Orlicí (241 m n.m.)</b>	<u>-0,17</u>	<u>-5,4</u>
<b>Vlašim (350 m n. m.)</b>	<u>-0,5***</u>	<u>-16***</u>
<b>Březina (450 m n. m.)</b>	<u>-0,12</u>	<u>-3,8</u>
<b>Český Rudolec (540 m n. m.)</b>	<u>0</u>	<u>0</u>
<b>H. Rokytnice (743 m n. m.)</b>	<u>-0,45**</u>	<u>-14,4**</u>
<b>Měděnec (830 m n. m.)</b>	<u>0</u>	<u>0</u>
<b>Počátek olistování 10 %</b>		
<b>Lednice (165 m n. m.)</b>	<u>-0,12</u>	<u>-3,8</u>
<b>Běleč nad Orlicí (241 m n.m.)</b>	<u>-0,25</u>	<u>-8</u>
<b>Vlašim (350 m n. m.)</b>	<u>-0,2</u>	<u>-6,4</u>
<b>Březina (450 m n. m.)</b>	<u>0</u>	<u>0</u>
<b>Český Rudolec (540 m n. m.)</b>	<u>-0,09</u>	<u>-2,9</u>

H. Rokytnice (743 m n. m.)	<u>-0,48</u> **	<u>-15,4</u> **
Měděnec (830 m n. m.)	<u>-0,11</u>	<u>-3,5</u>
<b>Žloutnutí listů 10 %</b>		
Lednice (165 m n. m.)	<u>0,5</u> *	<u>16</u> *
Běleč nad Orlicí (241 m n.m.)	<u>0,4</u>	<u>12,8</u>
Vlašim (350 m n. m.)	<u>0</u>	<u>0</u>
Březina (450 m n. m.)	<u>0,32</u> **	<u>10,2</u> **
Český Rudolec (540 m n. m.)	<u>0,09</u>	<u>2,9</u>
H. Rokytnice (743 m n. m.)	<u>0,74</u> **	<u>23,7</u> **
Měděnec (830 m n. m.)	<u>0,2</u>	<u>6,4</u>
* $p < 0,05$ ; ** $p < 0,01$ ; *** $p < 0,001$		

U generativní fáze počátek kvetení lípy srdčité byly hranice intervalu stanoveny na 14. červnu (pořadový den v roce = 165) a 29. červnu (pořadový den v roce = 180), rozmezí je 15 dní. U této fáze je vidět výrazný posun do dřívějšího data na většině území ČR. U žloutnutí listů bylo stanoveno rozmezí intervalu od 28. srpna (pořadový den v roce = 240) a 27. září (pořadový den v roce = 270). Výsledky ukazují, že dochází k pozdějšímu nástupu žloutnutí listů, v období 2006–2020 je vidět posun na velké části území ČR.

V tabulce 1 a 2 jsou uvedeny výsledky Mann-Kendall testu za období 1991–2022 u vegetativních fází rašení, počátek olisťování, a žloutnutí listů, a u generativní fáze počátek kvetení 10 % lípy srdčité na vybraných fenologických stanicích v různých výškových pásmech. Výsledky ukazují, že statisticky významný posun nastal u fáze *počátek kvetení* – na některých lokalitách i o více než 1 měsíc. U rašení a počátku olisťování byl zjištěn na stanici Horní Rokytnice (743 m n. m.) a Vlašim (350 m n. m.). U fenologické fáze žloutnutí listů byla statisticky nejvýznamnější změna zaznamenána na stanici Lednice (165 m n. m), Březina (450 m n. m) a Horní Rokytnice (743 m n. m.). Posuny v nástupech fenologických fází zjišťují ve svých studiích i ostatní autoři např. /6/, /7/ či /3/, /4/.

Výsledky Mann-Kendall testu (uvedeno ve dnech) vegetativních fenologických fází rašení, počátek olisťování 10 % a žloutnutí listů 10 % lípy srdčité (*Tilia cordata*) v různých výškových pásmech v období 1991–2022 jsou uvedeny v tab. 1.

Výsledky Mann-Kendall testu generativních fenologických fází počátek kvetení 10 % lípy srdčité (*Tilia cordata*) v různých výškových pásmech v období 1991–2022 jsou uvedeny v tab. 2.

Tab. 2 Mann-Kendall testu (uvedeno ve dnech) generativních fenologických fází

Stanice	Změna / rok (dny)	Změna / období (dny)
<b>Počátek kvetení 10 %</b>		
Lednice (165 m n. m.)	-0,63***	-20,2***
Běleč nad Orlicí (241 m n.m.)	-0,27	-22,4
Vlašim (350 m n. m.)	-0,37*	-11,8*
Březina (450 m n. m.)	-0,63***	-20,2***
Český Rudolec (540 m n. m.)	-0,25*	-8*
H. Rokytnice (743 m n. m.)	-1,27***	-40,6***
Měděnec (830 m n. m.)	-0,44	-14,1
* $p < 0,05$ ; ** $p < 0,01$ ; *** $p < 0,001$		

## ZÁVĚR

Analýza prokázala, že nástupy fenologických fází lípy srdčité byly velmi variabilní v období 1991–2022. Výsledky ukazují, že klimatická změna působí na posun rašení, počátku

olistování, počátku kvetení a žloutnutí listů lípy srdčité (*Tilia cordata*) v České republice a může ovlivňovat ekologickou náročnost tohoto rostlinného druhu. Dřívější kvetení lípy rovněž výrazně mění průběh pylové sezóny.

## LITERATURA

- /1/ Clot, B., Gilge, S., Hájková, L., Magyar, D., Scheifinger, H., Sofiev, M., Büttler, F., Tummon, F. : The EUMETNET AutoPollen programme: establishing a prototype automatic pollen monitoring network in Europe. *Aerobiologia* <https://doi.org/10.1007/s10453-020-09666-4>
- /2/ Hájková et al. 2012 Atlas fenologických poměrů Česka. 1. vydání Praha-Olomouc. ISBN (ČHMÚ) 978-80-86690-98-8; ISBN (UP) 978-80-244-3005-8. 312 s.
- /3/ Hájková, L., Kožnarová, V., Možný, M., Bartošová, L. (2020). Influence of climate change on flowering season of birch in the Czech Republic. *Int. J. Biometeorol.* 2020, 64, 791–801. <https://doi.org/10.1007/s00484-020-01869-1>.
- /4/ Hájková, L., Možný, M., Oušková, V., Musilová, A., Vlach, V., Dížková, P., Bartošová, L., Žalud, Z. (2023). Common snowdrop as climate change bioindicator in Czechia. *International Journal of Biometeorology* (2023) 67:465–476, <https://doi.org/10.1007/s00484-023-02426-2>.
- /5/ Libiseller C, Grimvall A (2002) Performance of partial Mann Kendall tests for trend detection in the presence of covariates. *Environmetrics* 13:71–84
- /6/ Poikolainen, J., Tolvanen, A., Karhu, J., Kubin, E. (2016). Seventeen-year trends in spring and autumn phenophases of *Betula pubescens* in a boreal environment. *Int. J. Biometeorol.* 2016, 60, 1227–1236. <https://doi.org/10.1007/s00484-015-1118-3>.
- /7/ Rafferty N.E., Diez J.M., Bertelsen C.D. (2020). Changing climate drivers divergent and nonlinear shifts in flowering phenology across elevations. *Curr. Biol.* 30 (2020) 432–441, e433.
- /8/ Tolasz, R., et al. (2007). Atlas podnebí Česka. Praha: ČHMÚ, 1. vydání. ISBN 978-80-86690-26-1, 255 s.
- /9/ <https://botany.cz/cs/tilia-cordata/>.
- /10/ <https://www.ceskestavby.cz/clanky/lipa-narodni-strom-ktery-tvori-jedinecne-aleje-i-solitary-muze-vsak-zdobit-i-zahradu-a-byt-29894.htm>
- /11/ <https://lipyrepubliky.cz/lipa-zajimavosti-o-nasem-narodnim-stromu/>

## Poděkování

Příspěvek vznikl za podpory Technologické Agentury ČR – projekt číslo SS02030018 (DivLand) a SS02030040 (PERUN).

# ORGANICKÝ UHLÍK V LESNÝCH PŮDACH V KONTEXTE MITIGAČNÝCH A ADAPTAČNÝCH OPATRENÍ NA ZMENU KLÍMY

## ORGANIC CARBON IN FOREST SOILS IN THE CONTEXT OF MITIGATION AND ADAPTATION MEASURES TO CLIMATE CHANGE

Pavel Pavlenda, Tibor Priwitzer, Hana Pavlendová

Národné lesnícke centrum – LVÚ Zvolen, T. G. Masaryka 22, 960 01 Zvolen

pavel.pavlenda@nlcsk.org

### Summary

The aim of the work was to present approaches to the assessment of organic carbon in forest soils from the point of view of changing climate, to summarize possible measures in relation to the potential for further carbon sequestration in soil as part of the forest ecosystem and the relations to the adaptation of forests to climate change. The work includes basic information about carbon stocks in forest soils in Slovakia and assessment of their changes. The results from representative soil surveys indicate stable carbon stocks with the mean about 140 t.ha<sup>-1</sup>, the results from intensive monitoring plots indicate a slight increase in SOC stocks in mineral soil, but decrease in the surface organic layer.

*Key words: soil organic carbon, forest ecosystem, climate change, mitigation, forest management*

### Súhrn

Cieľom práce bolo prezentovať prístupy k hodnoteniu organického uhlíka v lesných pôdach z hľadiska meniacej sa klímy, zhrnúť možné opatrenia vo vzťahu k potenciálu ďalšej sekvestrácie uhlíka v pôde ako súčasť lesného ekosystému a súvislosti s adaptáciou lesov na zmenu klímy. Súčasťou práce sú základné informácie o zásobách uhlíka v lesných pôdach na Slovensku a hodnotení ich vývoja. Doterajšie výsledky z reprezentatívnych výberových zisťovaní indikujú stabilné zásoby na úrovni priemerne 140 t.ha<sup>-1</sup>, výsledky z plôch intenzívneho monitoringu naznačujú mierny vzostup zásob v minerálnej pôde, ale úbytok v pokrývkovom humuse.

*Kľúčové slová: pôdny organický uhlík (SOC), lesný ekosystém, klimatická zmena, mitigácia, manažment lesa*

## ÚVOD

Problematike pôdneho organického uhlíka (soil organic carbon – SOC) sa najmä v posledných dvoch desaťročiach venuje mimoriadna pozornosť. Popri bežnom posudzovaní z hľadiska pôdnych vlastností, procesov prebiehajúcich v pôde a úrodnosti pôdy sa výrazne posúva priorita smerom ku kontextu meniacej sa klímy a kolobehu uhlíka v ekosystémoch /1, 3, 4, 5/. Detailnejšie porozumenie väzieb medzi pedosférou, hydrosférou, atmosférou a biosférou a ich ovplyvňovania aktivitami ľudskej spoločnosti sa stáva jednou z kľúčových sfér poznania v podmienkach meniacej sa klímy. Keďže podľa správ IPCC realita vývoja sa javí vždy horšia, než pesimistickejšie scenáre, vzniká aj silný politický tlak na riešenie tohto vývoja – a to z hľadiska mitigačných opatrení aj adaptácie spoločnosti i krajiny. Popri globálnych dohodách sú pre naše podmienky zásadné najmä iniciatívy a legislatívne kroky v Európskej únii.

Problematiku zmeny klímy vo vzťahu k lesom je potrebné vnímať komplexne z pohľadu možností adaptácie i mitigácie. Mitigáciou sa rozumie zmierňovanie či spomaľovanie zmeny klímy, teda za mitigačné opatrenia považujeme opatrenia pre redukcii emisií skleníkových plynov a pre zvýšenie sekvestrácie skleníkových plynov z ovzdušia, najmä CO<sub>2</sub>. Adaptáciou rozumieme prispôsobenie sa vplyvom (dopadom) zmeny klímy, v praktickom zmysle slova teda opatrenia pre znižovanie zraniteľnosti voči dopadom zmeny klímy.

Ani plnenie záväzkov výrazného znižovania emisií skleníkových plynov nestačí na nulovú bilanciu CO<sub>2</sub> a tzv. klimatickú neutralitu. V doprave, priemysle, energetike a pri bežnej spotrebe spoločnosti nikdy nemôžu byť tieto emisie nulové, preto sa očakáva, že sektory, ktoré fungujú ako „zachytávače“, zvýšia zachyty CO<sub>2</sub> z ovzdušia. Kľúčové je v tom lesníctvo, keďže lesné ekosystémy majú veľký mitigačný potenciál, t.j. značný potenciál v zmierňovaní a spomalení zmeny klímy. Na druhej strane, vzhľadom na dlhovekosť lesných drevín adaptácia drevín a lesných ekosystémov na meniacu sa klímu nie je jednoduchá. Modely vývoja porastových zásob a objemovej produkcie do konca storočia prognózujú pre naše podmienky vzostup vo vyšších vegetačných stupňoch produkcie drevín, ale v nižších stupňoch – od dubového po bukový lesný vegetačný stupeň – výrazný pokles. Pokiaľ ide o pôdy, tam bude vývoj zrejme výsledkom protichodných tendencií zvýšeného vstupu organickej hmoty opadom, ale urýchlenia mineralizácie pri zvýšených teplotách.

Meniaca sa klíma mení nielen podmienky pre vitalitu, rast a produkciu drevín (a teda aj schopnosť sekvestrovať uhlík), ale mení výskyt a dopady biotických škodlivých činiteľov (najmä pôdkôrneho hmyzu) i abiotických vplyvov (najmä extrémov počasia, vetrových kalamít, požiarov). Najmä veľkoplošné disturbancie v lesoch tak zhoršujú možnosti prieběžnej i dlhodobej mitigácie.

## **ORGANICKÝ UHLÍK V LESNEJ PÔDE – VÝCHODISKÁ A ZÁKLADNÉ FAKTY**

V tomto príspevku nie je priestor venovať sa detailne procesom súvisiacim s tokmi uhlíka (respirácia, opad, prírastok biomasy, premeny organickej hmoty v pôde a pod.) alebo jednotlivým organickým zlúčeninám v pôde, ktoré uhlík obsahujú. Problematika pôdneho organického uhlíka je veľmi dobre spracovaná na globálnej i národnej úrovni /1, 3, 4, 10/. Poukážeme tu skôr na súvislosti z hľadiska celkovej bilancie uhlíka.

V zóne mierneho pásma s dominanciou listnatých a zmiešaných lesov tvorí zásoba uhlíka v pôde viac než polovicu jeho celkových zásob v lesoch. Z rôznych rozsiahlych databáz o lesoch Slovenska bola odvodená celková priemerná zásoba uhlíka približne 270 t.ha<sup>-1</sup>. Z toho na jeden hektár je asi 150 t v pôde (spolu s opadom), 95 t v nadzemnej biomase, 19 t v podzemnej biomase a 8 t v odumretom dreve /8/.

Z hľadiska dynamiky a manažmentu lesa je samozrejme kľúčový najmä vývoj zásoby uhlíka v drevnej hmote (biomase). Práve zásoba živej biomasy (a s ňou aj množstva uhlíka v nej uloženého) sa najviac mení v čase. Na jednej bilančnej strane je prírastok drevín a na druhej ťažba dreva (a presun do výrobkov z dreva), ale aj odumieranie stromov (a presun do mŕtveho dreva). Zásoba uhlíka v pôde sa tvorila tisíce rokov z odumretej biomasy organizmov, žijúcich na pôde i v nej samotnej. Podstatnú časť tvoria aj odumreté korene rastlín. Aktuálna úroveň zásoby organického uhlíka je výsledkom klimatických podmienok, typu vegetácie, ktorá sa na danej pôde dlhodobo vyvíjala, a manažmentu človekom. Vo vlhkejších a chladnejších oblastiach sú zásoby uhlíka v pôde vyššie než v suchších a teplejších. Preto v rámci Európy sú najvyššie zásoby najmä na severovýchode (vysoký podiel rašelinových pôd) a vo vyšších polohách. Zásahy človeka stav zásob uhlíka v pôde modifikujú, a to nielen priame zásahy do pôdy, ale aj spôsob manažmentu vegetačného krytu.

Vývoj zásob pôdneho uhlíka na úrovni krajiny sa kvantifikuje buď na základe opakovaných zisťovaní (vzorkovaní a laboratórnych stanovení), obvykle s odstupom aspoň 10



rokov, alebo na základe rôznych typov modelov. Monitoring stavu lesných pôd je súčasťou monitoringu lesov v celej Európe, niektoré krajiny však majú špeciálne systémy vzorkovania nezávislé na týchto harmonizovaných aktivitách. Na základe inventarizácie lesných pôd v Nemecku v rokoch 1989-1992 a následne v rokoch 2006-2008 sa konštatoval nepatrný pokles zásob uhlíka v pokrývkovom humuse, ale signifikantný nárast zásob v pôde, ktorý zodpovedá ročnej akumulácii až  $0,4 \text{ t.ha}^{-1} /12/$ . Podobné boli závery z monitoringu pôd vo Francúzsku, hoci s miernejším nárastom v pôde /Jonard et al. in 9/.

## ZÁSoby ORGANICKÉHO UHLÍKA V LESNÝCH PÔDACH NA SLOVENSKU A ICH ZMENY

Kvantifikácia zásob organického uhlíka v lesných pôdach Slovenska a ich porovnanie s odstupom niekoľkých rokov sú možné na základe databáz z viacerých typov zisťovaní stavu lesa. Najpodrobnejším je monitoring lesných pôd v rámci Čiastkového monitorovacieho systému Lesy (ČMS Lesy), ktorý je súčasťou celoeurópskeho dlhodobého programu monitoringu lesných ekosystémov ICP Forests. Ide o pravidelnú sieť monitorovacích plôch  $16 \times 16 \text{ km}$ , ktorých je na Slovensku 112 (spolu v Európe takmer 5500). Informácie na základe vzorkovania a analýz sa vzťahujú na pokrývkový humus a pôdu do hĺbky 80 cm. Pôda na týchto plochách bola klasifikovaná na základe opisu pôdneho profilu. Priemerná zásoba organického uhlíka do hĺbky 20 cm bola  $68,7 \text{ t.ha}^{-1}$ , okrem toho v pokrývkovom humuse  $7,87 \text{ t.ha}^{-1}$ .

Druhým významným zdrojom informácií o lesných pôdach Slovenska je Národná inventarizácia a monitoring lesov (NIML), ktorá je výrazne reprezentatívnejšia z hľadiska počtu plôch (sieť  $4 \times 4 \text{ km}$ , vyše 1400 inventarizačných plôch), ale vzorkovanie pôd je iba doplnkovou súčasťou s jednoduchým vzorkovacím dizajnom a odbermi iba do hĺbky 20 cm. Pôdu nebolo možné priamo na ploche klasifikovať, pre tento účel sa využili najmä podrobné mapové podklady. Priemerná zásoba organického uhlíka do hĺbky 20 cm z tejto siete činí  $63,7 \text{ t.ha}^{-1}$ , v pokrývkovom humuse je jeho zásoba  $7,87 \text{ t.ha}^{-1}$ . Rozdiely medzi týmito dvoma sieťami do určitej miery možno vysvetliť tým, že sieť NIML bola zakladaná v striktno pravidelnej sieti a s využitím moderných technológií lokalizácie plôch, kým pri sieti ČMS Lesy (založenej už v rokoch 1987-1988) majú plochy v nížinách (s nízkou lesnatosťou) vyššie zastúpenie, než zodpovedá reálnemu zastúpeniu lesov v regiónoch s nízkou lesnatosťou. Tieto sa vyznačujú vyššími zásobami organickej hmoty v pôde (aluviálne – nivné pôdy, čiernice) a naopak veľmi rýchlym rozkladom opadu na povrchu a teda nižšou akumuláciou organickej hmoty na povrchu pôdy. Odvođené zásoby do hĺbky 1 m sú však veľmi podobné a stredné hodnoty zásoby organického uhlíka sa pohybujú okolo  $140 \text{ t.ha}^{-1}$ .

Porovnaním údajov z dvoch časových hladín (pri sieti ČMS Lesy po 15 rokoch, pri sieti NIML po 10 rokoch) ani v prípade pokrývkového humusu ani pôdy neboli zistené signifikantné zmeny zásob. Na úrovni celej krajiny teda lesné pôdy nie sú považované ani za emisný zdroj ani sink  $\text{CO}_2$ . V súčasnosti prebieha po ďalších cca 15 rokoch ďalšie vzorkovanie v sieti ČMS Lesy, je však potrebné rozvíjať a aplikovať aj modely pre kvantifikáciu a prognózovanie vývoja zásob pôdneho uhlíka v lesných pôdach.

Doplnkovým zdrojom informácií aj o stave a vývoji zásob organického uhlíka v pôde sú plochy tzv. intenzívneho monitoringu lesa, ktoré sú tiež súčasťou ČMS Lesy/ICP Forests ako plochy II. úrovne. Tieto plochy sú predmetom intenzívneho sledovania nielen samotného lesa, ale aj pôsobiacich faktorov (klíma, depozícia, kvalita a ovzdušia a pod.) a hoci nie sú na úrovni krajiny dostatočne reprezentatívne, zahŕňujú kľúčové lesné ekosystémy z hľadiska drevinového zloženia, pôdnych pomerov i vertikálnej klimateckej zonálnosti. Aktuálne predbežné hodnotenia – na základe vzorkovania v rokoch 2007-2008 a v súčasnosti (2020 až 2022) – však naznačujú určité trendy. Na 4 z 8 plôch tohto typu bol zaznamenaný pokles

zásob organického uhlíka v pokrývkovom humuse a na zvyšných 4 viac-menej stabilný stav. Až na 7 z týchto 8 plôch je však zrejmy trend mierneho vzostupu zásob uhlíka v pôde v hĺbkach 0-10 cm a 10-20 cm. Tendencie vo väčšej hĺbke sú však na rôznych plochách rozdielne. S ohľadom na mimoriadnu komplikovanosť celého procesu kvantifikácie uhlíka v pôdach (výberový a vzorkovací dizajn, precíznosť odberov podľa hĺbok, laboratórne stanovenie, výpočet zásoby s využitím údajov o objemovej hmotnosti pôdy a pod.) a vysokú mieru neurčitosti /10/ je však potrebná podrobná analýza údajov. Bude teda zaujímavé spoznať a hodnotiť aj kompletne výsledky opakovaní z reprezentatívnych sietí.

## **OPATRENIA PRE ZVÝŠENIE SEKVESTRÁCIE UHLÍKA V PÔDACH A EKOSYSTÉMOCH**

V poslednom období sa zaužívalo slovné spojenie „climate smart forestry (CSF)“, alebo dokonca pojem „uhlíkové lesníctvo“. Hľadajú a overujú sa riešenia, ktoré prispievajú k odolnosti lesov, t.j. zlepšujú ich adaptačnú schopnosť a zároveň zvyšujú sekvestráciu uhlíka v ekosystéme. Niektoré opatrenia môžu zvýšiť sekvestráciu v biomase (a následne uloženie uhlíka vo výrobkoch z dreva, ktoré majú navyše aj substitučný efekt z náhrady iných materiálov s vysokou uhlíkovou stopou), ale znižovať množstvo uhlíka uloženého v pôde. Často sú zistené výsledky čiastočne protichodné, užitočné sú preto prehľadové články, sumarizujúce poznatky z množstva iných informačných zdrojov. Podľa *Mayera et al.* /6/ má v lesoch negatívny efekt na zásoby uhlíka v pôde samotná ťažba stromov, najmä konverzia z primárnych (prirodzených lesov) ku intenzívne manažovaným porastom, odstraňovanie poťažbových zvyškov, resp. použitie stromovej metódy, narušenie pôdy pri príprave na zalesňovanie, odstraňovanie opadu (napr. vyhrabávanie „steliva“). Naopak pozitívny je zvýšený vstup dusíka, prípadne výber drevín s fixáciou dusíka v pôde, regulácia herbivorov, zalesnenie (výrazne najmä pri zalesnení ornej pôdy). Za neutrálny faktor sa považuje hustota porastu. Voľba dreviny ovplyvňuje zásoby uhlíka v pôde parciálne tak, že ihličnany zvyšujú zásoby uhlíka v pokrývkovom humuse, kým pri listnáčoch je vyššia a stabilnejšia zásoba v minerálnej pôde. Vplyv ťažby stromov nemožno preceňovať, ide o krátkodobý nežiadúci efekt, a to pri rúbaňovom hospodárení - pri odclonení a odkrytí povrchu na väčšej ploche. Napriek tomu sa v posledných rokoch presadzujú také spôsoby prírody blízkeho hospodárenia v lesoch, pri ktorých nedochádza k vzniku rúbaní (continuous cover forestry – CCF).

Z hľadiska odolnosti lesa, adaptácie na zmenu klímy a sekvestrácie uhlíka sa nevyhnutným javí odklon od absolútne dominantného systému lesa vekových tried, ktorý bol zavedený s cieľom optimalizovať čistý výnos a zaviesť prehľadný priestorový poriadok, vhodný pre koncentráciu prác i kontrolu lesnej výroby. Jeho slabou stránkou je nižšia odolnosť lesov a ich častejšie poškodzovanie rôznymi škodlivými činiteľmi, čo vedie k viacerým zásadným problémom pri starostlivosti o les. Vo všeobecnosti sú vhodné adaptačné opatrenia, ktoré zvyšujú odolnosť lesného porastu (vhodné dreviny pre dané stanovište, zmiešanie viacerých drevín, dobrá horizontálna i vertikálna štruktúra porastov, dobrá statická stabilita, vhodné preventívne opatrenia proti škodcom). Tendencie maximálneho presadzovania „bezzásahových zón“ sú však často postavené na idealizovaní pralesov či starých lesov. Samozrejme, z pohľadu biodiverzity i ďalších funkcií lesov je žiaduce úplne chrániť pralesy. Z hľadiska možnosti sekvestrácie uhlíka však často dochádza k nedorozumeniu či zamieňaniu vysokej zásoby uhlíka a vysokého záchytu, teda ďalšej sekvestrácie /8/.

Tak ako pri bilancovaní pre účely plnenia reportovacích záväzkov ICC (v sektore LULUCF - land use, land use change and forestry), aj pri voľbe mitigačných opatrení je veľmi dôležité zahrnúť aj presah do iného typu využívania pôdy krajiny. Je všeobecne známe, že pri inak rovnakých klimatických, geologických i pedologických podmienkach sú v orných pôdach nižšie zásoby organického uhlíka než v pôdach s trvalým trávnyim porastom

a s lesom. Zalesnenie (najmä ornej pôdy) vedie – popri stabilnej produkcii biomasy a tým uskladňovaniu uhlíka v biomase – aj k postupnému zvyšovaniu zásob uhlíka v pôde. Opačná zmena vo využívaní pôdy znamená čiastočnú degradáciu zásob uhlíka. V poslednom období to potvrdzujú napr. aj výsledky celoeurópskeho hodnotenia LUCAS /2/, ale aj naše vlastné pozorovania a hodnotenia /7, 8/.

Najmä z iniciatívy Európskej komisie je snaha harmonizovať a posilniť certifikačné systémy, ktoré by umožnili priamo finančne motivovať vlastníkov a obhospodarovateľov pozemkov vykonávať opatrenia, ktoré signifikantne zvyšujú záchyty CO<sub>2</sub> z ovzdušia a uskladňovanie uhlíka v biomase i pôde, t. j. ktoré majú evidentné mitigačné efekty. Takéto schémy na komerčnej báze v niektorých krajinách fungujú, podmienkou úspešnosti a funkčnosti certifikačných schém je však splnenie kritérií kvality, t.j. musia zabezpečiť spoľahlivú kvantifikáciu, pridanú úroveň voči bežnému (referenčnému) stavu, dlhodobé uskladnenie a udržateľnosť, teda nielen dočasné priaznivé účinky. Preto hlavným opatrením zostáva nové zalesňovanie a využívanie drevinovej (alebo inej trvalej) vegetácie aj v poľnohospodárskej krajine. V samotnom lesníctve je to teda obnova lesa, ktorá rešpektuje ekologické zásady priaznivé pre biodiverzitu, a zlepšené postupy udržateľného obhospodarovania lesov vrátane postupov rešpektujúcich biodiverzitu a adaptáciu lesov na zmenu klímy, teda najmä komplex postupov prírode blízkeho hospodárenia v lese – PBHL (close-to-nature forestry). V poľnohospodárskej krajine je významné agrolesníctvo a iné formy zmiešaného poľnohospodárstva, ktoré kombinujú drevnú vegetáciu (stromy alebo kríky) so systémami pestovania plodín a/alebo živočíšnej výroby na tej istej pôde, ale tiež využívanie medziplodín, krycích plodín, pôdochranného obrábania pôdy a zvyšovanie počtu krajinných prvkov, cielená premena ornej pôdy na pôdu ležiacu úhorom alebo pozemkov vyňatých z produkcie na trvalý trávny porast, či obnova rašelinísk a mokradí, ktorá znižuje oxidáciu existujúcich zásob uhlíka a zvyšuje potenciál sekvestrácie uhlíka.

## ZÁVĚR

Súčasná situácia, nielen pre meniacu sa klímu, ale aj pre ďalšie dôvody súvisiace s využívaním prírodných zdrojov, si vyžaduje zmenu paradigmy vo využívaní krajiny. Predpokladom dobrých riešení z hľadiska adaptácie a mitigácie sú spoľahlivé údaje, ich korektná interpretácia, zvyšovanie povedomia verejnosti i decíznej sféry a navrhovanie širšej škály opatrení, ktoré sa budú precízne overovať a testovať – pri využití poznatkov zo zahraničia a porozumení súvislostí v čase i priestore. A tak by to malo byť aj pri pôdach.

## LITERATÚRA

- /1/ Barančíková, G., Gömöryová, E., Tobiašová, E., Makovníková, J., Koco, Š., Halas, J., Skalský, R., Tarasovičová, Z., Takáč, J.: Pôdny organický uhlík a jeho odozva na využívanie krajiny Slovenska. NPPC-Výskumný ústav pôdozvedectva a ochrany pôdy, Bratislava, 2019, 106 s.
- /2/ Fernández-Ugalde, O., Ballabio, C., Lugato, E., Scarpa, S., Jones, A., Assessment of changes in topsoil properties in LUCAS samples between 2009/2012 and 2015 surveys, Publications Office of the European Union: Luxembourg 2020, ISBN 978-92-76-17430-1, 88 pp. doi:10.2760/5503
- /3/ Hartemink, A.E., McSweeney, K. (Eds.): Soil Carbon. Springer, 2014, 506 pp.
- /4/ Lal, R., Lorenz, K., Hüttl, R.F., Schneider, B.U., von Barun, J. (eds.): Ecosystem Services and Carbon Sequestration in the Biosphere. Springer, 2013, 464 pp.
- /5/ Marek, M.V. et al.: Klimatická zmena – príčiny, dopady, adaptácie. Academia, Praha, 2022, 350 pp.
- /6/ Mayer, M., Prescott, C.E., Abakerd, W.E.A., Augusto, L., Cécillon, L., Ferreira, G.W.D., James, J., Jandl, R., Katzensteiner, K., Laclau, J.-P., Laganière, J., Nouvellon, Y., Paré, D., Stanturf, J.A., Vanguelova, E., Vesterdal, L.: Tamm Review: Influence of forest management activities on soil organic carbon stocks: A knowledge synthesis. Forest Ecology and Management 466 (2020) 118127.
- /7/ Pavlenda, P., Pavlendová, H.: Zásoby organického pôdneho uhlíka v prechodnej zóne les – trvalý trávny porast. In: Zásoby organického pôdneho uhlíka v prechodnej zóne les – trvalý trávny porast. In: Vejvustková, M., Neudertová Hellebrandová, K. (eds.), 2022: Lesní ekosystémy pod tlakem

antropogenních vlivů a klimatické změny – aktuální poznatky ekologického výzkumu a dlouhodobého monitoringu stavu lesa. Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i., Jíloviště-Strnady, s. 20-21.

- /8/ Pavlenda, P., Priwitzer, T., Barka, I., Šebeň, V.: Les a uhlík - základné fakty a súvislosti - I. časť. In: Les a Letokruhy. ISSN 1337-9712 Roč. 78, č. 5 (2022), s. 18-21.
- /9/ Schindelbacher, A., Jandl, R., Zimmermann, S., Hegedorn, F.: Optimizing forest management for soil carbon sequestration. In: Rumpel, C. (ed.): Understanding and fostering soil carbon sequestration. Burleigh Dodds Science Publishing, Cambridge, UK, pp. 555-588
- /10/ Tobiašová E., Barančíková G., Gömöryová E.: Pôdna organická hmota. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2016, 216 s. ISBN 978-80-552-1583-9
- /11/ Vanguelova, E., Bonifacio, E., De Vos, B., Hoosbeek, M.R., Berger, T.W., Vesterdal, L., Armolaitis, K., Celi, L., Dinca, L., Kjonaas, J.O., Pavlenda, P., Pumpanen, J., Püttsepp, Ü., Reidy, B., Simončič, P., Tobin, B., Zhiyanski, M., 2016: Sources of errors and uncertainties in the assessment of forest soil carbon stocks at different scales - review and recommendations. Environmental Monitoring and Assessment. 188:630.
- /12/ Wellbrock, N., Bolte, A., Flessa, H. (eds.), 2016: Dynamik und räumliche Muster forstlicher Standorte in Deutschland: Ergebnisse der Bodenzustandserhebung im Wald 2006 bis 2008. Braunschweig: Johann Heinrich von Thünen-Institut, Thünen Rep 43, 550 pp.

### **Poděkovanie**

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-18-0223. Vznikla tiež vďaka podpore v rámci projektu TreeAdapt, financovaného z rozpočtovej kapitoly MPRV SR (prvok 08V030).

## VYUŽITIE RIZOBAKTÉRIÍ PODPORUJÚCICH RAST RASTLÍN PRE UDRŽATEĽNÚ PRODUKCIU TRÁVNÝCH PORASTOV

### *THE USE OF PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA FOR SUSTAINABLE PRODUCTION OF GRASSLANDS*

Miriam Kizeková, Norbert Britaňák, Iveta Ilavská, Štefan Pollák, Ľubica Jančová, Ľubomír Hanzes

Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, VÚRV – Ústav trávnych porastov a  
horského poľnohospodárstva, Mládežnícka 36, 974 21 Banská Bystrica,  
miriam.kizekova@nppc.sk

#### *Summary*

The objective of the study was to evaluate the effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on the content of total nitrogen ( $N_{tot}$ ) and plant available phosphorus (P), dry matter yield, N and P content, and N and P uptake by grass/clover mixture on arable land. The experiment consisted of 4 treatments: V1- control, V2 - PGPR, V3 - PGPR + 30 kgN.ha<sup>-1</sup> + 45 kgN.ha<sup>-1</sup> + 45 kgK.ha<sup>-1</sup> and V4 - 90 kgN.ha<sup>-1</sup> + 45 kgN.ha<sup>-1</sup> + 45 kgK.ha<sup>-1</sup>. Plant available P in soil significantly ( $P < 0,05$ ) differed among treatments with the highest concentration in PGPR treatment. NPK fertilizers in combination with PGPR increased significantly P content ( $P < 0,05$ ) in above-ground biomass. To contrary, there were no effect of PGPR alone on dry matter yield, herbage N content, and N and P uptake.

*Key words: grass/clover mixture, mineral fertilization, Azospirillum brasilense, dry matter yield, nutrient uptake*

#### *Súhrn*

Cieľom štúdie bolo zhodnotiť vplyv rizobaktérií podporujúcich rast rastlín (PGPR) na koncentráciu celkového dusíka ( $N_{tot}$ ) a prístupného fosforu (P) v pôde, úrodu sušiny, obsah a príjem N a P d'atelinotravnou miešankou na ornej pôde. Experiment obsahoval 4 varianty: V1- kontrola, V2 - PGPR, V3 - PGPR + 30 kgN.ha<sup>-1</sup> + 45 kgN.ha<sup>-1</sup> + 45 kgK.ha<sup>-1</sup> a V4 - 90 kgN.ha<sup>-1</sup> + 45 kgN.ha<sup>-1</sup> + 45 kgK.ha<sup>-1</sup>. Obsah prístupného P v pôde bol štatisticky významne rozdielny s najvyššou koncentráciou na variante PGPR. NPK hnojivá v kombinácii s PGPR zvýšili preukazne obsah P v nadzemnej biomase. Naopak, nebol zaznamenaný žiadny vplyv samotného PGPR na úrodu sušiny, koncentráciu N v nadzemnej fytohmote, a príjem N a P.

*Kľúčové slová: Ďatelinotravná miešanka, minerálne hnojenie, Azospirillum brasilense, úroda sušiny, príjem živín*

## ÚVOD

Ďatelinotravné miešanky na ornej pôde tvoria prechod medzi trvalými trávnyimi porastami a intenzívnymi krátkodobými spoločenstvami na ornej pôde. Sú významným zdrojom objemového krmiva pre hospodárske zvieratá najmä v podhorských a horských oblastiach [3]. Pre dosahovanie dostatočnej úrody sušiny a kvality objemových krmív, pestovanie d'atelinotravných miešaniek na ornej pôde je spojené s intenzifikačnými

opatreniami, ako je výber vysokovýkonných druhov a odrôd, a používanie minerálnych hnojív.

V súčasnom období globálnej zmeny klímy, dôrazom na ochranu životného prostredia i zachovanie biodiverzity sa čoraz viac kladie dôraz na trvalo udržateľnú intenzifikáciu poľnohospodárstva. Jednou z možností je používanie rizobaktérií podporujúcich rast rastlín, ktoré zvyšujú dostupnosť nerozpustných živín v pôde a syntetizujú látky stimulujúce rast rastlín. Používanie PGPR sa pozitívne prejavuje na úrode sušiny a kvalite trávnych porastov, a umožňuje znižovanie používania vysokých dávok dusíkatých a fosforečných živín /7/. Aplikáciu PGPR na trávnych porastoch prezentujú štúdie /1, 6, 7/. Avšak, v podmienkach Slovenska sa neuskutočnil výskum vplyvu PGPR na d'atelinotravných miešankách na ornej pôde, resp. na trvalých trávnych porastoch. Cieľom predloženej práce bolo zhodnotiť vplyv použitia PGPR na i) obsah celkového dusíka a prijateľného fosforu v pôde, ii) na úrodu sušiny nadzemnej fytohmoty, a iii) príjem dusíka a fosforu d'atelinotravnou miešankou pestovanou na ornej pôde.

## MATERIÁL A METODA

V rokoch 2021 prebiehal maloparcelkový pokus s použitím PGPR a minerálnych hnojív pri pestovaní d'atelinotravných miešanky na ornej pôde. Experiment sa nachádzal v lokalite Rovieňky (nadmorská výška 960 m n. m.) v katastri obce Liptovská Teplička. Územie patrí do chladnej klimatickej oblasti s priemerným ročným úhrnom zrážok 790 mm a priemernou dennou teplotou 6,49 °C. Geologickým substrátom sú karbonátové horniny, pôdny typ bola rendzina, pôdny druh piesočnato hlinitá pôda. Na jeseň 2020 sa pôda v hĺbke 0 -15 cm vyznačovala nasledovnými vlastnosťami: neutrálna pôdna reakcia (6,68); nízka koncentrácia prístupného fosforu (2,32 mg.kg<sup>-1</sup>) a prístupného draslíka (93,18 mg.kg<sup>-1</sup>); veľmi vysoké množstvo prístupného horčíka (1043,48 mg.kg<sup>-1</sup>), vysoký obsah pôdneho organického uhlíka (30,59 g.kg<sup>-1</sup>), vysoká koncentrácia N<sub>tot</sub> (3,11 g.kg<sup>-1</sup>), pomer C:N mal hodnotu 9,82.

Vysiata d'atelinotravná miešanka (ĎTM) pozostávala z kostravovca (x *Festulolium*) odrody Hyperon a d'ateliny lúčnej (*Trifolium pratense* L.) diploidnej odrody Ganymed. Výsevok bol 26 kg. ha<sup>-1</sup>, pričom 10 kg. ha<sup>-1</sup> pripadlo na *Trifolium pratense* a 16 kg. ha<sup>-1</sup> tvoril x *Festulolium*. Experiment bol založený blokovou metódou v štyroch opakovaníach, ktorého variantné riešenie je uvedené v tabuľke 1.

Tab. 1: Schéma aplikácie PGPR a minerálnych živín (kg.ha<sup>-1</sup>)

Variant	Variant označenie	Aplikácia PGPR a minerálnych živín
V1	Kontrola	-
V2	PGPR	PGPR
V3	PGPR + N <sub>30</sub> PK	PGPR + 30 kgN.ha <sup>-1</sup> + 45 kgN.ha <sup>-1</sup> + 45 kgK.ha <sup>-1</sup>
V4	N <sub>90</sub> PK	90 kgN.ha <sup>-1</sup> + 45 kgN.ha <sup>-1</sup> + 45 kgK.ha <sup>-1</sup>

PGPR - bakteriálne hnojivo obsahujúce mikroorganizmy *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense*, *Bacillus megaterium* a *Rhizobium leguminosarum* (4 × 10<sup>9</sup> KTJ.cm<sup>-3</sup>), bola aplikovaná v dávke 10 l.ha<sup>-1</sup> tesne pred sejbou d'atelinotravných miešanky dňa 17.6.2021. Fosforečné a draselné hnojivá boli na variantoch PGPR +N<sub>30</sub>PK a N<sub>90</sub>PK aplikované mesiac po sejbe. Dusíkaté hnojivo na variante PGPR +N<sub>30</sub>PK bolo aplikované pri sejbe. Na variante N<sub>90</sub>PK bola celková dávka dusíka rozdelená na dvakrát (45 kg.ha<sup>-1</sup> + 45 kg.ha<sup>-1</sup>), pričom prvá dávka bola aplikovaná pri sejbe a druhá aplikácia bola vykonaná po prvej kosbe.

V roku 2021 boli porasty dvakrát pokosené. Pri každej kosbe boli odobrané vzorky zelenej hmoty na stanovenie produkcie sušiny a obsahu dusíka a fosforu. Chemické analýzy boli vykonané v zmysle platných legislatívnych predpisov – Výnos MP SR č. 2145/2004-100.

Pôdne vzorky na stanovenie základných agrochemických vlastností pôdy boli v roku 2021 odobrané z hĺbky 0 – 15 cm a 15 – 25 cm dvakrát, 1. odber sa uskutočnil v júli mesiac po sejbe tesne pred aplikáciou fosforečných a draselných hnojív, 2. odber bol v októbri po druhej kosbe. Rozbor pôd sa vykonal podľa Vyhlášky ministerstva pôdohospodárstva SR z 21.marca 2016 Zz.č.151/2016.

Príjem fosforu a dusíka trávny porastom bol vypočítaný podľa rovnice:

$N_{\text{príjem}}, P_{\text{príjem}} = (N_c, P_c / 100) \times \dot{U}$ , kde  $N_c, P_c$  je koncentrácia N a P v sušine,  $\dot{U}$  je úroda sušiny.

Výsledky boli vyhodnocované pomocou štatistického softvéru Statgraphics jednofaktorovou analýzou rozptylu ANOVA s následným testovaním preukaznosti rozdielov Kruskal-Walisovým LSD testom pri 95% hladine pravdepodobnosti ( $\alpha = 0,05$ ).

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Mesiac po aplikovaní PGPR sa koncentrácia prijateľného P v hĺbke 0 – 15 cm pohybovala od 3,95 mg.kg<sup>-1</sup> do 4,78 mg.kg<sup>-1</sup> (tab. 2). V hĺbke 15 – 25 cm bol obsah prijateľného P nižší o 76 % až 86 % v porovnaní s vrchnou pôdnou vrstvou. V obidvoch hĺbkach boli zaznamenané rozdiely medzi jednotlivými variantmi, pričom na variantoch ošetrenými PGPR bola koncentrácia prijateľného P preukazne vyššia ( $P < 0,05$ ) v porovnaní s kontrolným variantom a variantom N<sub>90</sub>PK, na ktorých nebola aplikovaná PGPR. Na konci vegetačného obdobia došlo k výraznému zníženiu obsahu prijateľného P v hĺbke 0 -15 cm, pričom rozdiely medzi jednotlivými variantmi neboli štatisticky významné. V hĺbke 15 – 25 cm bolo v 2. odbere evidované zvýšenie obsahu prijateľného P v porovnaní s odberom v júli 2021.

Hodnoty koncentrácie celkového dusíka N<sub>tot</sub> v pôde sa v 1. odbere pohybovali od 2,02 g.kg<sup>-1</sup> do 2,60 g.kg<sup>-1</sup>, pričom medzi variantmi neboli štatisticky významné rozdiely. Na konci vegetačného obdobia boli v hĺbke 0 – 15 cm zaznamenané vyššie hodnoty obsahu celkového dusíka N<sub>tot</sub> v porovnaní s 1. odberom, avšak rozdiely neboli štatisticky významné.

Tab. 2: Obsah celkového dusíka a prijateľného fosforu v pôde

Variant / Hĺbka	Obsah prijateľného P (mg.kg <sup>-1</sup> )				Obsah N <sub>tot</sub> (g.kg <sup>-1</sup> )			
	Júl 2021		Október 2021		Júl 2021		Október 2021	
	0 – 15 cm	15 – 25 cm	0 – 15 cm	15 – 25 cm	0 – 15 cm	15 – 25 cm	0 – 15 cm	15 – 25 cm
Kontrola	3,95 <sup>ab</sup>	0,52 <sup>a</sup>	1,10 <sup>a</sup>	2,66 <sup>c</sup>	2,44 <sup>a</sup>	2,40 <sup>a</sup>	2,56 <sup>a</sup>	2,29 <sup>a</sup>
PGPR	4,78 <sup>c</sup>	1,12 <sup>b</sup>	1,26 <sup>a</sup>	1,71 <sup>ab</sup>	2,60 <sup>a</sup>	2,44 <sup>a</sup>	2,70 <sup>a</sup>	2,43 <sup>a</sup>
PGPR +N <sub>30</sub> PK	4,40 <sup>bc</sup>	0,95 <sup>b</sup>	1,22 <sup>a</sup>	1,44 <sup>a</sup>	2,43 <sup>a</sup>	2,47 <sup>a</sup>	2,61 <sup>a</sup>	2,48 <sup>a</sup>
N <sub>90</sub> PK	3,69 <sup>a</sup>	0,48 <sup>a</sup>	1,34 <sup>a</sup>	1,91 <sup>ab</sup>	2,02 <sup>a</sup>	2,38 <sup>a</sup>	2,42 <sup>a</sup>	2,14 <sup>a</sup>
P < 0,05	0,004	0,020	0,915	0,009	0,117	0,984	0,605	0,726

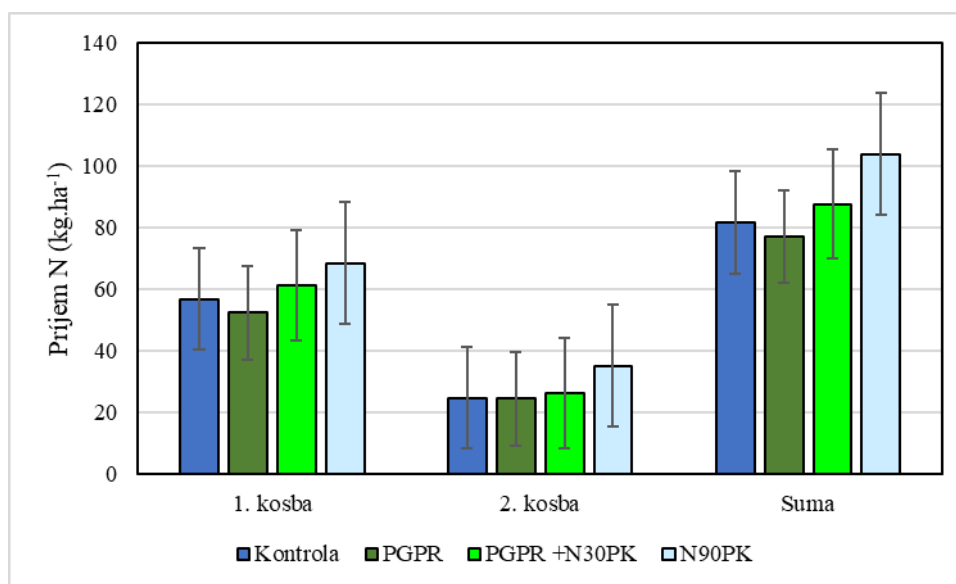
Rozdielne písmená znamenajú štatistickú preukaznosť na hladine  $\alpha < 0,05$

Aplikácia PGPR nemala signifikantný vplyv na úrodu sušiny nadzemnej fytomasy. Produkcia sušiny nadzemnej fytomasy (tab. 3) varírovala od 2,56 t.ha<sup>-1</sup> na variante PGPR do 3,52 t.ha<sup>-1</sup> na variante N90PK. Porovnateľná produkcia sušiny nadzemnej fytomasy na variantoch N90PK a PGPR+N30PK je v súlade s prácami /1, 6, 7/.

Obsah dusíka v nadzemnej fytomase bol porovnateľný na všetkých variantoch (tab. 3), pričom v priemere sa najvyššou koncentráciou dusíka v nadzemnej fytomase vyznačoval variant PGPR. Nižšia koncentrácia dusíka na kontrolnom variante a variantoch PGPR + N30PK a N90PK súvisí so tzv. zried'ovacím efektom, kedy sa so zvyšujúcou produkciou sušiny znižuje obsah dusíka /5/. Celkový príjem dusíka na variante N90PK s dávkou dusíka 90 kg.ha<sup>-1</sup> bez použitia PGPR bol len o 15 % vyšší v porovnaní s variantom PGPR + N30PK (graf 1). Podobné hodnoty boli zaznamenané aj pri prijme fosforu nadzemnou fytomasou. Štatisticky nepreukazne najnižšie hodnoty príjmu fosforu preukázal variant PGPR (graf 2).

Tab. 3: Úroda sušiny, obsah dusíka a fosforu v nadzemnej fytomase

Variant	Úroda sušiny (t.ha <sup>-1</sup> )			Obsah N (g.kg <sup>-1</sup> )			Obsah P (g.kg <sup>-1</sup> )		
	1.kosba	2.kosba	Priemer	1.kosba	2.kosba	Priemer	1.kosba	2.kosba	Spolu
Kontrola	1,95 <sup>a</sup>	0,80 <sup>a</sup>	2,75 <sup>a</sup>	28,96 <sup>a</sup>	31,13 <sup>a</sup>	30,05 <sup>a</sup>	<b>2,32<sup>ab</sup></b>	2,68 <sup>a</sup>	2,50 <sup>a</sup>
PGPR	1,81 <sup>a</sup>	0,74 <sup>a</sup>	2,56 <sup>a</sup>	28,83 <sup>a</sup>	33,24 <sup>a</sup>	31,03 <sup>a</sup>	<b>2,18<sup>a</sup></b>	2,63 <sup>a</sup>	2,40 <sup>a</sup>
PGPR + N <sub>30</sub> PK	2,27 <sup>a</sup>	0,80 <sup>a</sup>	3,07 <sup>a</sup>	26,96 <sup>a</sup>	33,04 <sup>a</sup>	30,00 <sup>a</sup>	<b>2,49<sup>b</sup></b>	2,77 <sup>a</sup>	2,63 <sup>a</sup>
N <sub>90</sub> PK	2,41 <sup>a</sup>	1,10 <sup>a</sup>	3,52 <sup>a</sup>	28,67 <sup>a</sup>	31,89 <sup>a</sup>	30,27 <sup>a</sup>	<b>2,47<sup>b</sup></b>	2,76 <sup>a</sup>	2,62 <sup>a</sup>
P < 0,05	0,065	0,262	0,108	0,673	0,118	0,871	<b>0,025</b>	0,319	0,178

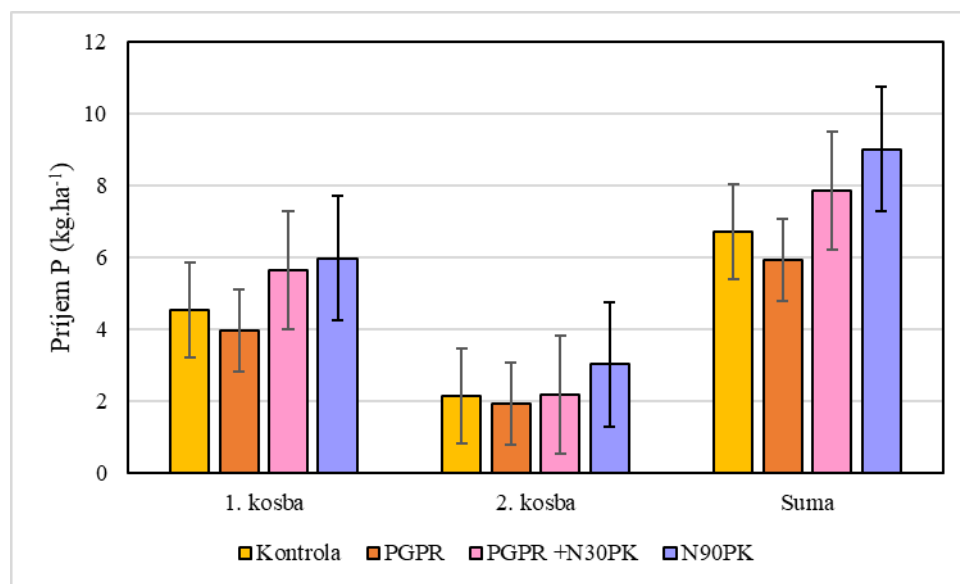


Graf 1: Príjem N (kg.ha<sup>-1</sup>) nadzemnou fytomasou

Štatisticky významné rozdiely medzi variantmi boli namerané pri koncentrácii fosforu v nadzemnej fytomase v prvej kosbe (tab. 3). Najvyššie hodnoty dosiahli varianty PGPR + N30PK a N90PK. Tieto výsledky ukazujú na preukazne pozitívny vplyv kombinácie PGPR a nižšej dávky dusíkatého hnojiva v porovnaní s použitím vyššej dávky dusíka bez aplikácie PGPR. Najnižší obsah fosforu bol evidovaný na variante PGPR. Tieto výsledky ukazujú, že samotná aplikácia PGPR nestačí na zvýšenie koncentrácie fosforu v nadzemnej fytomase, aj napriek tomu, že na variante PGPR bola v júli nameraná najvyššia koncentrácia prístupného



fosforu v pôde. Pozitívny vplyv použitia PGPR spolu s minerálnym hnojením na koncentráciu a príjem živín pasienkovými porastami a krmovinami prezentuje práca /2/.



Graf 2: Príjem P ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) nadzemnou fytomasou

## ZÁVĚR

Výsledky maloparcelkového pokusu ukázali, že aplikácia PGPR mala preukazný vplyv na zvýšenie koncentrácie prijateľného fosforu v pôde. Táto skutočnosť sa však neprejavila ani vo vyššej koncentrácii ani na vyššom prijme fosforu d'atelinotravnou miešankou. Pozitívny vplyv aplikácie PGPR bol identifikovaný v prípade súčasného použitia minerálnych živín (NPK).

## LITERATÚRA

- /1/ Bourscheidt, M. L., Gomes, F. J., Pedreira, C. G., Boote, K. J., Hoogenboom, G., Pereira, D. H., et al.: Highlighting the benefits of biological nitrogen fixation on agronomic, physiological, and nutritive value traits of Brachiaria grass. *European Journal of Agronomy*, 143, 2023:126730
- /2/ Hungria, M., M. A. Nogueira, and R. S. Araújo. Inoculation of Brachiaria spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: An environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 221, 2016:125–31
- /3/ Ilavská, I., Hanzes, L., Britaňák, N., Jančová, M. 2015. Pestovanie a využitie trávnych a d'atelinotravných porastov na ornej pôde podhorských a horských oblastí. Banská Bystrica: NPPC-VÚTPHP, 72s. ISBN 978-80-89800-08-7
- /4/ Płaza, A, Niewiadomska, A, Górski, R, Rudziński, R, Rzążewska, E.: The Effect of the Nitrogen-Fixing Bacteria and Companion Red Clover on the Total Protein Content and Yield of the Grain of Spring Barley Grown in a System of Organic Agriculture. *Agronomy*, 12, 2022:1522
- /5/ Reyes, J., Schellberg, J., Siebert, S. et al.: Improved estimation of nitrogen uptake in grasslands using the nitrogen dilution curve. *Agron. Sustain. Dev.* 35, 2015: 1561–1570
- /6/ Sá, G.C.R., Carvillo, C.L.M., Moreira, A., Hungria, M., Nogueira, M.A, Heinrichs, R., Soares Filho, C.V.: Biomass yield, nitrogen accumulation and nutritive value of mavuno grass inoculated with Plant growth promoting bacteria. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 50, 2019: 1931 – 1942.
- /7/ Sullins, K. N., Dillard, S. L, Held, D. W., Carroll, E. P.: Utility of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria for Sustainable Production of Bermudagrass Forage. *Microorganisms*, 11, 2023:863.

## Poděkovanie

Uvedená práce vznikla za finanční podpory Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Udržateľné systémy inteligentného farmárstva zohľadňujúce výzvy budúcnosti 313011W112, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja a rezortného projektu vedy a výskumu č. 1092/2022/MPRVSR-930.

# FAKTORY VPLÝVAJÚCE NA MORTALITU STROMOV SPÔSOBENÚ LYKOŽRÚTOM SMREKOVÝM – OD ÚROVNE STROMU PO ÚROVEŇ KRAJINY

## ***FACTORS AFFECTING TREE MORTALITY CAUSED BY THE SPRUCE BARK BEETLE – FROM TREE TO LANDSCAPE LEVEL***

Pavel Mezei

Ústav ekológie lesa SAV, E.Štúra 2, 960 01 Zvolen, Slovakia, mezei@ife.sk

### ***Summary***

Disturbances are one of the main factors affecting evolution of forest ecosystems. The European spruce bark beetle (*Ips typographus*) is one of the main biotic agents in Norway spruce (*Picea abies*) forests. Although it is not an invasive species it can cause large damages in forests. Outbreaks of bark beetles usually start 2-3 years after the primary disturbance (wind, avalanche, drought). Trees attacked by bark beetles are often divided by healthy uninfested trees. Factors affecting such spatial and temporal patterns are discussed. Our aim is to find common triggering variables. Solar radiation acts as one of the promising variables which could be used in decision support systems because it affects catches into pheromone traps, affects infestations on individual trees as well as infestations on a landscape level.

*Key words: tree, bark beetle, Picea abies, tree mortality, Ips typographus*

### ***Súhrn***

Disturbancie sú jedným z kľúčových prvkov ovplyvňujúcich lesné ekosystémy a hospodárenie v nich. Lykožrút smrekový (*Ips typographus*) je najvýznamnejší biotický činiteľ v smrekových lesoch (*Picea abies*) Strednej Európy. Jedná sa o domáci druh hmyzu ktorý plní v lese svoje ekologické funkcie, ale v prípade gradácie môže spôsobiť významné škody v lesnom hospodárstve. Ku gradáciám dochádza 2-3 roky po prvotnej disturbancii (väčšinou vietor). Lykožrút nenapáda všetky stromy rovnako a v rovnakom čase, napadnuté stromy sú často od seba oddelené pásmom nenapadnutých stromov. V našom príspevku opisujeme možné faktory vplývajúce na populačnú dynamiku lykožrúta smrekového. Solárna radiácia sa javí ako jeden z faktorov ovplyvňujúcich nálet lykožrúta smrekového na jednotlivé stromy, mortalitu smreka spôsobenú lykožrútmí na úrovni krajiny ako aj odchytov jedincov do feromónových lapačov.

*Kľúčové slová: strom, podkôrny hmyz, smrek obyčajný, mortalita stromov, lykožrút smrekový*

## **ÚVOD**

Najvýznamnejšou skupinou hmyzu spôsobujúcou premnoženia (gradácie) v ihličnatých lesoch Slovenska je podkôrny hmyz, najmä lykožrút smrekový (*Ips typographus*, L.) /1/. Z hospodárskeho hľadiska má negatívny vplyv pri veľkoplošných gradáciách kedy napáda aj zdravé stromy a spôsobuje tým značné ekonomické škody. Z ekologického hľadiska má podkôrny hmyz význam ako súčasť potravného reťazca, zároveň sa jedná o druh ktorý dokáže pretvárať svoj ekosystém počas gradácií keď dochádza k napadnutiu stromov na veľkej ploche.

Lykožrút smrekový negatívne vplýva na fyziológiu stromu, keďže sa živí lykom. Vyhlodanie materskej chodby a neskôr hľadanie lariev spôsobí, že dôjde k narušeniu pletív pod kôrou stromu a dochádza k prerušeniu asimilačného prúdu. Aj keď zo začiatku sa javia napadnuté stromy ako vitálne, po niekoľkých týždňoch sa začne prejavovať žltnutie korún, nasledované vysychaním ihlíc a ich premenou na oranžovú až červenú farbu a nakoniec dochádza k vyschnutiu stromu a jeho odumretiu („sivé“ štádium). Začnú odpadávať veľké kusy kôry, alebo na kôre vidíme veľké množstvo malých otvorov, tzv. závrto, cez ktoré podkôrny hmyz prenikol do stromu, alebo naopak, nová generácia už opustila strom. Ak došlo k náletu na kmene stromov neskoro v lete alebo v zime, môže sa odumieranie stromov prejavovať až v nasledujúcom vegetačnom období. K viditeľným symptómom napadnutia stromov lykožrútom smrekovým teda niekedy dochádza až niekoľko mesiacov po prvotnom napadnutí /2/.

Faktory vplývajúce na mortalitu stromov spôsobenú lykožrútom smrekovým sú rovnaké ako aj pre iné druhy podkôrneho hmyzu, v Strednej Európe sú však ovplyvnené charakteristikami distribúcií typickými pre danú oblasť, najmä výskyt veterných smrští a výškový gradient v horách (tento chýba napr. v Škandinávii kde sa vyskytujú smrekové lesy na rozsiahlych nížinách a pahorkatinách). Hlavné rozdelenie faktorov vplývajúcich na populačnú dynamiku lykožrúta smrekového môžeme rozdeliť na endogénne (súvisia s veľkosťou populácie) a exogénne (nie sú závislé od veľkosti populácie).

V praxi často narážame na problém predikcie náletu lykožrúta smrekového na jednotlivé stromy alebo na problém vymedzenia väčších oblastí, kde môže dôjsť k náletu hmyzu na stromy. Rozdiely môžu byť viditeľné najmä v pohoriach, kde je veľký výškový gradient a členité terénne podmienky. V tomto príspevku sa teda budeme zaoberať, či je možné určiť spoločný faktor, ktorý ovplyvňuje nálet lykožrúta smrekového na úrovni stromu, na úrovni krajiny, ako aj na jeho odchyty do feromónových lapačov.

## MATERIÁL A METODA

Medzi endogénne faktory vplývajúce na lykožrúta smrekového a teda aj na mortalitu stromov ním spôsobenou radíme vnútrodruhovou a medzidruhovou konkurenciu, rozmnožovací potenciál, predáciu a parazitizmus. Vnútrodruhová konkurencia sa prejavuje najmä v larválnom štádiu, keď sa predchádzajúci masový nálet potrebný na prekonanie obrany stromu ukáže ako nevýhodný v prípade žeru lariev na tom istom strome /2/. Medzi exogénne faktory radíme teplotu a zrážky (alebo klímu všeobecne), množstvo dostupnej potravy (stromov) a jej kvalitu a obranyschopnosť stromov.

Teplota je považovaná za jeden z najvýraznejších faktorov, keďže lykožrút, ako aj iné druhy hmyzu, je závislý nielen na zdroji potravy ale aj na vhodných teplotných podmienkach /1/. Na svoj vývoj potrebuje lykožrút smrekový teploty od 8,3<sup>0</sup> C do 38,9<sup>0</sup> C, pre let potrebuje aby bola teplota nad 16,5<sup>0</sup> C (a ideálne bez zrážok) /3/. Teplota nevlýva len na hmyz, ale aj na stromy, v tomto prípade smrek, a ovplyvňuje aj ich obranyschopnosť /2/.

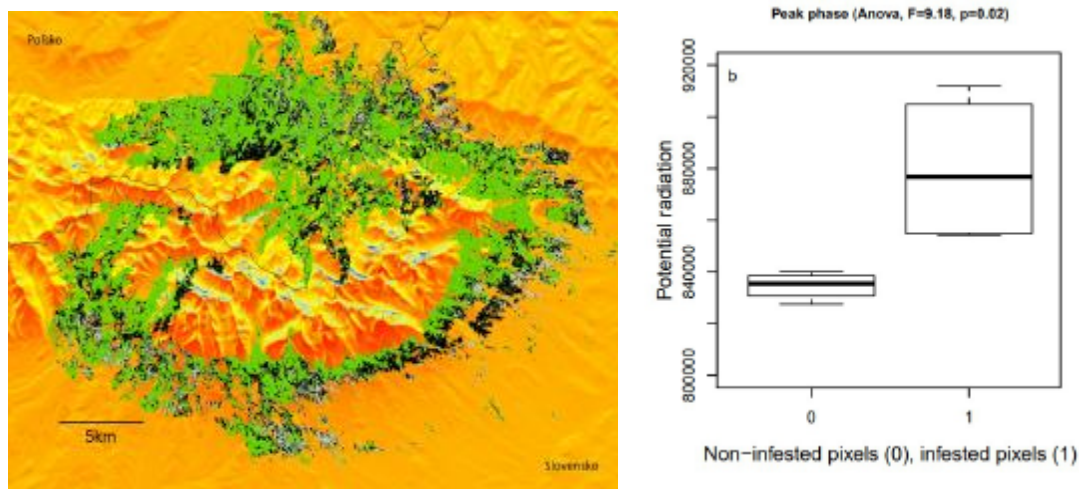
Endogénne faktory sa často skúmajú v laboratórnych podmienkach, kde je možné sledovať a modelovať počet jedincov, teplotu apod. Naš výskum sa, naopak, sústreďoval predovšetkým na exogénne faktory ktoré vplývajú na podkôrny hmyz aj na hostiteľskú drevinu. Jednalo sa o topografické premenné, charakteristiku porastov a klímu.

Výskum prebiehal na lokalitách v Národnom parku Muránska planina a Tatranského národného parku. Použité boli data z feromónových lapačov, meteorologické dáta a satelitné dáta Landsat pre analýzu mortality stromov na úrovni krajiny a na analýzu na úrovni stromu sme sledovali nálet na jednotlivé stromy po veternej smršti.

Zo štatistických metód sme použili lineárnu regresiu, analýzu variancie a aditívne modely (Generalized Additive Models) /4/.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

V prípade analýzy na úrovni krajiny sme použili snímky LANDSAT na identifikáciu odumretých častí lesa vplyvom lykožrúta smrekového v rokoch 2006 až 2014. V geografickom informačnom systéme (GIS) boli stromy klasifikované ako „0“ pre nenapadnuté časti lesa a „1“ pre odumreté stromy. Následne sme vybrali tri klimatické premenné, priemernú teplotnú sumu, maximálnu teplotnú sumu a potenciálnu solárnu radiáciu (Wh/m<sup>2</sup>), ktoré boli modelované pre obdobie od apríla až do októbra pre každý rok v rokoch 2006-2014 pre územie Vysokých Tatier. Analyzovaná plocha pokrývala viac ako 28 000 ha lesa. Pomocou logistickej regresie sme hľadali vzťah medzi spomenutými tromi klimatickými premennými a odumretými a neodumretými časťami lesa. Výsledné modely sme porovnali pomocou AIC kritéria /5/. Ukázalo sa že lykožrútni odumreté stromy na úrovni krajiny počas kulminácie gradácie podkôrneho hmyzu prijali viac snečného žiarenia (Graf 1) /6/.

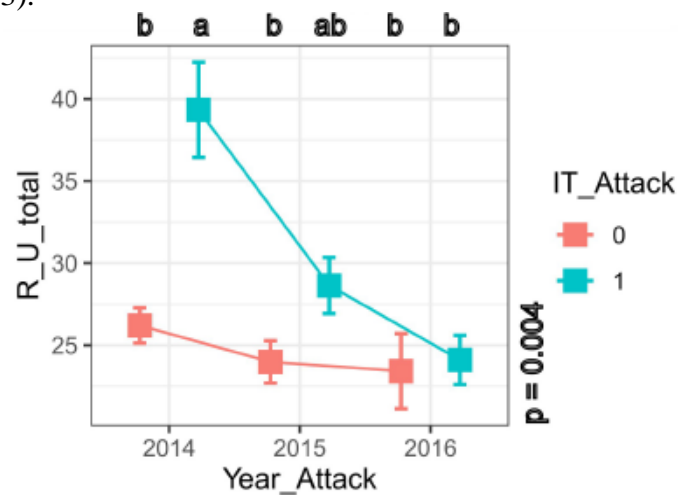


Graf 1: Vplyv solárnej radiácie na mortalitu smreka obyčajného spôsobenou lykožrútom smrekovým na úrovni krajiny vo Vysokých Tatrách. Legenda: a = zelená – zdravý les, čierna - mortalita smreka, podklad – potenciálna solárna radiácia; b = porovnanie hodnoty potenciálnej solárnej radiácie pre napadnuté (1) a nenapadnuté (0) smrekové stromy v rokoch 2007-2010.

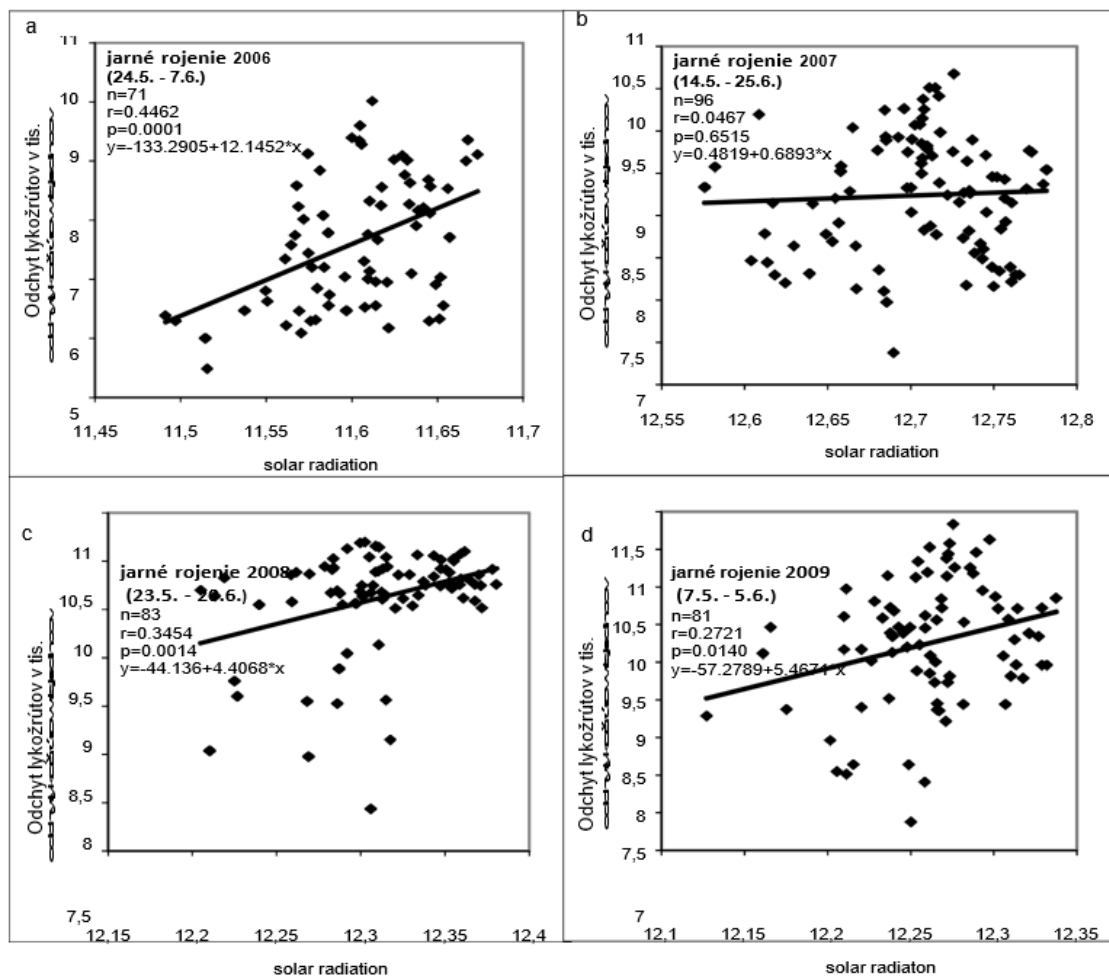
Gradácia lykožrúta smrekového väčšinou vyžaduje vhodné klimatické podmienky a dostatok vhodných stromov. Najvhodnejšie podmienky máva lykožrút smrekový po veterných disturbanciách, kedy sa v lese nahromadí veľké množstvo vyvrátených a polámaných stromov ktoré ešte niekoľko týždňov až mesiacov poskytujú zdroj lyka /7/, zároveň ale už nie sú schopné obranných reakcií. Prvý rok po veternej smršti lykožrút smrekový preferuje nahromadené mŕtve drevo, v druhom až treťom roku začína masovo nalietať na okolité stojace stromy, ktoré mohli byť poškodené počas prvotnej disturbancie (poryvy vetra, náhle oslnenie a pod.)/8/. Pre analýzu na úrovni stromu sme v teréne sledovali 225 vyvrátených alebo zlomených stromov v PR Suchá dolina (Západné Tatry) počas troch rokov. Okrem parametrov stromov a parametrov náletu podkôrneho hmyzu sme merali aj množstvo radiácie pri každom strome pomocou zariadenia WinSCANOPY (mol/day)/(m<sup>2</sup>). Pomocou aditívnych modelov (GAMM) sme modelovali vplyv 14 premenných, medzi nimi aj množstvo dopadnutého slnečného žiarenia. Práve táto veličina sa ukázala ako jedna zo štatisticky významných (Graf 2) /1/.

Faktory vplyvajúce na rojenie lykožrúta smrekového sme skúmali pomocou feromónových lapačov na území Národného parku Muránska planina. Lapače boli umiestnené formou bariéry na okraji veternej kalamity. Použili sme spolu 93 lapačov. Ako vysvetľujúcu

premennú sme použili úroveň solárnej radiácie modelovanej v prostredí ArcView 3.2 (Wh/m<sup>2</sup>). (Esri, Redlands, USA) (Graf 3).



Graf 2: Vplyv solárnej radiácie na nálet lykožrúta smrekového na jednotlivé stromy smreka obyčajného. Legenda: a = monitorovaný strom (n=225); b = hodnota prijatého snečného žiarenia (R\_U\_total) pre napadnuté (1) a nenapadnuté stromy (0) v rokoch 2015 až 2016, písmená nad grafom zobrazujú výsledky Tukey-testu.



*Graf 3: Vplyv potenciálnej solárnej radiácie na odchyt lykožrúta smrekového do feromónových lapačov v rokoch 2006-2009 (a-d, lineárna regresia). Údaje sa vzťahujú k obdobiu jarného rojenia.*

Faktory vplývajúce na rojenie lykožrúta smrekového sme skúmali pomocou feromónových lapačov na území Národného parku Muránska planina. Lapače boli umiestnené formou bariéry na okraji veternej kalamity. Použili sme spolu 93 lapačov. Ako vysvetľujúcu premennú sme použili úroveň solárnej radiácie modelovanej v prostredí ArcView 3.2 (Wh/m<sup>2</sup>). (Esri, Redlands, USA) (Graf 3).

Uvedené výsledky sú v súlade napr. s prácami /9/–/12/, ktorí upozorňujú na efekt solárnej radiácie na vývoj hmyzu alebo na význam oslnenia pri vzniku ohnísk lykožrúta smrekového. V našej štúdií sa nám podarilo dokázať že napadnuté stromy v rámci krajiny prijímali väčšie množstvo radiácie (Graf 1), zároveň aj vyvrátené stromy boli skôr napadnuté lykožrútom smrekovým pokiaľ boli výrazne oslnené (Graf 2). Solárna radiácia pozitívne ovplyvňuje aj odchyt jedincov lykožrúta smrekového do feromónových lapačov Graf (3)/13/. Zároveň sa jedná o veličinu, ktorú je možné modelovať na úrovni krajiny (napr. softvér ArcGIS, SAGA GIS), ako aj vypočítať na úrovni stromu (pomocou prístroja WinSCANOPY). Solárna radiácia, hoci len modelovaná, by teda mohla slúžiť ako jeden z hlavných faktorov vplývajúcich na stromy a hmyz, aj keď predstavuje určitú „náhradnú“ premennú, keďže za jej vplyvom môžeme hľadať aj iné procesy (fyziologické procesy v strome, vývoj a výskyt hmyzu a pod). Otázne je, či ju budeme môcť použiť napr. pre časové alebo priestorové modelovanie šírenia sa podkôrneho hmyzu.

## ZÁVĚR

Na mortalitu stromov spôsobenú lykožrútom smrekovým vplýva mnoho environmentálnych premenných, ako aj premenné vzťahujúce sa k biológii a ekológii lykožrúta smrekového ako aj k jeho hostiteľskej dreviny smrek. Naša analýza ukázala, že solárna radiácia môže byť jedným z faktorov ktoré vplývajú na mortalitu stromov vplyvom lykožrútom smrekovým. Ukázala sa ako dôležitá pri modelovni mortality stromov na úrovni krajiny, na mortalitu stromov na úrovni jedincov ako aj pri odchty lykožrútov do feromónových lapačov. V budúcnosti by teda mala byť používaná ako jedna z premenných pri návrhov predikčných modelov podkôrneho hmyzu alebo pri vytváraní systémov na rozhodovanie.

## LITRATÚRA

- /1/ P. Mezei *et al.*, “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,” *Agric. For. Meteorol.*, vol. 242, pp. 85–95, 2017.
- /2/ F. Lieutier, Z. Mendel, and M. Faccoli, “Bark Beetles of Mediterranean Conifers,” in *Insects and Diseases of Mediterranean Forest Systems*, T. D. Paine and F. Lieutier, Eds. Springer International Publishing, 2016, p. 892.
- /3/ P. Baier, J. Pennerstorfer, and A. Schopf, “PHENIPS—A comprehensive phenology model of *Ips typographus* (L.) (Col., Scolytinae) as a tool for hazard rating of bark beetle infestation,” *For. Ecol. Manage.*, vol. 249, no. 3, pp. 171–186, Sep. 2007.
- /4/ S. N. Wood, *Generalized Additive Models: an introduction with R*. Chapman and Hall/CRC, 2006.
- /5/ K. P. Burnham, D. R. Anderson, and K. P. Huyvaert, “AIC model selection and multimodel inference in behavioral ecology: Some background, observations, and comparisons,” *Behav. Ecol. Sociobiol.*, vol. 65, pp. 23–35, 2011.
- /6/ P. Mezei, M. Potterf, J. Škvarenina, J. G. Rasmussen, and R. Jakuš, “Potential Solar Radiation as a Driver for Bark Beetle Infestation on a Landscape Scale,” *Forests*, vol. 10, no. 7, p. 604, Jul. 2019.
- /7/ B. Hroško *et al.*, “Drivers of spruce bark beetle (*Ips typographus*) infestations on downed trees after severe windthrow,” *Forests*, vol. 11, no. 12, pp. 1–15, 2020.

- /8/ P. Mezei, R. Jakuš, M. Blaženec, S. Belánová, and J. Šmídt, “Population dynamics of spruce bark beetle in a nature reserve in relation to stand edges conditions | Populacná dynamika lykožrúta smrekového v prírodnej rezervácii v závislosti od stavu porastových okrajov,” *Folia Oecologica*, vol. 38, no. 1, pp. 73–79, 2011.
- /9/ A. Battisti, L. Marini, A. Pitacco, and S. Larsson, “Solar radiation directly affects larval performance of a forest insect,” *Ecol. Entomol.*, vol. 38, pp. 553–559, 2013.
- /10/ S. Netherer and J. Pennerstorfer, “Parameters relevant for modelling the potential development of *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae),” *Integr. Pest Manag. Rev.*, pp. 177–184, 2001.
- /11/ G. J. Sproull, M. Bukowski, N. McNutt, T. Zwijacz-Kozica, and J. Szwagrzyk, “Landscape-level spruce mortality patterns and topographic forecasters of bark beetle outbreaks in managed and unmanaged forests of the Tatra Mountains,” *Polish J. Ecol.*, vol. 65, no. 1, pp. 24–37, 2017.
- /12/ M. Kautz, R. Schopf, and J. Ohser, “The ‘sun-effect’: microclimatic alterations predispose forest edges to bark beetle infestations,” *Eur. J. For. Res.*, Jan. 2013.
- /13/ P. Mezei, R. Jakuš, M. Blaženec, S. Belánová, and J. Šmídt, “The relationship between potential solar radiation and spruce bark beetle catches in pheromone traps,” *Ann. For. Res.*, vol. 55, no. 2, pp. 243–252, 2012.

### PodĎakovanie

Uvedená práca vznikla za finanční podpory projektu VEGA 1/0606/22 a VEGA 2/0155/22.

## VYUŽITÍ „ANTISTRESOVÝCH LÁTEK“ PRO SNÍŽENÍ DOPADŮ ABIOTICKÝCH STRESORŮ NA ROSTLINY

### *USE OF "ANTI-STRESS AGENTS" TO REDUCE THE IMPACTS OF ABIOTIC STRESSORS ON PLANTS*

František Hnilička, Tomáš Rýgl, Helena Hniličková

Česká zemědělská univerzita v Praze, FAPPZ, katedra botaniky a fyziologie rostlin,  
Kamýcká 129, Praha – Suchdol 16500, hnilicka@af.czu.cz

#### *Summary*

There are a number of options to limit the negative effects of the external environment on plant production. One of them is the breeding of tolerant and resistant plants, the next is agronomic management. One of the other ways to eliminate the negative effects of the adverse effects of the external environment, in addition to the selection of suitable plant material and management, is also the use of so-called "anti-stress substances". These are often substances of a natural nature that do not harm the environment and can also be used in organic farming. These are plant growth regulators, osmoprotectants, humic substances, mycorrhizal fungi, bacteria, alginates, essential oils, hydrogels.

*Key words: stressors; anti-stress substances; agriculture; application*

#### *Souhrn*

Existuje řada možností, jak omezit negativní vlivy vnějšího prostředí na produkci rostlin. Jedním z nich je šlechtění tolerantních a odolných rostlin, dále je to agronomický management. Jednou z dalších cest, jak eliminovat negativní dopady nepříznivých vlivů vnějšího prostředí, vedle výběru vhodného rostlinného materiálu a managementu, je také využití tzv. „antistresových látek“. Často se jedná o látky přírodní povahy, které nenarušují životní prostředí a je možné je využít také v ekologickém zemědělství. Jedná se o rostlinné regulátory růstu, osmoprotektanty, humínové látky, mykorhitické houby, bakterie, algináty, silice, hydrogely.

*Klíčová slova: stresory; antistresové látky; zemědělství; aplikace*

## ÚVOD

Růst a vývoj rostlin, včetně jejich následné produkce, je ovlivněn řadou vnějších faktorů, a to nejenom v pozitivním, ale i negativním smyslu. Negativní vlivy vnějšího prostředí označujeme pojmem stresory, které rozdělujeme na abiotické a biotické. Zatímco biotické stresory představují choroby – virové, houbové, škůdce, konkurenci rostlin, včetně plevelů, ale také antropogenní působení, tak abiotické stresory můžeme rozdělit na fyzikální a chemické. V případě abiotických stresorů se o nejvýznamnější stresory jedná především o vodní deficit/nadbytek, zasolení, nerovnováhu živin a extrémní teploty /1, 2/. Z dlouhodobého hlediska i s ohledem na globální změny klimatu je nejvýznamnějším stresorem nedostatek vody nebo její nadbytek při přívalových deštích nebo povodních. V rámci EU se do popředí zájmu vedle monitorování půdního sucha dostává další stresor a tím je zasolení půdy. Je nutné si však uvědomit, že dopady stresorů na rostliny nemusejí mít globální dopad, ale mohou být pouze regionální.



Existuje řada možností, jak omezit negativní vlivy vnějšího prostředí na produkci rostlin. Jedním z nich je šlechtění tolerantních a odolných rostlin, kdy se jedná o proces dlouhodobý. Další významnou možností je zlepšení agronomického managementu, který může být představován dodržováním střídání plodin, optimálním zpracováním půdy, využitím meziplodin apod. Jednou z dalších cest, jak eliminovat negativní dopady nepříznivých vlivů vnějšího prostředí, vedle výběru vhodného rostlinného materiálu a managementu, je také využití tzv. „antistresových látek“. Často se jedná o látky přírodní povahy, které nenarušují životní prostředí a je možné je využít také v ekologickém zemědělství. Jedná se o rostlinné regulátory růstu, osmoprotektanty, humínové látky, mykorhizické houby, bakterie, algináty, silice, hydrogely.

### Regulátory růstu

Mezi již tradiční „antistresový“ hormon je řazena kyselina abscisová (ABA), jejíž vliv byl sledován především ve vztahu k suchu, neboť při nedostatku vody je spolehlivým indikátorem vodního stresu u rostlin /3, 4, 5/. Dále kyselina abscisová souvisí s tvorbou aminokyseliny prolinu. Dále ovlivňuje tvorbu genů, které souvisí s tvorbou postranních kořenů, změnou struktury kořenové biomasy a transportem dusičnanů u rostlin rostoucích v podmínkách osmotického stresu /4, 6/.

Obvyklou stresovou reakcí rostlin je snížení tvorby cytokininů. Vliv cytokininů u stresovaných rostlin byl nejprve pozorovaný na pohybu svěřacích buněk průduchů a rychlosti transpirace /7/. Vliv cytokininů na uzavírání průduchů je opačný ve srovnání s kyselinou abscisovou. Po aplikaci cytokininů se u rostlin zvětšuje průduchová štěrbin a tím dochází nejen k navýšení transpirace, ale také ke zvýšení fotosyntézy /8/. Významnou roli cytokininů a jejich exogenní aplikace je oddálení stárnutí listů, a tedy prodloužení doby vegetace. Uvedené látky jsou součástí např. přípravků AUCYTO START a VegetUP.

Obsah giberelinů (GA) v rostlinách rostoucích v podmínkách chladového, osmotického stresu a také salinity (zasolení) se snižuje a tím dochází k omezení růstu rostlin, viz obr. 1. Naopak v případě zastínění a anoxie (nedostatek kyslíku) dochází ke zvýšení jejich tvorby a následnému zvýšení růstu rostlin.



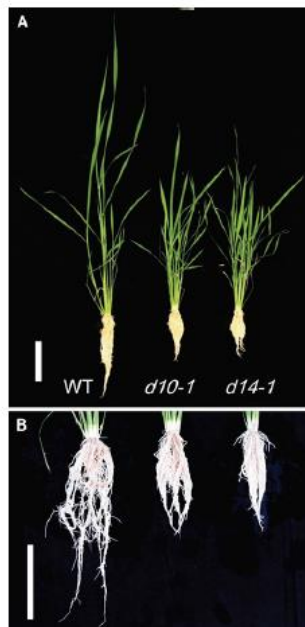
Obr. 1: Úloha giberelinů (GA) v regulaci vývoje laterálních kořenů. Vliv giberelinů na růst kořenů u dvouměsíčních transgenních rostlin topolu: GA – deficientní (35S: PcGA2ox1) a GA – necitlivý (35S: rgl1) genotyp. D – zakrslý typ, SD – polozakrslý typ, WT – netransgenní rostlina, WT – like – podobná netransgenní rostlina (upraveno podle /9/).

Etylén se společně s kyselinou salicylovou a jasmonovou, včetně ostatních regulátorů růstu, podílí na stresové reakci rostlin /10, 11/. Etylén se podílí na toleranci rostlin vůči

mrazu, kdy jeho efekt zesiluje aplikace kyseliny jasmonové. Oba tyto regulátory růstu působí komplexně a ovlivňují např. vývoj kořenů a hromadění antokyaninu, které mohou být spojeny s tolerancí vůči stresorům /12/.

Další skupinu regulátorů růstu tvoří brassinosteroidy, které jsou v ČR povoleny do řepky, zvyšují odolnost rostlin vůči vysokým a nízkým teplotám, k vodnímu deficitu nebo zamokření substrátu, nadměrným koncentracím těžkých kovů nebo solí, pesticidům a herbicidům /13/. Např. aplikace 24-epibrassinolidu zvyšuje u mladých rostlin řepky odolnost vůči suchu a nízkým teplotám /14, 15/. Dále pomáhají překonat stres zasolením u řepky a pšenice. V neposlední řadě aplikace 24-epibrassinolidu snižuje inhibiční účinek pesticidů (fluazifop-p-butyl, haloxyfop, cuproxat, cyazofamid, imidacloprid, chlorpyrifos, a abamectin) na rychlost fotosyntézy /16/.

Strigolaktony jsou další skupinou rostlinných hormonů na bázi laktonů, jejichž klíčovou úlohou je komunikace mezi kořeny rostlin a rhizosférou (oblast povrchu a nejbližšího okolí kořenů rostlin), kde slouží jako hostitelské signály pro mykorhizní houby /17/. Další možnou látkou, která ovlivňuje stresovou reakci rostlin je strobilurin, jehož efekt je spojen s růstem kořenů u rostlin ovlivněných vysokou teplotou, jak dokumentuje obr. 2.



Obr. 2: Fenotyp rýže s mutací *d10-1* a *d14-1*. A) Celková struktura 6 týdnů staré netransgenní rostliny (WT) a *d10-1* a *d14-1*. B) Detail kořenové biomasy u netransgenních rostlin (WT) a *d10-1* a *d14-1* po aplikaci strigolaktonů. Stupnice měřítka 10 cm /18/.

### Osmoprotektanty

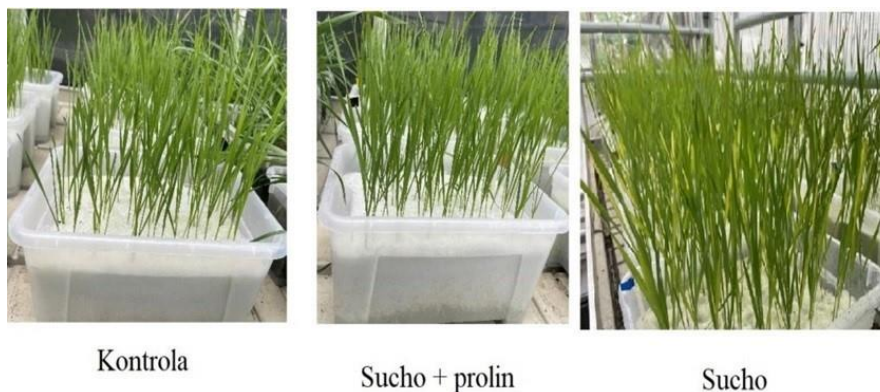
Jednou z nejčastějších stresových obraných reakcí v rostlinách je vyšší produkce různých typů netoxických kompatibilních rozpustných látek (osmoprotektantů) /19/. Mezi ně podle /20/ řadíme např. prolin, sacharózu, polyoly, trehalosu, kvarterní dusíkaté sloučeniny. Jejich hlavním úkolem je chránit rostliny vůči působení stresorů na základě osmotického přizpůsobení, které umožňuje tok vody do buňky i za nízkého osmotického potenciálu (tlak, který působením rozdílu koncentrací vyrovná a zamezí pronikání vody do koncentrovanějšího roztoku) okolí.

U rostlin pšenice byl potvrzen vliv listové aplikace fruktózy a sacharózy v závislosti na délce trvání vodního stresu, kdy fruktóza dosahovala vyšší rychlosti fotosyntézy při týdenním stresu. V případě sacharózy se tento efekt projevil po dvoutýdenním působení stresu. Tento efekt může být dán obecnou nekonzistentní účinností sacharidů. V případě sacharózy se

rychlost penetrace stanovená pro rostlinné druhy pohybuje mezi 1 % pro kutikulu listové čepele a 4 % pro kutikulu průduchů. Dále uvedené sacharidy snižují otevřenost průduchů a transpiraci, tedy ovlivňují vodní režim rostlin.

Jednou z nejvíce zastoupených dusíkatých sloučenin v rostlinách je glycinbetain /21/. Exogenně aplikovaný glycinbetain je velmi rychle vstřebáván listy a odtud je transportován do jiných rostlinných orgánů. Jeho aplikace snižuje negativní vliv vodního deficitu a zasolení na obsah vody v buňkách, fotosyntézu /22/. Mezi osmoticky aktivní látky patří také neredukující disacharid trehalóza, která hraje klíčovou roli v mnoha metabolických procesech, které souvisejí s tolerancí vůči suchu. Exogenně aplikována trehalóza je snadno absorbována a transportována kořeny a pletivy listů /23/.

Další významnou osmoticky aktivní látkou je aminokyselina prolin. Aminokyselina prolin představuje pro většinu rostlin jednu ze základních charakteristik působení stresu. Při působení stresu se jeho hladina v buňce zvyšuje a tím dochází ke snížení vlivu stresoru na rostliny (obr. 3). Exogenní aplikaci prolinu zvýšila např. klíčivost a délka kořenů hrachu rostoucích v zasoleném substrátu /24/.



Obr. 3: Vliv aplikace prolinu a sucha na růst rostlin pšenice seté (foto: F. Hnilička).

### 5-aminolevulová

Dále lze využít kyselinu 5-aminolevulová (ALA), která zvyšuje výnos a jeho kvalitu, a protože se jedná o přírodní látku lze jí také využít v ekologickém zemědělství 25/. V České republice je uvedena látka součástí komerčně vyráběného přípravku Pentakeep V. Pentakeep byl testován na řadě plodin, jako jsou např. vinná réva, chmel otáčivý, pšenice ozimá, lubenice obecná, paprika roční a lilek rajče.

### Silice, terpeny, algináty

Mezi další přirozené látky, které je možné využít v limitaci negativního dopadu stresu, především sucha, jsou silice a terpeny obsažené v jehlicích např. jedle sibiřské. Uvedené látky se nachází např. v přípravku Bionexil. Ošetření rostlin pšenice během vegetace zlepšují výnosové parametry, včetně jeho stability a snižují kontaminaci obilí sporymi hub /26/.

Pozitivní efekt na kořenový systém rostlin, rostoucích v podmínkách vodního deficitu mají látky získané z hnědých řas – algináty. Jejich efekt spočívá v efektivnějším využití vody.

### Huminové látky

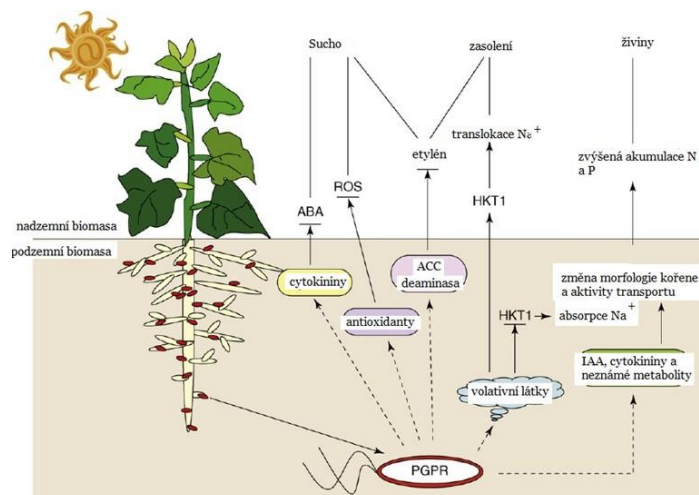
Jak již bylo uvedeno výše, je jako antistresové látky možné využít huminové látky, které jsou hlavní organickou složkou půdy, která ovlivňuje růst rostlin. Jejich pozitivní vliv na rostliny je přímý a nepřímý. Nepřímý vliv spočívá ve zvýšení účinnosti hnojiv, zlepšením příjmem železa, hořčíku, zinku, draslíku, vápníku, fosforu a  $\text{NO}_3^-$ , snížení zhuštění půdy, zlepšení půdní agregace, provzdušňování, propustnosti, vododržnosti /27/. Aplikace

huminových látek zvyšuje obsah chlorofylů v listech, fotosyntézu, zvyšují obsah rozpustných cukrů ovlivňují růst a vývoj rostlin jako gibereliny.

### Půdní organismy

V půdním prostředí hrají významnou úlohu půdní organismy, jako jsou houby a bakterie. Houby s kořeny vyšších rostlin vytváří symbiózu – mykorhiza. Pomocí mykorhizy rostliny lépe přijímají vodu a fosfor z půdy. Pro rostliny zahrnuje nejenom příjem vody a živin, ale také obranu vůči stresorům apod. Mykorhiza pozitivně ovlivňuje fotosyntézu, vodní režim rostlin, především vodní potenciál, efektivitu využití vody a stomatální vodivost, čímž zlepšuje odolnost rostlin především vůči suchu.

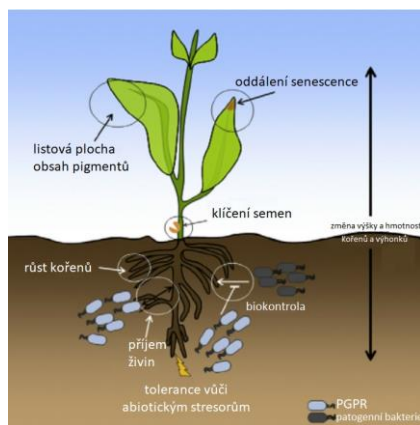
V půdním prostředí se nevyskytují pouze houby, ale také další organismy, včetně bakterií. V současnosti je snaha využít také půdní bakterie (PGPR) a bakterie kolonizující rhizosféru /28/. Obvykle se podle /29, 30/ jedná o druhy *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense*, *Bacillus megaterium* a *Rhizobium leguminosarum*, které jsou součástí bakteriálních hnojiv. Tyto organismy ovlivňují příjem živin, např. železa, dusíku, fosforu, růst rostlin, klíčivost semen, výnos, plochu listovou, obsah pigmentů, snižuje náchylnost k chorobám způsobeným rostlinnými patogenními houbami, bakteriemi, viry a hádčátky, jak dokládají obr. 4, 5. Bakterie rostlinu „chrání“ také proti abiotickým stresorům, jedná se především o suchu a zasolení. Pozitivní význam těchto mikroorganismů souvisí se zvýšením koncentrace přijatelného fosforu v půdě. Vhodná kombinace je využití bakteriálních hnojiv společně s NPK hnojivy.



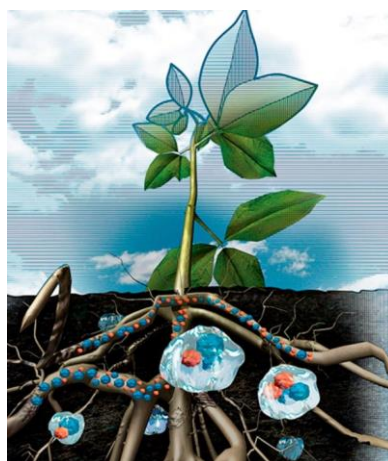
Obr. 4: Indukovaná systémová tolerance vyvolané PGPR vůči suchu, zasolení a stresu vyvolaného živinami (upraveno podle /31/).

### Hydrogely

Hydrogely byly vyvinuty pro zlepšení fyzikálních vlastností půdy, především s ohledem na zvýšení kapacity zadržování vody v půdě, zlepšení efektivity využití vody zvýšením propustnosti a infiltrace vody půdou, snížení nákladů na závlahu a vlivu eroze na půdu, viz. obr. 6. Jejich objem se za přítomnosti vody zvýší 200-800x a tuto postupně uvolňuje do okolí, čímž zároveň dochází k efektivnějšímu využívání závlahové vody, snižuje se riziko ztuhnutí půdy a zvyšuje se areace (provzdušnění) půdy a současně také mikrobiální aktivita /32/.



Obr. 5: Přínosy pro rostliny z interakcí mezi hostitelem a bakterie kolonizující rhizosféru (upraveno /33/).



Obr. 6: Polymery a jejich aplikace v zemědělství.

(<https://www.hydrogelagriculture.com/single-post/2017/03/08/Super-Absorbent-Polymer-for-Dry-Semi-Arid-regions>).

## ZÁVĚR

Pěstování polních a zahradních plodin je ovlivněno řadou faktorů vnějšího prostředí, které omezují produkci. Snížení negativního dopadu těchto faktorů lze eliminovat nejenom správným výběrem odrůdy, ale také agrotechnikou. Dalšími možnostmi je aplikace tzv. antistresových látek. Mezi tyto látky lze zařadit např. rostlinné regulátory růstu, osmoprotektanty, humínové látky, mykorhizické houby, bakterie, algináty, silice, hydrogely.

## LITERATURA

- /1/ Ashraf, M. Y., Wu, L. 1994. Breeding for salinity tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 13 (1): 17-42.
- /2/ Choukr-Allah, R., 1996. The potential of halophytes in the development and rehabilitation of arid and semi-arid zones. In: Choukr-Allah, R., Malcolm, C.V., Hamdy, A. (Eds.), *Halophytes and Biosaline Agriculture*. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 1-13.
- /3/ Arend, M., Schnitzler, J.P., Ehling, B., Hansch, R., Lange, T., Rennenberg, H., Himmelbach, A., Grill, E., Fromm, J. 2009. Expression of the Arabidopsis mutant ABI1 gene alters abscisic acid sensitivity, stomatal development, and growth morphology in gray poplars. *Plant Physiology*, 151 (4):2110-2119.

- /4/ Dugas, D.V., Monaco, M.K., Olson, A., Klein, R.R., Kumari, S., Ware, D., Klein, P.E. 2011. Functional annotation of the transcriptome of *Sorghum bicolor* in response to osmotic stress and abscisic acid. *BMC genomics*, 12 (1): 514-535.
- /5/ Hand, S.C., Menze, M.A., Toner, M., Boswell, L., Moore, D. 2011. LEA proteins during water stress: not just for plants anymore. *Annual review of physiology*, 73, 115-134.
- /6/ Sengupta, D., Kannan, M., Reddy, A.R. 2011. A root proteomics-based insight reveals dynamic regulation of root proteins under progressive drought stress and recovery in *Vigna radiata* (L.) Wilczek. *Planta*, 233 (6): 1111-1127.
- /7/ Ha, S., Vankova, R., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., Tran, L.S.P. 2012. Cytokinins: metabolism and function in plant adaptation to environmental stresses. *Trends in plant science*, 17 (3): 172-179.
- /8/ Pospíšilová, J., Vágner, M., Malbeck, J., Trávníčková, A., Baťková, P. 2005. Interactions between abscisic acid and cytokinins during water stress and subsequent rehydration. *Biologia Plantarum*, 49 (4): 533–540.
- /9/ Gou, J., Strauss, S. H., Tsai, C.J., Fang, K., Chen, Y., Jiang, X., Busov, V.B. 2010. Gibberellins regulate lateral root formation in *Populus* through interactions with auxin and other hormones. *The Plant Cell*, 22 (3): 623-639.
- /11/ Santino, A., Taurino, M., De Domenico, S., Bonsegna, S., Poltronieri, P., Pastor, V., Flors, V. 2013. Jasmonate signaling in plant development and defense response to multiple (a) biotic stresses. *Plant cell reports*, 32 (7): 1085–1098.
- /12/ Colebrook, E.H., Thomas, S.G., Phillips, A.L., Hedden, P. 2014. The role of gibberellin signalling in plant responses to abiotic stress. *Journal of Experimental Biology*, 217 (1): 67-75.
- /13/ Kazan, K. 2015. Diverse roles of jasmonates and ethylene in abiotic stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 20 (4): 219-229.
- /14/ Singh, I., Shono, M. 2005. Physiological and molecular effects of 24epibrassinolide, a brassinosteroid on thermotolerance of tomato. *Plant Growth Regulation*, 47 (2-3): 111-119.
- /15/ Kagale, S., Divi, U.K., Krochko, J.E., Keller, W.A., Krishna, P. 2007. Brassinosteroid confers tolerance in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica napus* to a range of abiotic stresses. *Planta*, 225 (2): 353–364.
- /16/ Janeczko, A., Gullner, G., Skoczowski, A., Dubert, F., Barna, B. 2007. Effects of brassinosteroid infiltration prior to cold treatment on ion leakage and pigment contents in rape leaves. *Biologia Plantarum*, 51 (2): 355–358
- /17/ Xia, X.J., Huang, Y.Y., Wang, L., Huang, L.F., Yu, Y.L., Zhou, Y.H., Yu, J.Q. 2006. Pesticides-induced depression of photosynthesis was alleviated by 24-epibrassinolide pretreatment in *Cucumis sativus* L. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 86 (1): 42-48.
- /18/ López-Ráez, J.A., Charnikhova, T., Fernández, I., Bouwmeester, H., Pozo, M.J. 2011. Arbuscular mycorrhizal symbiosis decreases strigolactone production in tomato. *Journal of plant physiology*, 168 (3): 294-297.
- /19/ Arite, T., Kameoka, H., Kyojuka, J. 2012. Strigolactone positively controls crown root elongation in rice. *Journal of Plant Growth Regulation*, 31 (2): 165-172.
- /20/ Bohnert, H.J., Jensen, R.G. 1996. Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. *Trends in Biotechnology*, 14 (3): 89-97.
- /21/ Rhodes, D., Samaras, Y. 1994. Genetic control of osmoregulation in plants. In: Strange, K. (Ed.): *Cellular and molecular physiology of cell volume regulation*, CRC Press, pp. 347–361.
- /22/ Mohanty, A., Kathuria, H., Ferjani, A., Sakamoto, A., Mohanty, P., Murata, N., Tyagi, A. 2002. Transgenics of an elite indica rice variety Pusa Basmati 1 harbouring the *codA* gene are highly tolerant to salt stress. *Theoretical and Applied Genetics*, 106 (1): 51-57.
- /23/ Varshney, K.A., Gangwar, L.P., Goel, N. 1988. Choline and betaine accumulation in *Trifolium alexandrinum* L. during salt stress. *Egyptian Journal of Botany*, 31: 81–86.
- /24/ Redillas, M. C., Park, S. H., Lee, J. W., Kim, Y. S., Jeong, J. S., Jung, H., Bang, S.W., Hahn, T.-R., Kim, J. K. 2012. Accumulation of trehalose increases soluble sugar contents in rice plants conferring tolerance to drought and salt stress. *Plant Biotechnology Reports*, 6 (1): 89-96.
- /25/ Bar-Nun, N., Poljakiff-Mayber, A. 1977. Salinity stress and the content of proline in roots of *Pisum sativum* and *Tamarix tetragyna*. *Annals of Botany*, 41 (1): 173-179.
- /26/ Zhang, Z.J., Li, H.Z., Zhou, W.J., Takeuchi, Y., Yoneyama, K. 2006. Effect of 5-aminolevulinic acid on development and salt tolerance of potato (*Solanum tuberosum* L.) microtubers in vitro. *Plant Growth Regulation*, 49 (1): 27-34.
- /27/ Bláha, L., Rygolin, A., Rygolin, V., Gjurov, V., Hnilička, F., 2008. Zkušenosti s aplikací látek přírodního původu. *Úroda*, 56 (11): 66–68
- /28/ Sharif, M., Khattak, R.A., Sarir, M.S. 2002. Effect of different levels of lignitic coal derived humic acid on growth of maize plants. *Communications in soil science and plant analysis*, 33 (19-20): 3567-3580.

- /29/ Baharlouei, J., Pazira, E., Solhi, M. 2011. Evaluation of inoculation of plant growth promoting Rhizobacteria on cadmium uptake by canola and barley. In International Conference on Environmental Science and Technology IPCBEE, Singapore (Vol. 6): 129-132.
- /30/ Glick, B.R., Penrose, D.M., Li, J. 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *Journal of theoretical biology*, 190 (1): 63-68.
- /31/ Sudhakar, P., Chattopadhyay, G.N., Gangwar, S.K., Ghosh, J.K. 2000. Effect of foliar application of Azotobacter, Azospirillum and Beijerinckia on leaf yield and quality of mulberry (*Morus alba*). *The Journal of Agricultural Science*, 134 (2): 227-234.
- /32/ Yang, J., Kloepper, J.W., Ryu, C.M. 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in Plant Science*, 14 (1): 1-4.
- /33/ Milani, P., França, D., Balieiro, A.G., Faez, R. 2017. Polymers and its applications in agriculture. *Polímeros*, 27 (3): 256-266.
- /34/ Pérez-Montaña, F., Alías-Villegas, C., Bellogín, R. A., Del Cerro, P., Espuny, M. R., Jiménez-Guerrero, I., López-Baena, F. J., Cubo, T. 2014. Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: from microorganism capacities to crop production. *Microbiological research*, 169(5-6), 325-336. P. Mezei *et al.*, "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," *Agric. For. Meteorol.*, vol. 242, pp. 85–95, 2017.

### Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory S projektu MŠMT ČR.

## PREJAVY STRESU SUCHOM NA PARAMETROCH IHLÍC A KMEŇOV SADENÍC SMREKA OBYČAJNÉHO

### *MANIFESTATIONS OF DROUGHT STRESS ON PARAMETERS OF NEEDLES AND STEMS OF NORWAY SPRUCE SEEDLINGS*

Sajad Sajad<sup>1,2</sup>, Gabriela Jamnická<sup>1</sup>, Hana Húdoková<sup>1,2</sup>, Peter Fleischer, Jr.<sup>1,2,3</sup>, Eva Pšidová<sup>1</sup>, Marek Ježík<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav ekológie lesa SAV, Štúrova 2, 960 53 Zvolen, Slovenská republika, [sajad@ife.sk](mailto:sajad@ife.sk)

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

<sup>3</sup>Výskumná stanica TANAP-u, Tatranská Lomnica 66, 059 60 Vysoké Tatry, Slovenská republika

#### *Summary*

This study determines the impact of drought on the physiological responses of Norway spruce (*Picea abies*) seedlings. Ten five-year-old seedlings from the Western Carpathians were subjected to simulated drought conditions, and parameters such as stem diameter, soil water potential, gas exchange, and chlorophyll fluorescence were measured. The decreasing soil water potential leads to stem contractions as a response to water scarcity. Gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters decreased during drought synchronously with stem contractions, but recovered after rehydration.

*Key words: Norway spruce, tree water deficit, gas exchange, chlorophyll fluorescens, soil water potential*

#### *Súhrn*

Štúdia sa zaoberá vplyvom sucha na fyziologické reakcie sadeníc smreka obyčajného (*Picea abies*). Desať päťročných sadeníc zo Západných Karpát bolo vystavených simulovaným podmienkam sucha a merali sa parametre ako priemer kmeňa, vodný potenciál pôdy, výmena plynov a fluorescencia chlorofylu. Klesajúci vodný potenciál pôdy viedol ku kontrakcii kmeňov ako reakcii na nedostatok vody. Parametre výmeny plynov a fluorescencie chlorofylu klesali počas sucha synchronne s kontrakciami kmeňov, ale obnovili sa po rehydratácii.

*Kľúčové slová: smrek obyčajný, vodný deficit stromu, výmena plynov, fluorescencia chlorofylu, vodný potenciál pôdy*

## INTRODUCTION

Norway spruce, a dominant coniferous species in European mountain forests, is highly sensitive to water stress. This sensitivity is one of the reasons that led to declines in the health and vitality of spruce forests /1/, e.g. the extreme drought experienced in 2018 had profound effects on spruce growth, particularly in regions already facing unfavourable conditions for survival /2/. Dendrometers play a fundamental role in assessing the impact of drought on Norway's spruce and determining its overall health /3/. The combined effects of drought and other stresses can trigger extensive dieback of Norway spruce ecosystems, making it essential to understand the species' physiological responses /4/.



## MATERIALS AND METHODS

In this study, we examined 10 five-year-old Norway spruce seedlings from different altitudes in the Western Carpathians. The seedlings were transported to the Institute of Forest Ecology laboratory to adopt the lab conditions three weeks before the experiment, which was performed from July 21 to September 10, 2022. The drought duration was from 21 July to 19 August and on 20 August afterwards it was irrigated regularly till the end of the experiment. We monitored stem diameter variations using a PDS40 SDI sensor and calculated water-related tree water deficit (stem contraction) by removing growth components using the zero-growth concept. Soil water potential was measured using gypsum blocks. Gas exchange measurements were performed using a Li-6400XT system, assessing CO<sub>2</sub> photosynthetic rate, transpiration rate, and stomatal conductance. PSII performance was estimated using a Handy PEA fluorimeter, measuring parameters such as basal fluorescence, maximal fluorescence, variable fluorescence, and maximum quantum yield of PSII photochemistry.

## RESULTS AND DISCUSSION

In the recent study, various parameters were examined including soil water potential, tree water deficit ( $\Delta W$ ), gas exchange, and chlorophyll fluorescence. The findings revealed that drought led to a significant decline in soil water potential, reaching its lowest point on August 17. This decrease in soil water potential caused noticeable tree water deficit ( $\Delta W$ ), with the maximum stems contraction observed on August 20 (Fig. 1).

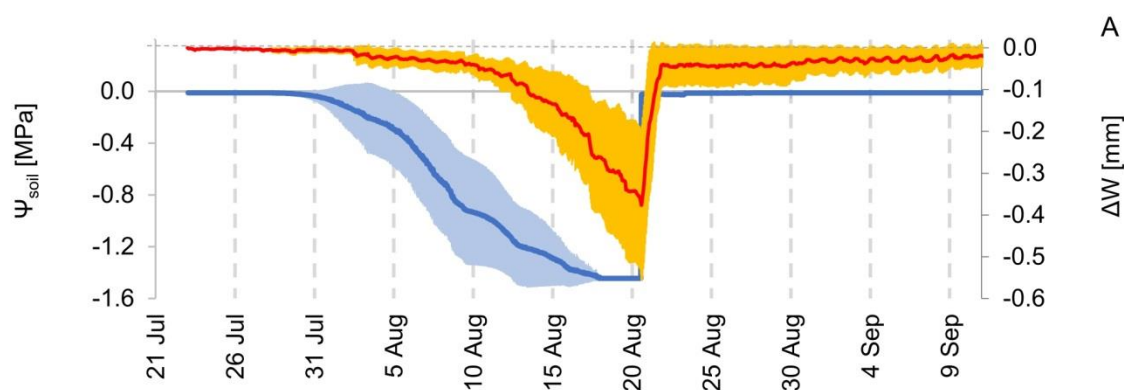


Fig. 1. The average  $\Psi_{soil}$  (blue line) and tree water deficit  $\Delta W$  (red line), along with vertical lines indicating the 95% confidence intervals. This graph demonstrates how decreasing  $\Psi_{soil}$  corresponds to a decrease in  $\Delta W$ , highlighting the influence of soil water potential on tree water deficit.

However, after irrigation, the trunks quickly swelled back to their original size, indicating their recovery. Gas exchange parameters and chlorophyll fluorescence showed a remarkable recovery following irrigation, as reflected in the increased photosynthetic rate, stomatal conductance, and transpiration rate by August 24 (Fig. 2).

The findings of the research demonstrate the clear and significant relationships between tree water deficit ( $\Delta W$ ) and physiological parameters, such as fluorescence and gas exchange. The decreasing water deficit ( $\Delta W$ ) values were found to be positively correlated with these parameters, as supported by principal component analysis (Fig. 3).

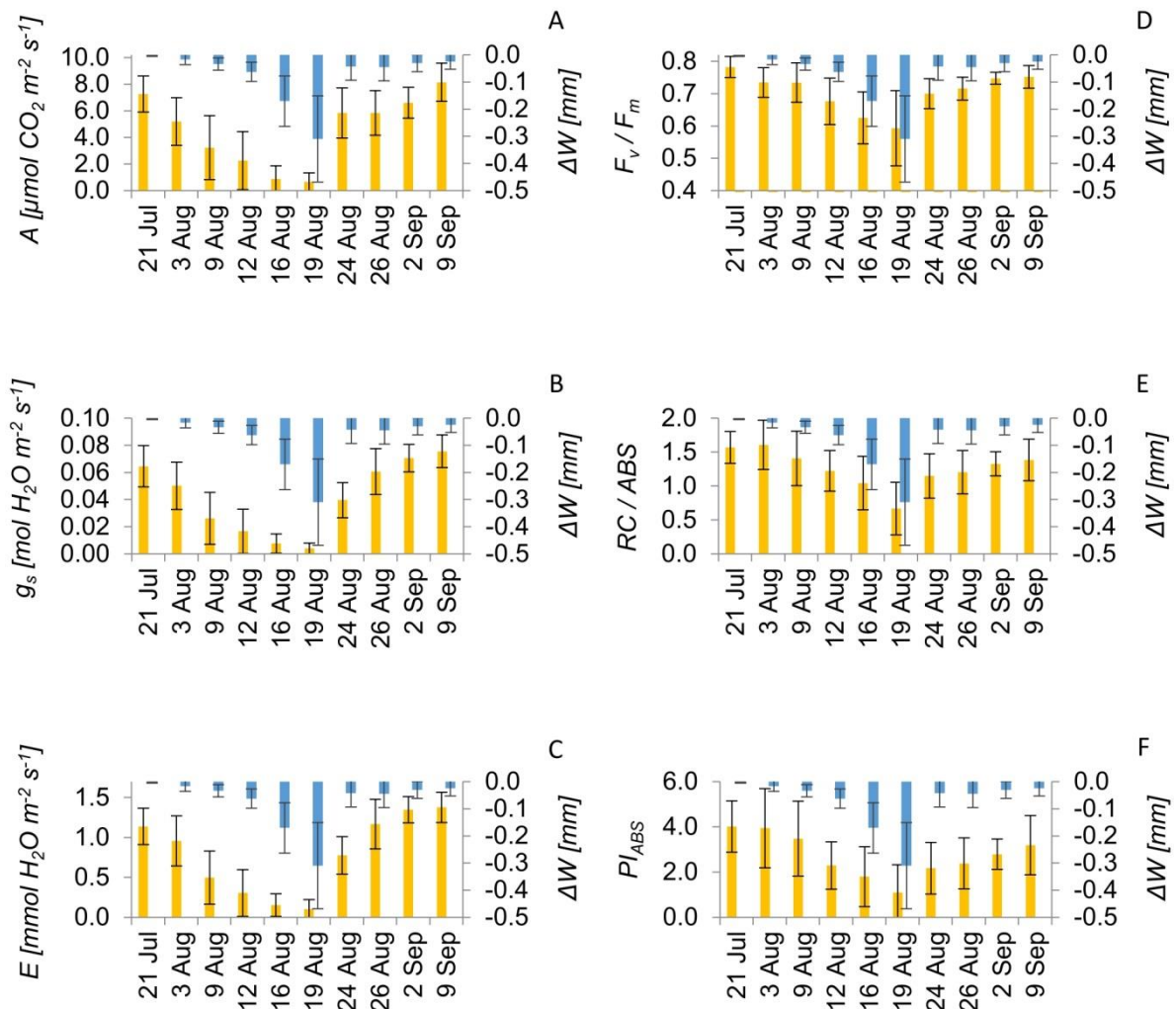


Fig. 2. The average tree water deficit ( $\Delta W$ , blue), along with parameters represented by yellow bars (A) the average photosynthetic rate ( $A$ ), (B) stomatal conductance ( $g_s$ ), (C) transpiration rate ( $E$ ), (D) maximum quantum yield of PSII photochemistry ( $F_v/F_m$ ), (E) number of active reaction centers ( $RC/ABS$ ), (F) and photosynthetic performance index ( $PI_{ABS}$ ). The vertical lines indicate the 95% confidence intervals.

In this context /5/ found the  $F_v/F_m$  values in a model plant are not affected by a 30% water deficit in the soil. However, the parameters related to photosystem II activity, were significantly influenced by the water deficit. Also /6/ observed a positive relationship among these variables in their study and /7/ revealed that drought-induced imbalances in transpiration and water uptake cause reversible changes in stem size, which are closely linked to sap flow rates and water potential in plant tissues.

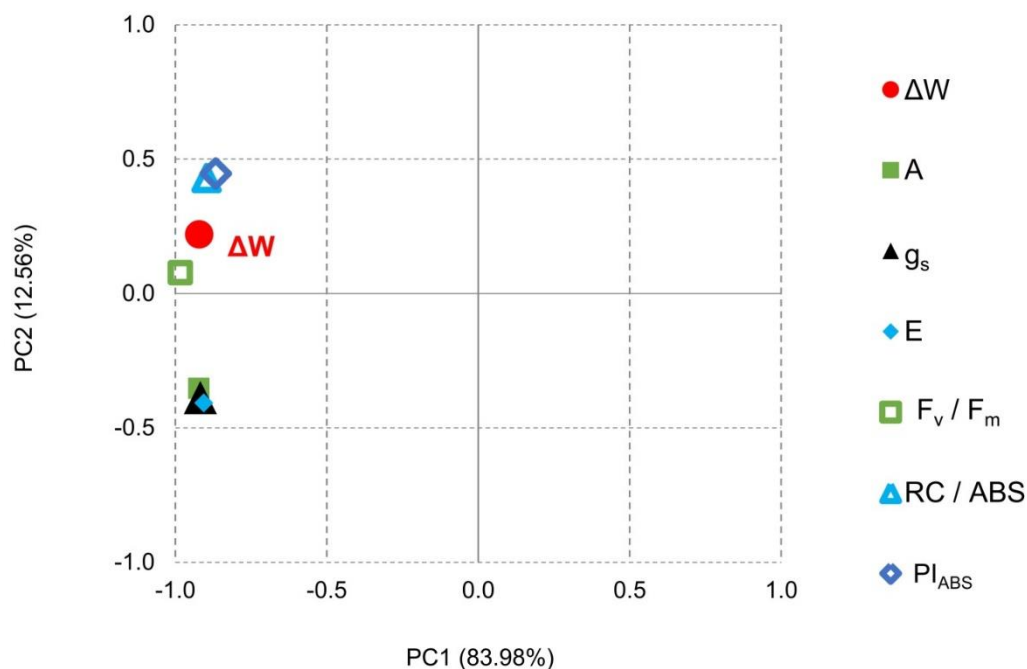


Fig. 3. Principal component analysis (PCA) was conducted to explore the relationship between average tree water deficit ( $\Delta W$ ) and other parameters. The parameters included average photosynthetic rate (A), stomatal conductance ( $g_s$ ), transpiration rate (E), maximum quantum yield of PSII photochemistry ( $F_v/F_m$ ), number of active reaction centre's (RC/ABS), and photosynthetic performance index ( $PI_{ABS}$ ). The PCA yielded the first two principal components, PC1 and PC2.

## CONCLUSION

This study examined the sensitivity of Norway spruce seedlings to drought stress. The research showed that soil water deficit led to tree water deficit (stem contractions), which were synchronous and positive related to reduced gas exchange, and chlorophyll fluorescence parameters.

## REFERENCES

- /1/ Zhen-Ming, G., Seppo, K., Xiao, Z., Kai-Yun, W., Heli, P., Hannu, V., Harri, S.: Effects of climate change on evapotranspiration and soil water availability in Norway spruce forests in southern Finland: an ecosystem model-based approach. *Ecohydrology*, 2, 2013: 51–63.
- /2/ Bernhard., S., Allan, B., Matthias, A., Yann, V., Carl, B., Alexander, D., Mana, G., Thorsten, G., Markus, H., Peter, H., Henrik, H., Erika, H., Gunter, H., Meisha, P., Christian, K., Elena, L., Torben, L., Daniel, N., Anja, R., Andreas, R., Laura, R., Nadine, R., Katja, S., Frank, W., Christiane, W., Thomas, W., Christian, Z., Ansgar, K.: A first assessment of the impact of the extreme 2018 summer drought on Central European forests. *Basic and Applied Ecology*, 6, 2020: 86–103.
- /3/ Jan K., Emil, C., Jan, S., Michal, B., Estelle, N., Petr, H., Peter, Š, Michal, M.: Evidence of climate-induced stress of Norway spruce along elevation gradient preceding the current dieback in Central Europe. *Trees*, 2, 2021: 103–119.
- /4/ Jonathan, S., Volodymyr, T., Radek, B., Vojtech, C., Shawn, F., Pavel, J., Dominik, K., Jana, L., Martin, M., Thomas, N., Rupert, S., Michal, S., Kristyna, S., Oleh, C., Marius, T., Miroslav, S.: Large-scale disturbance legacies and the climate sensitivity of primary *Picea abies* forests. *Global Change Biology*, 5, 2018: 2169–2181.
- /5/ Viera, Š., Helena, L.: Water Deficit Impact on Selected Physiological Parameters of the Woody Plant *Cornus mas* L. *Plants in Urban Areas And Landscape*, 5, 2018: 64–68.

- /6/ Leonie, S., Charlotte, G, Arthur, G, Jonas, G, Katrin, M, Petra, D, Andreas, R, Yann, S, Benjamin, S, Roman, Z, Marcus, S.: Photosynthetic acclimation and sensitivity to short- and long-term environmental changes in a drought-prone forest. *Journal of Experimental Botany*, 4, 2022: 2576–2588.
- /7/ Marek, J., Miroslav, B, Pavel, M, Denisa, S, Róbert, S, Peter, J, Peter, F, Michal, B, Daniel, K, Katarína, S, Ľubica, D.: Influence of weather and day length on intra-seasonal growth of Norway spruce (*Picea abies*) and European beech (*Fagus sylvatica*) in a natural montane forest. *Canadian Journal of Forest Research*, 6, 2021: 1799–1810.

### **Acknowledgment/Pod'akovanie**

Táto práca vznikla s finančnou podporou projektov APVV 18-0390, APVV 21-0270, VEGA 1/0535/20.

## **OBSAH KADMIA V PŮDACH OVPLYVNENÝCH MAGNEZITOVÝMI IMISIAMI**

### ***CADMIUM CONTENT IN THE SOILS AFFECTED BY MAGNESITE IMMISSIONS***

Ivica Pivková<sup>1</sup>, Ján Kukla<sup>1</sup>, Ivan Mihál<sup>1</sup>, František Hnilička<sup>2</sup>, Helena Hnilíčková<sup>2</sup>,  
Katarína Sládeková<sup>1</sup>, Margita Kuklová<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute 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

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

#### ***Summary***

The study is focused on the content of cadmium in the soils affected by magnesite immissions. The obtained data were compared on the contaminated and control sites. The content of Cd in the surface humus layer of soils varied from  $0.099 \pm 0.02$  to  $0.328 \pm 0.05$  mg kg<sup>-1</sup>, in the 0–5 cm layer from  $0.515 \pm 0.08$  to  $1.45 \pm 0.23$  mg kg<sup>-1</sup> and in the lower soil layers (10–30 cm) from  $0.107 \pm 0.017$  to  $0.321 \pm 0.05$  mg kg<sup>-1</sup>. The highest values of the Cd contents were recorded in the 0–5 cm soil layer on all the 4 plots from A to the control plot D. Overall, the highest value of Cd was found in the 0–5 cm layer on the plot C ( $1.45 \pm 0.23$  mg kg<sup>-1</sup>) and the lowest value in the surface humus layer of the plot C ( $0.099 \pm 0.02$  mg kg<sup>-1</sup>). Exceeded limit concentrations of Cd were recorded in the upper soil layer of 0–5 cm on the plots located the closest to the pollution source (A–C), but also on the control plot D. Slightly exceeded limit concentration of Cd in lower soil layer (10–20 cm) was recorded on the plot C with a value of  $0.321 \pm 0.05$  mg kg<sup>-1</sup>. PCA showed that the correlation coefficient of the Cd content to PC2 was 0.831. The value is greater than 0.75, which means that the magnesite plant contributes significantly to the contamination of the soil samples with Cd.

*Key words: magnesite immissions, soil contamination, cadmium content, Central Slovakia*

#### ***Súhrn***

Štúdia je zameraná na obsah kadmia v pôdach ovplyvnených magnezitovými imisiami. Získané údaje boli porovnané na kontaminovaných a kontrolných plochách. Obsah kadmia v povrchovej humusovej vrstve pôd kolísal od  $0,099 \pm 0,02$  do  $0,328 \pm 0,05$  mg kg<sup>-1</sup>, vo vrstve 0–5 cm od  $0,515 \pm 0,08$  do  $1,45 \pm 0,23$  mg kg<sup>-1</sup> a v spodných vrstvách pôd (10–30 cm) od  $0,107 \pm 0,017$  do  $0,321 \pm 0,05$  mg kg<sup>-1</sup>. Najvyššie hodnoty obsahov Cd boli zaznamenané vo vrstve pôdy 0–5 cm na všetkých 4 plochách od A po kontrolnú plochu D. Celkovo najvyššia hodnota Cd bola zistená vo vrstve 0–5 cm na ploche C ( $1,45 \pm 0,23$  mg kg<sup>-1</sup>) a najnižšia hodnota v povrchovej humusovej vrstve plochy C ( $0,099 \pm 0,02$  mg kg<sup>-1</sup>). Prekročené limitné koncentrácie Cd boli zaznamenané v hornej pôdnej vrstve 0–5 cm na plochách nachádzajúcich sa najbližšie k zdroju znečistenia (A–C), ale aj na kontrolnej ploche D. Mierne prekročená limitná koncentrácia Cd v spodnej vrstve pôdy (10–20 cm) bola zaznamenaná na ploche C s hodnotou  $0,321 \pm 0,05$  mg kg<sup>-1</sup>. PCA ukázala, že korelačný koeficient obsahu Cd s PC2 bol 0,831. Hodnota je väčšia ako 0,75, čo znamená, že magnezitka významne prispieva ku kontaminácii vzoriek pôdy kadmikom.

*Kľúčové slová: magnezitové imisie, znečistenie pôdy, obsah kadmia, stredné Slovensko*

## INTRODUCTION

The greatest damage to forest stands in terms of immission damage is recorded in areas with an increased concentration of immissions. A classic example in this direction is the vicinity of the magnesite plant in Lubeník, which produces a lot of immissions arising from the processing of magnesite. SLOVMAG, a.s. Lubeník is one of the largest producers of refractory structures and materials in Slovakia. Owing to their specific composition, solid particles from magnesite processing significantly affect the composition of the dust fallout, especially near the production factories /1/. Magnesite air pollutants are a mixture of MgO and MgCO<sub>3</sub>, due to which soil reaction can move above pH 8 /2/. We assume that in areas of industrial centres, immissions affect and change the ecological properties of soils and plants. Soil is the environment for the roots of plants and most of the metabolic processes take place in it /3/. Study site has long been burdened mainly by solid Mg emissions, with a certain content of heavy metals. Cadmium is a heavy metal that enters the soil in larger quantities by settling dust from industrial processes /4/. Moderate to heavy contamination by this element at the study site was stated by /5/.

The aim of this study was to evaluate the content of Cd in soils in relation to magnesite (alkaline) type of air pollution, which relatively quickly and drastically changes the structure of the original vegetation as well as soil conditions.

## MATERIALS AND METHODS

We carried out ecological research of the soils in the immission field of exhalation sources Slovmag Lubeník, Central Slovakia. The magnesite plant produces magnesite clinkers and at the same time manufactures refractory products. Raw material is extracted underground at the Lubeník deposit. A substantial part of the deposit body consists of dolomite and metasomatic magnesite, vein magnesite was also found. The village of Lubeník belongs to the subprovince of the Inner Western Carpathians, it is located in the geomorphological unit of the Slovak Rudohorie, in the units of the Revúcka Vrchovina and the Stolické Vrchy. The research of soils was carried out in the segments of forest ecosystems A (200 m, immediate vicinity of magnesite plant), B (500 m from the immission source), C (900 m from the immission source) and D (control plot, 5 km aerial distance from the immission source) during the summer aspect of phytocoenoses in July 2021.

The soil samples were taken from surface humus and three mineral layers. The surface humus samples were taken from the randomly selected mini-plots with an area of 0.1 m<sup>2</sup> in triplicate, and the mineral soil samples from a depth of 0–5 cm, 10–20 cm and 20–30 cm. All the samples were collected from 12 microhabitats categorized on the basis of different levels of air pollution. The samples were air-dried and passed through a sieve with a mesh size of 2 x 2 mm. Values of soil reaction were determined potentiometrically by a digital pH meter Inolab pH 720 (WTW, Weilheim, Germany), the total content of C and N using NCS analyser FLASH 1112 (Hanau, Germany). The soil samples intended for determination of total metals were ground down using a Fritsch planetary micro-mill (<0.001 mm). Concentrations of Cd were determined using an instrument iCE 3000 Series AAS-F (Thermo Scientific, Cambridge, UK).

Data were interpreted using Statistica, Version 9.0, StatSoft (Tulsa, USA). All the values were expressed as arithmetic mean ± standard deviation (SD). The variability of Cd in the soils was assessed based on the results of a one-way ANOVA ( $p \leq 0.05$ ) followed by a Tukey's post hoc test. Differences between means were considered significant when they occurred at  $p < 0.05$ . Principal component analysis PCA was used to identify Cd concentration in the soil layers at different distances from the source of pollution in combination with other variables (C, N, C/N and humus content) of the soil environment.

## RESULTS AND DISCUSSION

The values of the active and exchange reaction of the soils vary from  $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}/\text{pH}_{\text{KCl}}$  8.96/9.09 (A zone) to  $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}/\text{pH}_{\text{KCl}}$  5.46/5.26 (D zone). The development of the pH values has linear course with the highest values in zone A, 200 m from the source of immissions. With the distance from the immission source in the 0–5 cm layers the values (arithmetic mean $\pm$ standard deviation) fluctuated as follows: A ( $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}/\text{pH}_{\text{KCl}}$  8.92 $\pm$ 0.04/9.05 $\pm$ 0.06) > B (7.93 $\pm$ 0.20/7.88 $\pm$ 0.21) > C (7.17 $\pm$ 0.62/6.64 $\pm$ 0.34) > D (6.04 $\pm$ 0.58/5.66 $\pm$ 0.47); in the 10–20 cm layers it was as follows: A (8.43 $\pm$ 0.29/8.39 $\pm$ 0.42) > B (7.34 $\pm$ 0.21/7.59 $\pm$ 0.09) > C (6.76 $\pm$ 0.06/6.73 $\pm$ 0.20) > D (6.18 $\pm$ 0.16/5.87 $\pm$ 0.46); in the 20–30 cm layers as follows: A (8.18 $\pm$ 0.09/7.99 $\pm$ 0.21) > B (7.30 $\pm$ 0.25/7.50 $\pm$ 0.12) > C (6.76 $\pm$ 0.07/6.49 $\pm$ 0.19) > D (6.18 $\pm$ 0.17/5.63 $\pm$ 0.49). In zone A the actual soil reaction can be classified as strongly alkaline, in the layer 20–30 cm as alkaline. In zone B, all soil layers are alkaline. The soils in zone C are classified as neutral. The soils farthest from the pollution source in zone D have a weakly acidic soil reaction.

The content of Cd in the surface humus layer of soils varied from 0.099 $\pm$ 0.02 to 0.328 $\pm$ 0.05 mg kg<sup>-1</sup>, in the 0–5 cm layer from 0.515 $\pm$ 0.08 to 1.45 $\pm$ 0.23 mg kg<sup>-1</sup> and in the lower soil layers (10–30 cm) from 0.107 $\pm$ 0.017 to 0.321 $\pm$ 0.05 mg kg<sup>-1</sup>. The highest values of the Cd contents were recorded in the 0–5 cm soil layer on all the 4 plots from A to the control plot D, which is in accordance with the finding that in the top layers of soils, compared to the mineral layers, there are the maximum concentrations of pollutants and the most significant effect of plant litter on the chemical properties of soils /6, 7/. Overall, the highest value was found in the 0–5 cm layer on the plot C (1.45 $\pm$ 0.23 mg kg<sup>-1</sup>) and the lowest value in the surface humus layer of the plot C (0.099 $\pm$ 0.02 mg kg<sup>-1</sup>). It is interesting to note that in the surface humus layer and the 0–5 cm layer, higher Cd values were recorded on the control plot D compared to the plot A, which is located the closest to the pollution source. This can be explained by the fact that only a thinner layer of subhorizon L was formed on the plot A, whilst on the plot D, compared to the plot A, the fermentation subhorizon (F) was also formed. The Cd concentrations in the upper horizons of Slovak soils vary in the range of 0.1 (detection limit) to 9.2 mg kg<sup>-1</sup> with a characteristic interval of 0.2–0.4 mg kg<sup>-1</sup> and a median value of 0.3 mg kg<sup>-1</sup> /8/. The average value for the world soils is 0.41 mg kg<sup>-1</sup> /9/. In our case, exceeded limit concentrations of Cd (0.515 $\pm$ 0.08–1.45 $\pm$ 0.23 mg kg<sup>-1</sup>) were recorded in the upper soil layer of 0–5 cm on the plots located the closest to the pollution source (A–C), but also on the control plot D. Slightly exceeded limit concentration of Cd in lower soil layer (10–20 cm) was recorded on the plot C with a value of 0.321 $\pm$ 0.05 mg kg<sup>-1</sup>. The Cd content in all the soil layers is shown in Figure 1.

Within the litter subhorizon (L) significant differences ( $p=0.0001$ ) were found between the Cd content on the plots A, C, D (the lowest Cd content) and the plot B (the highest Cd content). Within the 0–5 cm layer significant differences ( $p=0.00079$ ) were found between the Cd content on the plot A (the lowest Cd content) and the plot B, C, D (the highest Cd content). Significantly lower Cd content in the 10–20 cm layer was found on the plots A, B, D when compared to the plot C ( $p=0.00079$ ). No significant differences in the Cd contents were found in the case of the fermentation subhorizon (F) and the 20–30 cm layer, Figure 1.

PCA was used to identify the Cd concentrations in the soil layers at different distances from the source of pollution in combination with other variables (C, N, C/N and humus content) of the soil environment. In Figure 2, five variables (Cd, C, N, C/N and humus content) were reduced to a set of new variables called principal components (PCs). The first PC describes the maximum variation possible in the data, followed by the second PC, which describes as much of the remaining possible variation. PC1 and PC2 explained 60.67 and 21.94% of the variance with eigenvalues of 3.03 and 1.1, respectively, in the soil samples collected at different distances from the pollution source. The correlation coefficient of C, N, and humus content on PC1 was 0.996, 0.968 and 0.996, respectively. Since all the values are

greater than 0.75, this indicates a high influence of the variables on the soil quality. The C/N ratio (-0.605) is negatively correlated with PC2. The correlation coefficient of Cd to PC2 was 0.831. The value is greater than 0.75, which means that the magnesite plant contributes significantly to the contamination of the soil samples with Cd.

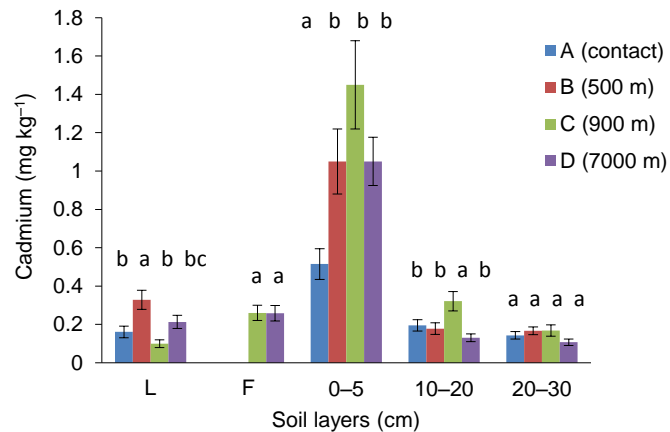


Fig. 1: Cadmium content in the soil layers affected by magnesite immissions.

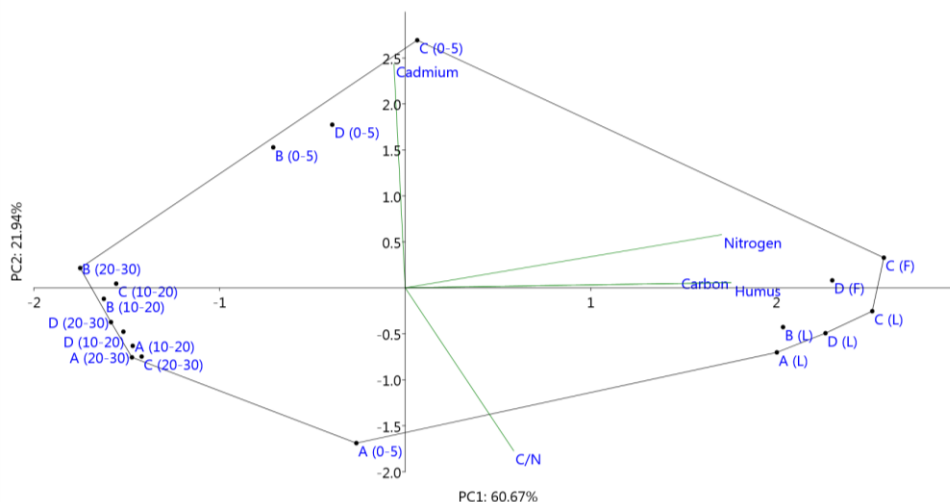


Fig. 2: PCA biplot showing correlation of the first two principal component axes for visually presentation of Cd concentrations in the soil layers (L = necrotic subhorizon, F = fermentation subhorizon, 0–5, 10–20 and 20–30 cm) at different distances from the source of pollution (A = contact zone, B = 500 m, C = 900 m, D = 7000 m) in combination with other soil variables (C, N, C/N and humus content).

The content of C, N, humus and C/N is shown in Figure 3. PCA revealed that the content of Cd in the 0–5 cm layer on plot B ( $1.05 \text{ mg kg}^{-1}$ ), C ( $1.45 \text{ mg kg}^{-1}$ ) and D ( $1.05 \text{ mg kg}^{-1}$ ) is inversely correlated with the C/N ratio, which means that the Cd content in these layers increases significantly and the C/N decreases (21.2, 17.8 and 18.3). However, the 0–5 cm layer on plot A (closest to the pollution source) is characterized by the significantly lowest Cd content ( $0.515 \text{ mg kg}^{-1}$ ) and the highest C/N ratio (55.6) compared to the layers 0–5 cm from B, C and D plots.



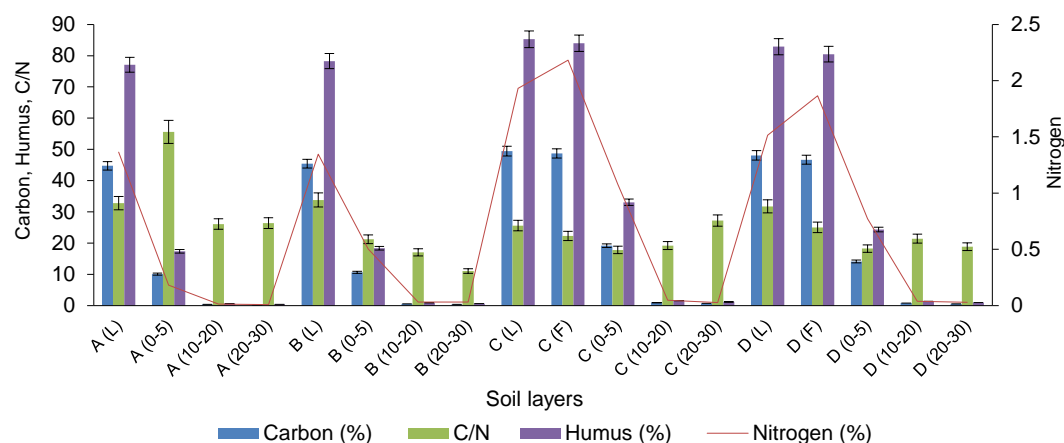


Fig. 3: Content of C, N, humus and C/N in the soil layers (L = necrotic subhorizon, F = fermentation subhorizon, 0–5, 10–20 and 20–30 cm) at different distances from the source of pollution (A = contact zone, B = 500 m, C = 900 m, D = 7000 m).

Significantly higher amounts of C (44.7–49.9%), N (1.35–2.18%) and humus (77.1–85.3%) in surface organic subhorizons L and F on all the plots significantly distinguished these horizons from other soil layers. This means that carbon, nitrogen and humus increased significantly in the surface organic layer. On the contrary, these horizons are characterized by the significantly lowest Cd contents (0.161–0.328 mg kg<sup>-1</sup>). Significantly low Cd contents were also evident in the 10–20 and 20–30 cm soil layers of the study plots (Figure 2).

There are several works that investigated the soils in the dumping ground of the magnesite plant Jelšava-Lubeník and their contamination with heavy metals such as Cr, Mn, Mg and Cd /1, 5/. We can also find works focused on pollution of soils affected by magnesite immissions in the world /10–12/.

## CONCLUSIONS

Our study revealed that the magnesite plant contributes significantly to contamination of the soil samples with Cd, mainly in the 0–5 cm soil layer on all the 4 plots from A to the control plot D. The magnesite plant also influenced the soil pH. It is interesting to note that in the surface humus layer and the 0–5 cm layer, higher Cd values were recorded on the control plot D compared to the A plot, which is located the closest to the pollution source. This can be explained by the fact that only a thinner layer of subhorizon L was formed on the A plot, whilst on the D plot, compared to the A plot, the fermentation subhorizon (F) was also formed. Our study on the Cd accumulation in the soils in the vicinity of the magnesite plant will play a crucial role in our next research focused on metal uptake by plants and their survival in contaminated environments.

## REFERENCES

- /1/ Štofejšová, L., Fazekaš, J., Fazekašová, D.: Analysis of heavy metal content in soil and plants in the dumping ground of magnesite mining factory Jelsava-Lubenik (Slovakia). *Sustainability*, 13, 2021: 4508. <https://doi.org/10.3390/su13084508>
- /2/ Baluchová B., Bačík, P., Fejdi, P., Čaplovičová, M.: Mineralogical research of the mineral dust fallout from the years 2006–2008 in the area of Jelšava (Slovak Republic). *Mineralia Slovaca*, 43, 2011: 327–334.
- /3/ Fazekašová, D., Barančíková, G., Torma, S., Ivanová, M., Manko P.: *Chemické a environmentálne aspekty zložiek životného prostredia a krajiny*. Prešovská univerzita v Prešove, 2014.
- /4/ Procházka S., Macháčková, I., Krehule, J., Šebánek, J. *et al.*: *Fyziologie rostlin*. Academia Praha, 1998.
- /5/ Štofejšová, L.; Fazekaš, J.; Fazekašová, D.: Transfer of Potentially Toxic Elements in the Soil-Plant System in Magnesite Mining and Processing Areas. *Processes*, 10, 2022: 720. <https://doi.org/10.3390/pr10040720>

- /6/ Kuklová M., Kukla J., Gašová K.: Chromium and nickel accumulation by plants along an altitudinal gradient in Western Carpathian secondary spruce stands. *Polish Journal of Environmental Studies*, 25, 2016: 1563–1572.
- /7/ Hagen-Thorn A., Callesen I., Armolaitis K., Nihlgard B.: The impact of six European tree species on the chemistry of mineral topsoil in forest plantations on former agricultural land. *Forest Ecology and Management*, 195, 2004: 373–384.
- /8/ Čurlík, J., Šefčík, P.: *Geochemical Atlas of the Slovak Republic, Part V: Soils*. State Geological Institute of Dionýz Štúr: Bratislava, Slovakia, 2012. Available online: <http://apl.geology.sk/atlaspody>
- /9/ Kabata-Pendias, A.: *Trace Elements in Soils and Plants*, 4th ed. CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2011.
- /10/ Mathiyazhagan, N., Natarajan, D.: Metal extraction competence of plants on waste dumps of magnesite mine, Salem District, South India. *Journal of Mining & Environment*, Vol.4, No.2, 2013: 113-124.
- /11/ Wu, B., Hou, S., Peng, D., Wang, Y., Wang C., Xu F., Xu H.: Response of soil micro-ecology to different levels of cadmium in alkaline soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Volume 166, 2018:116-122.
- /12/ Yang, D., Zengi, D.H., Zhang, J., Li, L.J., Mao, R.: Chemical and microbial properties in contaminated soils around a magnesite mine in Northeast China. *Land Degrad. Develop.*, 23, 2012: 256–262.

### **ACKNOWLEDGEMENTS**

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 and VEGA No. 2/0045/22).

## SACHARIDY A JEJICH VLIV NA FYZIOLOGICKÝ STAV ROSTLIN PŘI VODNÍM STRESU

### *CARBOHYDRATES AND THEIR INFLUENCE ON THE PHYSIOLOGICAL STATE OF PLANTS UNDER WATER STRESS*

Martin Zelený, Kamil Kraus, Šimon Ekl, Helena Hniličková, František Hnilička

Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Katedra botaniky a fyziologie rostlin, Kamýcká 129, 165 00 Praha – Suchbátka, Česká republika, zelenym@af.czu.cz

#### *Summary*

The deficit of water, or its uneven distribution during vegetation, is a serious problem for the future. In the experiment, the effect of foliar application of sucrose and fructose during water stress in spring wheat (*Triticum aestivum*) was monitored on the rate of photosynthesis, stomatal conductance and transpiration. The results showed that there was a significant reduction in the effect of water stress in the variants with applied carbohydrates compared to the stressed variant. Sucrose and fructose have the potential to help plants overcome stressors and subsequently support plant regeneration.

*Key words: carbohydrates, water stress, photosynthesis, water regime*

#### *Souhrn*

Deficit vody, případně její nerovnoměrné rozložení během vegetace je vážný problém pro budoucnost. V pokusu byl sledován efekt foliární aplikace sacharózy a fruktózy při vodním stresu u pšenice jarní (*Triticum aestivum*) na rychlost fotosyntetické asimilace CO<sub>2</sub>, stomatální vodivost a transpiraci. Z výsledků vyplynulo, že u variant s aplikovanými sacharidy došlo k průkaznému snížení vlivu vodního stresu v porovnání se stresovanou variantou. Sacharóza a fruktóza mají potenciál pomoci rostlinám překlenout období působení stresorů a následně podpořit regeneraci rostliny.

*Klíčová slova: sacharidy, vodní stres, fotosyntéza, vodní režim*

## ÚVOD

Voda je životně důležitá pro růst a vývoj rostlin. Zvýšená teplota povede k horší fyziologii rostlin, která je ovlivněna množstvím vláh v půdě. Stres z nedostatku vody, trvalý nebo dočasný, omezuje růst a výkonnost pěstovaných rostlin více než jakékoli jiné faktory životního prostředí. Následné výnosy plodin jsou v mnoha částech omezeny právě nedostatkem vody, či nerovnoměrnými srážkami. Celosvětově pak trpí přibližně 1/3 potenciální orné půdy nedostatečným zásobováním vodou /1/.

Mezi navrhované strategie, jak těmto výzvám čelit, patří lepší agronomický management, či vyšlechtění nových odrůd plodin přizpůsobených stresovým podmínkám. Zmíněnou problematikou vlivu vodního stresu na fyziologii rostlin se zabývá také tato studie, která spatřuje možné východisko pro rostliny zasažené vodním stresem v aplikaci sacharidů.

## MATERIÁL A METODY

Ve skleníkovém nádobovém pokusu byl sledován vliv vodního deficitu a souběžný vliv exogenní aplikace roztoku sacharidů u pšenice jarní (*Triticum aestivum*). Pokus byl řešen ve čtyřech variantách: 1. varianta s aplikací 5% roztoku sacharózy, 2. varianta s aplikací 5% roztoku fruktózy, 3. varianta bez aplikace sacharidu a závlahy a poslední 4. varianta bez aplikace sacharidu se závlahou.

U rostlin byly sledovány vybrané fyziologické parametry. Rychlost asimilace CO<sub>2</sub> (A), rychlost transpirace E a stomatální vodivost (gs) byly měřeny pomocí LCpro+ (ADC BioScientific) vždy od 9:00 do 11:00, ve třech opakováních po dobu 15 min. Při standardních podmínkách uvnitř měřicí komory, teplota 23 °C a ozáření 650 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> fotosynteticky aktivního záření (PAR).

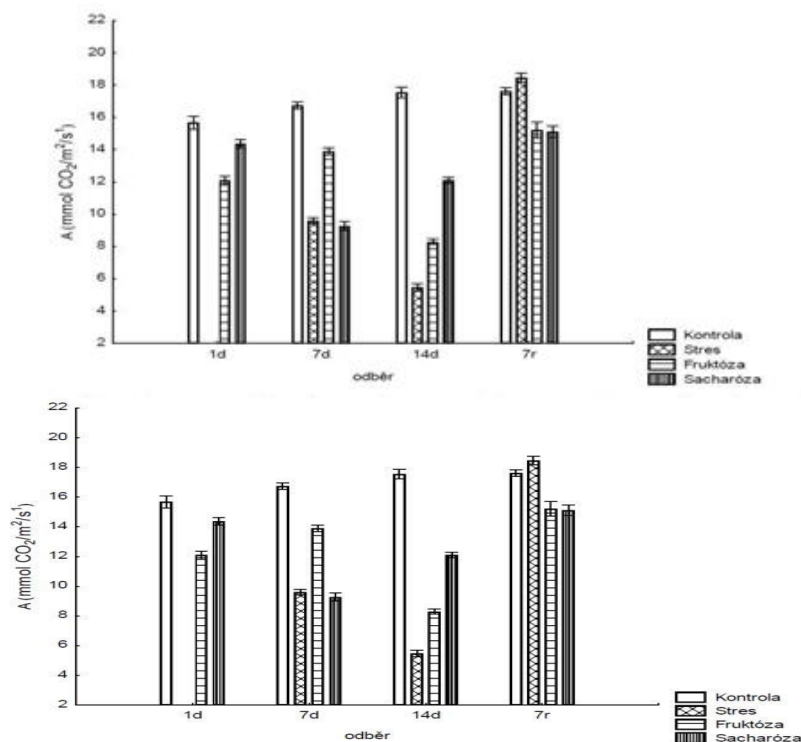
Vodní potenciál (ψ<sub>w</sub>; MPa) byl stanoven z mraženého rostlinného materiálu pomocí PSYPRO (Wescor). Měření těchto parametrů probíhalo u pěti vzorků rostlin po třech opakováních.

Výsledky byly následně statisticky zpracovány pomocí dvoufaktorové analýzy rozptylu v programu STATISTICA 12. Pro podrobnější vyhodnocení rozdílných průměrů byl použit LSD test na hladině významnosti α = 0,05.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

### Rychlost fotosyntetické asimilace a transpirace

Získané výsledky ukazují, že k nejméně výraznějšímu snížení fotosyntézy u stresované varianty došlo při dvoutýdenním stresu, viz Graf 1. Ta dosahovala o 69 % nižší rychlost fotosyntézy v porovnání s kontrolní variantou. Při stejných podmínkách je třeba zmínit menší vliv na fotosyntézu u rostlin s aplikací sacharózy.

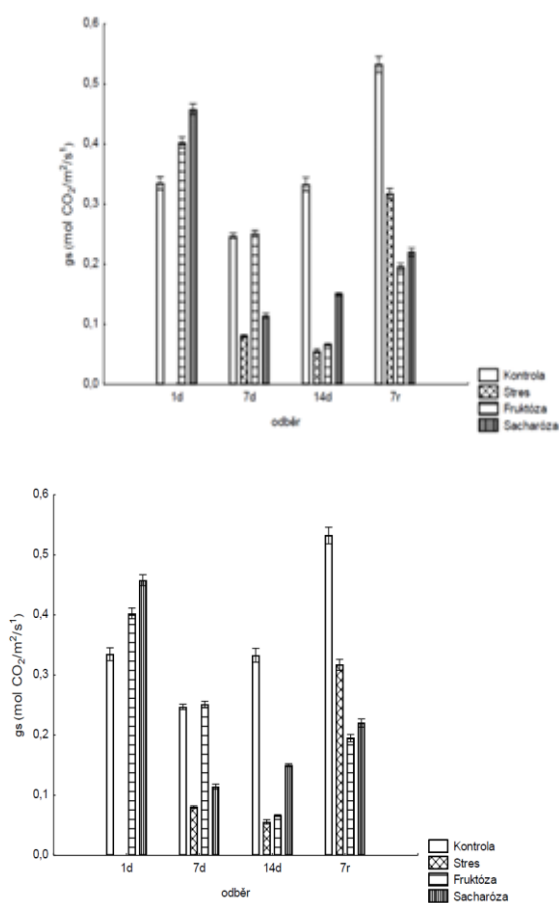


Graf 1. znázorňuje rychlost fotosyntézy při vodním stresu. (A) = rychlost fotosyntézy. 1d - jednodenní stres. 7d - týdenní stres. 14d - dvoutýdenní stres. 7r - hodnoty po týdenní rehydrataci.  $F(8, 2039)=103,31$ ,  $p=0,0000$

Varianta s aplikací sacharózy způsobila při dlouhodobých stresových podmínkách dokonce zvýšení fotosyntézy. Celková rychlost fotosyntetické asimilace u sacharózy při dvoutýdenním vodním stresu dosahovala oproti kontrolní zavlažované variantě 31 %. U varianty s aplikací fruktózy byla rychlost fotosyntézy při dvoutýdenním stresu nižší o 47 %.

Patrné je rozdílné působení fruktózy a sacharózy v závislosti na délce trvání vodního stresu, kdy fruktóza dosahovala vyšší rychlosti fotosyntézy při týdenním stresu. Sacharóza pro změnu nabyla vyšší fotosyntetické rychlosti při následném dvoutýdenním stresu.

Tento vliv může být dán obecnou nekonzistentní účinností sacharidů. V případě sacharózy se rychlost penetrace stanovená pro rostlinné druhy pohybovala mezi 1 % pro astomatální kutikulu a 4 % pro kutikulu stomatální /2/.



Graf 2. popisuje stomatální vodivost při vodním stresu. (gs) = vodivost průduchů. 1d - jednodenní stres. 7d - týdenní stres. 14d - dvoutýdenní stres. 7r - hodnoty po týdenní rehydrataci.  $F(8, 2039)=189,12, p=0,0000$

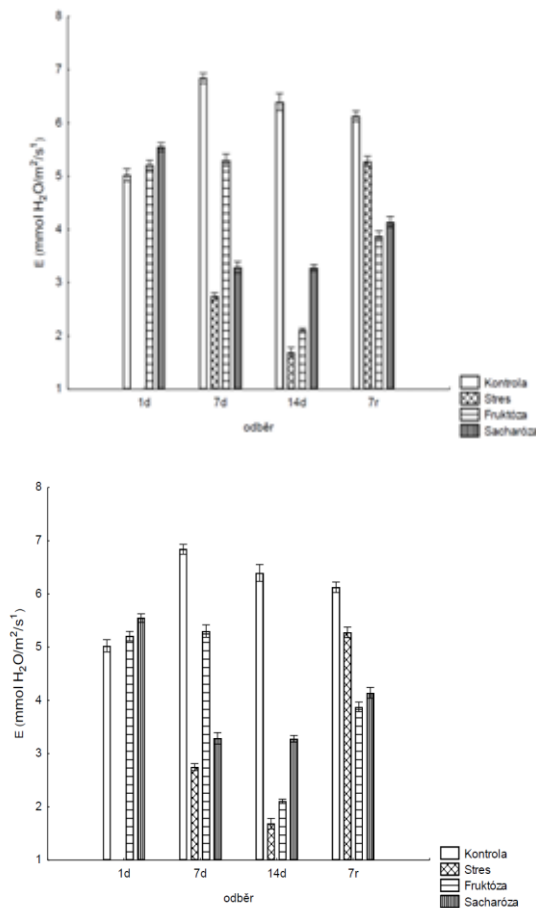
Při rehydrataci byl však mezi sacharidovými variantami jen mírný rozdíl. Naopak svůj metabolismus dokázala pomocí rychlosti fotosyntézy nastartovat stresovaná varianta, kdy svými hodnotami přesáhla i zavlažovanou kontrolní variantu. To potvrzuje také /3/, kteří uvádí, že již po 48 hodinách rehydratace dosáhla fotosyntéza původních hodnot.

Pokles stomatální vodivosti při vodním stresu potvrdili také /4/, který zmiňuje téměř neměnné hodnoty po prvním dni vodního stresu. Tendence k poklesu stomatální vodivosti popisuje až po druhém dni bez závlahy. Nicméně v této studii stomatální vodivost s postupným rostoucím stresem vykazovala spíše znaky postupně klesající, a to především u varianty s fruktózou, viz Graf 2. Stomatální vodivost u varianty fruktóza zaznamenala pokles z průměrné hodnoty jednodenního odběru  $0,4 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  na hodnotu  $0,25 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  při

stresu týdenním. Jedná se o 37,5% pokles. Následný dvoutýdenní stres snížil st. vodivost o dalších 76 % oproti týdennímu stresu na  $0,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .

U varianty s aplikací sacharózy po týdenním stresu klesla hodnota stomatální vodivosti z  $0,45 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  na  $0,114 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  u dvoutýdenního stresu. Jedná se o 74% pokles. Nicméně mezi týdenním a dvoutýdenním stresem u sacharózy došlo nejen k stabilizaci, ale dokonce také k navýšení stomatální vodivosti na  $0,150 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  tj. nárůst o 31 %.

Zajímavostí je, že v této studii nebylo uzavření průduchů významně ovlivněno mírným stresem, což nevedlo k žádnému zjevnému snížení fotosyntézy a transpirace, viz Graf 3.

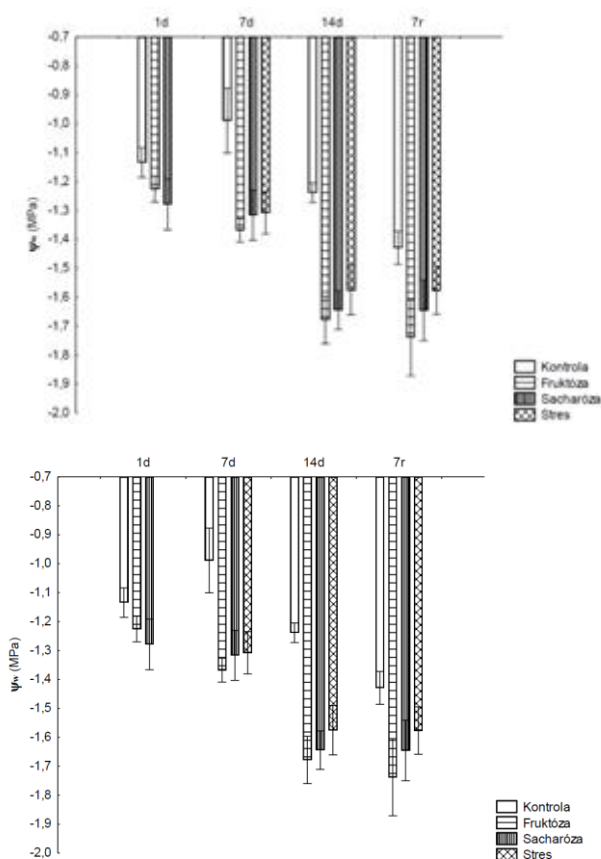


Graf 3. Znárodně rychlost transpirace při vodním stresu. E = rychlost transpirace. 1d - jednodenní stres. 7d - týdenní stres. 14d - dvoutýdenní stres. 7r - hodnoty po týdenní rehydrataci. F(8, 2039)=158,98, p=0,0000

V návaznosti na snižující se stomatální vodivost ( $g_s$ ) se snižuje také transpirace rostlin (E). Středně stresované rostliny dosahovaly dle /5/ maximální transpirace při stomatální vodivosti  $0,250 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Tato studie je se zmíněnou prací v souladu. Avšak zmíněný výzkum byl proveden na miličce habešské. Stomatální vodivost u fruktózy při týdenním stresu dosahovala právě hodnoty  $0,251 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .

Nabízí se tedy srovnání těchto dat stomatální vodivosti u varianty s aplikací fruktózy s jejími hodnotami transpirace při týdenním stresu. Patrná je zde zvýšená rychlost transpirace oproti zbylým variantám. Jedná se o výrazný rozdíl, který oproti variantě sacharóza činí 61 %. V průběhu dvoutýdenního stresového období došlo ke změně situace. Tentokrát vyšší stomatální vodivosti dosahovala opět varianta s aplikací sacharózy nad variantou s fruktózou. Rozdíl činil 55 % a souvislost lze najít u varianty s aplikací sacharózy při dvoutýdenním stresu, u které se hodnota stomatální vodivosti zvýšila na  $0,150 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .

Potvrdilo se tvrzení /5/, že u stresovaných rostlin se počáteční transpirace při mírném stresu zvýší, aby následně prudce klesla pod kontrolní variantu.



Graf 4. zaznamenal hodnoty vodního potenciálu při vodním stresu.  $\Psi_w$  = vodní potenciál. MPa = megapascal, jednotka tlaku. 1d - jednodenní stres. 7d - týdenní stres. 14d - dvoutýdenní stres. 7r - hodnoty po týdenní dehydrataci.  $F(8, 120) = 86895, p = 0.000$

## LITERATURA

- /1/ Akinci S, Lösel DM. 2012. Plant water – stress response mechanisms. In I. M. M. Rahman, & H. Hasegawa (Eds.), Water stress. IntechOpen. Available from <https://www.intechopen.com/chapters/26970> (accessed April 2022)
- /2/ Trouvelot S, Héloir MC, Poinssot B, Gauthier A, Paris F, Guillier CH, Combiér M, Trdá L, Daire X, Adrian M. 2014. Carbohydrates in plant immunity and plant protection: roles and potential application as foliar sprays. *Front. Plant. Sci.* 5:592. Available from <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2014.00592/full> (accessed March 2022)
- /3/ Wenrao L, Suiqi Z, Lun S. 2007. Responsibility of non-stomatal limitations for the reduction of photosynthesis and antioxidant enzyme characteristics in alfalfa (*Megaco sativa L.*) seedlings to water stress and rehydration. *Frontiers of Agriculture in China*. Available from <https://link.springer.com/article/10.1007/s11703-007-0044-5> (accessed March 2022)
- /4/ Miyashita K, Tanakamaru S, Maitani T, Kimura K. 2005. Recovery responses of photosynthesis, transpiration, and stomatal conductance in kidney bean following drought stress. *Environmental and Experimental Botany*. Available from <https://www.sciencedirect.com/science> (accessed March 2022)
- /5/ Mengistu DK. 2009. The influence of soil water deficit imposed during various development phases on physiological processes of Tef (*Eragrostis tef*). *Agriculture, Ecosystems & Environment*. Volume 132. Issue 3. Available from <https://www.sciencedirect.com/science/article/> (accessed March 2022)

/6/ Alghora A, Yazar A. 2019. Evaluation of crop water stress index and leaf water potential for deficit irrigation management of sprinkler - irrigated wheat. *Irrig Sci* 37. Available from <https://link.springer.com/article/10.1007/s00271-018-0603-y> (accessed March 2022)

**PODĚKOVÁNÍ**

Tato práce byla financována S grantem MŠMT ČR a grantovým projektem NAZV č. QK 1910343.



## VLIV METEOROLOGICKÝCH PODMÍNEK NA HOSPODÁŘSKÉ VLASTNOSTI VYBRANÝCH GENOTYPŮ SLIVONÍ V LETECH 2020- 2022

### THE INFLUENCE OF METEOROLOGICAL CONDITIONS ON THE CHARACTERISTICS OF SELECTED PLUM GENOTYPES IN 2020-2022

Lukáš Maryška<sup>1</sup>, Pavol Suran<sup>1</sup>, Lubor Zelený<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Výzkumný šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy, Holovousy 129, 508 01 Holovousy

#### *Summary*

The breeding program at the Research and Breeding Institute of Pomology in Holovousy is focused on breeding four fruit species. The portfolio includes newly registered varieties of cherry, apple, plum and apricot. This study evaluates the impact of weather conditions in 2020 - 2022 on selected plum varieties - Amátka, Dwarf, Hololepa, Kamir, Samera, Simona and Stáňa. In Holovousy there was an increase in the average annual temperature compared to normal in all monitored years. Different values of flower and fruit set were recorded in each year. The greatest effect of weather was seen in fruit quality and fruit set. In 2020, during the period of higher rainfall and more favourable temperature conditions, there was a significant increase in the sugar content in the fruit of the Kamir and Stáňa varieties. In contrast, the Samera and Simona varieties showed an increase in sugar content in 2022, where rainfall during ripening was not as high as in 2020.

*Key words: climate change, rainfall, plum trees*

#### *Souhrn*

Šlechtitelský program ve Výzkumném a šlechtitelském ústavu ovocnářském v Holovousích je zaměřený na šlechtění čtyř ovocných druhů. V portfoliu se nacházejí nově registrované odrůdy třešní, jabloní, slivoní nebo meruněk. Tato práce je zaměřena na zhodnocení vlivu průběhu počasí v letech 2020–2022 na vybrané odrůdy slivoní – Amátka, Dwarf, Hololepa, Kamir, Samera, Simona a Stáňa. V Holovousích došlo k nárůstu průměrné roční teploty oproti normálu ve všech sledovaných letech. V každém roce byla zaznamenána rozdílná hodnota násady květů i plodů. Největší vliv počasí byl patrný v kvalitě plodů a jejich cukernatosti. V období větších srážek a příznivějších teplotních podmínek v roce 2020 došlo k výraznému navýšení obsahu cukru v plodech u odrůd Kamir a Stáňa. U odrůd Samera a Simona naopak došlo k navýšení cukernatosti plodů v roce 2022, kde srážek v průběhu dozrávání plodů nebylo tolik jako v roce 2020.

*Klíčová slova: klimatické změny, srážky, slivoně*

## ÚVOD

Šlechtitelský program v Holovousích má mnohaletou tradici a jeho začátek sahá až do sedmdesátých let. Holovousy se nacházejí blízko Hořic, v Královéhradeckém kraji. Lokalita Holovous se nachází na pomezí východočeské a severočeské pánve, tedy v úpatí Krkonoš. Nezanedbatelné ovlivnění je i Orlickými horami. Průměrné teploty v lednu každého roku byly vyšší oproti dlouhodobému teplotnímu normálu 1981-2010 (pro rok 2020) a 1991-2020 (pro roky 2021 a 2022), ale nepřekračovaly 1 °C. Jedním z klíčových procesů pro správný růst

rostlin je dormance /1/. Jedná se o mechanismus, kterým rostliny přežívají chladnější teploty. Slivoně vyžadují ke správnému růstu přibližně 1000-2000 hodin s teplotami do 12 °C /2/. Je patrný zvyšující se trend teplot o jednotky stupňů po celý rok. Nejvíce viditelné je to u zvyšující se teploty na jaře a na podzim, čímž se prodlužuje vegetační sezóna. Srážky v Holovousích se průměrně pohybují v hodnotách mezi 600-800 mm (data dohledatelná na stránkách <http://data.ala1.com/>, meteostanice U Vojáka, Holovousy). Oproti dlouhodobému srážkovému normálu byl úhrn srážek obdobný pouze v roce 2020, zatímco v letech 2021 a 2022 byl nižší. Nejvíce srážek bylo v červnu s průměrnou hodnotou ze všech tří let 105 mm, zatímco v červenci, srpnu a září se úhrn srážek pohyboval v průměru o 42 mm méně než v červnu. Šlechtitelský program Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského v Holovousích je zaměřen primárně na třešně, jablka, meruňky a slivoně. Cílem práce bylo zhodnotit vliv počasí na slivoně v letech 2020-2022. V této studii byly hodnoceny fenologické a senzorické charakteristiky vybraných odrůd a diskutovány pravděpodobné dopady počasí na výnos a kvalitu plodů.

## MATERIÁL A METODIKA

Pro hodnocení bylo vybráno 7 odrůd. Od každé odrůdy byly sledovány alespoň 3 stromy. V tabulce 1–3 jsou obecné informace, charakteristiky stromů a plodů uvedených odrůd slivoní. Všechny stromy se nacházely ve výsadbách VŠÚO v nadmořské výšce 290 m n. m., kde je půdním typem hnědozem a rostly bez doplňkové závlahy.

Tabulka 1: Popis vybraných odrůd slivoní

	<b>Matka</b>	<b>Otec</b>	<b>Podnož</b>	<b>Rok výsadby</b>
<b>Amátka</b>	Čačanská Lepotica	Gabrovská	St. Julien	2013 a 2014
<b>Dwarf</b>	Ašatan	Čačanská Najbolja	St. Julien	2008 a 2011
<b>Hololep a</b>	Čačanská Lepotica	v.s.*	St. Julien	2018
<b>Kamir</b>	Sentjabrskaja	Čačanská Najbolja	St. Julien	2011 a 2014
<b>Samera</b>	Stanley	Čačanská Lepotica	St. Julien	2014
<b>Simona</b>	Čačanská Lepotica	v.s.*	St. Julien	2014
<b>Stáňa</b>	Stanley	Gabrovská	St. Julien	2008 a 2013

\*v.s. – volné samosprašení

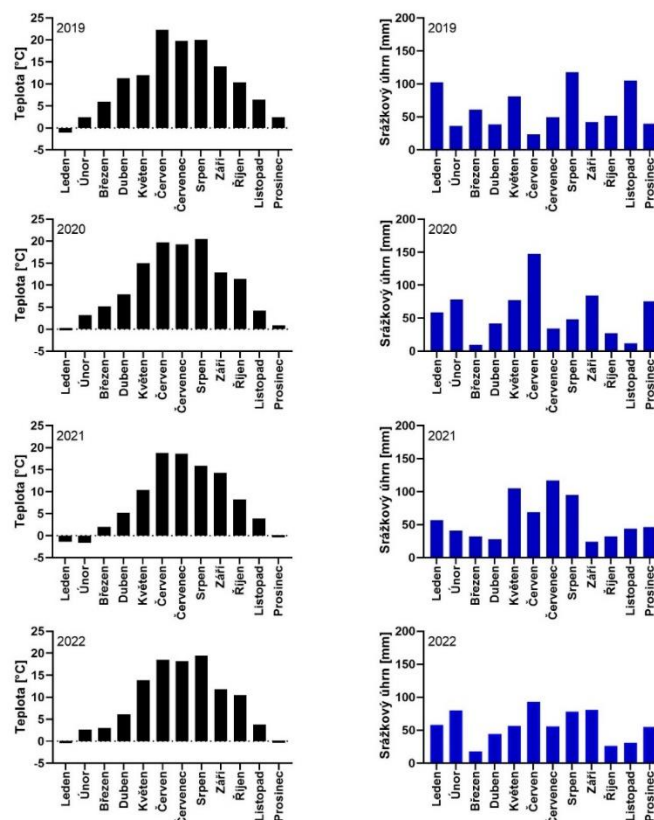
Hodnocení stromů zahrnuje sledování růstových parametrů (násada květů, násada plodů a odhad sklizně) a senzorických vlastností plodů (celková chuť, refrakce). Pro sledování násady květů, plodů a celkové chuti se hodnotící škála pohybuje v rozmezí 1-9, kde 9 je hodnota nevyšší skóre. Odhad sklizně byl hodnocen pro každý strom individuálně a následně spočítána průměrná hodnota v kg na jeden strom každého genotypu. Pokud se v daném roce vzorek nehodnotil, byla přiřazena hodnota NA. Refrakce plodů byla měřena na stolním refraktometru (Hanna instruments, CZ). Výsledná cukernatost byla vyjádřena v °Bx.

Tabulka 2: Charakteristika vybraných odrůd

	Doba kvetení	Doba dozrávání plodů	Vzrůst koruny	Hustota koruny
<b>Amátka</b>	Velmi raná	Velmi raná	Střední	Střední
<b>Dwarf</b>	Středně raná	Velmi raná	Zakrslý	Střední
<b>Hololepa</b>	Středně raná	Velmi pozdní	Střední	Střední
<b>Kamir</b>	Středně raná	Pozdní	Střední	Hustá
<b>Samera</b>	Pozdní	Středně raná	Silný	Řídká
<b>Simona</b>	Pozdní	Raná	Silný	Hustá
<b>Stáňa</b>	Velmi raná	Středně raná	Střední	Řídká

Tabulka 3: Charakteristika plodů vybraných slivoní

	Velikost plodu	Tvar plodu	Zařazení
<b>Amátka</b>	Středně velké až velké	Elipsovité	Pološvestka
<b>Dwarf</b>	Středně velké	Vejčité	Pološvestka
<b>Hololepa</b>	Velké	Protáhlý	Pološvestka
<b>Kamir</b>	Velmi velké	Oválný	Pološvestka
<b>Samera</b>	Středně velké	Elipsovité	Pološvestka
<b>Simona</b>	Malé	Elipsovité	Pološvestka
<b>Stáňa</b>	Malé	Elipsovité	Pološvestka



Graf 1: Teploty vzduchu a úhrny srážek v letech 2019-2022 v Královéhradeckém kraji

Data o průběhu počasí byla z meteostanice U Vojáka, Holovousy a jsou dostupné online na <http://data.alal.com/>. Sledované období bylo 2020-2022, ale jelikož je zakládání a diferenciacie pupenů závislé na průběhu počasí předchozího roku, bylo přihlédnuto i k roku 2019. Na grafu 1 je vidět průběh teplot a srážek v Holovousích v letech 2019-2022.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

V průběhu let 2020–2022 byl u vybraných odrůd slivoní monitorován a hodnocen dopad počasí. Dále na grafu 1 je znázorněn průběh srážek a je vidět jakým způsobem v letech 2019-2022 došlo k jejich rozložení v čase. Jelikož o násadě květů pro následující rok se rozhoduje už v první půlce července předchozího roku, byl na grafu 1 ukázán i průběh roku 2019 /2/. Jedná se o čas, kdy dochází k diferenciaci buněk, které dávají základ budoucím listům a květům.

Rok 2020 byl rok, kdy vybrané odrůdy měly průměrnou násadu květů (Tabulka 4). Tento rok byl doprovázen rovnoměrnějším rozložením srážek do celého roku a pomalejším nárůstem teplot než v následujících letech. Z hodnot v tabulce 4 si můžeme všimnout, že nedocházelo k samovolnému opadu květů, případně opadu nezralých plodů, který by se projevil na velkém rozdílu hodnot násady plodů a násadě květů. To je pravděpodobně způsobeno dostatečnou závlahou a příznivou teplotou v době vývoje plodů. I přes to byla výsledná násada plodů podprůměrná. Největší propad mezi násadou květů a plodů byl zaznamenán u odrůdy Dwarf, zatímco u odrůdy Stáňa k propadu nedošlo.

V roce 2021 byl průběh roku rozdílný a větší množství srážek bylo zaznamenán v měsících květen, červenec a srpen. Vybrané odrůdy měly tento rok podprůměrnou násadu květů (Tabulka 5). Pravděpodobně z důvodu nedostatečného množství srážek během léta došlo k významnému propadu mezi násadami květů a plodů u odrůd Dwarf, Samera a Simona. U odrůdy Stáňa pravděpodobně došlo k vysílení v roce 2020 a tak násada květů ani plodů nebyla vysoká. Je popsáno, že některé odrůdy slivoní mají sklony ke střídavé plodnosti. Kolísavost plodnosti slivoní byla ukázána ve studii vlivu podnoží na plodnost u odrůd Stanley a Čačanská Lepotica /3/. Studie monitorovala plodnost těchto dvou odrůd v letech 1992 - 2012 v závislosti na zvolené podnoží. Z výsledků je patrné, že obě odrůdy na podnoží St. Julien vykazují periody s nízkou mírou plodnosti. Tento trend byl také sledován u vybraných odrůd v této studii.

V roce 2022 byly srážky rozloženy do celého roku. Největší úhrn srážek byl zaznamenán v červnu, kdy nejčastěji dochází k opadu nadbytečného množství plodů. Násada květů byla průměrná (Tabulka 6). Co se týče násady plodů, tak většina stromů se držela na průměrných hodnotách. U některých odrůd se opět projevila střídavá plodnost. Příkladem toho je odrůda Amátka, která v roce 2021 dosahovala vyššího výnosu (10 kg), ale v roce 2022 se pohybovala průměrně 3 kg. Výrazný pokles výnosu byl také u odrůdy Kamir, kde průměrný výnos byl o 6 kg menší.

Ve studii /4/ bylo zjištěno, že násada plodů třešní je závislá na sumě teplot vzduchu z předchozího roku od března do první půlky července předchozího roku. U slivoní ale nebyl pozorován stejný trend. Suma teplot v roce 2021 byla nejnižší ze sledovaných let. Suma teplot v tomto roce byla 1902,1 °C, zatímco v roce 2020 byla 1983,5 °C. Naopak nejvyšší průměrná násada plodů byla zaznamenána v roce 2022. Některé z vybraných odrůd byly hodnoceny v letech 2008-2012 ve studii /5/. U odrůdy Kamir docházelo k markantnímu rozdílu ve výnosu mezi lety 2008-2012, zatímco mezi lety 2020-2022 můžeme vidět malý rozdíl. Simona i Samera v letech 2008-2012 vykazovaly průměrnou plodnost ve všech sledovaných letech a rozdíl meziročně nebyl výrazný, zatímco v letech 2020-2022 dochází ke střídavé plodnosti a výnosy se meziročně výrazně liší. Podle dat Českého hydrometeorologického ústavu v letech 2007-2012 vyplývá, že nejvíce srážek bylo právě v červenci. Oproti dlouhodobému srážkovému normálu v tomto období spadlo v červenci o 17 % více srážek,

zatímco v letech 2019-2022 to bylo o 32 % méně srážek, což může být jeden z důvodů proč se násady květů a plodů ve sledovaných období liší.

Počasí dále může ovlivňovat i senzorické vlastnosti plodů a cukernatost. Ve sledovaném období byly plody vybraných odrůd hodnoceny pouze v letech 2020 a 2022. Celková chuť i kvalita plodů byla ohodnocena nadprůměrnými hodnotami. V těchto letech ale došlo k rozdílu v získaných hodnotách refrakce u některých odrůd. V roce 2020 byla průměrná hodnota refrakce u plodů odrůdy Kamir 20,2 °Bx, zatímco v roce 2022 byl zaznamenán pokles průměrně o 2,6 °Bx. Podobně plody odrůdy Stáňa měly hodnoty refrakce 16 °Bx v roce 2020, zatímco v roce hodnoty dosahovaly průměrně o 1,6 °Bx méně. Tento pokles byl pravděpodobně zapříčiněn úbytkem srážek v průběhu dozrávání plodů v roce 2022 (viz graf 1). U odrůd Kamir a Stáňa je tedy pravděpodobně důležitý faktor srážek, zatímco ostatní odrůdy nejsou tak citlivé. Rozdílnost v cukernatosti odrůdy Stanley v závislosti na množství srážek ukázal ve své studii /6/. Stromy byly rozděleny do tří kategorií, kde každá měla přizpůsobený vodní režim. Kvalita plodů a jejich cukernatost se lišila v závislosti na dostupném množství vody. Výstupy této studie potvrzují hypotézu, že rozdíl mezi námi sledovanými odrůdami je způsobem množstvím srážek v roce, jelikož stromy ve studii /6/, které měly přístup k největšímu množství vody, produkovali kvalitnější plody s vyšším obsahem cukru.

Tabulka 4: Hodnocení vybraných odrůd v roce 2020

2020	Násada květů	Násada plodů	Hmotnost sklizně /kg/	Celková chuť	Refrakce
<b>Amátka</b>	5	3,5	4,5	6	14,5
<b>Dwarf</b>	5,5	2	1	6	13,1
<b>Kamir</b>	4	3	3,5	7	20,2
<b>Hololepa</b>	4	2	1,25	NA	NA
<b>Samera</b>	4	3	3	6	19,4
<b>Simona</b>	5	3	3	7	16,7
<b>Stáňa</b>	6,5	6	12	6	16,0

Tabulka 5: Hodnocení vybraných odrůd v roce 2021

2021	Násada květů	Násada plodů	Hmotnost sklizně /kg/	Celková chuť	Refrakce
<b>Amátka</b>	6	5	10	NA	NA
<b>Dwarf</b>	6	1,5	0	NA	NA
<b>Kamir</b>	4	5	10	NA	NA
<b>Hololepa</b>				NA	NA
<b>a</b>	0	0	0		
<b>Samera</b>	4	1	1	NA	NA
<b>Simona</b>	4	0	0	NA	NA
<b>Stáňa</b>	2,5	1,5	5	NA	NA

Tabulka 6: Hodnocení vybraných odrůd v roce 2022

2022	Násada květů	Násada plodů	Hmotnost sklizně /kg/	Celková chut'	Refrakce
<b>Amátka</b>	3	3,5	3	6	14
<b>Dwarf</b>	4	3	1,5	6	14,3
<b>Kamir</b>	3	5	8	7	17,6
<b>Hololep a</b>	NA	NA	NA	NA	NA
<b>Samera</b>	4	5	7	6	21,8
<b>Simona</b>	7	5	7	7	19,8
<b>Stáňa</b>	3	5	7	6	14,4

## ZÁVĚR

Tato práce se věnuje zhodnocení vlivu teploty a úhrnu srážek na produkční vlastnosti vybraných genotypů slivoní. Byla zaznamenána střídavá násada plodů u odrůd Amátka, Kamir, Samera a Simona. Důležitý parametr, který odráží vliv počasí, je výrazný rozdíl mezi násadou květů a násadou plodů. Násada květů byla všechny tři sledované roky u některých odrůd podprůměrná a u jiných nadprůměrná. Největší rozdíly ve sledovaných parametrech oproti ostatním rokům můžeme vidět v roce 2021, ve kterém byl zároveň nejmenší roční úhrn srážek oproti roku 2020 a 2022. Vliv počasí nejvýrazněji ovlivňoval senzorické vlastnosti plodů. V roce 2020, kde bylo více srážek, které byly zároveň rozprostřeny do celého roku, dosahovaly plody lepších senzorických výsledků než v roce 2022. Odrazilo se to na celkové kvalitě a cukernatosti plodů. Klimatické změny mají negativní dopad na výnosnost sadů. V zájmu zachování udržitelnosti je potřeba se takovými podmínkám přizpůsobit a hledat odolné odrůdy slivoní. Z tohoto hlediska jsou nejperspektivnější odrůdy Amátka a Kamir, které vykazovaly pravidelnou sklizeň a senzorické vlastnosti bez výraznějších výkyvů.

## LITERATURA

- /1/ Amasino R. 2004. Vernalization, competence, and the epigenetic memory of Winter. *Plant Cell*, 16: 2553-2559.
- /2/ Srinivasan C, Dardick C, Callahan A, Scorza R. 2012. Plum (*Prunus domestica*) Trees Transformed with Poplar FT1 Result in Altered Architecture, Dormancy Requirement, and Continuous Flowering. *PLoS One*, 7.
- /3/ Meszaros M, Kosina J, Lanar L, Namestek J. 2015. Long-term evaluation of growth and yield of Stanley and Cacanska leptica plum cultivars on selected rootstocks. *Horticultural Science*, 42: 22-28.
- /4/ Suran, P. a P. Fiala. 2019. Zhodnocení proměnlivosti podmínek prostředí na produkční vlastnosti jádřovin. *Vědecké práce ovocnářské*, 26: 161-175.
- /5/ Blazek J, Secova M. 2013. Main characteristics of new plum cultivars bred at Holovousy. *Horticultural Science*, 40: 149-153.
- /6/ Razouk R, Ibijbijen J, Kajji A, Karrou M. 2013. Response of Peach, Plum and Almond to Water Restrictions Applied during Slowdown Periods of Fruit Growth. *American Journal of Plant Sciences*, 4: 561-570.

## Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory výzkumného projektu QK21010200.

## **KRYOKONZERVÁCIA RASTLINNEJ ZÁRODOČNEJ PLAZMY: SPÓRY, GAMETOFYTY A PEĽOVÉ ZRNÁ**

### ***CRYOPRESERVATION OF PLANT GERMPLASM: SPORES, GAMETOPHYTES AND POLLEN (Review)***

Terezia Salaj<sup>1</sup>, Bart Panis<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Plant Science and Biodiversity Centre SAS, Institute of Plant Genetics and Biotechnology,  
Akademická 2, 950 07 Nitra, Slovak Republic

<sup>2</sup> Bioversity International, Willem de Croylaan 42, 3001 Leuven, Belgium

#### ***Summary***

Cryopreservation is a biotechnological tool applied for storage of many plant species using different explants as seeds, shoot tips, unorganized callus or embryogenic cultures. Storage of plant material in liquid nitrogen (LN, temperature -196 °C) resulted in successful plant regeneration. Spores, megagametophytes and pollen grains were also subjected to cryopreservation. Some aspects of their cryopreservation procedure are summarized in presented review.

*Key words: pollen, spores, gametophytes, cryopreservation*

#### ***Súhrn***

Kryokonzervácia je biotechnologická technika na dlhodobé udržiavanie rastlinného (genetického) materiálu a bola aplikovaná pre mnohé rastlinné druhy použitím explantátov ako semená, rastové vrcholy, neorganizované kalusové kultúry alebo embryogénne kultúry. Udržiavanie rastlinného materiálu v tekutom dusíku (-196 °C) bola úspešná a po kryogénnej aplikácii dochádzalo k regenerácii rastlín. Rastlinné spóry, megagametofyty a peľové zrná boli tiež úspešne kryokonzervované pri mnohých druhoch. V prehľade uvádzame niektoré aspekty kryokonzervácie týchto špecifických objektov.

*Kľúčová slová: pyl, spóry, gametofyt, kryokonzervácia*

### **PLANT CRYOPRESERVATION**

Cryopreservation is storage of plant germplasm at ultrafreeze temperatures at -196 °C in liquid nitrogen (LN). In recent years different cryopreservation techniques have been developed and the method became an efficient and safe tool for long-term storage of plant germplasm. Plants belonging to various species were cryopreserved using explants as shoot tips, unorganised callus cultures, embryogenic tissues, seeds, spores, megagametophytes, sporophytes pollen, etc.

#### **Cryopreservation of spores**

Spore producing plants including ferns, liverworts, hornworts, mosses are important for their decorative habitat /1/, chemical compound production /2/, in contaminated soil and groundwater and other environmental components remediation /3/ as well as contribute to richness of biodiversity /4/ Spores produced by these plants are reproduction units, usually haploid. Germination of the spores gives rise to new organism through metagenesis. For cryopreservation the classification of spores is important. Sundue et al. /5/ classified spores as: *Green spores* - the matures spores are characterized by presence of chloroplasts containing

chlorophyll and high metabolic rate, are sensitive to desiccation, are short lived (surviving for only few weeks or up to year under ambient conditions).

*Non-green spores* - contain non-chlorophyllous plastids.

„*Cryptochlorophyllous spores*“ - contain chlorophyll but do not appear green (sophisticated techniques are necessary to detect chlorophyll).

Several important steps are necessary for successful spore cryopreservation as follows:

**Collection** of plant material and spore desiccation - it is recommended to collect fronds/leaves containing mature spores (indicated by brown color of sori). The fronds/leaves are placed on glassy white paper sheets or envelopes, kept in dry room (ambient temperature 25 °C, relative humidity 68%) Under these conditions the spores are released approximately after 7 days. The dehisced spores are cleaned by through sieves (0.074 mm) to avoid the debris.

**Cryopreservation** - the desiccated spores are collected into polypropylene cryovials/Eppendorf tubes and are plunged immediately into liquid nitrogen (LN). Duration of storage in LN reached 1 hour /6/, 6 months /4/, 12 months /7/.

**Thawing of spores** - the cryovials/Eppendorf tubes are removed from LN and allowed to warm at room temperature for a short time, or at 40 °C, or in water bath at 35°C.

**Viability test** - to assess the viability of spores after cryopreservation usually the germination test is used. Spores are considered as germinated after their cell wall is ruptured. Other important parameters are germination's beginning days, T50 (time to reach 50% germination) and gametophyte development terminated by complete plant regeneration

Examples of application:

Ballesteros et al. (2006) /4/ compared storage conditions (at room temperature 25 °C, ultrafreezing at -80°C, in LN at -196 °C) of 10 fern species (*Asplenium onopteris*, *Notholaena marantae*, *Cystopteris fragilis*, *Pteris vittata*, *Dryopteris filix – mas*, *Athyrium filix – femina*, *Polystichum aculeatum*, *Thelypteris palustris*, *Polystichum lonchitis*, *Ceterach officinarum*). The spore viability checked as germination frequency after 30 days of culture was higher in spores stored at ultrafreeze temperatures compared to ones stored at 25 °C and was no significantly different from control. The gametophyte development was independent from tested temperatures. Approximately 90 % of germinated spores showed gametophytes formation and sexual structures differentiation. Cryopreservation of green spores of *Osmunda regalis* and *Equisetum ramosissimum* was also successful /8/.

### **Cryopreservation of pollen**

Pollen cryopreservation is a biotechnological tool for long-term storage and plays important role in plant genetic resource conservation. Embryologists, geneticists and breeders are interested in pollen conservation by this technique. The aim of cryopreservation is maintenance of pollen viability for shorter or longer periods. Very important aspect of pollen cryopreservation is maintenance of viability, germination ability and genetic integrity after cryopreservation. It is strongly recommended to control the pollen viability before, during and after cryopreservation. Pollen cryopreservation should be an additional tool for plant germplasm conservation and not substitution of storage other plant material.

Pollen morphology has a decisive role in cryopreservation. The pollen grains in respect of morphology can be categorized as bi-nucleate – are drying tolerant, have reduced metabolic activity, are long-lived and can tolerate desiccation better than tri-nucleate pollen. Tri-nucleate pollen grains are drying sensitive, and have 30% higher hydration index than the



bi-cellular pollen /9/. According to pollen morphology, 70 % of seed plants produce bi-cellular pollen and only 30 % of plants produce tri-cellular pollen /10 /. In some plants coexistence of both pollen types was observed /11 /. In tri-cellular pollen the division of generative cell occurs within the anther, whereas in bi-cellular pollen it occurs within the growing pollen tube /12/.

For successful cryopreservation of pollen several steps are necessary:

**Pollen dehydration** is an important step before immersion in liquid nitrogen (LN). In general high moisture content decreases the viability by initiation of ice crystal formation causing damage of the cell membranes. Different pollen moisture contents (that avoids ice crystal formation) are/were referred: from 5% to 7% to 10% or 20%.

**Cooling of pollen grains.** After adequate pollen grain desiccation the samples has to be put in the storage temperature required (-196°C, liquid nitrogen).

### Thawing after cryopreservation

*Slow technique* - involves thawing for 30 min in freezer (-20 °C), 30 min in refrigerator (4 °C) ambient conditions (25 °C) or in running water at 25 °C for 15 min.

*Quick technique* - the tubes with pollen grains are put in a water bath at 37 °C for 5 min (this technique is more often used as the slow one).

Examples of application:

de Araujo Machado et al. /13/ 2014) studied pollen grain viability at different low temperatures in coconut accessions (*Cocos nucifera* L.): BGD (Brazil Green Dwarf), BRA (Brazilian Tall), CRD (Cameroon Red Dwarf). Temperatures applied were: in refrigerator (at -4 °C), in freezer (at -20 °C), in ultrafreezer (at -80 °C), in LN, control storage at 28 °C. Based on obtained results the authors conclude, all three accessions were successfully cryopreserved, but differences among accessions are apparent. Storage in LN seems to be more advantageous in comparison with other storage conditions.

### Gametophyte cryopreservation

Fern gametophyte cultures have been shown to be highly adaptable to cryopreservation /14/. Two approaches have been used:

- Encapsulation and dehydration procedure (maintained viability of gametophytes for 20 years in LN)
- Encapsulation - vitrification (less effective).

### REFERENCES

- /1/ Singh, A.P., Johar, D.: Scope of ferns in horticulture and economic development. In: Current Advances in Fern Research. Ed. Fernandez, E. (Ed), Springer International Publishing AG, 153-175, 2018
- /2/ Santos, M.G., Fernandes, C.P., Tietbohl, L.A.C., Garrett, R., Lobo, J.F.R., Kelecom, A., Rocha, L: Chemical composition of essential oils from two fern species of *Anemia*. American Fern Journal, 103: 215-224, 2013
- /3/ Dhir, B.: Role of ferns in environmental cleanup (517-531) In: Current Advances in Fern Research, Springer 2018, 543 p.
- /4/ Ballesteros, D., Estrelles, A.M., Ibars A.M.: Responses of pteridophyte spores to ultrafreezing temperatures for long-term conservation in germplasm banks. Fern Gazette 17: 293-302, 2006
- /5/ Sundue, M., Vasco, A., Moran, R.C.: Cryptochlorophyllous spores in ferns: nongreen spores that contain chlorophyll. International Journal of Plant Sciences 172: 1110-1119, 2011
- /6/ Pence, V.C.: Survival of chlorophyllous and nonchlorophyllous fern spores through exposure to liquid nitrogen. American Fern Journal 90: 119-126, 2000
- /7/ Li, Y., Shi, L.: Effect of desiccation level and storage temperature on green spore viability of *Osmunda japonica*. Cryobiology 68: 446-450, 2014

- /8/ Ballesteros, D., Estrelles, E., Walters, C., Ibars, A.M.: Effect of storage temperature on green spore longevity for the ferns *Equisetum ramosissimum* and *Osmunda regalis*. *CryoLetters* 32: 89-98, 2011
- /9/ Williams, J., Brown, C.D.: Pollen has higher water content when dispersed in tricellular state as in a bicellular state. *Acta Botanica Brasilica* 32: 454-461, 2018
- /10/ Brewbaker, J.L.: The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the angiosperms. *Amer. J. Bot.* 54: 1069-1083, 1967
- /11/ Gan, Y., Xu, F.: The coexistence of binucleate and trinucleate pollen in *Mitrephora macclurei* Weerasoorya (Annonaceae). *Grana* 58, 2019.
- /12/ Erdelská, O., Švubová, R., Mártonfióvá, L., Lux, A.: *Embryológia krytosemenných rastlín*, VEDA, 2017, p. 206
- /13/ de Araujo Machado, C., Feitosa Moura, C.R., Pinto de Lemose, E.E., Ramalho Ramos S.R., Ribeiro, F. E., da Silva Ledo, A.: Pollen grain viability of coconut accessions at low temperatures. *Acta Scientiarum Agronomy* 36: 227-232, 2014
- /14/ Barnicoat, H., Cripps, R., Kendon, J., Sarasan, V: Conservation in vitro of rare and threatened ferns – case studies of biodiversity hotspot and island species. *In Vitro Cell. Dev. Biol. - Plant* 47: 37-44, 2011

### **Acknowledgement**

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“.

## FYTOTOXICKÉ ÚČINKY VÝLUHŮ ŠTĚPKY ZE DŘEVIN MÍRNÉHO A TROPICKÉHO PÁSU

### *PHYTOTOXIC EFFECTS OF LEACHATES OF CHIPS FROM TEMPERATE AND TROPICAL WOODS*

Klára A. Mocová<sup>1</sup>, Šárka Petrová<sup>2</sup>, Lyndon N. A. Sackey<sup>1,3</sup>, Jana Chumchalová<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, FTOP, Ústav technologie ochrany prostředí, Technická 5, 166 28 Praha 6 – Dejvice, Klara.Mocova@vscht.cz

<sup>2</sup> Akademie věd České republiky, v.v.i., Ústav experimentální botaniky, Laboratoř rostlinných biotechnologií, Rozvojová 313, 165 02 Praha 6 – Lysolaje

<sup>3</sup> Kwame Nkrumah University of Science and Technology, College of Science, Faculty of Biosciences, Department of Environmental Science, PMB, Kumasi-Ghana

#### *Summary*

From samples of wood chips of evergreen broadleaf trees from a tropical forest in Ghana, and deciduous trees and conifers growing in the Central Bohemia region, leachates were prepared and tested for phytotoxicity to duckweed (*Lemna minor* L.). The leachates differed in total phenolic content, pH and electrical conductivity values as well as in microscopic fungi content. Phytotoxic effects were manifested by significant chlorosis to necrosis and varying degrees of inhibition of biomass growth. Our study shows that duckweed is a suitable model organism that can be used for easy and economical testing of the safety of wood chip leachates.

*Key words: wood chips, phenolic compounds, microorganisms, Lemna minor, chlorophyll*

#### *Souhrn*

Ze vzorků dřevní štěrky stálezelených listnatých stromů z tropického lesa v Ghaně, a dále listnatých opadavých stromů a jehličnanů rostoucích v oblasti středních Čech byly vytvořeny vodné výluhy, u nichž byla testována fytoxicita vůči okřešku (*Lemna minor* L.). Výluhy se lišily obsahem celkových fenolů, hodnotou elektrické vodivosti i pH a lišily se také obsahem mikroskopických hub. Fytotoxické účinky se projevovaly významnou chlorózou až nekrotou a různou měrou inhibice růstu biomasy. Z naší studie vyplývá, že okřehek je vhodným modelovým organismem, pomocí něhož lze snadno a ekonomicky otestovat bezpečnost výluhů dřevní štěrky.

*Klíčová slova: dřevní štěrka, fenolické látky, mikroorganizmy, Lemna minor, chlorofyl*

## ÚVOD

Výluhy ze dřeva či dřevní štěrky vznikají v místech, kde dochází ke kontaktu dřevního materiálu s vodou. Tvorba výluhů závisí částečně na přírodních a klimatických podmínkách (degradace dřevin, déšť), dílem je dána antropogenními procesy (těžba, zpracovávání a shromažďování dřeva či štěrky, včetně skládek). Při těžbě a zpracování dřeva v tropických oblastech se zvýšeným ročním úhrnem srážek mohou vznikat laguny obsahující koncentrované výluhy dřevin. Další výluhy vznikají při čištění odpadních vod ze zemědělství, kdy jako náplň bioreaktoru (a nosič denitrifikačních bakterií) slouží právě dřevní štěrka /1/.

Z toxikologického hlediska je třeba nahlížet na dřevní štěpku jako materiál, jehož chemické složení závisí na mnoha faktorech, jako je druh dřeviny, lokalita, ze které pochází, stáří stromu i samotná čerstvost materiálu, roční doba a také mikroorganismy, které dřevo osidlují. Tyto a další aspekty následně ovlivňují také složení výluhů, jejichž součástí mohou být i toxické látky (obvykle organické povahy), které se z rozkládajícího se dřeva uvolňují /2, 3/. Významnou složkou výluhů jsou zejména fenolické sloučeniny. Nepříznivé účinky na organismy byly prokázány např. u kyseliny ferulové /4, 5/. Případnou toxicitu výluhů je zapotřebí brát v úvahu zejména v oblastech, kde dochází k jejich vstupu do vodních těles a kde by mohly ohrozit život vodních organismů /2, 3/. V této práci byly porovnávány výluhy štěpky několika zástupců dřevin mírného i tropického pásu z hlediska jejich fyto toxických účinků na sladkovodní rostlinu *Lemna minor* L.

## MATERIÁL A METODY

Pro studium byly zvoleny dva druhy stálezelených tropických dřevin (*Cedrela odorata* L. a *Terminalia ivorensis* Chev.), dva druhy opadavých listnatých dřevin (*Betula pendula* Roth a *Prunus domestica* L.) a dva druhy jehličnanů (*Larix decidua* Mill. a *Picea pungens* Engelm.). Vzorky byly odebírány ve východní části Ghany, v Praze a ve středních Čechách (tab. 1). Čerstvé vzorky dřevin byly naštěpkovány (hnědá štěpka<sup>1</sup>) a ihned použity k přípravě výluhů podle EN 12457-4 /6/. U výluhů byla změřena hodnota pH a elektrické vodivosti (EC). Dále byl pomocí Folin-Ciocalteuova činidla spektrofotometricky stanoven celkový obsah fenolických látek podle /7/.

Stanovení fyto toxických účinků výluhů bylo provedeno pomocí normovaného testu semichronické toxicity s vodní rostlinou okřehek (*Lemna minor* L.) /8/ s použitím kultury Steinberg. Výluhy nebyly nijak upravovány, tzn. původní hodnota pH byla ponechána a do výluhu nebyly přidávány živné soli, které jsou součástí kontrolního Steinbergova media (pH ~ 5,5±0,1; EC ~ 923±17 μS/cm). Postup je podrobněji popsán v předchozí práci /9/. Hodnocené charakteristiky (rychlost růstu celkové listové plochy a obsah chlorofylu a+b) byly vyjádřeny v procentech jako míra inhibice podle vzorce  $(V - K / K) * 100$ , kde  $V$  je hodnota sledovaného znaku ve vzorku výluhu a  $K$  je hodnota znaku v kontrole (Steinbergovo médium).

Výluhy byly také naočkovány na agarové plotny (agar OGYE - Oxytetracycline Glucose Yeast Extract ~ 18,5 g / 500 ml H<sub>2</sub>O; chloramfenikol ~ 50 mg) a inkubovány při 25 °C v temnu po dobu 5 dnů. Po ukončení inkubace byly zdokumentovány nárůsty kvasinek a plísní.

Tab. 1: Místa odběru vzorků dřevin

Typ stromu	Druh stromu	Lokalita	Souřadnice
Listnaté	cedrela ( <i>C. odorata</i> )	Oboyow Forest	5.76667, -0.91667
stálezelené	terminálie ( <i>T. ivorensis</i> )	Reserve, (Ghana, Afrika)	
Listnaté opadavé	bříza ( <i>B. pendula</i> )	Kozolupy, Středočeský kraj	49.97408, 14.19401
	slivoň ( <i>P. domestica</i> )	Rudná, Středočeský kraj	50.03535, 14.23431
Jehličnany	modřín ( <i>L. decidua</i> )	Pětikozly, Středočeský kraj	50.41174, 14.81225
	smrk ( <i>P. pungens</i> )	Praha 8 – Střížkov, Praha	50.12990, 14.48342

<sup>1</sup> Hnědá štěpka obsahuje dřevo se zbytky kůry

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Základní chemicko-fyzikální parametry výluhů byly poměrně různorodé, a to i v porovnání dvojic vzorků dřevin v rámci podskupin (tropické, opadavé listnaté, jehličnaté stromy), jak lze vidět v tab. 2. Variabilní byly hodnoty elektrické vodivosti, která poukazuje jak na přítomnost iontů nutrientů, tak i případných nežádoucích solí. Lze předpokládat, že v souladu s dřívějšími studiemi obsahovaly vzorky také malé množství kovů, a to jak esenciálních (Fe, Zn, Cu a Mn), tak pro růst rostlin nepříznivých (Pb, Cd) /10/. Kontrolní Steinbergovo médium má obsah nutrientů v nadbytku /9/. Nižší obsah iontů ve výluhu tudíž nemusí vést nutně k redukci růstu okřehku, jak je vidět na příkladu s modřínem, ale je zřejmě příčinou chlorózy, která byla pozorována u všech vzorků (graf 1).

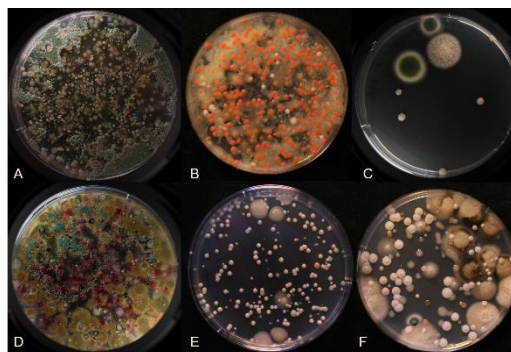
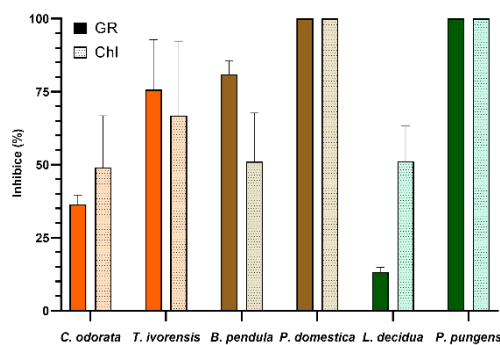
Okřehek je schopen prospívat v prostředí s pH v rozmezí 5,0 – 9,0 /8/, proto kyselější výluhy slivoně a smrku zřejmě způsobily úplnou nekrózu rostlin. Počáteční hodnota pH výluhu (den 0) se však během expozice v testu fytotoxicity může změnit, a to oběma směry, proto je k predikci toxicity výluhu nedostatečná. Z výsledků se zdá, že právě hodnota pH výluhu v průběhu celé expozice měla největší vliv na celkovou toxicitu. Hodnoty pH v rozmezí 4,0 – 5,2 po celou dobu expozice u slivoně a smrku vyústily v nulový růst biomasy. Naopak v případě terminálie a břízy se počáteční nízká hodnota pH zvýšila, a účinky výluhů byly sice stále inhibiční, ale nikoliv letální. V případě cedrely a modřínu bylo pH po celou dobu v příznivém intervalu a výluhy způsobovaly jen mírnou inhibici růstu. (tab 2, graf 1).

Tab. 2: Vlastnosti výluhů dřevní štěpky: elektrická vodivost (EC), obsah celkových fenolů (TP), počáteční pH (den 0) a pH po 7denní expozici v testu s okřehkem (den 7).

Vzorek	EC ( $\mu\text{S/cm}$ )	TP (mg/L)	pH (den 0)	pH (den 7)
<i>Cedrela odorata</i>	268 $\pm$ 1	7,2 $\pm$ 0,2	6,9 $\pm$ 0,3	7,0 $\pm$ 0,2
<i>Terminalia ivorensis</i>	458 $\pm$ 1	40,1 $\pm$ 3,1	4,8 $\pm$ 0,2	5,5 $\pm$ 0,1
<i>Betula pendula</i>	540 $\pm$ 2	94,0 $\pm$ 1,5	4,8 $\pm$ 0,2	6,1 $\pm$ 0,3
<i>Prunus domestica</i>	460 $\pm$ 2	97,4 $\pm$ 1,4	4,7 $\pm$ 0,2	4,0 $\pm$ 0,2
<i>Larix decidua</i>	523 $\pm$ 3	2,1 $\pm$ 2,0	5,9 $\pm$ 0,1	6,4 $\pm$ 0,1
<i>Picea pungens</i>	719 $\pm$ 5	96,0 $\pm$ 0,5	5,2 $\pm$ 0,1	4,9 $\pm$ 0,2

Výrazné rozdíly byly v obsahu celkových fenolů. Nízké hodnoty u modřínu a cedrely by mohly opět vysvětlovat nižší toxicitu těchto výluhů, zatímco vysoký obsah fenolických látek byl pozorován ve výluzích břízy, slivoně a smrku, které měly vysoce inhibiční až letální účinky (tab 2, graf 1). Spektrum fenolických sloučenin bylo studováno zejména u smrku (*Picea sp.*), kde bývá zastoupená kyselina gallová, ferulová, hydroxybenzoová, vanilová a další /5/. Fenolické kyseliny jsou důležitým ukazatelem fytotoxicity výluhů, vliv mohou mít ale i jiné organické látky, jako např. taniny /11/.

Výluhy se významně lišily také z mikrobiologického hlediska, tj. kvality a kvantity kvasinek a plísní (obr. 1). Také jejich přítomnost měla velmi pravděpodobně podíl na výsledné fytotoxicitě. Mikroorganismy ale mohou přítomné fenoly využívat jako zdroj organického uhlíku /12/, tudíž jejich obsah a s ním související toxicita výluhů v čase klesá, jak bylo zjištěno v předchozí studii /10/. Zároveň ale fenolické látky vylučované rostlinami mohou mít antimikrobiální účinky /5/, což může zpomalovat biodegradaci vylučovaných látek.



**Graf 1:** Inhibice rychlosti růstu listové plochy (GR – plnobarevné sloupce) a obsahu chlorofylu (Chl – šrafované sloupce) u okřehku způsobená výluhy dřevní štěpky. 100 % znamená nulový růst (GR), resp. úplnou chlorózu a nekrózu listů (Chl).

**Obr 1:** Nárůsty kvasinek a plísní ve výluzích dřevní štěpky naočkovaných na OGYE agar: *C. odorata* (A), *B. pendula* (B), *L. decidua* (C), *T. ivorensis* (D), *P. domestica* (E), *P. pungens* (F).

## ZÁVĚR

Chemicko-fyzikální vlastnosti i obsah mikroskopických hub ve výluzích hnědé štěpky jsou druhově specifické a v testu s okřehkem způsobují chlorózu a inhibici růstu, případně letalitu. Fytotoxicita výluhů je výsledkem mnoha faktorů, a tedy jen těžko předvídatelná. Významný vliv má hodnota pH, která se ale může v čase měnit. Provedení jednoduchého testu ekotoxicity je tudíž vhodnější alternativou k podrobným a náročným chemickým analýzám. Z naší studie vyplývá, že okřehek je vhodným modelovým organizmem, pomocí něhož lze snadno otestovat bezpečnost výluhů dřevní štěpky všude tam, kde by mohlo docházet k ohrožení vodních ekosystémů.

## LITERATURA

- /1/ Schipper, L.A., Robertson, W.D., Gold, A.J., Jaynes, D.B., Cameron, S.C.: Denitrifying bioreactors - An approach for reducing nitrate loads to receiving waters. *Ecological Engineering*, 36 (11), 2010: 1532 – 1543.
- /2/ Rex, J., Dubé, S., Krauskopf, P., Berch, S.: Investigating potential toxicity of leachate from Wood Chip Piles Generated by Roadside Biomass Operations. *Forests*, 7 (2) 40, 2016.
- /3/ Taylor, B.R., Goudey, J.S., Carmichael, N.B.: Toxicity of aspen wood leachate to aquatic life: Laboratory studies. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15 (2), 1996: 150 – 159.
- /4/ Fu, Y.H., Quan, W.X., Li, C.C., Qian, C.Y., Tang, F.H., Chen, X.J.: Allelopathic effects of phenolic acids on seedling growth and photosynthesis in *Rhododendron delavayi* Franch. *Photosynthetica*, 57 (2), 2019: 377-387.
- /5/ Adeboye, P.T., Bettiga, M., Olsson, L.: The chemical nature of phenolic compounds determines their toxicity and induces distinct physiological responses in *Saccharomyces cerevisiae* in lignocellulose hydrolysates. *AMB Express* 4, (46), 2014.
- /6/ EN 12457-4: Characterization of waste - Leaching-Compliance test for leaching of granular waste materials and sludges - Part 4: One stage batch Test at a Liquid to solid ratio of 10 l/kg for materials with particle size below 10 mm (without or with size reduction) 2002, CEN, Brussels.
- /7/ Singleton, V.L., Rossi, J.A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16, 1965: 144 – 158.
- /8/ ISO 20079: Water quality - Determination of toxic effect of water constituents and waste to duckweed (*Lemna minor*) - Duckweed growth inhibition test. 2005, CEN, Brussels.
- /9/ Roztočilová, H., Mariaková, D., Mocová, K.A.: Stavební odpad jako náhrada jemné frakce v betonech – hodnocení fytotoxicity vůči okřehku. *ENTECHO* 1, 2021:10-14.
- /10/ Sackey, L.N.A., Mocová, K.A., Kočí, V.: Ecotoxicological effect of aged wood leachates to aquatic organisms. *Water* 12 (8), 2020: art. No. 2091.

- /11/ Karionas, R., Jurkonienė, S., Sadauskas, K., Vaičiūnienė, J., Manusadžianas, L.: Modifying effects of leaf litter extracts from invasive versus native tree species on copper-induced responses in *Lemna minor*. PeerJ 8, 2020: art. No. e9444.
- /12/ Souto, X. C., Chiapusio, G., Pellissier F.: Relationships between phenolics and soil microorganisms in spruce forests: Significance for natural regeneration. Journal of Chemical Ecology, 26 (9), 2000: 2025 – 2034.

## FENOMÉN OXIDAČNÉHO STRESU V RASTLINÁCH

### *THE PHENOMENON OF OXIDATIVE STRESS IN PLANTS*

Zuzana Lukačová, Adriana Mišúthová, Marek Vaculík

*Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra fyziológie rastlín, Ilkovičova 6, Mlynská dolina B2, 842 15 Bratislava, Slovenská republika, zuzana.lukacova@uniba.sk*

#### **Summary**

Oxidative stress occurs in plants as a widespread reaction to various stress stimuli, to which plants are exposed very often during their sessile lifestyle. It arises because of an imbalance between the formation of reactive oxygen species (ROS) and their removal, while their excess has an adverse effect on plant cell structures. ROS are generated in cells constantly; they are important signal molecules that control many growth and developmental processes in plants, but they are required in minimal amounts. Non-enzymatic antioxidants, as well as enzyme antioxidant systems, participate in the maintenance of their homeostasis in cells, and these mostly work in cooperation with each other. The stress response itself can either lead to an increase in the organism's resistance or herald its demise: it is a combination of the intensity and length of exposure to the stress factor, as well as the specific plant's ability to respond to stress.

*Key words: antioxidant enzymes, non-enzymatic antioxidants, reactive oxygen species, stress*

#### **Súhrn**

Oxidačný stres sa v rastlinách vyskytuje ako pomerne rozšírená reakcia na rôzne stresové podnety, ktorým sú rastliny počas svojho usadlého spôsobu života vystavované veľmi často. Vzniká ako následok nerovnováhy medzi tvorbou reaktívnych foriem kyslíka (ROS) a ich odstraňovaním, pričom ich nadbytok pôsobí na štruktúry rastlinných buniek nežiaduco. ROS sa v bunkách tvoria neustále; ide o významné signálne molekuly riadiace množstvo procesov rastu a vývinu rastlín, požadované sú však v minimálnych množstvách. Na udržovaní ich homeostázy sa v bunkách spolupodieľajú neenzymatické antioxidanty ako aj enzýmové antioxidačné systémy, pričom tieto väčšinou pracujú vo vzájomnom zapojení. Samotná stresová reakcia môže v organizme viesť buď k zvýšeniu jeho odolnosti, alebo predznamenať jeho zánik: ide o kombináciu intenzity a dĺžky expozície stresovému faktoru, ako aj o danosti konkrétnej rastliny na stres zareagovať.

*Kľúčové slová: antioxidačné enzýmy, neenzymatické antioxidanty, reaktívne formy kyslíka, stres*

## **ÚVOD**

Kyslík je najrozšírenejší prvok zemskej kôry a ako taký je pre život rastlín nepostrádateľný, avšak, ide o potenciálne najtoxickéjší prvok, keďže je to východisková molekula pre tvorbu jeho reaktívnych foriem (ROS). Prítomnosť dvoch nespárených elektrónov v jeho atóme ho predurčuje k tvorbe molekulového  $O_2$ , ktorý sa redukciami mení na superoxidový aniónový radikál ( $O_2^{\cdot-}$ ), peroxid vodíka ( $H_2O_2$ ) a hydroxylový radikál ( $HO^{\cdot}$ ).



Každý z nich má iný potenciál pre oxidáciu ďalších biomakromolekul a tiež je v rámci buniek rôzne mobilný. Najtoxickejšou molekulou spomedzi ROS je HO<sup>•</sup>, ktorý je súčasne málo mobilný a počas jeho rozpadu je mimoriadne krátky. Tieto jeho vlastnosti bunky prirodzene chránia pred jeho deštruktívnym pôsobením. Peroxid vodíka je na druhej strane mobilný a pre bunku nepredstavuje také riziko kvôli jeho zníženej ochote oxidovať iné substráty. Hrá veľmi dôležitú úlohu v signalizácii na úrovni buniek, ako aj celého rastlinného organizmu /1. V bunkách vzniká spontánnou alebo enzymatickou dismutáciou superoxidu. Všetky spomínané a ďalšie ROS (a reaktívne formy dusíka) vznikajú v bunkách počas jej celého života, a to v mnohých vnútro- aj mimobunkových kompartmentoch. Aby pôsobili v morfogéneze pozitívne, musia byť ich množstvá prísne regulované. Ich homeostázu udržiujú jednak neenzymatické molekuly ako fenolické látky, b-karotén, a-tokoferol, kyselina askorbová či redukovaný glutatión, a to samotné alebo v spolupráci s enzýmovými komplexmi, kde patria najmä kataláza, peroxidázy, superoxid dismutázy či glutatión reduktáza.

Rastliny sa v procese evolúcie a individuálnych ontogénz prispôsobujú na podmienky prostredia, v ktorých sa rozširujú a prežívajú. Keďže ide o organizmy neschopné lokomócie a vonkajšie podmienky sú dynamické, majú istú kapacitu vysporiadať sa s rôznymi nepriaznivými podnetmi, ktoré na ne pôsobia stresovo. Pri prekročení prahových hodnôt, a to ako z hľadiska druhu, intenzity alebo dĺžky pôsobenia stresového faktoru, sa v rastlinnom organizme môže porušiť rovnováha medzi tvorbou a odstraňovaním ROS, pričom tento stav vedie k navodeniu tzv. oxidačného stresu. Zvýšené koncentrácie ROS pôsobia ako oxidačné činidlá pre proteíny, nukleové kyseliny či lipidy spôsobujúce tak dezintegráciu intracelulárnych štruktúr. Pôvodcami stresov môžu byť rozličné abiotické alebo biotické faktory prostredia; v našom výskume sme sa zamerali na znečistenie ťažkým kovom kadmium (Cd), polokovom arzénom (As) a tiež na biotický stres z parazitickej kukučiny (*Cuscuta europaea*). Uvedené predstavujú riziká pre bezpečnosť a kvalitu potravín. Kadmium je neesenciálny ťažký kov toxický už v minimálnych koncentráciách, pričom oxidačný stres sa v rastlinách vyvíja ako následok poškodenia enzýmov za súčasnej zvýšenej činnosti NADPH oxidázy, enzýmu, ktorý v apoplazme produkuje O<sub>2</sub><sup>•-</sup>. Kadmium stimuluje jej činnosť a tiež expresiu príslušných génov pre tento proteín. Aj toxický polokov As spôsobuje oxidačný stres, podobne ako Cd inhibíciou aktivít enzýmov odstraňujúcich ROS a tiež tak, že interaguje s príjmom iných, esenciálnych prvkov, pričom vzniknutá nerovnováha vedie k opisovanému nežiadúcemu javu. Pôsobenie stonkového parazita kukučiny na hostiteľské rastliny tabaku tu má rovnako za následok vznik oxidačného stresu. Kukučina fyzicky poškodzuje pletivá hostiteľa, vpravuje do nich toxíny a odoberá z nich živiny čím dochádza tiež k nežiadúcej interakcii so signálnymi dráhami hostiteľa.

Cieľom našej práce bolo podať sumárny obraz o reakcii rastlín, v ktorých sa rozvinul oxidačný stres.

## MATERIÁL A METODA

Pokus s Cd prebiehal v hydroponii počas 7 dní. Testovali sme niekoľko hybridov kukurice siatej (*Zea mays* L.) v kontrolnom Knopovom živnom roztoku, alebo s pridaním 100 mM Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O. Prvotný *screening* zahŕňal 30 hybridov používaných v podmienkach Slovenska, pričom sme sa zamerali na základné rastové a akumulčné parametre podzemných aj nadzemných častí rastlín. Následne sme vytypovali päť hybridov odlišných v schopnosti akumulovať resp. translokovať Cd, ako aj s odlišnou citlivosťou na tento ťažký kov. Tieto sme charakterizovali z hľadiska obsahu fotosyntetických pigmentov a neenzymatických antioxidantov – karotenoidov. Vybraný hybrid (Szegedi) sme následne vystavili trom rôznym koncentráciám Cd (5, 10 alebo 100 mM Cd). Rastliny sme charakterizovali z hľadiska akumulčných a rastových parametrov a antioxidačných enzýmov:

kataláza (CAT), guajakol peroxidáza (G POX) a superoxid dismutáza (SOD). Sledovali sme tu taktiež vplyv Cd na vývin pletív primárneho koreňa, a to v zmysle jeho lignifikácie (ručné rezy, farbenie pomocou floroglucinol – HCl) alebo suberinizácie (farbenie pomocou Fluorol Yellow 088).

Testovanie s As prebiehalo v *in vitro* kultivačných podmienkach na modelovom tabaku (*Nicotiana benthamiana*), a to v kontrolnom MS médiu alebo v médiách so stúpajúcou koncentráciou As, a to 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 a 80 mM  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  počas 28 dní. Identifikovali sme nový gén pre sekretorické POX, ktorého expresiu sme v pokuse sledovali pomocou *Real-time* PCR. Vyhodnotili sme tiež dynamiku aktivít sekretorickej guajakol peroxidázy (G POX) a množstvo karotenoidov v jednotlivých As variantoch.

Vzťah rastlinný parazit (*Cuscuta europaea*) – hosťiteľ (*Nicotiana benthamiana*) sme hodnotili pomocou *in situ* detekcie aktivít sekretorických peroxidáz na ručných rezoch rôznych častí hosťiteľa ako aj parazita (farbenie pomocou 4-metoxyx-1-naftolu). Venovali sme sa tiež zmenám v aktivitách CAT, G POX a SOD, a to ako v pletivách hosťiteľa, tak pletivách parazitickej kukučiny.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Testovanie 30 hybridov kukurice odhalil značne odlišné reakcie na prítomnosť 100 mM Cd v kultivačnom médiu. Redukcia rastu primárneho koreňa v Cd variante bola v škále od nepreukazného rozdielu v porovnaní s kontrolou po 60 % redukcii rastu vplyvom Cd /2/. Podobne širokú škálu odpovedí sme zaznamenali tiež na nadzemných častiach testovaných rastlín (plocha 1. a 2. listu, čerstvá a suchá hmotnosť). Z hľadiska akumulácií ťažkého kovu a jeho translokácie do výhonku sme vytipovali hybridy s najvyššou mierou retencie Cd v koreni. Hybridy, ktoré akumulovali všeobecne nižšie množstvá Cd mali väčšinou vyššie rastové tolerančné indexy. Z uvedeného však vyplynulo, že v prípade nami testovaných hybridov kukurice nie je možné určiť priamy korelačný vzťah medzi akumuláciou Cd v koreni alebo jeho translokáciou do výhonku a citlivosťou alebo rezistenciou hybridu. V ďalšej časti práce sme bližšie charakterizovali reakciu piatich hybridov na 100 mM Cd. Hybrid Valentína mal najnižší pomer akumulácie Cd korene/výhonok (2,84), na druhej strane, Reduta mala uvedený pomer najvyšší (12,83). Valentína a Novania akumulovali najnižšie množstvá Cd v koreňoch, Szegedi, Almansa a Reduta, naopak, akumulovali v koreňoch navyše Cd. Typický prejav oxidačného stresu je degradácia fotosyntetických pigmentov, najmä chlorofylov, čo sa potvrdilo v hybridoch Almansa a Novania. Súčasne však ako ochranný systém pôsobia v chloroplastoch zhášače excitovaných molekúl, neenzymatické antioxidanty – karotenoidy. V uvedených hybridoch došlo k preukaznému nárastu ich obsahu a naopak, v hybridoch Szegedi a Valentína klesol ako obsah chlorofylov, tak aj karotenoidov vplyvom toxického Cd. Karotenoidy sa tu ukázali ako jedny z významných molekúl zmierňujúcich dopady oxidačného stresu. Miera akumulácie Cd v koreňoch aj vo výhonkoch bola taktiež odlišná. Na uvedené výraznou mierou vplýva rýchlosť vývinu niektorých pletív koreňa pôsobiacich ako tzv. apoplazmické bariéry. Reštrikciu vstupu a mobility iónov kovov spôsobujú lignifikované alebo suberinizované bunkové steny exo- a endodermis, ako aj bunky pletív centrálného valca. V prípade hybridu Szegedi, ktorý sme testovali v stúpajúcej koncentrácii Cd sme zaznamenali urýchlenie lignifikácie endodermis, založenie suberínovej lamely, ako aj zvýšenú hrúbku terciárnej bunkovej steny endodermis vplyvom Cd. Súčasne sme potvrdili nárast aktivít antioxidantných enzýmov ako kataláza, peroxidázy a superoxid dismutázy, pričom tieto pracovali vo vzájomnej pozitívnej korelacii. Spomedzi týchto sú zaujímavé zvlášť sekretorické peroxidázy, ktoré v bunkových stenách nielen odstraňujú peroxid vodíka, ale

súčasne oxidáciou prekursorov lignínu alebo suberínu umožňujú tvorbu týchto polymérov bunkových stien.

V pokuse s As sa reakcie rastlín tabaku dali rozdeliť do troch skupín, a to v závislosti od koncentrácie As v médiu /3/. Zaujímavé bolo, že niektoré reakcie na úrovni pigmentov alebo enzýmov boli podobné v skupine s najnižšími a v skupine s vysokými koncentraciami As. Napriek tomu, koncentrácia As v podzemných aj nadzemných častiach rastlín stúpala so zvyšujúcim sa množstvom As v médiu. Priemerné množstvá chlorofylov vo väčšine prípadov korelovali s množstvom ochranných karotenoidov. Podobne aj aktivita G POX bola najvyššia na konci kultivácie vo variantoch so stredne silnou koncentraciou As (40 a 50 mM), naopak, nízky a vysoký stres z As nestimuloval ich aktivitu tak výrazne v porovnaní s kontrolou. Korene však v porovnaní s výhonkami vykazovali vyššie aktivity G POX. Expresia génu pre sekreторické POX, ktorý sme identifikovali, bola najvyššia v As variantoch v porovnaní s kontrolou na začiatku kultivácie, v 7. odberovom dni, pričom to bol opäť stredne silný stres z As, ktorý indukoval expresiu najvýraznejšie.

Peroxidázy ako jedny zo zásadných enzýmov podieľajúcich sa na reakciách rastlín vystavených stresu sa uplatňovali aj vo vzťahu rastlinný parazit – hosťiteľ. Ich najvyššie aktivity sme zaznamenali v mieste vytvárania funkčného prepojenia medzi organizmami /4, 5. Aj *in situ* analýzy potvrdili ich aktívne pôsobenie v bunkových stenách terminálnych buniek prehaustória aj haustória, ako aj v miestach tvorby cievy prepájajúcej kukučinu s xylómom tabaku. Peroxidázy sa v tomto vzťahu uplatňovali nielen ako antioxidantné enzýmy, ale ich činnosťou vznikajúce ROS napomáhali parazitovi prenikať pletivami hosťiteľa.

## ZÁVĚR

Na záver možno naše výsledky zhrnúť nasledovne: reakcie na jednotlivé druhy stresu sú vnútro aj medzidruhovo špecifické. Antioxidantné enzýmy a neenzymatické antioxidanty sa do stresovej odpovede zapájajú rôznou mierou, pričom sa ich množstvo/aktivita vzájomne koordinuje. Odpoveďou na stresovú záťaž sú aj zmeny vo vývine koreňa (lignifikácia a suberinizácia bunkových stien niektorých pletív). Peroxidázy majú viaceré úlohy v parazitickom vzťahu hosťiteľ – rastlinný parazit.

## LITERATURA

- /1/ Wudick, M.M, Li, X., Valentini, V. at al.: Subcellular redistribution of root aquaporins induced by hydrogen peroxide. *Molecular Plant*, 8, 2015: 1103–1114.
- /2/ Lukačová, Z., Lux, A.: Silicon influence on maize, *Zea mays* L., hybrids exposed to cadmium treatment. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 85(3), 2010: 243 – 250.
- /3/ Lukačová, Z., Bokor, B., Vávrová, S., Šoltys, K., Vaculík, M.: Divergence of reactions to arsenic (As) toxicity in tobacco (*Nicotiana benthamiana*) plants: a lesson from peroxidase involvement. *Journal of Hazardous Materials*. 417, 2021: 1–11.
- /4/ Svubova, R., Lukacova, Z., Kastier, P., Blehova, A.: New aspects of dodder–tobacco interactions during haustorium development. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39, 2017: 66.
- /5/ Lukacova, Z., Svubova, R., Janikovicova, S., Volajova, Z., Lux, A.: Tobacco plants (*Nicotiana benthamiana*) were influenced by silicon and were not infected by dodder (*Cuscuta europaea*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 139, 2019: 179–190.

## Poděkování

Práca vznikla vďaka podpore grantovej agentúry APVV-17-0164, APVV SK-CN-21-0034, VEGA 1/0472/22.

## VPLYV ARZÉNU V KOMBINÁCIÍ S KREMÍKOM NA TVORBU FENOLICKÝCH LÁTOK V KUKURICI SIATEJ

### ***INFLUENCE OF ARSENIC IN COMBINATION WITH SILICON ON THE FORMATION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN MAIZE***

Adriana Mišúthová<sup>a</sup>, Zuzana Lukačová<sup>a</sup>, Marek Vaculík<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>*Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, Katedra Fyziológie rastlín, Mlynská dolina B2, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava 4, Slovenská Republika, e-mail:*

*misuthova3@uniba.sk*

<sup>b</sup>*Centrum biológie rastlín a biodiverzity Slovenskej akadémie vied, v. v. i., Dúbravská cesta 9, 845 23 Bratislava, Slovenská republika*

#### ***Summary***

Toxicity of soils and waters due to heavy metals or metalloids is a worldwide problem. Among these pollutants belongs also arsenic (As), which not only causes significant yield loss in important economic crops but also leads to serious health problems for people. In our study we monitored the activity of enzymes that play a crucial role in lignin polymerization and the production of various secondary metabolites, which help plants to overcome different types of stress. We observed these parameters during a short term hydroponic cultivation in two maize hybrids: Luciana (sensitive to drought) and Tweetor (resistant to drought), under As and As+Si treatments. The results indicated that the Tweetor hybrid exhibited an enhanced response to stress, possibly due to its drought tolerance. In almost all cases, the presence of silicon resulted in reduced enzyme activity or a decrease in the content of important phenolic substances.

*Key words: anthocyanins, arsenic, G-POX, lignin, maize, phenols, PPO, silicon*

#### ***Souhrn***

Toxicita pôd a vôd ťažkými kovmi či polokovmi je celosvetový problém. Medzi tieto polutanty zaradujeme aj arzén (As), ktorý spôsobuje výraznú stratu úrody nielen hospodárskych plodín, ale taktiež spôsobuje vážne zdravotné problémy u ľudí. V našej práci sme sa zamerali na sledovanie aktivity enzýmov ktoré sú dôležité pri polymerizácii lignínu a zároveň sme sledovali produkciu vybraných sekundárnych metabolitov, ktoré pomáhajú prekonať rastlinám rôzne typy stresov. Dané parametre sme sledovali počas krátkodobej hydroponickej kultivácie na dvoch hybridoch kukurice (Luciana - senzitivný voči suchu a Tweetor - odolný voči suchu) v As a As+Si variantoch. Výsledky naznačujú, že hybrid Tweetor vykazoval zvýšenú reakciu na stres, čo pravdepodobne súvisí s jeho toleranciou na suchu. V takmer všetkých prípadoch kremík znižoval aktivitu enzýmov, či obsah významných fenolických látok.

*Kľúčové slová: antokyány, arzén, G-POX, fenolické látky, lignín, kremík, kukurica, PPO*

## **ÚVOD**

Kukurica siata (*Zea mays* L.) je jednou z najpestovanejších a najviac konzumovaných obilnín spolu s ryžou a pšenicou. Podobne ako iné rastliny, aj kukurica čelí mnohým výzvam

spojeným s jej sesilným spôsobom života. Jedným z významných kontaminantov pôdy je polokov arzén (As), ktorého toxicita predstavuje problém z hľadiska ľudského zdravia aj poľnohospodárskej výroby vo viacerých oblastiach sveta. Vedecké štúdie potvrdili jeho negatívny vplyv na kukuricu na rôznych úrovniach, vrátane anatomickej, morfolologickej, molekulárnej a biochemickej /1, 2/. Okrem toho predstavuje riziko aj pre ľudí, pretože sa môže dostať do potravinového reťazca. Kukurica je známa svojou schopnosťou absorbovať kremík (Si) do svojich nadzemných aj podzemných pletív. Viaceré štúdie naznačujú, že Si môže byť prospešný pri zmiernovaní rôznych druhov stresu/1, 3/.

Sekundárne metabolity, ktoré hrajú významnú úlohu pri obrane rastlín voči rôznym podmienkam prostredia vznikajú cestou kyseliny šikimovej. Tá premieňa jednoduché prekurzory sacharidov odvodené z glykolýzy na aromatické aminokyseliny ako L-fenylalanín, L-tyrozín a L-tryptofán, z ktorých sa formujú pre rastlinu dôležité vitamíny, hormóny a látky potrebné na správne rozmnožovanie, rast, vývin ale taktiež obranu /4/. Sledom reakcií vo fenylpropanoidnej ceste z L-fenylalanínu vznikajú dôležité látky na báze fenolov ako je lignín, suberín, antokyány, taníny alebo flavonoidy /5/. Fenolické látky sú veľkou skupinou látok, ktoré zohrávajú dôležité úlohy v rastlinách. Môžu sa vyskytovať v rôznych formách a bunkových kompartmentoch a zároveň plniť odlišné úlohy. Spája ich fakt, že sú to významné látky, ktoré okrem iného poskytujú rastline rezistenciu voči biotickým a abiotickým stresovým podmienkam, pričom túto úlohu plnia rôznymi spôsobmi. Hlavným cieľom tejto práce bolo zistiť vplyv rôznych koncentrácií As a tiež exogénne aplikovaného Si a ich vzájomné pôsobenie na lignifikáciu koreňov, aktivitu dôležitých enzýmov súvisiacich s polymerizáciou lignínu ako G-POX a PPO v koreni, a taktiež tvorbu solubilných fenolov a antokyánov v nadzemných častiach dvoch hybridov kukurice siatej kontrastných v odolnosti voči suchu.

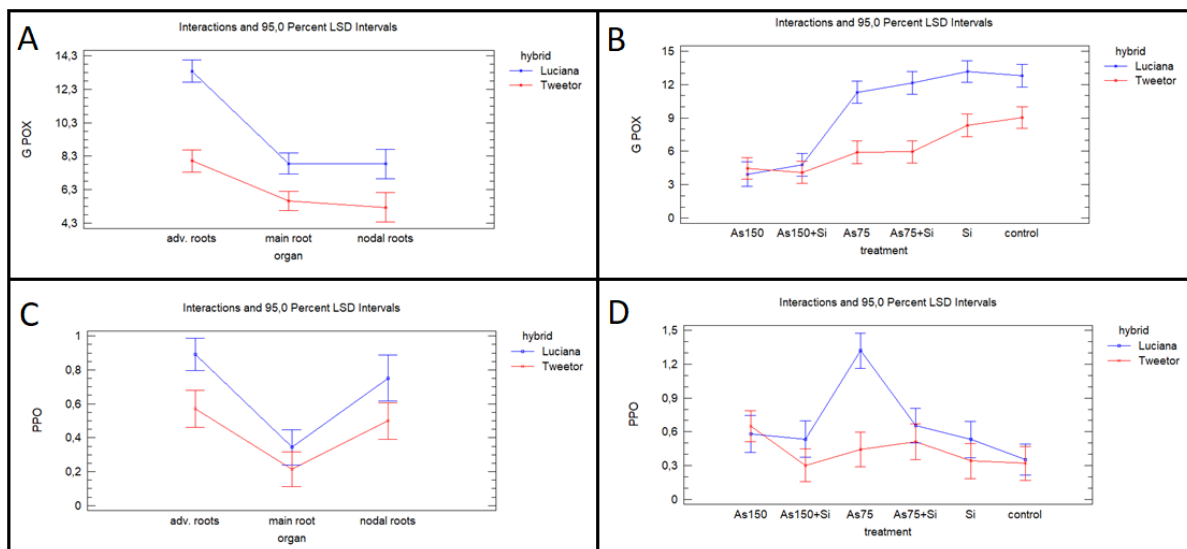
## MATERIÁL A METODA

V našich experimentoch sme použili predpestované 3-dňové klíčence dvoch hybridov kukurice siatej, (Luciana a Tweeter) ktoré sa pestovali hydroponicky v Hoaglandovom živnom médiu pri pH 6,2 po dobu 10 dní v kontrolovaných podmienkach kultivačnej miestnosti (teplota 25/23 °C deň/noc, 60 % vlhkosť vzduchu, 16 h fotoperiód a intenzita žiarenia  $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ), kde na 1 liter roztoku prislúchali 4 rastliny. Hybridy sa od seba odlišovali v tolerancii na sucho, hybrid Tweeter je odolnejší, zatiaľ čo hybrid Luciana je senzitívnejší. Pri oboch hybridoch sme pracovali s nasledujúcimi variantmi: C (kontrola), Si variant (Si – 2,5 mM kremík vo forme kremičitanu sodného  $\text{Na}_2 \text{SiO}_3$ ), As varianty (v dvoch koncentráciách 75  $\mu\text{M}$  a 150  $\mu\text{M}$  vo forme anorganickej soli  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) a As+Si varianty (As75+Si a As150+Si). Po uplynutí kultivačnej doby sme rastliny rozdelili na nadzemnú a podzemnú časť, kde nadzemnú časť sme rozdelili na 1. a 2. list (ktoré sme delili na čepeľ a pošvu). Korene sme rozdelili na hlavný, adventívne a nodálne a analyzovali zvlášť. V nadzemnej časti sme stanovovali sekundárne metabolity ako antokyány a solubilné fenoly. Koncentráciu antokyánov sme merali spektrofotometricky podľa Neff a Chory /6/ a obsah rozpustných fenolických látok podľa Ainsworth a Gillespie /7/. V koreňovej sústave sme stanovovali aktivitu enzýmov PPO (polyfenol oxidáza) podľa Kar a Mishra /8/ a aktivitu G-POX (guajakol peroxidáza) podľa Frič a Fuchs /9/. Následne sme merali obsah lignínu pomocou acetyl bromidovej metódy podľa protokolu Barnes a Anderson /10/. Výsledky sme štatisticky spracovali a vyhodnotili v programoch Microsoft Excel (Office 365) a STATGRAPHICS Centurion XV (Statgraphics Technologies, verzia 15.2.05). Všetky pokusy a analýzy sme opakovali minimálne trikrát. Na základe štatistických analýz (multifaktorová Anova, LSD test) sme vyhodnotili preukaznosť rozdielov vo výsledkoch medzi jednotlivými variantmi na hladine preukaznosti 5 %.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Peroxidázy (G-POX) a polyfenol oxidázy (PPO) sa podieľajú na oxidácii a polymerizácii fenolových zlúčenín, ktoré ďalej vytvárajú komplexné polyméry lignínu v sekundárnych bunkových stenách /11/. Výsledky porovnávania aktivity G-POX (Obr. 1A a B) ukázali vyššiu aktivitu v primárnych adventívnych koreňoch. Na sucho citlivejší hybrid Luciana vykazoval výrazne vyššiu aktivitu G-POX pri miernom strese (As75) v porovnaní s tolerantnejším hybridom Tweetor (Obr. 1B).

Podobné výsledky sme zaznamenali aj pri sledovaní aktivity PPO (Obr. 1C a D), kde opäť korene hybridu Luciana vykazovali signifikantne vyššiu aktivitu oproti hybridu Tweetor. Najvyššia aktivita PPO bola v primárnych adventívnych koreňoch. V prípade najvyššieho stresu, As150, Si signifikantne vplýval na zníženie aktivity enzýmu PPO v oboch hybridoch (Obr. 1D).



Obr. 1: Interakčný plot multifaktorovej Anovy s LSD intervalmi predstavujúci aktivitu G-POX (A a B) a PPO (C a D) v hlavných primárnych adventívnych a nodálnych koreňoch kukurice siatej (hybridy Luciana a Tweetor) po 10 dňovej kultivácii.

Ďalším sledovaným parametrom bola kvantifikácia lignínu v koreňovej sústave kukurice pomocou acetyl bromidovej metódy, ktorá je v rámci metód stanovovania množstva lignínu najpresnejšia /12/. Najviac lignínu sa vyskytovalo v hlavnom koreni a najmenej v nodálnych koreňoch. To môže byť spôsobené vývinovým štádiom koreňa, keďže nodálne korene sú najmladšie a naopak, hlavný koreň sa vyvíja ako prvý a tým pádom je najviac diferencovaný. Čo sa hybridu týka, pri miernejšom strese (As75) bol vyšší stupeň lignifikácie pri tolerantnom hybride Tweetor a naopak pri vysokom strese (As150) pri hybride Luciana. Kremík zvýšil lignifikáciu len pri miernejšom strese (As75) v tolerantnom hybride.

V nadzemnej časti sa najviac rozpustných fenolov nachádzalo v čepeli prvého listu, pričom medzi hybridmi bol signifikantný nárast fenolov v prospech rezistentného hybridu Tweetor. Pošva staršieho (prvého) listu akumulovala viac fenolických látok a v oboch hybridoch obsah fenolických látok stúpala v závislosti od koncentrácie arzénu. V hybride Tweetor pri najvyššej koncentrácii As150, pridaný Si signifikantne zvyšoval tvorbu fenolov. Naopak, pri hybride Luciana sme pri As150 nepozorovali rozdiel, na rozdiel od As75, kde Si signifikantne znížil ich akumuláciu.

Pri sledovaní koncentrácie antokyánov, ako významných neenzymatických antioxidantných pigmentov, ktoré prispievajú k celkovej obrane rastliny voči stresu, sme

pozorovali najvyššiu koncentráciu antokyánov v pošvách prvého listu. Koncentrácia antokyánov bola signifikantne vyššia v tolerantnejšom hybride. Pridanie Si k As spôsobilo výrazné zníženie ich koncentrácie.

## ZÁVĚR

Na sucho citlivejší hybrid Luciana má v koreňoch oproti tolerantnejšiemu hybridu Tweetor zvýšené aktivity enzýmov vedúcich k obrannej reakcii. Čo sa nadzemnej časti týka, zvýšený obsah fenolov a koncentrácia antokyánov bola naopak v hybride Tweetor. Pridanie kremíka vo väčšine prípadov spôsobilo pokles sledovaných parametrov, čo naznačuje, že jeho prítomnosť pravdepodobne ovplyvňuje metabolizmus lignínu v rastlinách.

## LITERATURA

- /1/ Mišúthová, A., Slováková, L., Kollárová, K., Vaculík, M.: Effect of silicon on root growth, ionomics and antioxidant performance of maize roots exposed to As toxicity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 168, 2021: 155-166
- /2/ Stoeva, N., Berova, M., Zlatev Z.: Physiological response of maize to arsenic contamination. *Biologia Plantarum*. 47, 2003: 449-452
- /3/ Bathoova, M., Bokor, B., Soukup, M., Lux, A., Martinka, M.: Silicon-mediated cell wall modifications of sorghum root exodermis and suppression of invasion by fungus *Alternaria alternata*. *Plant Pathology*, 67, 2018: 1891-1900
- /4/ Herrmann, K.M., Weaver, L.M.: The shikimate pathway. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50, 1999: 473–503
- /5/ Cooper-Driver, G.A.: Biological roles for phenolic compounds in the evolution of early land plants. In: Gensel, P.G., Edwards, D. ed(s.). *Plants Invade the Land: Evolution and Environmental Perspectives*. Columbia Univ. Press, New York, 2011: 59–72
- /6/ Neff, M.M., Chory, J.: Genetic interactions between phytochrome A, phytochrome B, and cryptochrome 1 during *Arabidopsis* development. *Plant Physiology*, 118, 1998: 27–35
- /7/ Ainsworth, E. A., Gillespie, K. M.: Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature Protocols*, 2, 2007: 875–877
- /8/ Kar, M., Mishra D.: Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase Activities during Rice Leaf Senescence. *Plant Physiology*, 57, 1976: 315-319
- /9/ Frič, F., Fuchs, W.H.: Veränderungen der aktivität einiger enzyme im weizenblatt in abhängigkeit von der temperaturlabilen verträglichkeit für *Puccinia graminis tritici*. *Journal of Phytopathology*, 67, 1970: 161-174
- /10/ Barnes, W.J., Anderson, C.T.: Acetyl Bromide Soluble Lignin (ABSL) assay for total lignin quantification from plant biomass. *Bio-protocol*, 7, 2017: e2149
- /11/ Vogt, T.: Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular Plant*, 3, 2010: 2–20
- /12/ Moreira-Vilar, F.C., Siqueira-Soares, R. de C., Finger-Teixeira, A., Oliveira, D. M. de, Ferro, A.P., da Rocha, G.J., de Lourdes L. Ferrarese, M., dost Santon, W.D., Ferrarese-Filho, O.: The Acetyl bromide method is faster, simpler and presents best recovery of lignin in different herbaceous tissues than Klason and Thioglycolic acid methods. *PLoS ONE*, 9, 2014: e110000

## Poděkování

Táto práca vznikla vďaka finančnej podpore grantovej agentúry APVV-17-0164, APVV SK-CN-21-0034, VEGA 1/0472/22, UK Grantu UK/232/2021 a UK/190/2022 a bola tiež súčasťou riešenia medzinárodného projektu COST CA19116.

# LESNÍCKO-EKOLOGICKÝ VÝSKUM V TATRÁCH: KLIMATICKÉ TRENDY, METEOROLOGICKÉ MERANIA A PRÍRASTOK LESNÝCH DREVÍN

## ***FORESTRY AND ECOLOGICAL RESEARCH IN THE TATRA MTS.: CLIMATE TRENDS, WEATHER MEASUREMENTS AND INCREMENT OF FOREST TREES***

Sitková Zuzana<sup>1</sup>, Rybár Jerguš<sup>1</sup>, Melová Katarína<sup>2</sup>, Jozef Rozkošný<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Národné lesnícke centrum – Lesnícky výskumný ústav Zvolen, T. G. Masaryka  
22, 960 01 Zvolen, zuzana.sitkova@nlcsk.org

<sup>2</sup> Slovenský hydrometeorologický ústav, Jeséniova 17, 833 15 Bratislava 37

### ***Summary***

The objective of the paper is to present the research activities that we are implementing in the area of the Tatra Mts. and to evaluate long-term climatic and hydrological trends using climate indices and databases. We also evaluate our own weather, soil and dendrometric data measured during the climatic extreme year 2022. We found that even on vulnerable mountain sites situated on the colder and wetter northern exposures of the Tatra Mts., since 1950 increased the daily minimum and maximum air temperatures, there are fewer days with frost and still more days contributing to heat waves. Was also detected a slight increase in number of days with heavy precipitation (above 20 mm). However, the year 2022 was not extremely dry in these locations even in the critical month of July, when a significant drought prevailed in many areas of Slovakia with clear symptoms on forest stands (yellowing, browning, even premature lost of leaves). Thanks to the continuous supply of precipitation during the growing season 2022 in locality Javorova valley, which was also reflected in favorable soil water potential values, the dendrometric measurements did not show a negative ecophysiological response in any of the monitored trees (spruce, fir, maple).

*Key words: mountain forests, climatic stress, drought, increment, the Tatra Mts*

### ***Súhrn***

Zámerom príspevku je prezentovať výskumné aktivity, ktoré realizujeme na území Tatier a zhodnotiť dlhodobé klimatické a hydrologické tendencie s využitím klimatických databáz a indexov. Taktiež vyhodnocujeme vlastné meteorologické, pôdne a prírastkomerné merania v klimaticky zaujímavom roku 2022. Naše analýzy preukázali, že aj na zraniteľných horských lokalitách na chladnejších a vlhkejších severných expozíciách Tatier dlhodobo rastú minimálne aj maximálne teploty vzduchu, ubúda dní s mrazom a naopak pribúda dní prispievajúcich k vlnám horúčav. Bol tiež zistený mierny nárast počtu dní s výdatnejšími zrážkami (nad 20 mm). Rok 2022 však na týchto lokalitách nebol extrémne suchý ani v kritickom mesiaci júl, kedy na mnohých oblastiach Slovenska prevládalo významné sucho s jasnými symptómami na lesnej vegetácii (žltnutie, hnednutie, až predčasný opad asimilačných orgánov). Vďaka kontinuálnemu prísunu zrážok počas vegetačnej sezóny 2022, čo sa



prejavilo aj na priaznivých hodnotách vodného potenciálu pôdy, sa v dendrometrických meraniach nepreukázala negatívna ekofyziologická odozva ani u jednej z monitorovaných drevín (smrek, jedľa, javor horský).

*Kľúčové slová: horské lesy, klimatický stres, sucho, prírastok, Tatry*

## ÚVOD

V súvislosti s recentnou zmenou klímy dochádza k nežiadúcemu zintenzívneniu procesov ako je nárast teplôt, výparu, prehlbovanie aridizácie krajiny, častejší výskyt extrémov, lesných požiarov, povodní a ďalších sprievodných prírodných rizík. Správa Svetovej meteorologickej organizácie (WMO) o stave globálnej klímy za rok 2022 poukázala na ďalšie pokračovanie bezprecedentných zmien v terestrických aj vodných systémoch spôsobených rekordnými úrovňami koncentrácií skleníkových plynov v atmosfére. Úroveň CO<sub>2</sub> dosiahla hodnotu 415.7ppm ± 0.2, t.j. 149 % pred-industrialnej úrovne. Metán (CH<sub>4</sub>), ktorý je pri zachytávaní tepla v atmosfére 25-krát účinnejší ako oxid uhličitý dosiahol najväčší medziročný nárast - 18 ppb od roku 2020 do roku 2021. Roky 2015 až 2022 boli ôsmimi vôbec najteplejšími od začiatku meraní v roku 1850 /15/. V globálnej klimatickej štúdii /1/, bol fenomén kombinovaného zvyšovania teplôt vzduchu a prehlbujúceho sa sucha (*hotter drought*) označený za historicky novodobú vývojovú epochu – antropocén. Dôsledky zmeny klímy a klimatického stresu sa už dlhšie prejavujú aj na stave lesných porastov v strednej Európe. V období rokov 1986 and 2016, bolo 17 % európskych lesov zasiahnutých prírodnými a/alebo antropogénnymi disturbanciami /10, 12/.

Územie Tatranského národného parku (TANAP-u), obzvlášť jeho severná časť v oblasti Tatranskej Javoriny, je unikátne nielen svojimi jedinečnými a pestrými prírodnými podmienkami, ale aj lesníckou históriou a antropogénnou činnosťou. Dodnes sa tu z minulosti zachovávajú stopy často devastujúceho vplyvu človeka na lesné a horské prostredie (rozsiahle pastvy, drancovanie lesov, živelná ťažba, baníctvo atď.). Ochranné lesy, ktoré majú nezastupiteľnú pôdochrannú a vodoochrannú funkciu, dnes zaberajú až 94 % územia. Veľkú časť javorinskej oblasti tvoria v súčasnosti 3 národné prírodné rezervácie (NPR Belianske Tatry, Bielovodská a Javorová dolina). Dlhodobu sa tu preto stretávajú záujmy ochrany prírody, aktívneho a pasívneho lesníckeho manažmentu, či rôznych foriem turizmu. Vysokohorské ekosystémy sú v tejto časti Tatier mimoriadne zraniteľné vzhľadom na sklonitý reliéf, rozmanité a špecifické geologické podložie, ale tiež významne vyššie úhrny zrážok v porovnaní s južnou stranou /4/. Za ostatných 30 rokov prešlo toto územie dynamickými zmenami lesných ekosystémov a stále frekventovanejšie sa prejavujú dôsledky zmeny klímy, ako je buď pretrvávajúce sucho alebo naopak extrémne prívalové zrážky, s rýchlym odtokom, následnou eróziou pôdy, zosuvmi svahov či deštrukciou líniových prvkov, ciest, chodníkov a vodných tokov /6/, podobne ako aj v iných horských oblastiach Európy /9, 11/.

Projekt aplikovaného výskumu s názvom „Integrovaný lesnícko-ekologický výskum vzácnych horských lesov v oblasti Tatier (akronym FORECALL)“, sa opiera viacerými nosnými tématickými piliermi a problémami koncentrovanými na územie Tatier: prírodné disturbancie, extrémny klímy, pokalamitná dynamika horských lesov, zmeny v zásobách uhlíka, narušený vodný režim, deštrukčné procesy povrchov a podobne. Témy sa riešia na rôznych

geopriestorových úrovniach s využitím údajov DPZ (satelitné, letecké snímky LiDAR pozemný aj letecký), rôznych dostupných geodatabáz (lesnícke databázy, lesohospodárska evidencia atď) ako aj z vyhodnotenia vlastných pozemných meraní a zisťovaní na bodových objektoch.

Cieľom príspevku je teda nielen predstavenie vybraných výskumných aktivít realizovaných v Tatrách v rámci projektu, ale aj zhodnotenie rôznych typov údajov z vlastných meraní a klimatických databáz. Analyzujeme dlhodobé klimatické a hydrologické trendy, aktuálne pôdne a meteorologické merania za rok 2022, ako aj prvé výsledky dendrometrických meraní prevádzkovaných v pokalamitných mladinách pochádzajúcich z kombinovanej obnovy lesa.

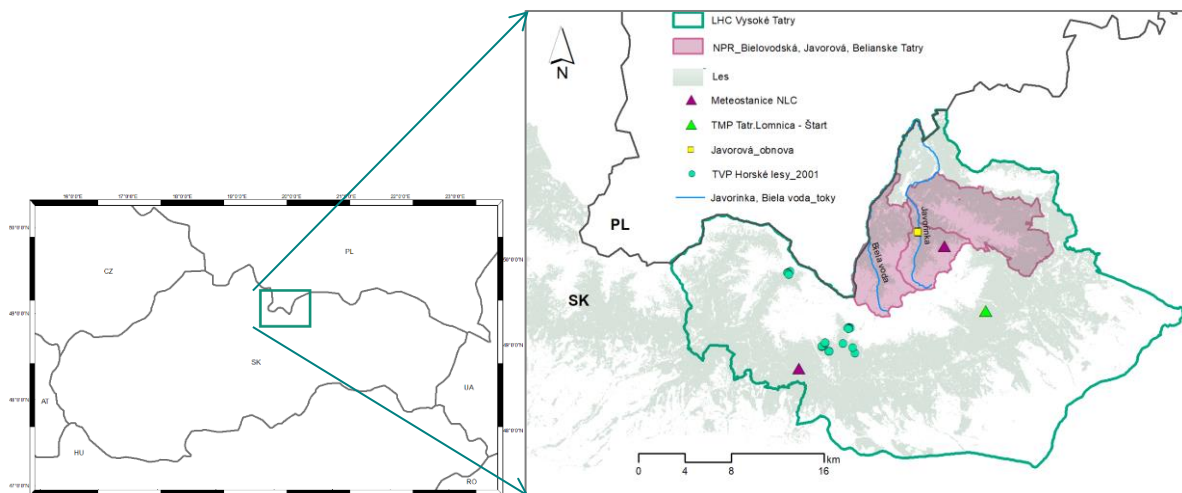
## MATERIÁL A METÓDY

Terestrické prieskumy a monitoring realizujeme na území Tatier na viacerých typoch výskumných plôch (trvale výskumné plochy horských lesov, typologické reprezentatívne plochy, meteorologické stanice, sledovanie rastu v pokalamitnej obnove, trvalá monitorovacia plocha – TMP) (obr. 1). V predloženom príspevku prezentujeme len malú časť výsledkov zameraných prioritne na zhodnotenie klímy, hydrologických, meteorologických a prírastkomerných dát.

Pre zhodnotenie dlhodobých klimatických trendov na uvedených výskumných lokalitách v Tatrách sme využili voľne dostupné klimatické databázy E-OBS (European Observation dataset for gridded daily data), z ktorých sme v rozlíšení  $0,1^\circ$  extrahovali časové rady denných premenných, ako je denný úhrn zrážok (R), priemerná (TM), minimálna (TN) a maximálna (TX) denná teplota vzduchu /2/. Tieto vstupné klimatické údaje nám umožnili v prostredí R /8/ a s balíkom ClimPACT2, verzia 3.1.3 /3/ odvodiť databázu množstva klimatických indexov aj so štatistickým hodnotením trendov, ktoré súhrnne popisujú klímu záujmových lokalít v období za viac ako 7 desaťročí (1950 – 2022).

Čo sa týka vlastných podporných meteorologických meraní, od roku 2013 kontinuálne monitorujeme vývoj meteorologických prvkov na dvoch staniciach v oblasti Tatier: Rakytovské plieska (1,260 m n.m.) a na Kolovom plese (1,560 m n.m.). Na merania sa využívajú automatické meteorologické stanice spoločnosti Environmental Measuring Systems (EMS Brno, CZ) s výškou meraní prvkov v 2 m. Interval meraní je 2 minútový a ukladanie do datalógera prebieha každých 10, prípadne 30 minút. Prenos údajov online je možný len zo stanice Rakytovské plieska, nakoľko na stanici Kolové pleso nie je dostatočné pokrytie signálom. Operatívne dáta sú pravidelne prenášané, archivované a graficky vizualizované na webovej stránke integrovaného lesníckeho meteorologického monitoringu na Slovensku ([www.forestweather.sk](http://www.forestweather.sk)), kde je dostupný aj detailnejší opis metodiky meraní a charakteristika stanovištných podmienok oboch lokalít. Na vybraných plochách monitorujeme tiež v hodinovom intervale buď vodný potenciál pôdy (bar, MPa) alebo objemovú vlhkosť pôdy (%) a to prístrojmi s integrovaným datalógerom MicroLog SP3 alebo SDI MP v kombinácii so sadrovými bločkami GB2 alebo senzormi SMT-100 (EMS Brno, CZ).

Na lokalite v Javorovej doline je od mája roku 2022 inštalovaný automatický zrážkometer (model Pronamic PRO s datalógerom Minikin ERi) lokalizovaný v nadmorskej výške ca 1,200 m n. m.. Ide o získavanie doplnkových zrážkových údajov ku meraniam hrúbkového prírastku drevín v pokalamitnej kombinovanej obnove lesa, ktoré na tejto lokalite realizujeme. Spolu tu bolo v roku 2022 nainštalovaných 18 ks páskových automatických dendrometrov vybavených datalógerom DRL26 (EMS Brno, CZ), po 6 kusov na každú drevinu (smrek, javor, jedľa). Interval merania je 1 hodina. Vek porastov z umelej a prirodzenej obnovy je približne 10 rokov pre jedľu a javor a ca 30 rokov pre drevinu smrek.



Obr. 1: Mapa záujmového územia Tatier a poloha výskumných plôch a objektov

Pre zhodnotenie dlhodobého vývoja hydrologickej situácie v javorinskej oblasti Tatier boli použité údaje Slovenského hydrometeorologického ústavu (SHMÚ), konkrétne hodnoty priemerných denných prietokov na dvoch tokoch: Ždiar-Lysá Poľana, Biela voda (966 m n. m.) a Ždiar-Podspády, Javorinka (908 m n. m.). Oba toky spadajú do hlavného povodia rieky Visla, pričom dĺžka toku Biela voda je 7,5 km (s plochou povodia 63,8 km<sup>2</sup>) a dĺžka toku Javorinka je 5,22 km (s plochou povodia 34,9 km<sup>2</sup>). Údaje boli spracované za obdobie 1960 – 2022 (Javorinka), resp. 1971 – 2022 (Biela voda). Za hydrologický rok je pritom štandardne považované obdobie od 1. novembra aktuálneho roku do 31. októbra následného roku. Taktiež boli pre komparáciu a overovanie vlastných meteorologických meraní použité denné údaje o teplotách a zrážkach v období 1961–2022 z klimatologickej stanice Tatranská Javorina (SHMÚ), lokalizovanej v nadmorskej výške 1,013 m n. m.

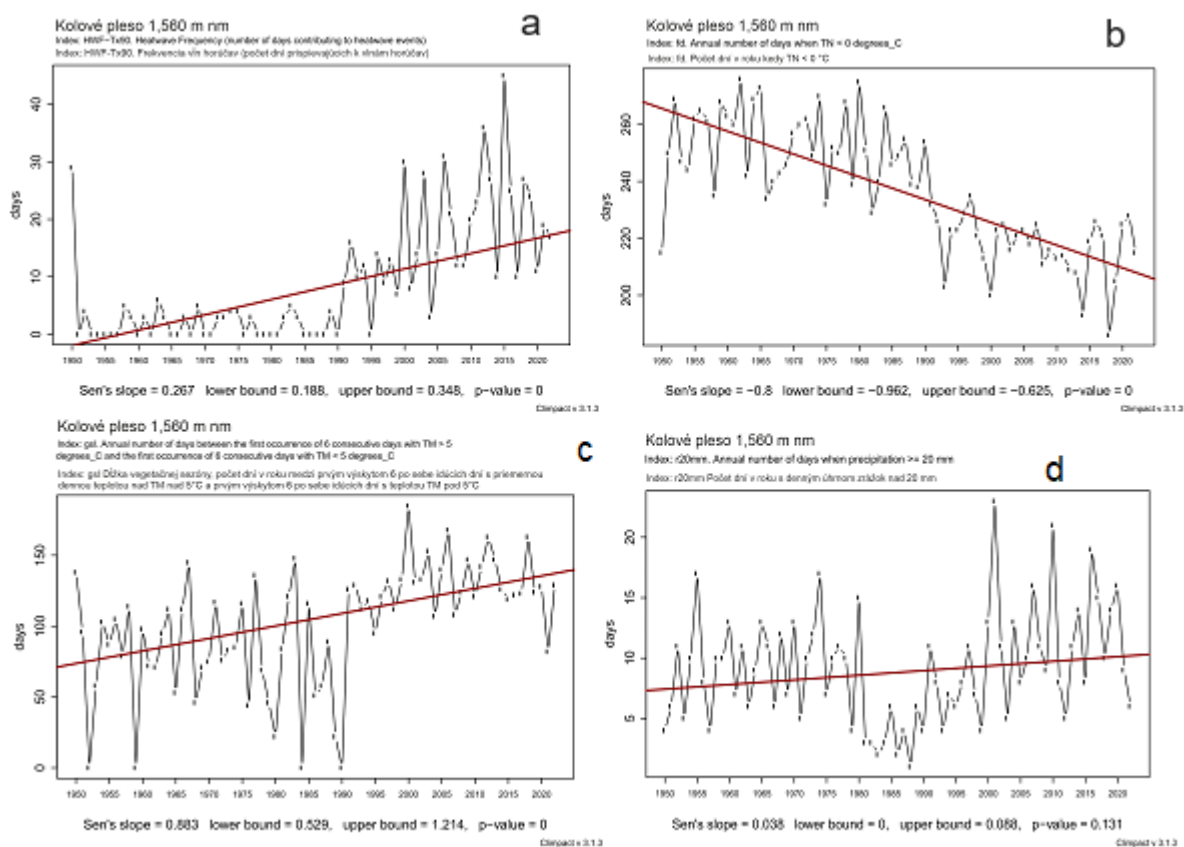
## VÝSLEDKY A DISKUSIA

### *Dlhodobé klimatické trendy*

Pre analýzu dlhodobých zmien vo vývoji klímy v Tatrách sme využili časové rady klimatických dát extrahovaných z gridovej klimatickej databázy E-OBS s rozlíšením 0.1° a interpolovaných pre horskú lokalitu Kolové pleso v nadmorskej výške 1,560 m n. m. (kosodrevinový vegetačný stupeň). Grafické znázornenie trendov v období od 1950–2022 pre 4 vybrané klimatické indexy prináša obr. 2.

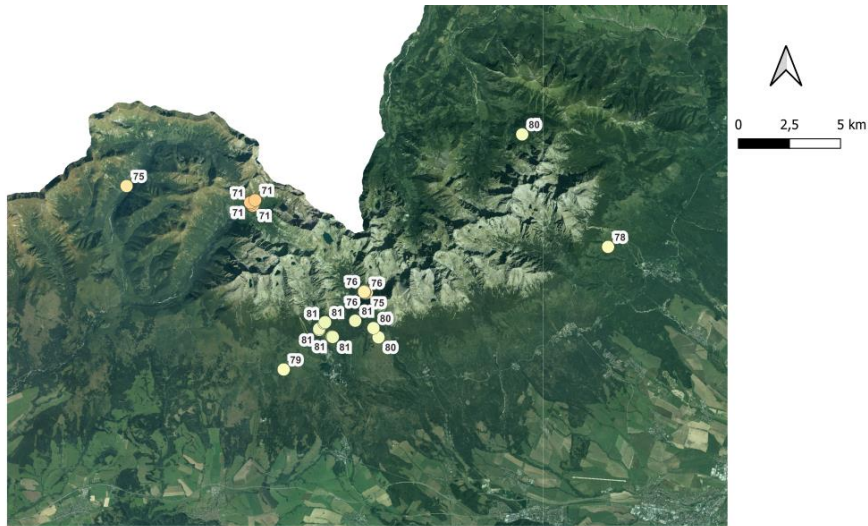
Index frekvencie výskytu vln horúčav (HWF – heatwave frequency) nadobúda na tejto lokalite so spoľahlivosťou 95% významne rastúci trend ( $p=0,000$ ) (obr. 2a). Znamená to, že rastie počet dní v roku, ktoré svojou maximálnou teplotou prispievajú k výskytu HW udalostí (Perkins & Alexander, 2013). Z hľadiska vegetácie, ale aj iných organizmov a ich životné cykly (napr. hmyz) je nepriaznivým zistením aj skutočnosť, že dlhodobo významne klesá počet dní s mrazom v rámci roka. Potvrdzuje to trendová krivka vývoja indexu FD (frost days), ktorá ukazuje na signifikantný pokles počtu dní s minimálnou dennou teplotou (TN) nižšou ako 0 °C (obr. 2b). Minimálne denné teploty vzduchu sú teda stále vyššie. Zároveň sa významne predlžuje trvanie vegetačného obdobia, o čom svedčí významný nárast ukazovateľa GSL (growing season length). Index GSL predstavuje počet dní v roku medzi prvým výskytom 6 po sebe idúcich dní s priemernou dennou teplotou (TM) nad 5 °C a prvým výskytom 6 po sebe idúcich dní s teplotou TM pod 5 °C (obr. 2c). Na vzostup výdatnejších úhrnov zrážok za ostatné desaťročia poukazuje trend mierneho nárastu počtu dní v roku, kedy bol dosiahnutý alebo prekročený denný úhrn zrážok 20 mm (index r20mm). Ukazovateľ síce nebol významný na 5% hladine významnosti, ale so spoľahlivosťou približne 86%

signalizuje, že počas rokov 1950 – 2022 pribúda dní s vyšším objemom zrážok za 24 hodín (heavy precipitation days) (obr. 2d).



Obr. 2: Trend vývoja vybraných klimatických indexov na stanici Kolové pleso v Tatrách (1560 m n. m.) odvodených na základe denných údajov z klimatickej databázy E-OBS za obdobie 1950–2022 a/ HWF - Frekvencia výskytu „heatwave“, tj počet mimoriadne teplých dní v roku, ktoré prispievajú k vlnám horúčav; b/ FD - Počet „mrazových“ dní v roku, v ktorých minimálna denná teplota (TN) klesne pod nulu; c/ GSL - Dĺžka vegetačnej sezóny, tj. počet dní v roku v období medzi prvým výskytom 6 po sebe idúcich dní s priemernou dennou teplotou (TM) nad  $5^{\circ}\text{C}$  a prvým výskytom 6 po sebe idúcich dní s teplotou  $TM$  pod  $5^{\circ}\text{C}$ ; d/ R20mm - počet dní v roku s denným úhrnom nad 20 mm (heavy precipitation days).

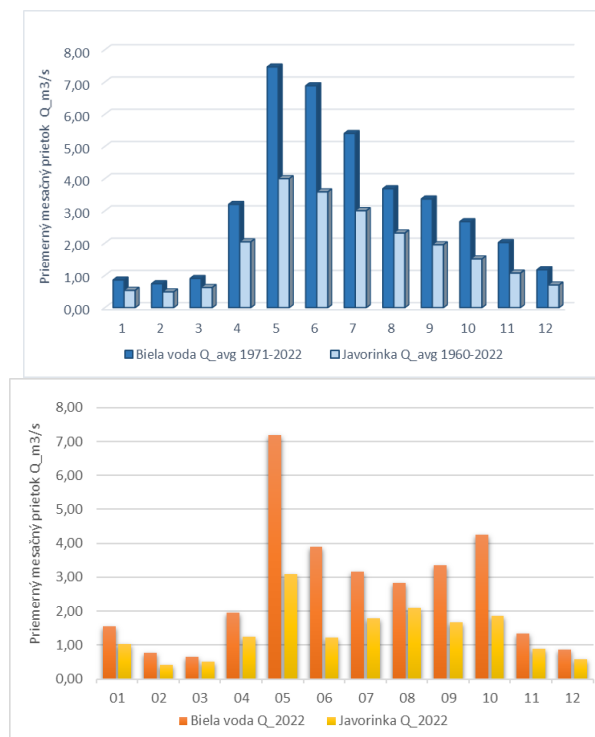
Čo sa týka zhodnotenia zrážkovej situácie v roku 2022, mapa na obr. 3 ukazuje, že na území Tatier percento normálu zrážok (RR%) v letných mesiacoch (VI–VIII) roku 2022 oproti dlhodobému priemeru 1951 – 2021 dosiahlo hodnotu od 71 do 81%. Deficit zrážok tu teda podľa údajov z klimatickej databázy E-OBS bol približne na úrovni 20 až 30%. Na lokalite Kolové pleso bol letný deficit zrážok 20% (RR%=80), o niečo vyšší bol zistený na plochách horských lesov v oblasti Temných smrečín v závere Kôprovej doliny (29%).



Obr. 3: Percento normálu zrážok (RR%) v letných mesiacoch (VI–VIII) roku 2022 oproti dlhodobému priemeru 1951–2021 na výskumných plochách v Tatrách na základe denných údajov z klimateckej databázy E-OBS

**Analýza hydrologických údajov**

Pre zhodnotenie vývoja hydrologickej situácie sme na báze dát SHMÚ zostavili graf dlhodobého vývoja priemerných mesačných prietokov na dvoch tokoch v javorinskej oblasti Tatier: Ždiar-Lysá Poľana, Biela voda (966 m n.m.) a Ždiar-Podspády, Javorinka (908 m n.m.) (obr. 4).



Obr. 4: Dlhodobé priemerné mesačné prietoky (m<sup>3</sup>.s<sup>-1</sup>) na dvoch hydrologických staniách SHMÚ v oblasti severnej strany Tatier (Ždiar-Lysá Poľana, Biela voda a Ždiar-Podspády, Javorinka, obe v povodí Visla) za obdobie 1960–2022 (Javorinka) a 1971–2022 (Biela voda) a osobitne v roku 2022

Vidíme, že prietoky na toku Lysá Poľana-Biela voda dosahujú celoročne vyššie hodnoty v každom mesiaci v porovnaní s tokom Podspády-Javorinka. Dlhodobý priemerný ročný prietok na toku Javorinka je  $1,82 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$  (za obdobie 1960 – 2022) a  $3,20 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$  na toku Biela voda (1971 – 2022).

Najvyššie priemerné denné prietoky na toku Biela voda boli zaznamenané v dňoch 15. mája 2014 ( $84,4 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$  veterná smršť Žofia), 19. júla 2018 ( $59,3 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$  - ničivá povodeň), ale aj 8. júla 1997 ( $78,2 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ ) alebo 29. júna 1973 ( $83 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ ). Na toku Javorinka boli najvyššie priemerné denné prietoky namerané dňa 30. júla 1973 ( $36,5 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ ) a 23. júla 2008 ( $33,7 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ ).

V roku 2022 sa denné prietoky pohybovali v rozsahu  $0,5\text{--}13,0 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$  (Biela voda, denné maximum dosiahnuté  $13,5$ ) a  $0,35\text{--}6,5 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$  (Javorinka, maximum dosiahnuté  $22,8$ ), nemožno ho teda považovať za hydrologicky extrémny, ani suchý. Pre územie Slovenska bol zistený priemerný zrážkový úhrn  $623 \text{ mm}$  v hydrologickom roku 2022, čo predstavuje  $84 \%$  dlhodobého zrážkového normálu /5/.

V súvislosti s mimoriadnymi hydrologickými udalosťami v júli 2018, naše meteorologické merania ukázali, že v kritické dni (17.–19.7. 2018) bola na Kolovom plese v nadmorskej výške cca  $1,560 \text{ m n.m.}$ , zachytená suma zrážok  $196,8 \text{ mm}$  (za 72 hodín). Z tohoto objemu takmer  $160 \text{ mm}$  zrážok padlo v priebehu približne 8 hodín, medzi 17:00 hodinou (18.7.) a 02:00 (19.7.), kedy intenzita zrážok gradovala. Podľa práce /14/ bolo toto územie v minulosti vystavené trom významným povodňovým udalostiam, a to v rokoch 1958, 2008 a 2018. Napriek o niečo nižšiemu úhrnom v roku 2018 oproti tým v roku 2008, kedy padlo až  $260 \text{ mm}$  zrážok za 3 dni, boli dôsledky v území pri posledných udalostiach v 2018 oveľa ničivejšie. V súvislosti s tým sa v lesníckej prevádzke dlhodobo poukazuje na negatívny vplyv bezzásahovosti územia, vysokého množstva odumretých porastov (stojacich aj ležiacich) a neudržiavanie vodných tokov na zhoršujúci sa vodný a pôdny režim územia /13/.

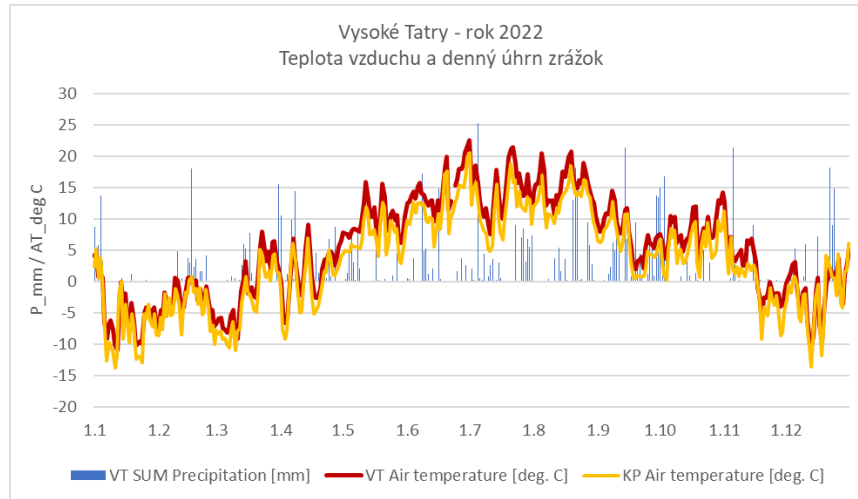
### ***Meteorologické a pôdne merania v roku 2022***

S ohľadom na klimatologicky zaujímavý rok 2022, v ktorom na viacerých miestach na Slovensku bolo zaznamenané extrémne suchu v kombinácii s vlnami horúčav (najmä v počas mesiacov júl a august 2022), sme sa aj v tomto príspevku zamerali na vyhodnotenie vlastných meteorologických údajov za rok 2022 pre stanice Tatry juh - Rakytovské plieska  $1,260 \text{ m n.m.}$  a Tatry sever - Kolové pleso  $1,560 \text{ m n.m.}$ ). Meteorologické merania ukázali, že teplota vzduchu v roku 2022 sa na lokalite Rakytovec (Tatry juh, zrážkový tieň) pohybovala v absolútnom rozpätí  $-16,4^\circ\text{C}$  až  $31,0^\circ\text{C}$ . Priemerná ročná teplota dosiahla hodnotu  $5,3^\circ\text{C}$ , vlhkosť vzduchu  $79\%$  a ročný úhrn zrážok  $755,4 \text{ mm}$ . Pre porovnanie ročný úhrn zrážok v Tatranskej Javorine bol podľa meraní SHMÚ o takmer tretinu vyšší ( $1022,8 \text{ mm}$  za rok a  $671,5 \text{ mm}$  vo vegetačnom období), čo je pre severné, náveterné polohy Tatier typické. Na lokalite Kolové pleso varírovali v roku 2022 hodnoty teploty vzduchu v rozsahu  $-17,2$  do  $26,7^\circ\text{C}$  (priemer  $2,8^\circ\text{C}$ ) (obr. 5).

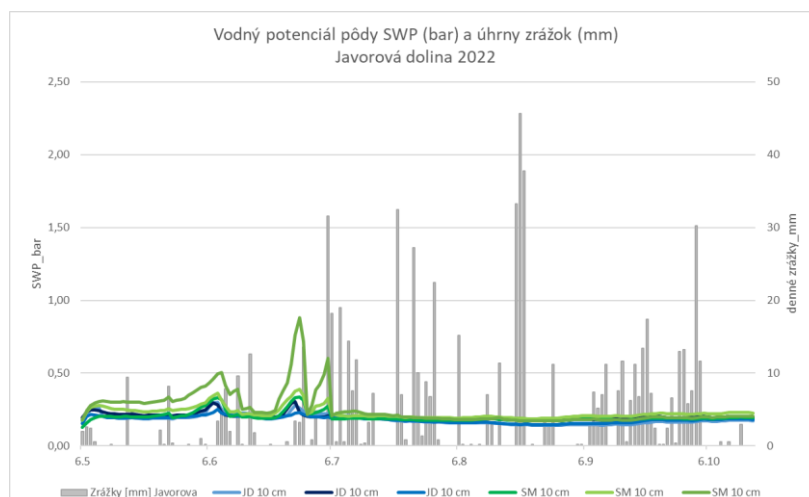
Čo sa týka zhodnotenia vlhkostných pomerov v pôde, merania vodného potenciálu pôdy v Javorovej doline preukázali celkovo priaznivú vlhkosť pôdy v celej vegetačnej sezóne 2022 (obr. 6), s miernym, nevýznamným nárastom sucha len začiatkom júna a júla, a skôr v smrekovom poraste (max do hodnoty  $0,88 \text{ bar}$ ), zrejme v dôsledku vyššej intercepcie zrážok. Na významnejšie pôdne suchu by poukazovali hodnoty blížiacie sa k  $15 \text{ barom}$  (limit senzora), takáto situácia však na tejto lokalite vôbec nenastala.

Automatický zrážkometer v Javorovej doline zaznamenal dostatočný úhrn zrážok  $716,4 \text{ mm}$  v období 6.5. - 17.10. 2022, pre ktoré sme zároveň vyhodnocovali sezónny prírastok mladín, pričom denné maximum bolo namerané 21. augusta ( $45,6 \text{ mm}$ ). Deň maximálneho denného úhrnu korešponduje s maximálnym prietokom nameraným na toku Ždiar –Javorinka. V rovnakej perióde (máj – október) bol na klimatologickej stanici v Tatranskej Javorine (SHMÚ) nameraný porovnateľný úhrn zrážok ( $647,2 \text{ mm}$ ) ( $R^2=0,76$ ). Naše merania zrážok v

Javorovej doline ukázali mesačný úhrn zrážok v júli 2022 v hodnote 237,2 mm. Na nižšie položenej stanici (SHMÚ) v Tatranskej Javorine bol za mesiac júl zistený úhrn 187,3 mm. Pri známej priestorovej variabilite zrážok značne ovplyvňovanej orografickými efektami reliéfu je možno tieto údaje považovať za spoľahlivé a porovnateľné. Júl 2022 bol teda v tejto oblasti zrážkovo normálny až nadnormálny, čo potvrdzujú informácie aj mapové výstupy dostupné v Bulletin SHMÚ Meteorológia a Klimatológia.



Obr. 5: Priemerné denné teploty vzduchu na staniaciach Rakytovské plieska (VT juh) a Kolové pleso (KP sever) za rok 2022. Prezentaované sú denné úhrny zrážok (mm) namerané na stanici Rakytovské plieska (755,4 mm za rok).

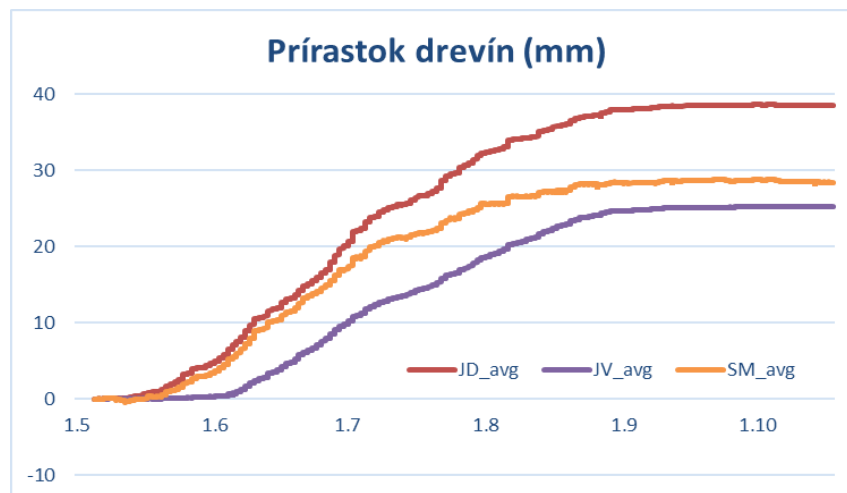


Obr. 6: Vývoj vodného potenciálu povrchovej vrstvy pôdy (hlbka -10 cm) v porastoch kombinovanej obnovy smreka (SM, zelené čiary) a jedle s javorom (JD, modré čiary) a denných úhrnov zrážok v Javorovej doline v období máj až október 2022

### Dendrometrické merania

V rámci sledovania pokalamitného vývoja kombinovanej (umelej a prirodzenej) obnovy lesa v mladých porastoch vo vzťahu ku klimatickým faktorom a k intenzite výchovných zásahov boli zhodnotené prvé údaje o hrúbkovom prírastku vybraných lesných drevín za obdobie od 5.5.2022 do 18.10.2022. Pribeh kumulatívneho rastu 3 drevín v roku 2022 vidíme na obr. 7. Najvyšší prírastok sme v tejto vegetačnej sezóne zaznamenali u jedle (38,6

mm), potom u smreka (28,9 mm) a najnižší u javora horského (25,3 mm). Vzhľadom na dostatočný a priebežný prísun zrážok počas sezóny 2022, ako bolo ukázané vyššie, sme nezaznamenali významnú rastovú odozvu meraných stromov na sucho alebo klimatický stres.



Obr. 7: Sezónny hrúbkový prírastok smreka (SM), jedle (JD) a javora (JV) v mladých porastoch kombinovanej obnovy v Javorovej doline v období máj až október 2022. Prezentačný je priemer prírastkov zo 6 stromov z každej dreviny na základe údajov nameraných v hodinovom intervale

## ZÁVER

Dôvodom pre komplexný ekologicko-lesnícky výskum realizovaný v rámci projektu FORECALL sú dlhodobé interakcie rôznych nepriaznivých faktorov kumulovaných v území (postupný rozpad a obnova lesov, plošné aj líniové deštrukcie povrchov a pôdy, extrémny klímy, zmeny v biodiverzite atď.), ktorých synergické pôsobenie nie je v tomto území stále dostatočne vedecky preukázané. Existuje potreba získavania kvalitných argumentov založených na výskume pre potreby lesníckeho manažmentu v chránenom území. Našou ambíciou je vedeckými výsledkami aspoň čiastočne prispieť k získaniu nových poznatkov v oblasti konzekvencií zmeny klímy na lesné ekosystémy a k lepšiemu prepájaniu záujmov lesníckeho manažmentu územia a ochrany prírody.

Analýzy dlhodobých trendov klímy preukázali, že aj na zraniteľných horských lokalitách na štandardne chladnejších a vlhkejších severných expozíciách Tatier (horná hranica lesa) rastú minimálne aj maximálne teploty vzduchu, ubúda dní s mrazom a naopak pribúda dní prispievajúcich k vlnám horúčav a tiež dní s výdatnejšími zrážkami (nad 20 mm). Potvrďuje to známe skutočnosti o postupnej zmene časovej distribúcie zrážok počas roka. Rok 2022 však konkrétne na týchto sledovaných lokalitách nebol extrémne suchý ani v kritickom mesiaci júl, kedy na mnohých oblastiach Slovenska prevládalo významné sucho s jasnými prejavmi na lesnej vegetácii (žltnutie, hnednutie až predčasný opad asimilačných orgánov). Najvyšší denný úhrn zrážok (45,6 mm) bol v Javorovej doline zaznamenaný 21. augusta 2022, čo korešponduje s maximálnym denným prietokom zaznamenaným dňa 22. augusta na toku Podspády-Javorinka (6,5 m<sup>3</sup>.s<sup>-1</sup>). Prírastok lesných drevín v mladých vývojových štádiách (10-30 rokov) nebol v roku 2022 významnejšie redukovaný. Pre spoľahlivé zhodnotenie rastovej odozvy drevín na klimatický stres a pôdne sucho však budú potrebné analýzy dlhobojších radov údajov.

## LITERATÚRA



- /1/ Allen, C. D., Breshears, D. D., McDowell, N. G.: On underestimation of global vulnerability to tree mortality and forest die-off from hotter drought in the Anthropocene. *Ecosphere*, 6(8), 2015:129. <http://dx.doi.org/10.1890/ES15-00203.1>
- /2/ Cornes, R., van Der Schrier, G., van Den Besselaar, E.J.M, Jones, P.D.: An Ensemble Version of the E-OBS Temperature and Precipitation Datasets. *Journal of Geophysical Research Atmosphere*, 123. doi:10.1029/2017JD028200
- /3/ Herold, N., Alexander, L.: ClimPACT2. A software tool for calculating climate extremes indices. 2016. Dostupné online: <https://www.r-project.org/>.
- /4/ Konček, M. a kol.: Klíma Tatier. Veda Bratislava, 1974: 856 s.
- /5/ Kotriková, K., Blaškovičová, L., Jeneiová, K., Liová, S., Podolinská, J., Slivková, K., Síčová, B.: Hydrologický rok 2022 v kocke. *Aktuality SHMÚ*. 10.5.2023: <https://www.shmu.sk/sk/?page=2049&id=1336>
- /6/ Midriak, R.: Quantitative analysis of natural hazards in the eastern part of the Slovak Tatra Mountains and their foreland. *Studia Geomorphologica Carpato-Balcanica*, vol. LI/LII, 2017/2018: 139–154.
- /7/ Perkins, S. E., Alexander, L.V.: On the Measurement of heatwaves. *Journal of Climate*, 26, 2013: 4500–4517.: <http://dx.doi.org/10.1175/JCLI-D-12-00383.1>
- /8/ R Core Team: R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, 2023. <https://www.R-project.org/>
- /9/ Sebold, J., et al.: The effects of forest cover and disturbance on torrential hazards: large-scale evidence from the Eastern Alps. *Environmental Research Letters*, 14, 2019: 114032. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/ab4937>
- /10/ Senf, C., Seidl, R.: Mapping the forest disturbance regimes of Europe. *Nature Sustainability*, Nature, 4(1), 2021: 63–70. <https://doi.org/10.1038/s41893-020-00609-y>
- /11/ Scheidl, C. Heiser, M. Kamper, S. et al.: The influence of climate change and canopy disturbances on landslide susceptibility in headwater catchments. *Science of the Total Environment*, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140588>
- /12/ Schelhaas, M.-J., Nabuurs, G.-J., and Schuck, A.: Natural disturbances in the European forests in the 19th and 20th centuries. *Global Change Biology*, 9, 2003: 1620–1633. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2486.2003.00684.x>
- /13/ Slivinský, J.: Prečo si nechávame ničť prírodné dedičstvo?! Rozhovor. *Lesmedium, LES & Letokruhy* 09/2020. Dostupné online. <https://www.lesmedium.sk/les-letokruhy>
- /14/ Spitzkopf, P., 2019: Názor: Čo hrozí rok od poslednej povodne vo Vysokých Tatrách. *Lesmedium, LES & Letokruhy* 07/2019. Dostupné online: <https://www.lesmedium.sk/aktualne/nazor-co-hrozi-rok-od-poslednej-povodne-vo-vysokych-tatrach>
- /15/ WMO, 2023: State of the Global Climate 2022, Report of the World Meteorological Organization, WMO-No. 1316, 2023. [https://library.wmo.int/doc\\_num.php?explnum\\_id=11593](https://library.wmo.int/doc_num.php?explnum_id=11593)

## Pod'akovanie

Príspevok vznikol vďaka podpore Agentúry na podporu výskumu a vývoja na základe zmlúv APVV–20–0365 (FORECALL) a APVV–20–0168 (DEAWOO) a tiež z prostriedkov úlohy výskumného zámeru „Adaptačný potenciál drevín pri príprave lesov Slovenska na zmenu klímy – TreeAdapt“ financovaného v rámci kontraktu medzi MPRV SR a NLC.

## VPLYV POČASIA NA ÚRODU PŠENICE OZIMNEJ

### *THE EFFECT OF WEATHER ON GRAIN YIELD OF WINTER WHEAT*

Miriám Kizeková, Ľubica Malovcová, Miroslava Apacsová- Fúzková, Norbert Britaňák,  
Mária Babulicová

Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, VÚRV – Ústav trávnych porastov a  
horského poľnohospodárstva, Mládežnícka 36, 974 21 Banská Bystrica,  
miriam.kizekova@nppc.sk

#### *Summary*

The objective of the paper was the analysis of data on daily mean temperature, precipitation, and winter wheat grain yield in a long-term experiment in Borovce during the period from 1985 to 2022. The results revealed a statistically significant ( $P < 0,05$ ) increasing trend of the mean daily temperature by  $0,01\text{ }^{\circ}\text{C}$ , while annual sum of precipitation has been statistically non-significant. A regression analysis showed that increasing mean daily temperature had a non-significant negative effect on winter wheat production, while precipitation contributed positively to winter wheat grain yield.

*Key words: temperature, precipitation, winter wheat, long-term experiment, climate change*

#### *Souhrn*

Cieľom príspevku bola analýza údajov o priemernej dennej teplote, zrážkach a úrode pšenice ozimnej na dlhodobom pokuse v Borovciach v období 1985 až 2022. Výsledky potvrdili štatisticky významný ( $P < 0,05$ ) stúpajúci trend priemernej ročnej teploty o  $0,01\text{ }^{\circ}\text{C}$ , zatiaľ čo zmeny v ročnom úhrne zrážok neboli štatisticky preukazné. Regresná analýza ukázala, že stúpajúca priemerná teplota nepreukazne negatívne ovplyvnila produkciu pšenice ozimnej, zatiaľ čo zrážky pozitívne prispeli k úrode pšenice ozimnej.

*Klíčová slova: teplota, zrážky, pšenica ozimná, dlhodobý pokus, klimatická zmena*

## ÚVOD

Pšenica letná forma ozimná (ďalej len pšenica ozimná) je najrozšírenejšou obilninou na svete. Na Slovensku sa pestuje vo všetkých regiónoch Slovenska a jej výmera predstavuje viac ako 50% z celkovej výmery hustosiatych obilnín. Produkciu pšenice ozimnej ovplyvňujú mnohé faktory ako sú pôdne podmienky, spôsob obrábania pôdy, hnojenie /1/. Hoci pšenica ozimná je plodina kontinentálnej klímy a je vhodná do teplejších a suchších podmienok /2/, súčasné obdobie klimatickej zmeny s výskytom nedostatku zrážok a obdobiami horúčav s extrémne vysokými teplotami predstavuje vážne riziko pre dosahovanie dostatočných úrod tejto plodiny. Cieľom príspevku bolo zhodnotiť vplyv priemernej ročnej teploty a úhrnu zrážok na úrodu pšenice ozimnej v časovom období 38 rokov.

## MATERIÁL A METODA

Dlhodobý stacionárny pokus bol založený v roku 1974 na výskumnom pracovisku Borovce pri Piešťanoch. Stanovište sa nachádza nadmorskej výške 167 m ( $48^{\circ}34'45,5''\text{N}$

17°43'47.5"E) v teplej agroklimatickej oblasti s dlhodobým úhrnom zrážok 567 mm a priemernou ročnou teplotou 9,7 °. Pôdny typ bola degradovaná černoziem vytvorená na spraši s neutrálnou až slabo kyslou pôdnou reakciou, stredným obsahom humusu v orníčovom profile a nízkym obsahom humusu v podorníčovom profile, strednou zásobou fosforu a draslíka. Pokus bol založený blokovoú metódou v štyroch opakovaníach. Do pokusu boli zaradené oševné postupy so 40 %, 60 % a 80 % podielom obilnín. Plodiny v jednotlivých oševných postupoch sú uvedené v tabuľke 1.

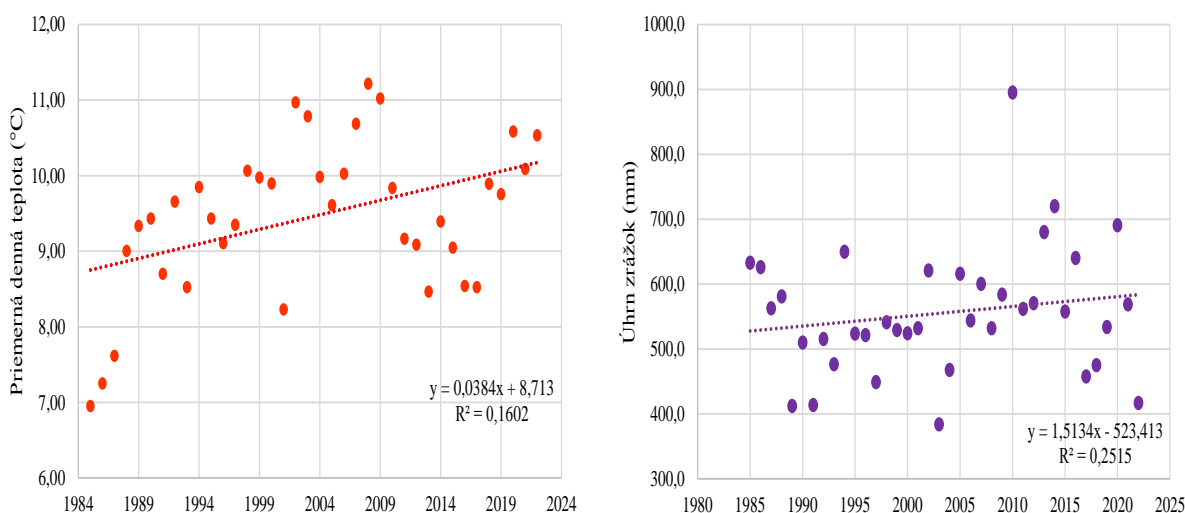
Tab. 1: Oševný postup s podielom obilnín 40%, 60% a 80%

40 % obilnín	60 % obilnín	80 % obilnín
1. hrach siaty	1. hrach siaty	1. pšenica letná f. ozimná
2. pšenica letná f. ozimná	2. pšenica letná f. ozimná	2. jačmeň siaty jarný
3. kukurica siata na siláž	3. jačmeň siaty ozimný	3. hrach siaty
4. jačmeň siaty jarný	4. kukurica siata na siláž	4. pšenica letná f. ozimná
5. kukurica siata na zrno	5. jačmeň siaty jarný	5. jačmeň siaty ozimný

Príprava pôdy pred založením pokusu bola vykonaná bežnými agrotechnickými postupmi. V pokuse boli sledované dve úrovne hnojenia. Úroveň hnojenia H1: organické hnojivo Veget v dávke 5 t.ha<sup>-1</sup> + minerálne hnojenie P a K bilančnou metódou, hnojenie N na základe obsahu N<sub>an</sub> v pôde /3/. Pri úrovni H2 boli použité len minerálne hnojivá. V príspevku bolo hodnotené obdobie 1984 – 2022. Výsledky boli vyhodnocované analýzou rozptylu ANOVA s následným testovaním preukaznosti rozdielov Kruskal-Walisovým LSD testom pri 95% hladine pravdepodobnosti ( $\alpha = 0,05$ ), korelačnou a jednoduchou lineárnou regresnou analýzou pomocou štatistického softvéru Statgraphics.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

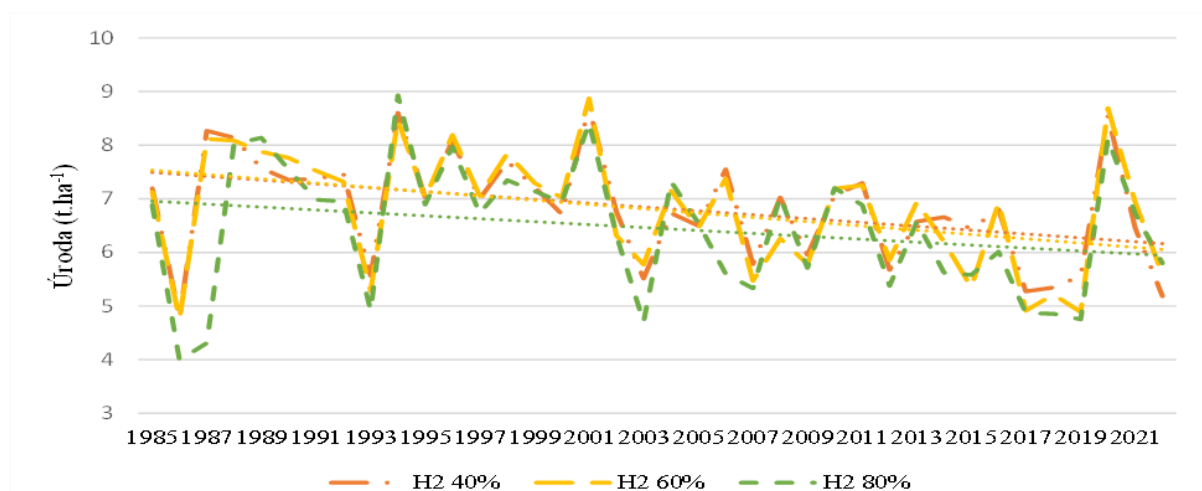
Vývoj priemerných ročných teplôt v lokalite Borovce za obdobie 1985 až 2022 ukazuje lineárny nárast priemernej dennej teploty o 0,01 °C ( $P < 0,05$ ). Najvyššie priemerné teploty boli namerané v rokoch 2002, 2003, 2007, 2008, 2009, pričom v roku 2008 predstavovala odchýlka od dlhodobého normálu (1981 – 2010) až +2,02 °C (graf 1).



Graf 1: Vývoj priemernej dennej teploty a úhrnu zrážok v období 1985–2022

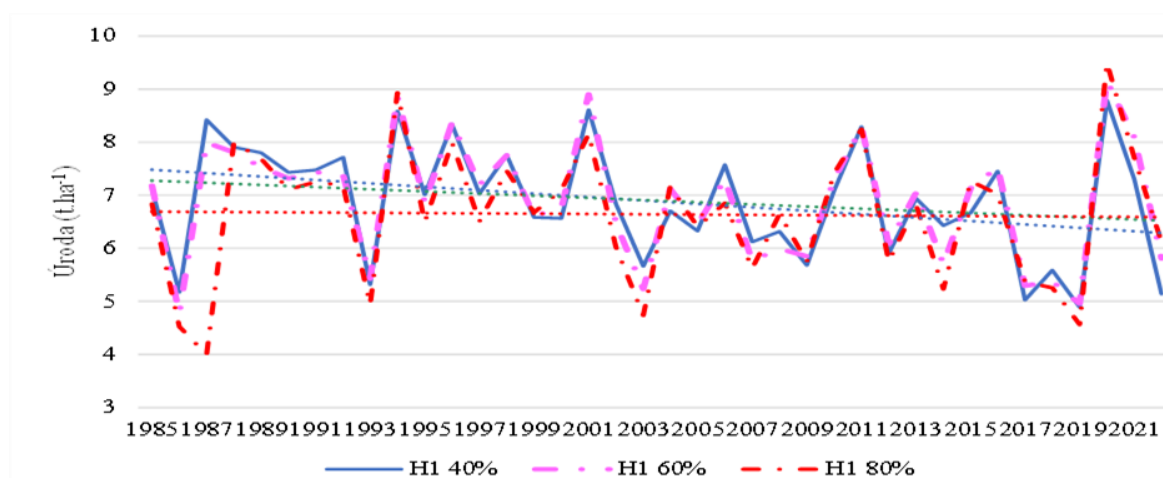
V sledovanom období boli zaznamenané aj podnormálne teploty. Konkrétne to boli roky 1985, 1986 a 1987, kedy odchýlka od dlhodobého normálu bola  $-2,75\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $-2,45\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $-2,08\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Z hľadiska vývoja ročných úhrnov zrážok nebol zaznamenaný štatisticky preukazný ( $P = 0,302$ ) trend zníženia zrážok v porovnaní s dlhodobým normálom 567 mm. Najvyšší úhrn zrážok bol zaznamenaný v roku 2010 (895 mm). Naopak najnižšie úhrny zrážok boli zistené v rokoch 2003 (384 mm), 2022 (417 mm) (graf 1). Nízkym úhrnom zrážok sa vyznačovali aj roky 2017 a 2018, kedy ročný úhrn zrážok bol o 20 % a 16 % nižší v porovnaní s dlhodobým normálom.

Počas sledovaného obdobia dosiahli porasty pšenice ozimnej v priemere najnižšiu úrodu v roku 1986 ( $4,67\text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ ), pričom úroda nižšia ako  $4\text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$  bola zaznamenaná na variantoch s 80 % zastúpením obilnín s minerálnym hnojením (graf 2).



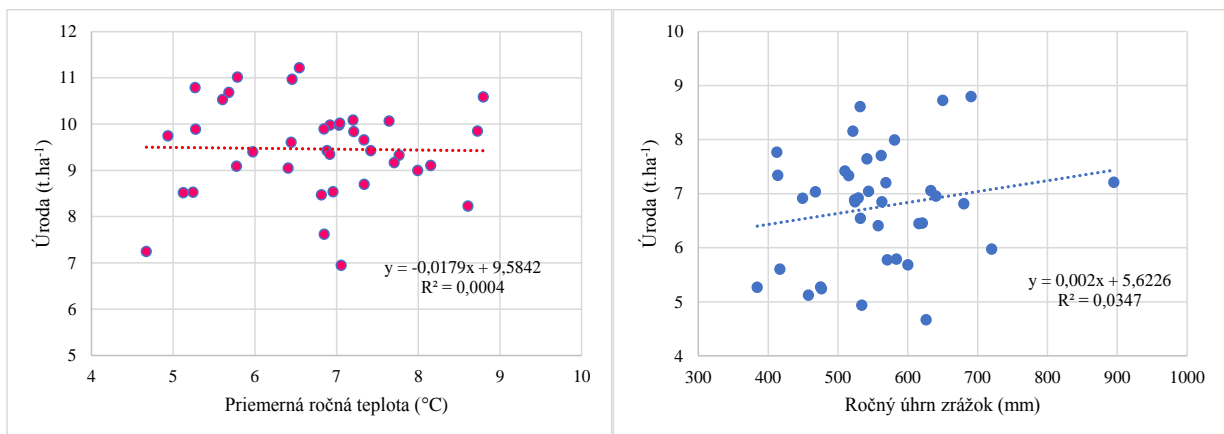
Graf 2: Úroda pšenice ozimnej pri hnojení minerálnym hnojivom

Nízkou úrodou sa vyznačovali zrážkovo podnormálne roky 2017, 2018 a 2019, kedy sa úroda pšenice ozimnej pohybovala od  $4,56\text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$  na porastoch s 80 % zastúpením obilnín a kombinovaným hnojením do  $5,59\text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$  na variantoch 40 % zastúpením obilnín a kombinovaným hnojením (graf 3).



Graf 3: Úroda pšenice ozimnej pri hnojení minerálnym a organickým hnojivom

Úroda pšenice ozimnej nad  $8 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$  bola evidovaná v rokoch 1994, 1996 a 2001. V uvedených rokoch bol ročný úhrn zrážok aj priemerná ročná teplota porovnateľná s dlhodobým normálom. Roky 1994 a 1996 sa vyznačovali aj vyrovnaným priebehom zrážok počas mesiacov apríl, máj a jún. Dostatočné zrážky a priemerná teplota vo fáze metania sú rozhodujúce pre tvorbu úrody pšenice ozimnej. Štatisticky preukazný vplyv dostatku zrážok v mesiaci apríl na úrodu pšenice ozimnej uvádzajú autori [3, 4]. Pri komplexnom hodnotení vzájomného vzťahu medzi priemernou dennou teplotou a úrodou pšenice ozimnej (graf 4) za obdobie rokov 1985 – 2022 bola zistená negatívna korelácia, avšak korelačný vzťah nebol štatisticky preukazný ( $r = -0,004$ ,  $P = 0,614$ ). Pozitívny vplyv zrážok na úrodu pšenice ozimnej korelácia bola pozorovaná medzi ročným úhrnom zrážok a úrodou pšenice ozimnej ( $r = 0,186$ ,  $P = 0,000$ ).



Graf 4: Hodnotenie vzťahu medzi priemernou ročnou teplotou a úrodou a ročným úhrnom zrážok a úrodou v období 1985 – 2022

## ZÁVĚR

V príspevku bol hodnotený vzťah medzi ročným úhrnom zrážok, priemernou ročnou teplotou a úrodou pšenice ozimnej za obdobie 38 rokov (1985–2022). V prípade priemernej dennej teploty a jej vplyvu na úrodu pšenice ozimnej bola zistená nepriama závislosť, ale bez štatistickej významnosti. Naopak ročný úhrn zrážok mal významnejší vplyv na úrodu pšenice ozimnej, aj keď hodnoty korelačného koeficientu boli nízke.

## LITERATURA

- /1/ Babulicová, M., Gavurníková, S.: Influence of fertilization and crop rotation on grain yield and quality of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). Agriculture (Poľnohospodárstvo), 67, 2021: 191-205.
- /2/ Bušo, R., Hašana, R.: Ozimné obilniny. /online/ 2023. /cit. 23.8.2023/. Dostupné na internete: <https://www.agroporadenstvo.sk/rastlinna-vyroba-obilniny?article=3048>
- /3/ Gandia, M.L., Del Monte, J.P., Tenorion, J.L. et al.: The influence of rainfall and tillage on wheat yield parameters and weed population in monoculture versus rotation systems. Scientific Reports, 11, 2021: 22138.
- /4/ Hlisnikovský, L., Ivičič, P., Barlóg, P., Grzebisz, W., Menšík, L., Kunzová, E.: The effect of weather and fertilization on grain yield and stability of winter wheat growing on orthic luvisol – analysis of long-term field experiment. Plants, 11, 2022: 1825.

## Poděkování

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory programu EÚ Horizon 2020 European Joint Programme for SOIL (EJP-SOIL), (Grant Agreement No. 862695).

## **VLIV ABIOTICKÝCH STRESORŮ NA PRODUKČNÍ VLASTNOSTI JABLONÍ**

### ***THE INFLUENCE OF THE ABIOTIC STRESSORS ON THE PRODUCTION CHARACTERISTICS OF APPLE TREES***

Tereza Bydžovská, Lukáš Maryška, Pavol Suran, Lubor Zelený

Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o., Holovousy 129,  
508 01 Holovousy, bydzovska@vsuo.cz

#### ***Summary***

In recent years, agriculture has faced increasing weather variability. This is evidenced by more frequent occurrences of drought, late spring frosts, a decrease in precipitation and changes in its distribution. The conditions of the external environment are important for the course of the phenophases of fruit species – they influence flowering and the subsequent productivity and quality of the harvest. It was found that a higher amount of precipitation had a positive effect on the set of flowers in the following year. In the same way, the higher sum of air temperatures from the previous year for the months of March to July had a positive effect on the size of the fruit set. The highest set of flowers and fruits was found in 2021 in the new breeding. The size of the fruit set also depended on the size of the harvest. However, it was higher for selected varieties in 2022. Apparently, during the period of bud formation and differentiation, the climatic conditions were more suitable and there was no frost damage to the flowers.

*Ke words: Malus, harvest, climate change, precipitation*

#### ***Souhrn***

V posledních letech čelí zemědělství stále vyšší proměnlivosti počasí. Důkazem toho jsou častější výskyty sucha, pozdních jarních mrazů, úbytek srážek a změny v jejich rozložení. Podmínky vnějšího prostředí jsou důležité pro průběh fenofází ovocných druhů – mají vliv na kvetení a následnou produktivitu a kvalitu sklizně. Bylo zjištěno, že vyšší úhrn srážek měl pozitivní vliv na násadu květů v následujícím roce. Stejně tak i vyšší suma teplot vzduchu z předchozího roku za měsíce březen až červenec měla pozitivní vliv na velikost násady plodů. Nejvyšší násada květů a plodů byla u novošlechtění zjištěna v roce 2021. Od velikosti násady plodů se dále odvíjela i velikost sklizně. Ta byla ale u vybraných odrůd vyšší v roce 2022. Zřejmě byly v období zakládání a diferenciacie pupenů vhodnější klimatické podmínky a nedošlo k mrazovému poškození květů.

*Klíčová slova: Malus, sklizeň, klimatické změny, srážky*

## **ÚVOD**

Dostupnost vody a teplota vzduchu jsou klíčové faktory ovlivňující růst a produktivitu plodin. Očekává se, že současné klimatické změny budou mít závažné a místně specifické dopady na zemědělskou produkci /1/. Změna klimatu probíhá v celé historii planety, ovšem současné změny klimatu jsou odlišné svou rychlostí a razancí, s nimiž probíhají /2/.

Hlavními klimatickými projevy jsou změna teploty vzduchu, četnosti a množství srážek (krupobití, přívalové deště) a výskyt pozdních jarních mrazíků /9/. Bylo prokázáno, že extrémní projevy počasí mají dopad na fenofáze ovocných dřevin a vedou ke snížení produkce /10/.

Takováto nestabilita a variabilita klimatických podmínek je zaznamenávána i na území České republiky. Rostoucí teploty vzduchu jsou pozorovány od 60. let 20. století. Dále také narůstají počty bezesrážkových dní a počty dní s intenzivními srážkami. Výrazně tedy roste rozdíl v rozložení a četnosti atmosférických srážek /12/. Využití srážek je ovlivněno jejich formou, intenzitou a rozložením v průběhu roku, ale také hloubkou a fyzikálními vlastnostmi půdy. Využití srážek je větší, pokud jsou srážky rovnoměrněji rozloženy v průběhu celé vegetační sezóny a čím větší má půda celkovou vodní jímavost /2/. Neblahý účinek mají intenzivní srážky, jelikož nedoplňují deficit srážek z bezesrážkového období, a naopak zvyšují výskyt erozí /11/. Časté extrémní výkyvy vodního cyklu vedou ke zvýšeným výskytům povodní a sucha. Sucho se v České republice vyskytuje nepravidelně a největší sucha s významným dopadem na zemědělství byla od počátku 21. století pozorována v letech 2000, 2003, 2007, 2009, 2012, 2014, 2015, 2017 /7, 11/.

Cílem práce bylo porovnat fenologická data vybraných genotypů jabloní s meteorologickými daty a zkoumat dopad průběhu počasí na výnosové parametry.

## MATERIÁL A METODY

Z let 2019-2022 byla z meteorologické stanice ALA využita data o průměrné teplotě vzduchu spolu s měsíčními úhrny srážek (Graf 1). Meteorologická stanice ALA s názvem VŠÚO Kamenec byla umístěna na pozemku Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy (VŠÚO). Předmětem zájmu byly roky 2020-2022, ale jelikož je zakládání a diferenciací pupenů ovlivněna průběhem počasí v předchozím roce, byla do statistik zařazena i meteorologická data z roku 2019. Sumy teplot a srážek byly stanoveny v období vegetace, tedy od března až do října (Tab. 2, Tab. 3), a to z toho důvodu, že jabloně mají největší potřebu vody v době květu (pro dobré opylení), v době diferenciací květních pupenů /9/, intenzivního růstu letorostů a také v období před dozráváním plodů, kdy se hmotnost plodu denně zvyšuje o 1–2 % /2/ a ovlivňuje tak výnos sklizně.

Každoročně bylo ve výsadbě jabloní provedeno hodnocení začátku kvetení, násady květů, později násady plodů a samotná sklizeň plodů. Začátek kvetení byl stanoven datem, kdy bylo na stromě nejméně 10 % rozkvetlých květů. Násada květů a plodů byla hodnocena na stupnici 1-9. Nejvyšší úroveň představovala hodnota 9, která značila největší počet květů nebo plodů, naopak hodnota 1 značila žádné květy nebo plody na stromě. Sklizeň byla vyjádřena v kg na jeden strom a v každém roce se vypočítala průměrná hodnota sklizně pro danou odrůdu nebo novošlechtění. Násada květů se vztahovala k meteorologickým datům z předchozího roku a k meteorologickým datům ze stejného roku byl přiřazen začátek kvetení, násada plodů a samotná sklizeň. Získaná data od začátku kvetení sloužila ke stanovení sklizňové zralosti.

K hodnocení velikosti sklizně bylo vybráno 10 genotypů jabloní, 5 novošlechtění a 5 registrovaných odrůd (Tab. 4). Odrůdy sloužily k porovnání velikosti sklizně s novošlechtěním. Vybrány byly takové genotypy, které v předchozích letech pravidelně plodily a během degustačních hodnocení získávaly vysoký počet bodů. Od každého genotypu byly sledovány 3 stromy, tj. maximální počet, ve kterém se novošlechtění ve výsadbách vysazuje. Stromy byly naroubovány na podnoži M 9 a pěstitelským tvarem bylo štíhle vřetené. Všechny stromy se nacházely ve výsadbách VŠÚO v nadmořské výšce 290 m n. m., kde je půdním typem hnědozem, a byly bez doplňkové závlahy. Průměrná teplota vzduchu zde v letech 2020-2022 byla 10,0 °C a byla o 1,8 °C vyšší, než udává teplotní normál 1991-2020 pro Královéhradecký kraj. Roční průměrný úhrn srážek byl 538,8 mm. Klimatické údaje jsou podrobněji uvedeny v Tab. 1–3.

Tab. 1: Roční průměrná teplota vzduchu a úhrn srážek v letech 2019-2022

	Rok			
	2019	2020	2021	2022
<b>Průměrná teplota vzduchu (°C)</b>	10,7	10,4	9,1	10,4
<b>Roční úhrn srážek (mm)</b>	495,4	569,2	502,5	544,8

Tab. 2: Průměrné měsíční teploty (°C)

Rok	Měsíc							
	březen	duben	květen	červen	červenec	srpen	září	říjen
<b>2019</b>	6,4	11,3	12,0	22,5	20,0	20,3	14,4	10,3
<b>2020</b>	5,3	10,6	12,2	17,8	19,0	20,8	15,8	10,3
<b>2021</b>	3,3	6,5	11,6	20,6	20,3	17,4	16,1	9,4
<b>2022</b>	5,0	7,8	15,4	20,0	19,8	21,4	13,5	11,5

Tab. 3: Sumy srážek (mm)

Rok	Měsíc							
	březen	duben	květen	červen	červenec	srpen	září	říjen
<b>2019</b>	29,6	24,5	53,0	18,7	18,4	78,9	29,6	34,0
<b>2020</b>	24,5	10,2	62,2	123,8	37,4	79,2	55,4	52,0
<b>2021</b>	19,7	11,2	71,7	42,8	71,4	69,0	11,6	28,6
<b>2022</b>	7,5	21,6	57,4	89,6	34,2	48,3	84,5	27,2

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Jabloně, stejně jako další ovocné stromy, vyžadují ke svému růstu a plodnosti dostatek vláhy /4/. Průměrné teploty vzduchu a množství srážek i jejich rozložení se během zkoumaného období rok od roku lišily (Graf 1, Tab. 1-3). Nejvyšší úhrn srážek byl zaznamenán v roce 2020, což příznivě ovlivnilo násadu květů v roce 2021. Na množství srážek byl vydatný zejména měsíc červen. Ten spolu se součtem srážek v červenci ovlivňoval násadu květů v roce následujícím, jelikož se pupeny na přelomu června a července diferencují na generativní a vegetativní. Nejnížší násada květů u novošlechtění byla zjištěna v roce 2022 a její hodnota byla 3,4 (Tab. 4).

Tab. 4: Průměrná násada květů a plodů novošlechtění v letech 2020-2022.

Název novošlechtění	Rok							Průměr NK	Průměr NP
	Násada květů 2020	Násada plodů 2020	Násada květů 2021	Násada plodů 2021	Násada květů 2022	Násada plodů 2022			
HL 601	2,3	1,7	5,3	5,3	2,3	2,0	3,3	3,0	
HL 1194	3,0	2,0	8,0	7,0	1,0	1,7	4,0	3,6	
HL 1282	7,0	5,0	5,8	4,3	4,8	5,5	5,8	4,9	
HL 1311	6,0	6,0	5,3	3,7	6,3	4,7	5,9	4,8	
HL 1579	4,0	2,0	6,7	5,3	2,3	2,3	4,3	3,2	
<b>Průměr</b>	<b>4,5</b>	<b>3,3</b>	<b>6,2</b>	<b>5,1</b>	<b>3,4</b>	<b>3,2</b>			

Nízká násada zřejmě nebyla způsobena pozdními jarními mrazíky, které by vedly k redukci násady květů, jelikož k poklesu teploty došlo pouze ojedinele koncem dubna na -1,1 °C. Na vině tedy mohou být horší klimatické podmínky v roce 2021 v období iniciace a



diferenciace pupenů, ale také nedostatek živin, nebo střídavá plodnost. Nedostatek vody a živin, zejména dusíku, mohl vést k vyčerpání stromu a nasazení malého množství květních pupenů v dalším roce. Střídavá plodnost byla pozorována nejspíše v roce 2021 u hybridu 'HL 1311', jehož průměrná sklizeň kg na strom byla podstatně nižší než v ostatních letech. Střídavá plodnost mohla být podmíněna i geneticky. Principem střídavé plodnosti je, že v jednom roce má odrůda sklon k přeplození, při kterém dojde k vyčerpání zásobních látek nutných k diferenciaci květních pupenů a následně dochází k jednoletému vynechání plodnosti. Proto odrůdy, které nestřídají plodnost, mají vyšší plasticitu vyrovnat se s nepříznivými podmínkami prostředí. Střídavé plodnosti lze zabraňovat řezem nebo probírkou plodů, kterou je nutné provést nejpozději v červnu /2/. V současnosti je nejpoužívanější metodou chemická probírka plodů /3/. K samovolné regulaci násady plodů dochází v přírodě mrazovým poškozením, poškozením škůdci (např. květostas, pilatka) nebo při zhoršených podmínkách pro opylení květů. Výhodou ale je, pokud mají stromy geneticky podmíněnou schopnost autoregulace plodnosti a k přeplozování nedochází /2/.

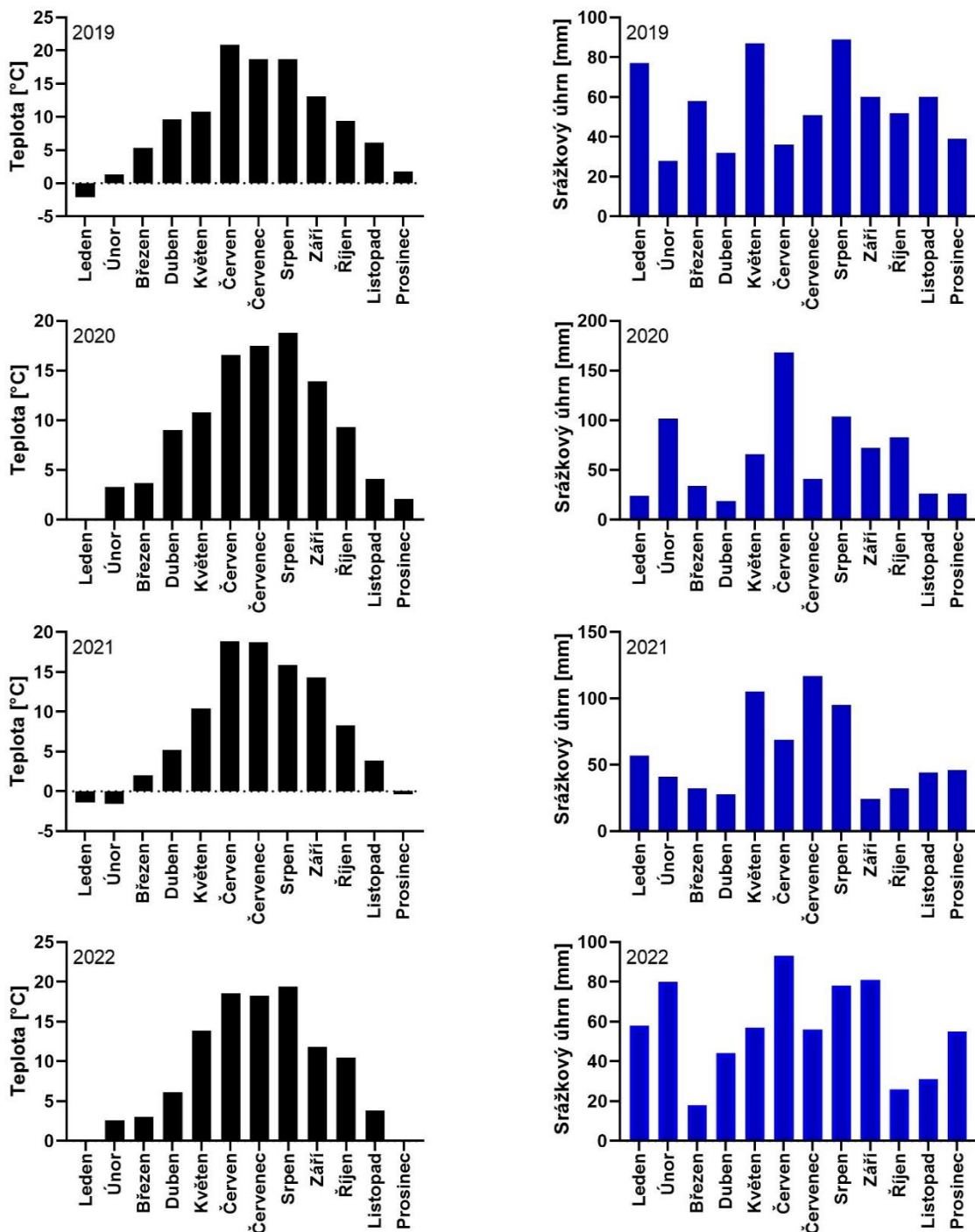
Na parametr násada květů navazovala násada plodů, která byla ovlivněna klimatickými podmínkami v době kvetení při opylování. Dle studie Suran a Fiala (2019) byla zjištěna závislost násady plodů na sumě teplot vzduchu z předchozího roku od března do konce července. To potvrzuje i výše naměřené sumy teplot vzduchu v roce 2020, která byla 1983,5 °C, kdežto v roce 2021 byla jen 1902,1 °C a násada plodů novošlechtění tak byla v roce 2022 menší než v roce 2021. V roce 2021 byla násada květů i plodů vyšší než v jiných letech.

Menší závislost byla zjištěna na srážkách v období začátku května až konce července, právě v již zmíněném období diferenciace pupenů /8/. Na základě získaných dat můžeme konstatovat, že novošlechtění mělo zřejmě vyšší nároky na množství srážek a výši teplot. Součinnost vyšších teplot vzduchu spolu s rovnoměrně rozloženými srážkami v průběhu roku vedla k vyšším výnosům novošlechtění v roce 2021. Zejména u hybridů 'HL 1579' a 'HL 601' byla zaznamenána vysoká plodnost v porovnání s rokem 2020 a 2022 (Tab. 5).

Tab. 5: Průměrná a celková sklizeň každého genotypu v letech 2020-2022

Název odrůdy	Pěstitelský tvar	Rok výsadby	Průměrná sklizeň (kg/strom)			Součet (kg)
			Rok			
			2020	2021	2022	
Frosta	štíhlé větveno	2016	12,2	17,4	17,7	47,3
Gala	štíhlé větveno	2016	5,6	7,1	14,4	27,1
Idared	štíhlé větveno	2016	7,0	6,1	7,8	20,9
Reluga	štíhlé větveno	2016	4,8	10,5	11,2	26,5
Rubinstep	štíhlé větveno	2016	6,5	19,3	15,4	41,2
<b>Součet</b>			<b>36,1</b>	<b>60,4</b>	<b>66,5</b>	<b>163,0</b>
<b>Název novošlechtění</b>						
HL 601	štíhlé větveno	2013	0,7	9,3	2,0	12,0
HL 1194	štíhlé větveno	2011	0,5	5,7	0,3	6,5
HL 1282	štíhlé větveno	2013	4,7	4,7	9,0	18,3
HL 1311	štíhlé větveno	2011	8,7	4,7	8,3	21,7
HL 1579	štíhlé větveno	2011	0,8	9,3	1,0	11,2
<b>Součet</b>			<b>15,4</b>	<b>33,7</b>	<b>20,6</b>	<b>69,7</b>

Graf 1: Průměrné teploty vzduchu a úhrny srážek v letech 2019-2022 v Holovousích (okres Jičín)



Nejnižší sklizeň byla v roce 2020, což mohlo být způsobeno horšími klimatickými podmínkami v roce 2019. Naopak nejvyšší celková sklizeň byla v roce 2022, a to i přesto, že byl v roce 2021 naměřen nižší úhrn srážek. Vysoká sklizeň byla zřejmě způsobena tím, že teplota v době kvetení klesla pouze na  $-0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$  a nedošlo k promrznutí květů. Pozdní jarní mrazíky totiž stromy poškozují především v období rašení květních pupenů až do konce květu, čímž dochází ke snížení celkového výnosu sklizně. Nejvyšší sklizeň byla pozorována u

odřůd 'Frosta', 'Rubinstep' a 'Gala', které se vyznačují pravidelnou plodností. Vhodná jsou pro ně teplejší stanoviště s lepšími půdami a dostatečnou vláhou, protože v horších půdních a klimatických podmínkách dojde k nedostatečnému vyzrání plodů a tím pádem i zhoršení chuti. Nižší, ale pravidelnou plodnost měly odrůdy 'Idared' a 'Reluga', které nemají tendenci k přeplozování /2/.

Blažek (2001) /2/ uvádí, že jednou z možností boje proti suchu je vhodný výběr podnože. Zásobení stromů vodou je totiž ovlivněno nejenom obsahem vody, ale také schopností půdy vodu uvolňovat. Využitelnost vody závisí na odrůdě a použité podnoži, tedy na sací síle kořenů a jejich rozložení v půdním profilu. Některé podnože jsou více suchovzdorné a snášejí sucho lépe než jiné, např. podnož MM 111 /2/. Vhodné je také využití kapkové závlahy, které mj. působí příznivě i na velikost plodů /6/. V porovnání s jinými systémy přináší kapková závlaha efektivní využití vody, jelikož dochází k přesnému dávkování vody pouze do kořenové zóny. U jiných systémů závlahy dochází ke ztrátám vody neproduktivním výparem /5/. Důležité ale je nastavení optimálního zavlažování, aby nebyl snížen výnos z nedostatku vláhy, nebo aby nedocházelo k přílišnému plýtvání vodou /4/. Pro stanovení vláhové potřeby je rozhodující měření půdní vlhkosti /6/.

## ZÁVĚR

Tato práce zahrnuje zhodnocení vlivu klimatických podmínek na produkční vlastnosti vybraných genotypů jabloní za poslední tři roky, tedy z let 2020-2022. Významný dopad na produkci jabloní měl průběh počasí, a to zejména měnící se teploty vzduchu a úhrn srážek. Mrazové poškození květů nebylo během zkoumaného období pozorováno. Nejnižší výnos sklizně byl pozorován v roce 2020 a nejvyšší v roce 2022. Zjištěna byla nižší závislost ve vztahu násady plodů ke srážkám v měsíci květen až červenec. Vyšší produkce v letech 2021 a 2022 byla zřejmě způsobena tím, že nedošlo k promrznutí květních pupenů.

Jelikož mají klimatické změny negativní dopad na většinu oblastí zemědělství a ohrožují produkci a udržitelnost zemědělských systémů, je zapotřebí se takovým podmínkám přizpůsobit a hledat odolné genotypy jabloní. Odrůda 'Frosta' a 'Idared' vykazovala stabilní velikost sklizně, která byla v porovnání s jinými genotypy v letech 2020-2022 sice nižší, ale pravidelná bez výraznějších výkyvů. Odolné genotypy by neměly být výrazně limitovány variabilitou klimatických změn, což by se mělo projevit pravidelnou násadou plodů v každém roce. V souvislosti s častějšími výskyty půdního sucha by měly být odrůdy více tolerantní, popř. je vhodné doplňovat nedostatek vody vhodnou závlahou.

## LITERATURA

- /1/ Altieri, M., C. I. Nicholls, A. Henao a M. A. Lana. Agroecology and the design of climate change-resilient farming systems. *Agronomy for sustainable development*, 2015, 35(3): 869-890.
- /2/ Blažek, J. *Pěstujeme jabloně*. Praha: Nakladatelství Brázda, 2001, s. 280. ISBN 80-209-0294-5.
- /3/ Laňar, L., K. Scháňková a J. Náměstek. Probírka indukovaná samostatnými nebo kombinovanými aplikacemi BA, NAA a metamitronu v jabloních odrůdy 'Golden delicious'. *Vědecké práce ovocnářské*, 2022, 28(2): 6-15.
- /4/ Litschmann, T. Optimalizace množství dodané vody při kapkové závlaze jabloní s využitím snímačů půdní vlhkosti. *Hospodaření s vodou v krajině*, 2022, 11.
- /5/ Mészáros, M., L. Plavcová a R. Jupa. Metody stanovení vláhové potřeby používané nejen v ovocných sadech. *Vinař – sadař*, 2020, 6: 30-34. ISSN 1804-3054.
- /6/ Mounzer, O. H., J. Vera, L. M. Tapia, Y. García-Orellana, W. Conejero, I. Abrisqueta, M. C. Ruiz-Sánchez a J. M. Abrisqueta-García. Irrigation scheduling of peach trees (*Prunus persica* L.) by continuous measurement of soil water status. *Agrociencia*, 2008, 42(8): 857-868.
- /7/ Rožnovský, J., F. Chuchma, R. Fiala a M. Kohout. Vláhová bilance – ukazatel vody v krajině. *Vodohospodářské technicko-ekonomické informace*, 2018, 60(3): 12-17.
- /8/ Sadowski, A., J. Lewko a R. Dziuban. Evaluation of some nursery techniques in the production of „knip-boom“ apple trees. *Agromijas Vestis (Latvian Journal of Agronomy)*, 2006, 9.

- /9/ Suran, P. a P. Fiala. Zhodnocení proměnlivosti podmínek prostředí na produkční vlastnosti jádovin. Vědecké práce ovocnářské, 2019, 26: 161-175.
- /10/ Suran, P. Vliv klimatických podmínek na produkci třešní. Vědecké práce ovocnářské, 2021, 27(2): 147-164.
- /11/ Štěpánek, P., P. Zahradníček, A. Farda, P. Skalák, M. Trnka, J. Meitner a K. Rajdl. Projection of drought-inducing climate conditions in the Czech Republic according to Euro-CORDEX models. Climate Research, 2016, 70: 179-193.
- /12/ Zahradníček, P., P. Štěpánek, M. Trnka a A. Farda. Projevy změny klimatu na území České republiky. In: Pondělíček, M. a V. Bízek (eds.). Adaptace na změnu klimatu. Hradec Králové: Civitas per Populi, 2016, s. 25-35. ISBN 978-80-87756-09-6.

### **Poděkování**

Uvedená práce vznikla za finanční podpory výzkumného projektu QK21010200.

## VPLYV KVASINIEK NA RASTLINY VYSTAVENÉ SUCHU

### *EFFECTS OF YEASTS ON PLANTS EXPOSED TO DROUGHT*

Marko Bajus<sup>1</sup>, Zuzana Vivodová<sup>1</sup>, Eva Labancová<sup>1</sup>, Ágnes Horváthová<sup>2</sup>, Diana Hačkuličová<sup>1</sup>,  
Kristína Šípošová<sup>1</sup>, Renáta Vadkertiová<sup>2</sup>, Karin Kollárová<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Glycobiotechnology, Institute of Chemistry, Slovak Academy of Sciences,  
Dúbravská cesta 5807/9, 845 38 Bratislava, Slovak Republic, marko.bajus@savba.sk

<sup>2</sup>Culture Collection of Yeasts, Institute of Chemistry, Slovak Academy of Sciences,  
Dúbravská cesta 5807/9, 845 38 Bratislava, Slovak Republic,

#### *Summary*

The aim of this work was to determine the effect of a selected strain of yeast (*Rhodotorula mucilaginosa*, 20-1-39) as a potential biostimulant on the growth of maize plants (*Zea mays* L.) exposed to environmental stress caused by drought. The yeast was applied in suspension directly to the seeds before sowing (at a concentration of 107, 108, 109 yeast cells per ml). Plants, whose seeds were treated with yeast, did not show a statistical difference in plants, but indicated an improving trend of growth parameters of maize. Based on the trend, the plants were longer when yeast was applied, their leaf area was larger, which also caused an increase in fresh and dry weight.

*Key words: drought; fresh and dry weight; leaf area; maize; yeast; Zea mays*

#### *Súhrn*

Cieľom tejto práce bolo zistiť vplyv vybraného kmeňa kvasiniek (*Rhodotorula mucilaginosa*, 20-1-39), ako potenciálneho biostimulantu na rast rastlín kukurice siatej (*Zea mays* L.) vystavenej environmentálnemu stresu vyvolanom suchom. Kvasinky boli aplikované v suspenzii priamo na semená pred výsevom (v koncentrácii 107, 108, 109 buniek kvasiniek na ml). Rastliny, po ošetrení semien kvasinkami síce nepreukazovali štatistický rozdiel v sledovaných parametroch, ale naznačili zlepšujúci sa trend rastových parametrov kukurice. Na základe trendu, boli rastliny po aplikácii kvasiniek dlhšie, ich listové plochy väčšie, čo spôsobilo aj zvýšenie čerstvej a suchej hmotnosti.

*Kľúčové slová: čerstvá a suchá hmotnosť; kukurica; kvasinky; sucho; plocha listu; Zea mays*

## **INTRODUCTION**

Maize (*Zea mays* L.) is one of the most cultivated cereals in Europe. It is widely used in the agriculture, food industry, but also as a raw material input in industry for the production of bioethanol or energy /1/. From a botanical point of view, maize is a monocot plant belonging to the C4 group of plants. Thanks to this, its requirements for cultivation are limited to warmer areas, and its classification as a C4 plant makes it more promising from the point of water management, than other cereals /2/.

Drought is one of the most widespread environmental stresses in the world. In recent years, the drought on the area of Slovakia's lowlands was one of the strongest in history, which resulted in a decrease in crop yields and higher input costs for agriculture /3/. Drought partially or permanently damages the plants and vegetation and also reduces production. Plants exposed to drought are smaller and the elasticity of the tissues is lower which results in increased susceptibility to damage by pests and mechanical damage caused by higher

radiation. Increased formation of reactive oxygen species and photosynthetic activity decrease cause a reduce of the biomass formation /4/.

Yeasts are eukaryotic organisms belonging to the group of fungi. Since they are not able to obtain carbon from photosynthesis, they use it from the decomposition of organic compounds. Yeasts are able to reproduce sexually or vegetatively by budding /5/. Some yeast strains (e.g. *Papiliotrema*, *Candida*) are able to produce secondary metabolites or auxins, which can have biostimulatory potential /6/. The direct use of *Saccharomyces* yeast strains or their extracts has been observed as stimulating in various environmental stresses /7/. The aim of this work was to compare the influence of the selected yeast strain *Rhodotorula mucilaginosa* (20-1-39) on the selected growth parameters of maize exposed to drought.

## MATERIALS AND METHODS

Maize seeds (*Zea mays* L.) were surface sterilized in ethanol (99%) and then rinsed under running distilled water. The prepared seeds were subsequently immersed in a yeast suspension (*Rhodotorula mucilaginosa*, 20-1-39) with the concentration of 107, 108, or 109 yeast cells per ml. The imbibition of seeds was done for 2 hours. The seeds and the remaining suspension were transferred to germination plates, where germination took place for 48 h. After germination, the seeds were sown in a standard horticultural substrate with a precisely defined field water capacity (control and drought). Prepared containers with sown seeds were cultivated at a temperature of 25/20 °C, a photoperiod of 16 h light/8 h dark, a light intensity of 130–140  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  and 40% air humidity. The containers were irrigated to a constant weight corresponding to the monitored treatments (control, drought, drought with the addition of yeast at a concentration of 107, 108, or 109 yeast cells per ml: 7 RM, 8 RM, and 9 RM treatments). After 21 days of cultivation, the plants were collected and their total length, length and width of the leaves were determined. Based on the obtained values, the leaf area was calculated for each leaf separately /8/. We determined the fresh weight of the plants, and after drying of the plant material (at a temperature 105 °C to a constant weight), we determined the dry weight. We statistically evaluated the differences between individual experimental groups by Tukey's one-factor analysis of variance test using the Statistica statistical program.

## RESULTS AND DISCUSSION

The difference in length of the shoots of the maize plants after the application of yeast was not statistically proven (Fig. 1). However, there is a visible trend that indicates that the length of the above-ground parts slightly increased with the application of yeast compared to the drought. The highest increase was achieved by the 8 RM treatment (concentration 108 yeast cells per ml) by 3% compared to the drought treatment. Similarly, Mukherjee and Sen /9/ found that application of the yeast *Candida tropicalis* on the maize seeds notably increased the growth and yield performance of maize.

The fresh and dry weight of the plants (Fig. 2) after treatment with yeast showed, despite the unprovable statistical difference, a trend where both the fresh and dry weight of the plants increased after treatment with yeasts. The greatest improvement in fresh and dry weight (by 5% and 12%, respectively) compared to the drought treatment was in the 7 RM treatment (107).

The area of the leaves (Fig. 3) was higher in all monitored yeast treatments than in the drought treatment. The area of the first leaf in the 9 RM treatment was higher by 10%, of the second leaf in the 8 RM treatment was higher by 10%, and in the 3rd leaf in the 8 RM treatment was higher by 7% compared to the drought treatment. A similar improvement in biomass production when using *Saccharomyces cerevisiae* was recorded /10/.

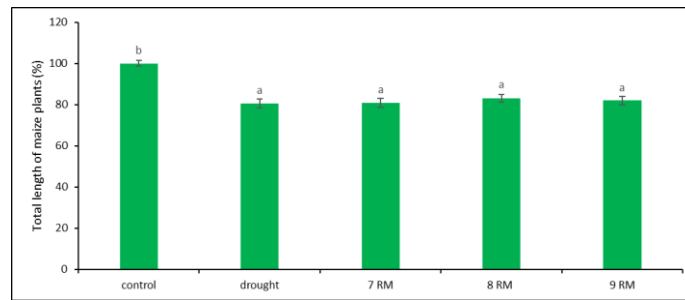


Figure 1: Total length of maize plants after exposure to different concentrations of the yeast *Rhodotorula mucilaginosa* (20-1-39) during drought.

7 RM = 107 yeast cells per ml, 8 RM = 108 yeast cells per ml, 9 RM = 109 yeast cells per ml. Lengths are given in percentages compared to the control. Control = 100%. Different letters indicate statistical differences between individual treatments at  $P < 0.05$ .

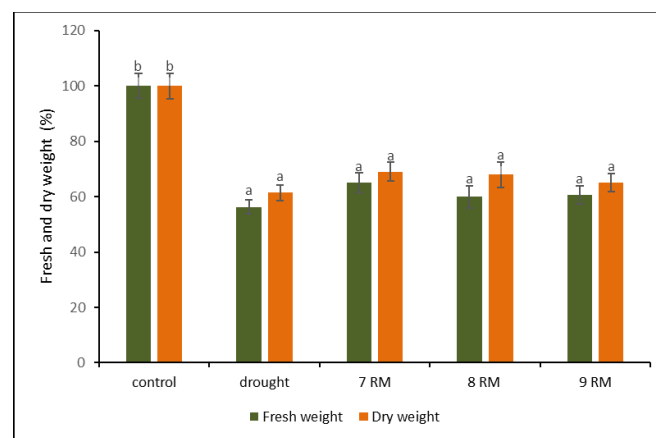


Figure 2: Fresh and dry weight of the above ground parts of maize plants after exposure to different concentrations of the yeast *Rhodotorula mucilaginosa* (20-1-39) during drought.

7 RM = 107 yeast cells per ml, 8 RM = 108 yeast cells per ml, 9 RM = 109 yeast cells per ml. Weights are given in percentages compared to the control. Control = 100%. Different letters indicate statistical differences between individual treatments at  $P < 0.05$ .

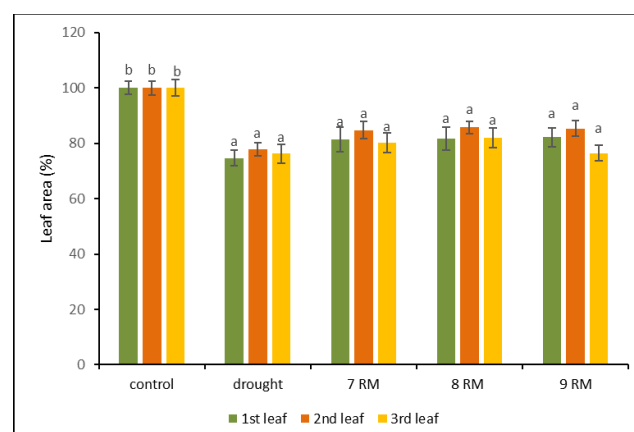


Figure 3: Leaf area of the 1st, 2nd, 3rd leaf of maize plants after exposure to different concentrations of the yeast *Rhodotorula mucilaginosa* (20-1-39) during drought.

7 RM = 107 yeast cells per ml, 8 RM = 108 yeast cells per ml, 9 RM = 109 yeast cells per ml. Leaf areas are given in percentages compared to the control. Control = 100%. Different letters indicate statistical differences between individual treatments at  $P < 0.05$ .

## CONCLUSIONS

The potential of the selected yeast strain (*Rhodotorula mucilaginosa*, 20-1-39) as biostimulants in drought conditions was not statistically proven, but a positive trend was indicated in the observed parameters (plant length, area of the 1st, 2nd, and 3rd leaf, fresh and dry weight), based on which we can assume that this yeast strain can have potential to stimulate plants exposed to drought. It is therefore necessary to repeat these experiments and verify the trend or statistical difference.

## REFERENCES

- /1/ Hufford, M. B., Xu, X., Van Heerwaarden, J., et al.: Comparative population genomics of maize domestication and improvement. *Nature Genetics*, 44.7, 2012: 808-811
- /2/ Sah, R. P., Chakraborty, M., Prasad, K., et al.: Maize (Corn). Forage Crops of the World, 2-volume set: Volume I: Major Forage Crops; Volume II: Minor Forage Crops, 15, 2022
- /3/ Némethová, J., Vilinová, K.: Changes in the Structure of Crop Production in Slovakia after 2004 Using an Example of Selected Crops. *Land*, 11.2, 2022: 249.
- /4/ Muthuvel, D., Sivakumar, B., Mahesha, A.: Future global concurrent droughts and their effects on maize yield. *Science of the Total Environment*, 855, 2023: 158860.
- /5/ Júnior, S. L. A., Treichel, H., Basso, T. O., et al.: Yeasts: From Nature to Bioprocesses. Bentham Science Publishers, 2022.
- /6/ Mukherjee, A., Verma, J. P., Gaurav, A. K., et al.: Yeast a potential bio-agent: future for plant growth and postharvest disease management for sustainable agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104, 2020: 1497-1510.
- /7/ Dima, S.-O., Neamtu, C., Desliu-Avram, M., et al.: Plant biostimulant effects of baker's yeast vinasse and selenium on tomatoes through foliar fertilization. *Agronomy*, 10.1, 2020: 133.
- /8/ Květ, J.; Marshall, J. K.: Assessment of leaf area and other assimilating plant surfaces. In: Šesták, Z., Čatský, S., Jarvis, P.G. (Eds.), *Plant Photosynthetic Production. Manual of Methods*. Dr W. Junk N.V. Publ., The Hague, 1971, pp. 517–555.
- /9/ Mukherjee, S., Sen, S. K.: Exploration of novel rhizospheric yeast isolate as fertilizing soil inoculant for improvement of maize cultivation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 2015: 1491-1499.
- /10/ Hesham, A. E.-L., Mohamed, H. M.: Molecular genetic identification of yeast strains isolated from Egyptian soils for solubilization of inorganic phosphates and growth promotion of corn plants. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21, 2011: 55-61.

## Acknowledgements

This work was supported by the Grant Agency VEGA 2/0055/22 and 2/0151/22, by the DoktoGrant SAV APP0387, and COST Action CA21134.



## VPLYV BIOLOGICKY AKTÍVNYCH OLIGOSACHARIDOV NA RASTLINY RASTÚCE V SUCHU EFFECT

### *EFFECT OF BIOLOGICALLY ACTIVE OLIGOSACCHARIDES ON PLANTS GROWING IN DROUGHT CONDITIONS*

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

Institute of Chemistry, Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 9, 845 38 Bratislava,  
Slovak republic; diana.hackulicova@savba.sk

#### *Summary*

The aim of this work was to determine the impact of drought and galactoglucomannan oligosaccharides (GGMOs) on maize (*Zea mays* L., hybrid Luciana) shoot growth. The plants were grown for 21 days in the soil in the growth chamber in controlled conditions. The drought treatment negatively influenced examined parameters such as plant height, fresh and dry weight as well as leaf area; whereas combined treatment of drought + GGMOs and GGMOs in well-watered conditions improved these parameters and the vitality of plants increased compared to the drought treatment and control (well-watered conditions).

*Key words: drought, maize, oligosaccharides, plant shoot, soil*

#### *Súhrn*

Cieľom tejto práce bolo zistiť vplyv sucha a galaktoglukomanánových oligosacharidov (GGMOs) na rast nadzemných častí kukurice siatej (*Zea mays* L., hybrid Luciana). Rastliny boli kultivované 21 dní v pôde v kultivačnej komore v kontrolných podmienkach. Sucho negatívne ovplyvnilo sledované parametre ako sú výška rastliny, čerstvá a suchá hmotnosť, ako aj plocha listov, zatiaľ čo kombinácia sucho + GGMOs a GGMOs v podmienkach dostatočného zalievania zlepšili dané parametre a vitalita rastlín sa zvýšila v porovnaní so suchom a kontrolou (dostatočné zalievanie).

*Kľúčové slová: kukurica, nadzemné časti rastlín, oligosacharidy, pôda, sucho*

## INTRODUCTION

Among various stresses (biotic or abiotic), the drought stress is one of the most dangerous in the world that causes diverse damage to all organisms on the Earth. With increasing number of inhabitants, food security is more and more important since people should have access to enough nutritious food to avoid hunger /1/. Climate change (especially dry seasons) has a huge effect on agriculture industry /2/. In plants, water deficit causes modifications of growth and development, which leads to reduced quality and productivity of crops (e.g. maize). When plants grow in drought conditions, the first modifications that can be observed are morphological changes (e.g. plant height, leaf size, biomass, etc.). At the physiological and molecular level there are various modifications related to the changes in the photosynthesis, respiration, water and nutrient uptake, activity of enzymes, and activity of genes /3/. In the last decade, the mitigation of drought stress on plants has focused mostly on microbial mitigation of drought stress by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) /4/. Naturally obtained compounds (e.g. oligosaccharides) are also used in the mitigation of

drought stress in plants /5/. Here, we focused on the galactoglucomannan oligosaccharides (GGMOs), which are biologically active oligosaccharides that improve plant vitality, and their impact on plants was confirmed in both non-stress and stress conditions /6, 7/. The aim of this study was to ascertain the growth parameters (plant height, leaf area, fresh and dry weight) of maize plants growing in non-stress and stress conditions.

## MATERIAL AND METHODS

Plant material – maize seedlings (*Zea mays* L., hybrid Luciana) were cultivated in the soil in the growth chamber for 3 weeks (21 days) in controlled conditions. The plants were watered every three days with appropriate amount of water, so the field capacity (FC) was 100% (control) and 50% (drought) during whole cultivation. The four treatments were used: C100 – control, 100% soil FC; D50 – drought, soil with 50% FC; DOs50 – GGMOs in 10<sup>-7</sup> M concentration and soil with 50% FC; COs100 – GGMOs in 10<sup>-7</sup> M concentration and soil with 100% FC. The 10<sup>-7</sup> M concentration of GGMOs was selected according to screening experiments with 3 different concentrations (10<sup>-6</sup> M, 10<sup>-7</sup> M, 10<sup>-8</sup> M) of GGMOs on the maize growth (unpublished data). During cultivation, plants were collected (every week on 7th, 14th and 21st day of cultivation) for analysis of growth parameters: fresh (FW) and dry weight (DW), plant height (PH), and leaf area (LA) of the 1st, 2nd, and 3d leaf. The LA was calculated as  $LA = L \times W \times 0,776$  (length of the leaf  $\times$  width of the leaf  $\times$  0,776 – constant) [8]. The experiment was repeated 3 times. Data are expressed by basic statistical parameters: mean value  $\pm$  standard error (SE). Differences between the experimental groups were evaluated by a Fisher test of single factor analysis of variance (ANOVA) at  $P < 0.05$ , using the Statistica (StatSoft, Tulsa, USA).

## RESULTS AND DISCUSSION

Drought negatively influenced the shoot growth of maize plants. The statistically significant differences in PH were not determined between treatments after a week of cultivation. After two and three weeks, the PH in the D50 treatment was smaller compared to the C100 treatment, while the application of GGMOs to drought treatment (DOs50 treatment) increased this parameter. Additionally, PH in the COs100 treatment was higher compared to the C100 treatment (Fig. 1A).

The FW and DW in the D50 treatment were lower compared to the C100 treatment already after a week of cultivation and the trend remained the same to the end of the cultivation (Fig. 1B, 1C). However, significant differences in FW between the D50 treatment and the DOs50 treatment (higher FW than in the D50 treatment) were determined on the 3rd week of cultivation (Fig. 1B) and in DW during the whole cultivation (Fig. 1C). Additionally, FW and DW in the COs100 treatment was higher on the 2nd week and 3rd week compared to the C100 treatment (Fig. 1B, 1C).

The growth of the 1st leaf rapidly increased in all treatments after two weeks compared to the first week of cultivation (Fig. 2). The LA of the 1st, 2nd, and 3rd leaves in the D50 treatment was smaller compared to the C100 treatment during the whole cultivation. The addition of GGMOs into the DOs50 treatment increased LA of the 1st leaf during the whole cultivation, and LA of the 2nd and 3rd leaf on the 3rd week compared to the D50 treatment. The COs100 treatment increased the LA of all the leaves during the whole cultivation (except the 1st leaf on the 1st week) compared to the C100 treatment.

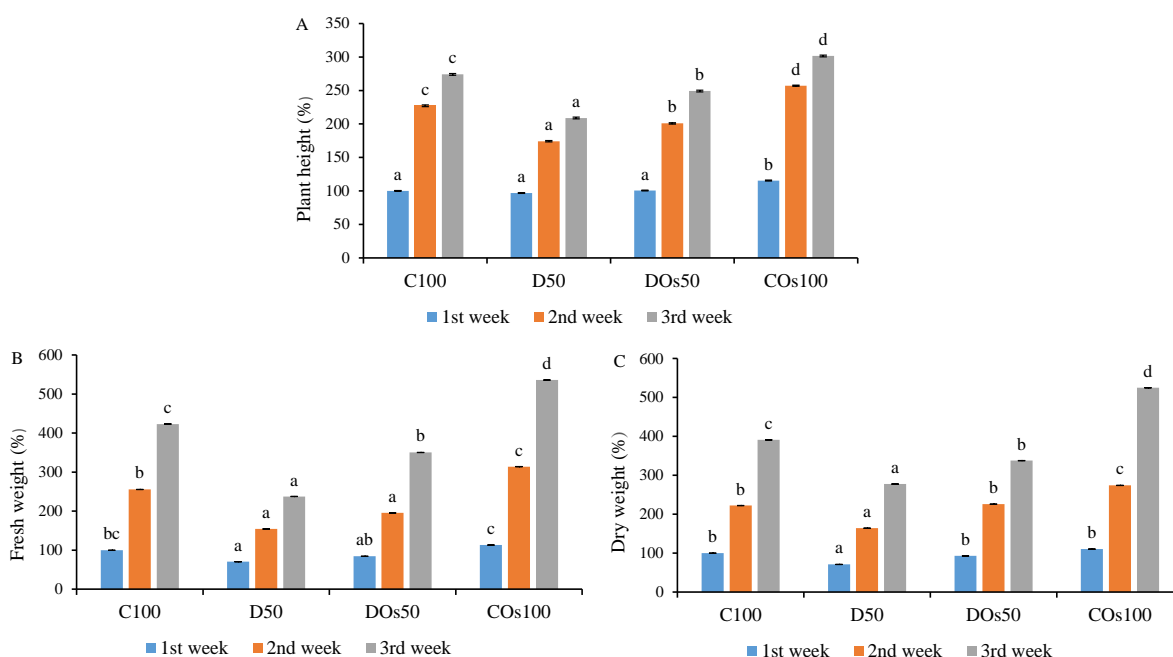


Fig.1: Relative plant height (A) fresh weight (B), dry weight (C) of aboveground parts of maize plants on the 1st, 2nd, and 3rd week of the cultivation. The data are expressed as a percentage of the control on the 1st week of cultivation (the control represents 100%). Different letters denote statistically significant differences between individual treatments at  $P < 0.05$ .

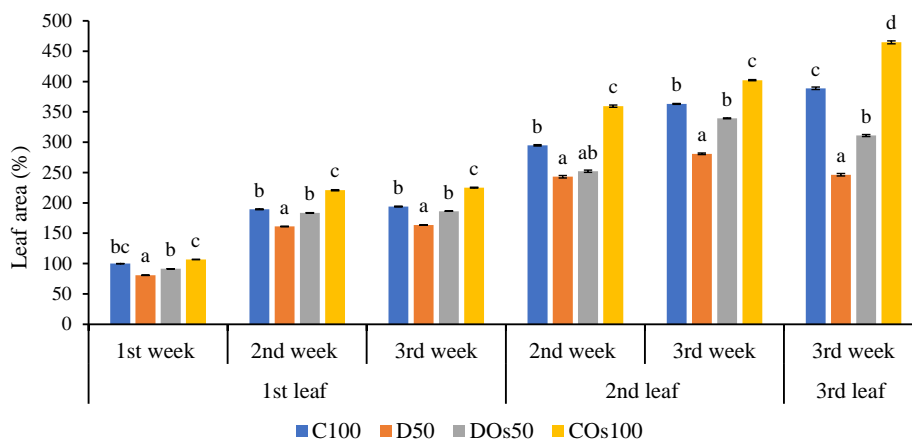


Fig.2: Relative leaf area of maize leaves on the 1st, 2nd, and 3rd weeks of the cultivation. The data are expressed as a percentage of the control on the 1st week of cultivation (the control represents 100%). Different letters denote statistically significant differences between individual treatments at  $P < 0.05$ .

Overall, all the observed parameters in the D50 treatment remained the lowest and in the COs100 treatment the highest during the whole cultivation. The addition of GGMOs to drought-stressed plants improved the growth of maize suggesting that GGMOs are useful in the plant protection against drought. Further way to alleviate the drought stress in plants is using PGPR (e.g., *Acinetobacter* sp. and *Pseudomonas* sp.) which are naturally occurring bacteria in the soil that can release hormones and enzymes to help the plant to grow normally [9]. Moreover, Imran et al. [10] found that melatonin affects key growth factors (e.g., FW, DW, and PH) and is able

to mitigate the symptoms of drought on plants. Another compound which is used to mitigate various stresses on plants is silicon. Raza et al. /11/ found that silicon nanoparticles played a major role in wheat growth in drought and confirmed their mitigation effect by increased PH in drought conditions.

## CONCLUSION

Based on our results we found that GGMOs increased vitality of maize shoots in both drought-stress and non-stress conditions. They mitigated drought symptoms in plants, such as decreased plant height, fresh and dry mass as well as leaf area.

## REFERENCES

- /1/ Anjum, S.A., Ashraf, U., Zohaib, A. et al. Growth and developmental responses of crop plants under drought stress: a review. *Zemdirbyste-Agriculture*, 2017, 104(9): p. 267–276.
- /2/ Penalba, O., and Rivera, J. Future Changes in drought characteristics over southern South America projected by a CMIP5 multi-model ensemble, *American Journal of Climate Change*, 2013, 2(3), p. 173-182.
- /3/ Lisar, S.Y., Motaffakerazad, R., Hossain, M.M., Rahman, I.M.M. Water stress in plants: causes, effects and responses. In: Rahman, I.M., Hasegawa, H. *Water Stress.*, 2012, Rijeka: Intech Open, 1–14. ISBN 978-953-307-963-9
- /4/ Ferioun, M., Bouhraoua, S., Srhoiar, N. et al. Optimized drought tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.) using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2023, 50: 102691.
- /5/ Guo, Y., Huang, G., Wei, Z. et al. Exogenous application of coronatine and alginate oligosaccharide to maize seedlings enhanced drought tolerance at seedling and reproductive stages. *Agricultural Water Management*, 2023, 279: 108185.
- /6/ Kollárová, K., Richterová, D., Slováková, L. et al. Impact of galactoglucomannan oligosaccharides on elongation growth in intact mung bean plants. *Plant Science*, 2009, 177(4): 324–330.
- /7/ Vivodová, Z., Hačkuličová, D., Bačovčinová, M., et al. Galactoglucomannan oligosaccharides alleviate cadmium toxicity by improving physiological processes in maize. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2023, 255: 114777.
- /8/ Květ, J. and Marshall, J.K. Assessment of leaf area and other assimilating plant surfaces. In: Šesták, Z., Čatský, S., Jarvis, P.G. (Eds.), *Plant Photosynthetic Production. Manual of Methods*. Dr W. Junk N.V. Publ., The Hague, 1971, pp. 517–555.
- /9/ Rolli, E., Marasco, R., Viganì, G. et al. Improved plant resistance to drought is promoted by the root-associated microbiome as a water stress-dependent trait. *Environmental Microbiology*, 2015, 17: 316–33.
- /10/ Imran, M., Khan, A.L., Shahzad, R. et al. Exogenous melatonin induces drought stress tolerance by promoting plant growth and antioxidant defence system of soybean plants. *AoB Plants*, 2021, 13(4): plab026.
- /11/ Raza, M.A.S., Zulfiqar, B., Iqbal, R. et al. Morpho-physiological and biochemical response of wheat to various treatments of silicon nano-particles under drought stress conditions. *Scientific Reports*, 2023, 13(1): 2700.

## Acknowledgement

This work was funded by the Grant Agency VEGA 2/0055/22 and by the COST Action CA21134.

## OCHRANNÉ A OBRANNÉ MOLEKULY – OLIGOSACHARIDY – OVPLYVŇUJÚ TVORBU REAKTÍVNYCH FORIEM KYSLÍKA V RASTLINÁCH

### ***PROTECTIVE AND DEFENCE MOLECULES – OLIGOSACCHARIDES - MODULATE THE PRODUCTION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES IN PLANTS***

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

Department of Glycobiotechnology, Institute of Chemistry, Slovak Academy of Sciences,  
Dúbravská cesta 5807/9, 845 38 Bratislava, Slovak Republic, eva.labancova@savba.sk

#### ***Summary***

Environmental stress causes the overproduction of reactive oxygen species (ROS), which in turn disrupts homeostasis and damages the plants. The effects of ROS (e.g., hydrogen peroxide - H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) are linked with auxins or other reactive species (e.g., nitric oxide - NO). Currently, various molecules, e.g., oligosaccharides are being studied because of their potential to counteract hostile environmental conditions and stimulate the growth of plants. Here we studied the interplay between galactoglucomannan oligosaccharides (GGMOs), NO, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and auxin in *Arabidopsis thaliana* L. plants. Plants were grown in vitro in various media containing cadmium, sodium nitroprusside (NO donor), CptiO (NO scavenger), and GGMOs in various combinations.

*Key words: auxin, hydrogen peroxide, nitric oxide, oligosaccharides, reactive oxygen species*

#### **Súhrn**

Environmentálny stres spôsobuje nadprodukcii reaktívnych foriem kyslíka (ROS) v rastlinách, čo narušuje homeostázu buniek a poškodzuje rastliny. Vplyv ROS (napr. peroxid vodíka - H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) súvisí s koncentráciou auxínov alebo s inými reaktívnymi molekulami (napr. oxid dusnatý - NO). V súčasnosti sa štúdium venuje rozdielnym molekulám ako sú aj oligosacharidy, ktoré majú potenciál zlepšovať reakciu rastlín na nepriaznivé podmienky a znižovať prejavy stresu. V tejto štúdii sme sa venovali vzájomnému pôsobeniu galaktoglukomanánových oligosacharidov (GGMOs), NO, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a auxínu v rastlinách *Arabidopsis thaliana* L. Rastliny sme kultivovali in vitro v rozdielnych médiách obsahujúcich kadmium, nitroprusid sodný (donor NO), CptiO (vychytávač NO) a GGMOs v rozdielnych kombináciách.

*Kľúčové slová: auxín, oxid dusnatý, oligosacharidy, peroxid vodíka, reaktívne formy kyslíka*

## **INTRODUCTION**

Nowadays new sustainable methods for improving plant growth are being constantly developed, e.g., the application of various substances. For example, GGMOs, prepared from spruce galactoglucomannan, had been recognised as biostimulants that can alleviate cadmium stress /1/. Generally, oligosaccharide fragments of fungi cell walls are important probes because they are the first molecules recognised by plants during infection caused by pathogenic fungi /2/. Fungi oligosaccharides have elicitor properties and trigger plant responses such as the Ca<sup>2+</sup> influx to the cytoplasm, the activation of mitogen-activated

kinases, hormone signalling, the accumulation of ROS, and the activation of antioxidant systems in plants. However, the plant responses to biotic stress are often similar to their responses to abiotic stress. Comparable physiological reactions can be detected in plants suffering from heavy metal stress as in plants suffering from infection /3, 4/. GGMOs ameliorate heavy metal stress in plants, which suggests that GGMOs and fungi oligosaccharides activate similar defence mechanisms. Although the knowledge of GGMOs action in plants had been broadened in past few years /1, 5/ there is still a lot of unknown. GGMOs interact with ROS and plant hormone auxin, while the link between GGMOs, ROS, and hormones might be signal molecule NO. In this short paper, we studied the interplay between mentioned molecules in *Arabidopsis thaliana* L. plants cultivated in the presence of Cd.

## MATERIAL AND METHODS

Seeds of *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana* L.) were surface decontaminated, stratified for 2 days, and cultivated in vitro in MS media strengthened with 0.9% agar. The media contained various combinations of Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> in 100 µM concentration, galactoglucomannan oligosaccharides (Os) in 0.1 nM (Cd+Os treatment) or 1 nM concentration (Os treatment), sodium nitroprusside (SNP) in 15 µM concentration, and Carboxy-ptiO potassium salt (CptiO) in 100 µM concentration. The plants were cultivated for 7 days in controlled conditions (24 ± 1 °C, 60% humidity, 16 / 8 hours photoperiod).

The relative concentration of NO in roots was estimated with NO-specific fluorescent dye diaminofluorescein-FM diacetate and observed by fluorescent microscopy (DMI3000 B Leica with a filter set BP 450 – 490, dichroic mirror 510 nm, and LP 515 nm). The relative concentration of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in roots was estimated with the use of 3,3-diaminobenzidine (DAB) with the use of light microscopy. The intensity of the colouring in both NO staining and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> staining was estimated in the root (from the root apex up to 200 µm of differentiation zone) with the use of ImageJ free software. The obtained data were recalculated to the mean of the control treatment which was equal to 1. The signal from at least 15 roots was evaluated for every treatment and the graphs display the mean value and standard deviation.

The concentration of auxin (IAA) was estimated according to /6/ with the use of ELISA assay (enzyme-linked immunosorbent assay), based on competitive binding (IAA immunoassay kit Olchemim, Czech Republic). The results were statistically analysed with the use of the analysis of variance (ANOVA) and the Tukey test at  $p \leq 0.05$  using the statistical program Statistica, version 9.1, series 1009 (Statsoft, USA).

## RESULTS AND DISCUSSION

The impact of the media composition manifested in the growth of the roots (data not shown). The longest roots were in the treatments: Os, CptiO+Os, and control. GGMOs can stimulate the root elongation and increase the root biomass /5/ and CptiO acts as a NO scavenger, which influences the growth of roots and development of lateral roots in plants /7/. On the contrary, the shortest roots were found in the treatments containing SNP and the Cd treatment. While Cd decreases the plant growth of roots and disrupts the metabolism /1, 5, 6/, SNP has been found to affect the root growth in relation to its concentration in the media and plant species /8/.

The NO signal (Fig.1A; Tab. 1) in the root was the most prominent in the treatments containing SNP with highest intensity in the SNP+Cd and the SNP treatments. It corresponds with the previously obtained data because SNP is a NO donor molecule that causes the increase in NO production /8/. The lowest intensities of NO signals were detected in the control and the CptiO treatment. The NO signal in roots of the CptiO+Os treatment was increased compared to the CptiO treatment which suggests that GGMOs improved the

accumulation of NO in roots which supported the growth. Cadmium caused a significant increase in NO signal compared to control.

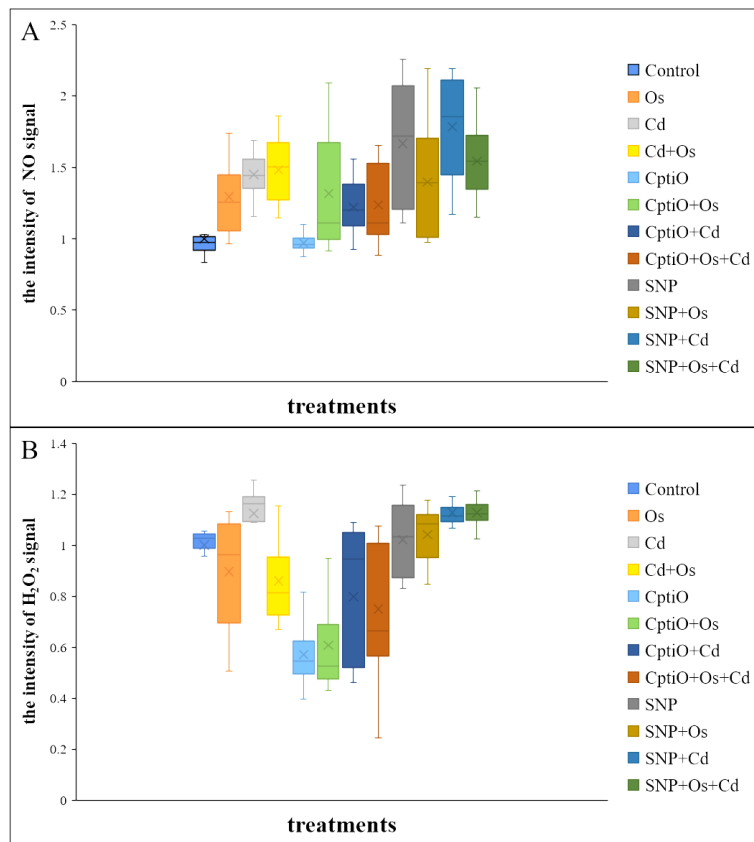


Fig. 1: The relative intensity of NO signal (A) and the relative intensity of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (B) signal in *A. thaliana* L. roots. The statistically significant differences are displayed in Tab. 1.

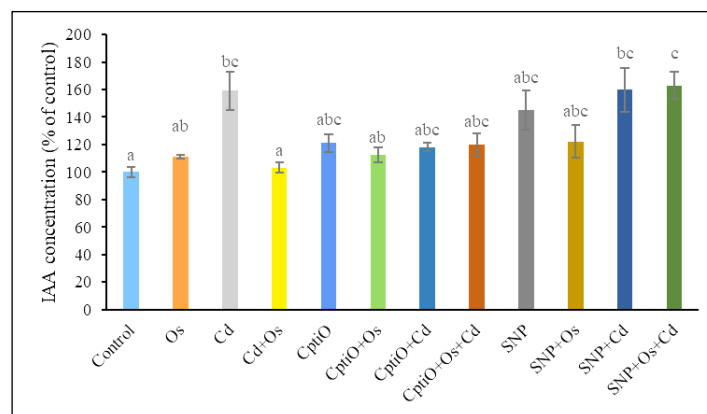


Fig. 2: The concentration of IAA in *A. thaliana* L. roots. The obtained data are recalculated to the mean of the control which was equal to 100%. Different letters denote significant difference at  $p \leq 0.05$ .

A similar trend could be seen in the relative intensity of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> signal (Fig. 1B, Tab.1). The highest concentrations of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> were found in the SNP treatments, the Cd treatment, while the low intensity was found in the CptiO+Os and the CptiO treatments. This suggests an interplay between NO and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in plants. The application of GGMOs slightly modulated the

concentration of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The accumulation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is closely related to the accumulation of IAA in the roots (Fig. 2). We determined that the concentration of IAA was the highest in the treatments: SNP+Cd, SNP+Os+Cd, and Cd. Increased auxin levels in the roots modulate the growth by increasing the concentrations of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> which in turn arrest the root growth /9/.

Tab. 1: The statistically significant differences between the treatments in parameters: NO signal and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> signal. Different letters denote significant difference at  $p \leq 0.05$ .

treatment	NO signal	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> signal	treatment	NO signal	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> signal	treatment	NO signal	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> signal
Control	a	cde	CptiO	a	a	SNP	de	de
Os	abc	bcd	CptiO+Os	bcd	a	SNP+Os	bcd	de
Cd	bcd	e	CptiO+Cd	ab	b	SNP+Cd	e	e
Cd+Os	cd	bc	CptiO+Os+Cd	ab	b	SNP+Os+Cd	cde	e

## CONCLUSION

The results confirmed that GGMOs have impact on the production of ROS in *A. thaliana* L. roots and that GGMOs decrease the accumulation of auxin in roots during Cd stress. The lowered concentrations of auxin decrease the accumulation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, which improves the root growth. Although this study did not confirm a direct link between NO signals and GGMOs actions in plants, further studies focused on different root sections need to be conducted due to their particular metabolic activities.

## REFERENCES

- /1/ Vivodová Z., Hačkuličová D., Bačovčinová, M., Šípošová, K., Kollárová K.: Galactoglucomannan oligosaccharides alleviate cadmium toxicity by improving physiological processes in maize. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 255, 2023: 114777
- /2/ Chaube, M.A., Trattig, N., Lee, D.H., Belkhadir, Y., Pfrengle, F.: Synthesis of fungal cell wall oligosaccharides and their ability to trigger plant immune responses. *European Journal of Organic Chemistry*, 2022, e202200313
- /3/ Zarattini, M., Corso, M., Kadowaki, A. et al.: LPMO-oxidized cellulose oligosaccharides evoke immunity in *Arabidopsis* conferring resistance towards necrotrophic fungus *B. cinerea*. *Communications Biology*, 4, 2021, 727
- /4/ Mondal, S.: Heavy metal stress-induced activation of mitogen-activated protein kinase signalling cascade in plant. *Plant Molecular Biology Reporter*, 41, 2023, 15-26
- /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*, 222, 2018, 59-66
- /6/ Šípošová, K., Labancová, E., Hačkuličová, D., Kollárová, L., Vivodová, Z.: The changes in the maize root cell walls after exogenous application of auxin in the presence of cadmium. *Environmental Science and Pollution Research*, 2023, doi: 10.1007/s11356-023-28029-3
- /7/ Correa-Aragunde, N., Graziano, M., Lamattina, L.: Nitric oxide plays a central role in determining lateral root development in tomato. *Planta*, 218, 2004, 900-905
- /8/ Li, M., Peebles, C.A., Shanks, J.V., San, K.Y.: Effect of sodium nitroprusside on growth and terpenoid indole alkaloid production in *Catharanthus roseus* hairy root cultures. *Biotechnology Progress*, 27, 2011, 625-630
- /9/ Ivachenko, M.G., den Os, D., Monshausen, G.B., Dubrovsky, J.G., Bednárová, A., Krishnan, N.: Auxin increases the hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) concentration in tomato (*Solanum lycopersicum*) root tips while inhibiting root growth. *Annals of Botany*, 112, 2013, 1107-1116

## Acknowledgements

This work was funded by the Grant Agency VEGA 2/0055/22 and by the COST Action CA21134.



## VLIV NSAID NA SEKUNDÁRNÍ METABOLISMUS LOCIKY SETÉ IN VITRO

### *EFFECT OF NSAID ON SECONDARY METABOLISM OF LETTUCE IN VITRO*

Jan Kubeš<sup>1</sup>, Barbora Burešová<sup>2</sup>, František Hnilička<sup>1</sup>, Marek Popov<sup>1</sup>

Česká zemědělská univerzita v Praze, FAPPZ, <sup>1</sup>Katedra botaniky a fyziologie rostlin,  
<sup>2</sup>Katedra chemie Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 – Suchbátka, kubes@af.czu.cz

#### *Summary*

A callus culture of *Lactuca sativa* was exposed to effect of two drugs, which are used as painkillers or for treatment of other symptoms like fever, and can be found in wastewaters. Diclofenac and paracetamol in some of used concentrations (0.1-100  $\mu$ M) increased total content of phenolic compounds, flavonoids and phenolic acids, the latter one significantly. Both pharmaceutical substances also took positive effect on total antioxidant capacity, especially in higher applied concentrations, which could explain lower values of malondialdehyde content, created by oxidative stress, in comparison with control.

*Key words: lettuce, Lactuca sativa L., callus culture, drug contamination, secondary metabolites.*

#### **Souhrn**

Kalusová kultura lociky seté byla vystavena vlivu dvou léčivých látek, které se používají při léčbě bolesti nebo dalších příznaků jako je horečka. Tyto látky pak mohou být přítomné v odpadních vodách. Diklofenak a paracetamol v některých z použitých koncentrací (0.1-100  $\mu$ M) zvýšily celkový obsah fenolických látek, flavonoidů a fenolických kyselin, u paracetamolu byl rozdíl průkazný. Obě léčivé látky také měly pozitivní vliv na celkovou antioxidační kapacitu, což by mohlo vysvětlovat nižší hodnoty malondialdehydu tvořeného v důsledku oxidačního stresu ve srovnání s kontrolou.

*Klíčová slova: salát, Lactuca sativa L., kalusová kultura, kontaminace léčivy, sekundární metabolity*

## ÚVOD

Nesteroidní protizánětlivá léčiva (NSAID) zahrnují širokou řadu látek jako ibuprofen, diklofenak (DCL) nebo naproxen. Jednotlivé podskupiny lze dělit dle jejich struktury či účinků, případně podle toho, jak jsou schopny inhibovat enzym cyklooxygenázu a jeho izoformy. Přestože paracetamol (PAR) má spíše pouze analgeticko-antipyretické účinky, bývá do této skupiny také řazen, jelikož sdílí některé vlastnosti s dalšími zástupci NSAID /1/.

S rostoucí spotřebou těchto léčiv, které jsou často volně dostupné, souvisí zvýšení množství jejich koncentrace či koncentrace jejich metabolitů v odpadních vodách, odkud se mohou dostávat v případě nedostatečné degradace i do okolního prostředí. V případě absorpce a akumulace těchto látek různými plodinami, by tak mohly tyto rostliny představovat riziko pro zdraví lidí i zvířat /2, 3/.

Locika setá (*Lactuca sativa* L., *Asteraceae*) patří mezi oblíbenou listovou zeleninu pěstovanou v řadě zemí po celém světě /4/. Obsahuje poměrně nízké množství kalorií a lipidů, dále je zdrojem vlákniny, draslíku a vitamínů /5/. Z hlediska sekundárních metabolitů jsou zde zastoupeny látky typu polyfenolických sloučenin, mezi které se řadí různé flavonoidy,

fenolické kyseliny a jejich glykosidy a další deriváty /6/. V rámci rostlin je kromě jiných účinků pro tyto látky typický podíl na antioxidační aktivitě, kdy jsou schopné se díky své struktuře podílet na likvidaci nadbytku volných radikálů vzniklých v důsledku působení stresu různého původu /7/.

Vliv léčiv na fyziologické parametry salátu pěstovaného různými technikami byl v minulosti již popsán /8, 9/. Tato práce se tak zaměřila na to, jestli zvolené léčivé látky ovlivní koncentraci vybraných skupin sekundárních metabolitů u kalusové kultury *L. sativa*.

## MATERIÁL A METODA

Kalusová kultura byla odvozena z vypreparovaných hypokotylů ze semen *L. sativa* 'Král Máje', vyklíčených na médiu dle Murashige a Skoog (MS) /10/ s přidavkem agaru (4 g/l). Tvorba a růst kalusů byla zajištěna přidáním 6-BAP (0.1  $\mu\text{M}$ ) a NAA (0.44  $\mu\text{M}$ ); kalusy (cca 1 g) byly pasážovány každé tři týdny a kultivovány na papírových můstcích v Erlenmeyerových baňkách s tekutým MS médiem (30 ml). Obě léčivé látky byly testovány v koncentrační řadě 100, 10, 1 a 0.1  $\mu\text{M}$ . Experiment trval tři týdny, kdy na začátku (K0) pokusu a na konci (K1) byly kromě testovaných kultur odebrány i kontrolní vzorky bez přidaných kontaminantů. Rostlinný materiál byl homogenizován v 80% ethanolu, získaný extrakt byl použit pro analýzu obsahu malondialdehydu (MDA) /11/, celkového obsahu fenolických látek /12/, flavonoidů /13/, fenolických kyselin /14/ a antioxidační kapacity /15/. Všechny experimenty byly provedeny minimálně ve třech opakováních, výsledky jsou vyjádřeny jako průměr jednotlivých měření  $\pm$  standardní odchylka. Pro statistické vyhodnocení byla použita one-way ANOVA s následujícím Tukey-HSD testem, když bylo  $p < 0.05$ . Odlišná písmena v tabulce a grafech označují statisticky významné rozdíly mezi variantami.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

V rámci analyzovaných látek byl sledován v buňkách kalusové kultury obsah MDA, který slouží jako jeden z markerů poškození buněčných membrán peroxidací lipidů /8/. Z Tabulky 1 je patrné, že v průběhu kultivace došlo po třech týdnech k signifikantnímu nárůstu obsahu této sloučeniny u kontrolních vzorků. U variant s přidanými kontaminanty byl v případě DCL pozorován u nižších koncentrací významný pokles oproti finální kontrole K1, u PAR se vzorky obsahem MDA od kontrol výrazně nelišily, přestože byl obsah tohoto metabolitu ve srovnání s K1 menší.

Tabulka 1: Obsah malondialdehydu (MDA) v nmol/g čerstvé hmotnosti (FW).

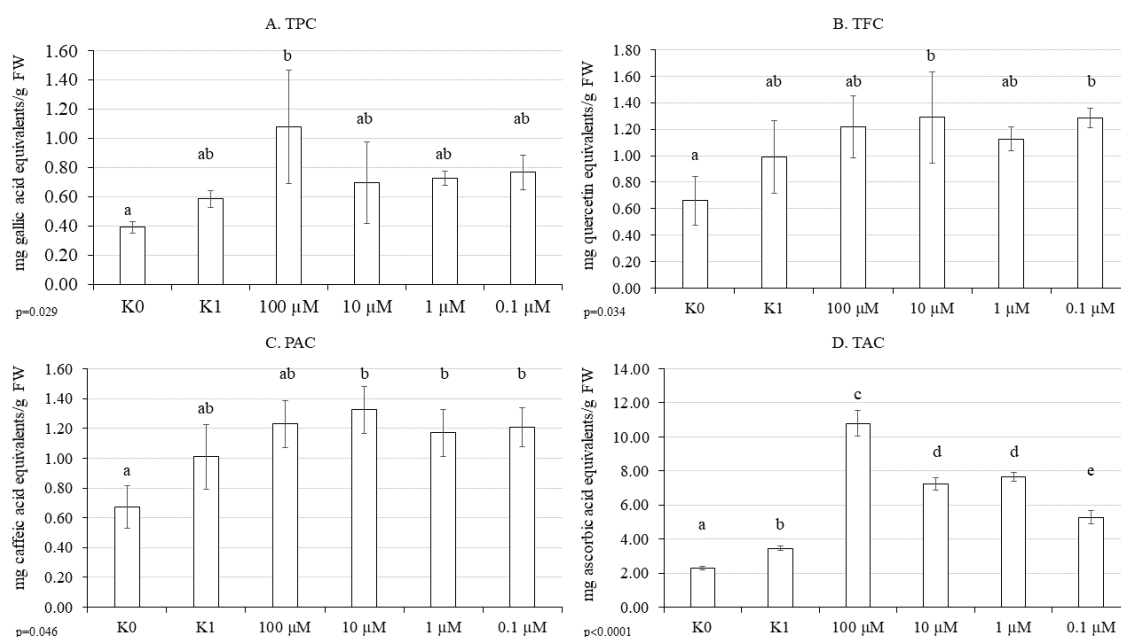
	K0	K1	100 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{M}$	1 $\mu\text{M}$	0.1 $\mu\text{M}$
DCL	12,55 $\pm$ 1,21 <sup>a</sup>	18,82 $\pm$ 1,81 <sup>b</sup>	14,31 $\pm$ 2,49 <sup>ab</sup>	12,31 $\pm$ 2,52 <sup>a</sup>	13,62 $\pm$ 1,63 <sup>a</sup>	10,89 $\pm$ 1,71 <sup>a</sup>
PAR	14,88 $\pm$ 1,99 <sup>a</sup>	21,27 $\pm$ 1,55 <sup>b</sup>	19,62 $\pm$ 0,33 <sup>ab</sup>	17,87 $\pm$ 0,90 <sup>ab</sup>	18,83 $\pm$ 3,38 <sup>ab</sup>	17,09 $\pm$ 0,95 <sup>ab</sup>

$n=3 \pm \text{SD}$ . One-way ANOVA,  $p(\text{DCL})=0.003$ ;  $p(\text{PAR})=0.016$ .

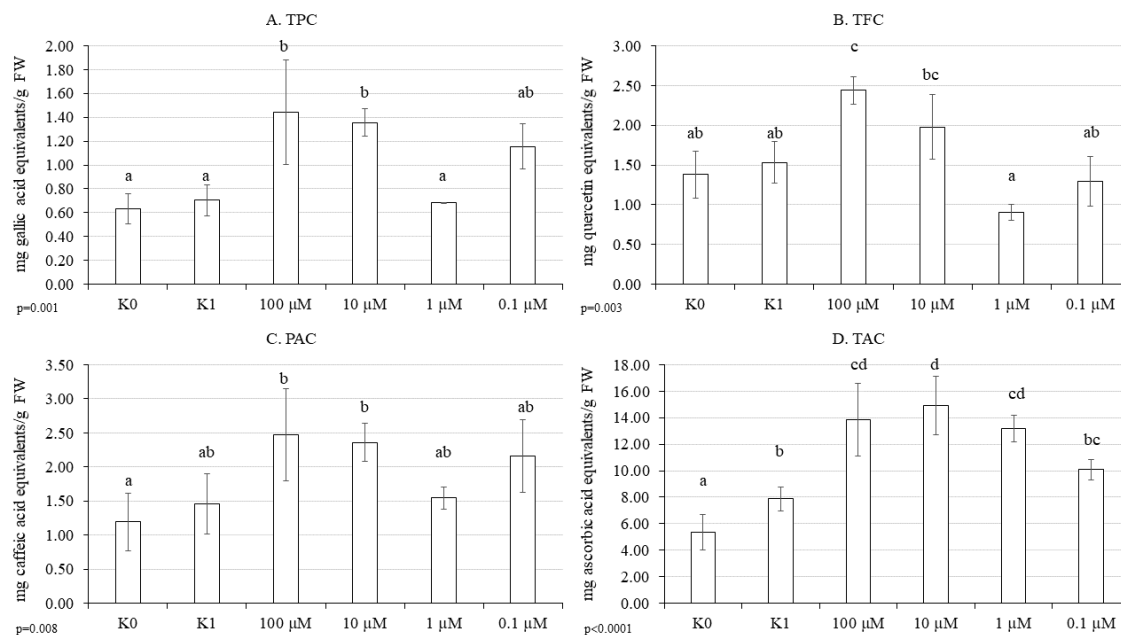
Míra tvorby MDA, jako markeru poškození membrán společně například s přítomností  $\text{H}_2\text{O}_2$ , v závislosti na koncentraci léčiv byla kromě salátu /16/ popsána i u dalších rostlin jako kukuřice nebo hrách /8/. Nižší obsah MDA by mohl být vysvětlen zvýšením produkce sekundárních metabolitů ze skupiny fenolických látek /17/, případně zapojením dalších molekul (kyselina askorbová, glutathion) a mechanismů (antioxidační enzymy) do antioxidační obrany /8, 16/.

Výsledky zobrazené v Grafu 1 ukazují, že u vzorků, kde byl aplikován DCL, došlo k nárůstu celkového obsahu sledovaných metabolitů (A-C). Toto zvýšení však při srovnání s K1 nebylo statisticky významné. Rovněž kultury, kde byly použity roztoky o různých

koncentracích, se z hlediska těchto látek mezi sebou z hlediska statistiky nelišily. Nicméně jak ukazuje Graf 1D, celková antioxidační kapacita byla u vzorků s přidáním léčivem zvýšena a tento nárůst se, s výjimkou variant 10 a 1  $\mu\text{M}$ , postupně s klesající koncentrací DCL rovněž snižoval.



Graf 1: Vliv diklofenaku na: A. Celkový obsah fenolických látek, B. Celkový obsah flavonoidů, C. Celkový obsah fenolických kyselin, D. Celkovou antioxidační kapacitu. FW – čerstvá hmotnost, K0, K1 – kontrolní varianty na začátku a konci experimentu.  $n=3 \pm SD$ .



Graf 2: Vliv paracetamolu na: A. Celkový obsah fenolických látek, B. Celkový obsah flavonoidů, C. Celkový obsah fenolických kyselin, D. Celkovou antioxidační kapacitu. FW – čerstvá hmotnost, K0, K1 – kontrolní varianty na začátku a konci experimentu.  $n=3 \pm SD$ .

Podobné výsledky měl i experiment s PAR (Graf 2), kde však jeho 100 $\mu\text{M}$  koncentrace v médiu způsobila staticky významné zvýšení TPC a TFC oproti K1 (Graf 2A, B). V případě TPC pak měla podobný účinek i o řád nižší koncentrace, u ostatních skupin (TFC, PAC; Graf

2B C) pak nárůst významný nebyl. Z hlediska antioxidační kapacity (Graf 2D) jsou její hodnoty u vzorků s aplikovaným léčivem opět vyšší a s klesající koncentrací se redukční schopnost extraktů snižuje. Zvýšená tvorba fenolických sloučenin jako reakce na oxidační stres byl u salátu pozorován i u jiných abiotických faktorů, např. hliníku /18/, kde hrála roli i použitá odrůda. To může vysvětlit, proč u /19/ naopak došlo po aplikaci DCL k poklesu obsahu TPC i TFC.

## ZÁVĚR

V rámci provedeného experimentu se u kalusové kultury salátu ukázalo, že diklofenak i paracetamol mohou mít vliv na tvorbu polyfenolů či dalších látek podílejících se na antioxidační aktivitě. Tento závěr může sloužit pro další studie se zaměřením na výzkum případného vlivu těchto léčiv na tvorbu konkrétních sekundárních metabolitů.

## LITERATURA

- /1/ Bacchi, S., Palumbo, P., Sponta, A., Coppolino, M. F.: Clinical pharmacology of non-steroidal anti-inflammatory drugs: a review. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents)*, 11.1, 2012: 52-64.
- /2/ Buta, M., Hubeny, J., Zieliński, W., Harnisz, M., Korzeniewska, E.: Sewage sludge in agriculture—the effects of selected chemical pollutants and emerging genetic resistance determinants on the quality of soil and crops—a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 214, 2021: 112070-112084.
- /3/ Kolečka, K., Gajewska, M., Caban, M.: From the pills to environment—prediction and tracking of non-steroidal anti-inflammatory drug concentrations in wastewater. *Science of The Total Environment*, 825, 2022: 153611-153622.
- /4/ Křístková, E., Doležalová, I., Lebeda, A., Vinter, V., Novotná, A.: Description of morphological characters of lettuce (*Lactuca sativa* L.) genetic resources. *Horticultural Science*, 35(3), 2008: 113-129.
- /5/ Kim, M. J., Moon, Y., Tou, J. C., Mou, B., & Waterland, N. L.: Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 49, 2016: 19-34.
- /6/ Llorach, R., Martínez-Sánchez, A., Tomás-Barberán, F. A., Gil, M. I., Ferreres, F.: Characterisation of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole. *Food chemistry*, 108(3), 2008: 1028-1038.
- /7/ Akula, R., Ravishankar, G. A.: Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant signaling & behavior*, 6(11), 2011: 1720-1731.
- /8/ Zezulka, Š., Kummerová, M., Babula, P., Hájková, M., & Oravec, M.: Sensitivity of physiological and biochemical endpoints in early ontogenetic stages of crops under diclofenac and paracetamol treatments. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 2019: 3965-3979.
- /9/ Kudrna, J., Hnilická, F., Kubes, J., Vachova, P., Hnilickova, H., & Kuklova, M.: Effect of acetaminophen (APAP) on physiological indicators in *Lactuca sativa*. *Life*, 10(11), 2020: 303-317.
- /10/ Murashige, T., Skoog, F.: A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 1962: 473-497.
- /11/ 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(9), 1992: 1566-1570.
- /12/ Singleton, V. L., Rossi, J. A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 1965: 144-158.
- /13/ Tsanova-Savova, S., Ribarova, F., Petkov, V.: Quercetin content and ratios to total flavonols and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Bulg Chem Commun*, 50(1), 2018: 69-73.
- /14/ ČR, MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ. Český lékopis 2017. Praha: Grada, 2017: 140-141.
- /15/ Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M.: Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical biochemistry*, 269(2), 1999: 337-341.
- /16/ Leitão, I., Mourato, M. P., Carvalho, L., Oliveira, M. C., Marques, M. M., Martins, L. L.: Antioxidative response of lettuce (*Lactuca sativa*) to carbamazepine-induced stress. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 2021: 45920-45932.
- /17/ Siemieniuk, A., Ludynia, M., Rudnicka, M.: Response of two crop plants, *Zea mays* L. and *Solanum lycopersicum* L., to diclofenac and naproxen. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), 2021: 8856-8873.
- /18/ Chen, Y., Huang, L., Liang, X., Dai, P., Zhang, Y., Li, B., Lin, X., Sun Ch.: Enhancement of polyphenolic metabolism as an adaptive response of lettuce (*Lactuca sativa*) roots to aluminum stress. *Environmental Pollution*, 261, 2020: 114230-114238.

/19/ Opriş, O., Lung, I., Soran, M. L., Ciorîţă, A., Copolovici, L.: Investigating the effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on the composition and ultrastructure of green leafy vegetables with important nutritional values. *Plant physiology and biochemistry*, 151, 2020: 342-351.

### **Poděkování**

Uvedená práce vznikla za finanční podpory SVV grantu MŠMT (SV23-14-21110) a OP VVV EU NutRisk Centre, reg. č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_019/0000845.

## ROZDÍLNÉ REAKCE FOTOSYNTETICKÝCH ZNAKŮ A SLOŽENÍ TERPENOIDŮ SAZENIC SMRKU ZTEPILÉHO PO PŮSOBENÍ VODNÍHO DEFICITU

### *DIFFERENT RESPONSES OF PHOTOSYNTHETIC FEATURES AND TERPENOID COMPOSITIONS OF NORWAY SPRUCE SEEDLINGS IN THE CONTEXT OF WATER DEFICIT*

Veronika Šamajová<sup>1,2</sup>, Hana Húdoková<sup>1,2</sup>, Eva Pšidová<sup>1</sup>, Jana Marešová<sup>1</sup>, Peter Fleischer Jr.<sup>1,3</sup>, Ľubica Ditmarová<sup>1</sup>, Gabriela Jamnická<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Forest Ecology, Slovak Academy of Sciences, L. Štúra 2, 960 01 Zvolen, Slovakia

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

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

#### *Summary*

Norway spruce trees are susceptible to dry conditions, especially during the growing season in all stages of their development. However, seedlings usually respond more sensitive to abiotic stress factors than mature trees. In this study we assessed the physiological and biochemical response of Norway spruce seedlings originated from 3 different regions along the natural altitudinal gradient of Norway spruce distribution in Slovakia to dry conditions. We used the method of fast kinetics chlorophyll fluorescence measurements to estimate the impact of drought and biochemical analyses of some terpenoids concentrations under water deficit. The highest performance of PSII and its components was detected in high provenance under drought stress. Additionally, in high provenance we observed higher amounts of o-cimene, (–)-alpha-terpineol and sabinene compared to other tested provenances under drought treatment.

*Key words: Norway spruce, seedlings, drought, terpenoids, chlorophyll fluorescence*

#### *Súhrn*

Smrk ztepilý je náchylný na sucho, zejména ve vegetačním období ve všech fázích svého vývoje. Sazenice však obvykle reagují citlivěji na abiotické stresové faktory než vzrostlé stromy. V této studii jsme hodnotili fyziologickou a biochemickou odezvu semenáčků smrku ztepilého pocházejícího ze 3 různých oblastí podél přirozeného výškového gradientu rozšíření smrku ztepilého na Slovensku do suchých podmínek. K odhadu vlivu sucha a biochemických analýz koncentrací některých terpenoidů pod vodním deficitem jsme použili metodu rychlé kinetiky měření fluorescence chlorofylu. Nejvyšší výkonnost PSII a jeho složek byla zjištěna ve vysoké provenienci při stresu ze sucha. Kromě toho jsme ve vysoké provenienci pozorovali vyšší množství o-cimenu, (–)-alfa-terpineolu a sabinenu ve srovnání s jinými testovanými proveniencemi při léčbě suchem.

*Klíčové slová: smrk ztepilý, sazenice, sucho, terpenoidy, fluorescence chlorofylu*

## INTRODUCTION

Water deficit belongs to the most extensive limiting factors of the forest ecosystems. Its effects on tree individuals depend primarily on their intensity and frequency of the

occurrence. High mortality and decrease of Norway spruce vitality in the Central European area is observed in most regions and in alpine ecosystems; moreover, these individuals later showed a higher predisposition to pathogens due to carbon starvation /1/. Drought susceptibility of individual spruce trees or populations interact with soil and the availability of belowground water /2/.

Dehydration significantly reduces water potential and photosynthesis and activates several photo-protective mechanisms. Tree individuals must deal with a complex of negative effects at all levels, starting with the exchange of gases and ending with the suppression of the activity of photosynthetic enzymes /3/. Therefore, photosynthetic processes are most significantly affected by the lack of water due to the possibility of CO<sub>2</sub> diffusion into the chloroplasts and other metabolic limitations /4/. Especially, processes on the PSII are sensitive to drought and other abiotic stress factors and therefore the responses of PSII provide clear evidence about the injuries of its components under water limitations. Drought also affects the secondary metabolism of plants and accumulation of terpenoids, which present important defence mechanism of spruce species /5/.

This study is focused on the physiological response of PSII and metabolic responses of some terpenoids (o-cimene, (–)-alpha-terpineol, sabinene) to drought conditions between 3 Norway spruce provenances. Fast kinetics of chlorophyll a fluorescence is one of the very effective methods to estimate the performance of PSII and its components under water limitations.

## MATERIAL AND METHODS

For the manipulative experiment was chosen 30 individuals (10 individuals per provenance) of Norway spruce seedlings in the age of 5 from 3 different origins (650 m a.s.l., 1060 m a.s.l., 1500 m a.s.l.) to along the altitudinal gradient of distribution of Norway spruce in Slovakia. We simulated drought for 4 weeks for 5 individuals per provenance (D variant) and regular irrigation for 5 individuals per provenance (C variant). To assess the drought intensity, the soil water potential was measured ( $\Psi_W$  [MPa]). When the value of the soil water potential decreased under -1.5 MPa in all D variant seedlings (after 4 weeks) we analysed the impact of drought on seedlings.

*Tab 1: Origin and climatic characteristics of provenances*

PV	Alt [m a.s.l.]	Long	Lat	Locality	Prec Year [mm]	Prec 5-9 [mm]	Temp year [°C]	Temp 5-9 [°C]
Low provenance	650	48°46'	19°24'	Pohronský Bukovec	808	441	6.88	14.52
Middle provenance	1060	48°59'	19°48'	Tajch	1011	588	4.58	11.82
High provenance	1500	48°57'	19°27'	pod Chabencom	1155	641	3.42	10.48

### Chlorophyll fluorescence measurements

We used the method of fast kinetics of chlorophyll a fluorescence using the Handy PEA (Hansatech Instruments, Ltd., United Kingdom) and parameters derived from the OJIP curve, to assess the impact of drought on PSII. Young needles were adapted to dark conditions for 30 min, and they were illuminated with the saturation pulse with high intensity of 3,500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  for 1 s to enhance the chlorophyll fluorescence. We assessed two parameters (Fv/Fm, PIABS), which are denoted as the best describing chlorophyll fluorescence parameters according to /6/.

Used parameters of chlorophyll fluorescence:

- Fv/Fm – maximum quantum yield of PSII photochemistry

- PIABS – index of photochemical activity based on the reaction centers  
Terpene contents analyses

Young Norway spruce needles were collected for analyses of terpenoids concentrations and immediately stored in liquid nitrogen. We used samples from 5 seedlings per provenance and treatment to assess concentrations of different terpenes in assimilation apparatus. Samples were analysed using gas chromatography with mass spectrometry. Identification of terpenes was made by their mass profile compared to their retention times with authentic commercial standards of o-cimene (OCI), (-)-alpha-terpineol (ATEol), sabinene (SAB). Terpenes concentrations data were then recalculated on the fresh weight of sample [ $\mu\text{g g}^{-1}$  (FM)] /7/.

### Statistical analyses

Data from measurements of chlorophyll a fluorescence and biochemical parameters were analysed using Kruskal-Wallis tests (K-W test) followed by pairwise Wilcoxon rank sum tests. The analysis was performed in the R (4.1.2) using rstatix (0.7.0) library (R Core Team, Austria). Letters denoting statistically significant differences were created using the multcompView (0.1-8) library. Different letters represent statistically significant differences between groups.

## RESULTS AND DISCUSSION

Fast kinetics of chlorophyll a fluorescence was affected by 4-weeks long drought. Especially, provenances originated from lower altitudes (low provenance, middle provenance) responded to water deficit by significant decrease of maximum quantum yield of PSII photochemistry ( $F_v/F_m$ ). Photochemical efficiency of the high altitude was not significantly influenced by drought (Fig 1).

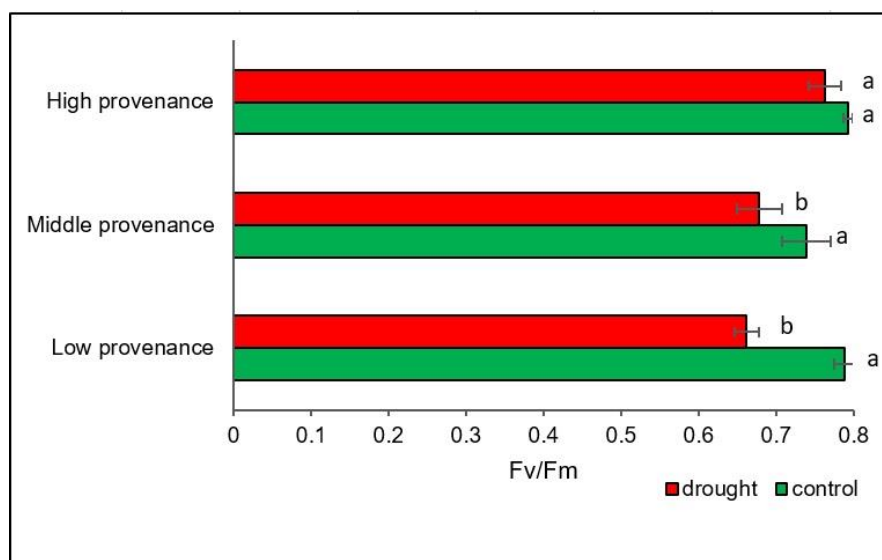


Fig 1: Maximum quantum yield changes in PSII photochemistry among 3 different provenances in control variant (green colour) and after drought treatment (red colour). Means  $\pm$  SE ( $n = 5$ ). Different small letters represent statistically significant differences among the groups at  $p < 0.05$  according to K-W test.

Index of photochemical activity significantly decreased only in low altitude provenance, however in Norway spruces originated from higher altitudes PIABS even slightly increased under drought treatment (Fig 2). The similar findings were also noted in the study of Jamnická et al. /8/.



Responses of some analysed monoterpenes (OCI, ATEol, SAB) varied between provenances and variants (Fig 3 a, b, c). Only slight increase of OCI was found in high provenance. However, significant increase of ATEol and SAB concentrations were found in the provenance from high altitude. It may be caused by impact of water deficit to secondary metabolism of seedlings originated from high altitude which enhance the accumulation of higher amounts of ATEol and SAB to cope with these conditions.

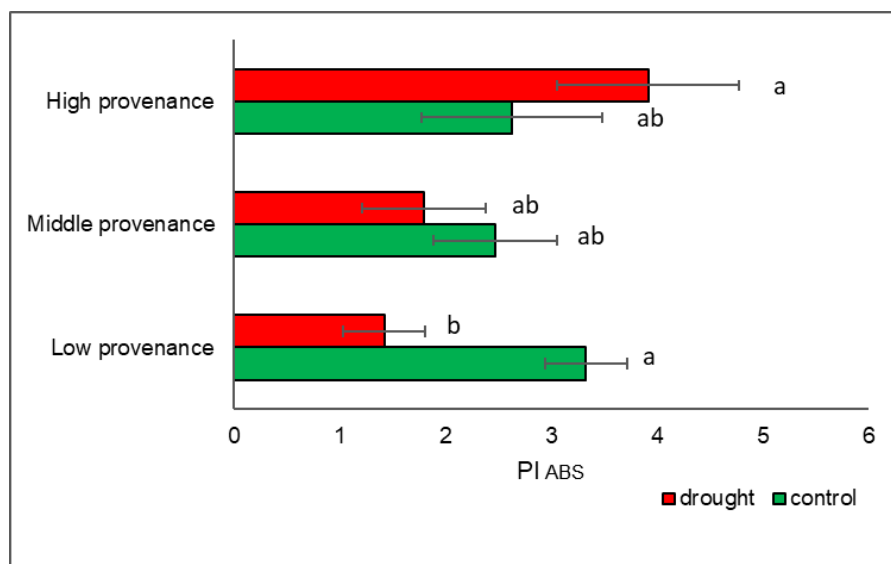


Fig 2: Quantification of changes in the index of photochemical efficiency of fast kinetics of PSII photochemistry between 3 different provenances in control variant (green colour) and after drought treatment (red colour). Means  $\pm$  SE ( $n = 5$ ). Different small letters represent statistically significant differences among the groups at  $p < 0.05$  according to K-W test.

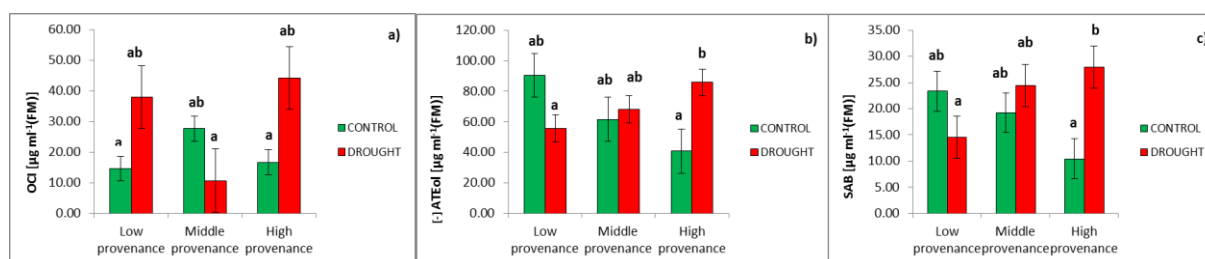


Fig 3: Fluctuation of different monoterpene concentrations: a) ocimene (OCI), b) (–)-α-terpineol (ATEol) and c) sabinene (SAB) [ $\mu\text{g g}^{-1}$  (FM)] between provenances for control variant (green colour) and after drought treatment (red colour). Means  $\pm$  SE ( $n = 5$ ). Different small letters represent statistically significant differences among the groups at  $p < 0.05$  according to K-W test.

In provenance originated from low altitude was observed only slight decline of ATEol and SAB concentrations under drought treatment. The study of Marešová et al. /7/ also provide information that response of monoterpenes to 3 weeks long drought varied between provenances and treatments. Moreover, the impact of drought on different provenances depends mainly on the level of the drought stress. While provenances originated from lower altitudes could responded to drought by decrease of monoterpenes accumulation in many cases. However, provenances from higher elevations could develop more defensive

mechanisms to cope with water limitations what can induce the higher accumulation of some monoterpenes in plant tissues /5,7/.

To sum up the major findings, seedlings originated from lower elevations and drier and warmer localities responded by decrease of their photochemical activity after 4 weeks drought, although the monoterpenes accumulation was not significantly affected. The effectivity of PSII photochemistry of the provenance from high elevation was maintained even after the dry period. Additionally, ATEol and SAB increased accumulation was found in high provenance after dry period.

## REFERENCES

- /1/ Rehschuh, R., Mette, T., Menzel, A., Buras, A. 2017. Soil properties affect the drought susceptibility of Norway spruce. *Dendrochronologia* 45: 81-89. <https://doi.org/10.1016/j.dendro.2017.07.003>
- /2/ Petrik, P., Grote, R., Gömöry, D., Kurjak, D., Petek-Petrik, A., Lamarque, L.J., Sliacka Konôpková, A., Mukarram, M., Debta, H., Fleischer, P. Jr. 2023. The Role of Provenance for the Projected Growth of Juvenile European Beech under Climate Change. *Forests*. 14(1): 26. <https://doi.org/10.3390/f14010026>
- /3/ Urban, L., Aarouf, J., Bidel, L.P.R. 2017. Assessing the effects of water deficit on photosynthesis using parameters derived from measurements of leaf gas exchange and of chlorophyll a fluorescence. *Frontiers in Plant Sciences* 8: 2068. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02068>
- /4/ Pinheiro, C., Chaves, M.M. 2011. Photosynthesis and Drought: Can We Make Metabolic Connections from Available Data? *Journal of Experimental Botany*. 62: 869-882. <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/erq340>
- /5/ Holopainen J.K., Virjamo V., Ghimire R.P., Blande, J.D, Tiitto, R.J., Kivimäenpää M. 2018. climate change effects on secondary compounds of forest trees in the northern hemisphere. *Frontiers in Plant Sciences* 9: 1445. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01445>
- /6/ 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. *Ecol. Indic.* 108: 105686. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105686>.
- /7/ Marešová, J., Húdoková, H., Sarvašová, L., Fleischer, P., Ditmarová, E., Blaženc, M., Jamnická, G. 2022. Dynamics of internal isoprenoid metabolites in young *Picea abies* (Norway spruce) shoots during drought stress conditions in springtime. *Phytochemistry* 203: 113414. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2022.113414>.
- /8/ Jamnická, G., Fleischer, P. Jr., Konôpková, A., Pšidová, E., Kučerová, J., Kurjak, D., Živčák, M., Ditmarová, E. 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>

## Acknowledgements

This study was supported by the Slovak Research and Development Agency grant number APVV-19-0606 and the Slovak Grant Agency for Science grant number VEGA 1/0285/23.

## PLEVELE JAKO STRESOVÉ FAKTORY LUČNÍCH ROSTLIN: ALELOPATICKÉ ÚČINKY *HORDEUM MURINUM* L. SUBSP. MURINUM

### ***WEEDS AS STRESS FACTORS IN MEADOW PLANTS: ALLELOPATHIC EFFECTS OF HORDEUM MURINUM L. SUBSP. MURINUM***

Agnieszka Tatoj<sup>1</sup>, Beata Barabasz-Krasny<sup>1</sup>, Wojciech Gruszka<sup>2</sup>, Ingrid Turisová<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Botany, Institute of Biology and Earth Science, Pedagogical University of Krakow, Podchorążych 2 St., 30-084 Kraków, Poland, agnieszka.tatoj@up.krakow.pl, beata.barabasz-krasny@up.krakow.pl;

<sup>2</sup> Department of Biological Sciences, Faculty of Physical Culture in Gorzów Wlkp., Poznań University School of Physical Education, Estkowskiego 13, 66-400 Gorzów Wlkp., Poland, biologia@awf-gorzow.edu.pl;

<sup>3</sup> Department of Biology and Ecology, Faculty of Natural Sciences, Matej Bel University in Banská Bystrica, Tajovského 40, Banská Bystrica 974 01, Slovakia, ingrid.turiso@umb.sk

#### ***Summary***

The experiment concerns the allelopathic effect of *Hordeum murinum* L. subsp. *murinum* on common meadow and grassland species. For this purpose, Petri-dishes tests were carried out, which became the basis for the analysis of the effect of water extracts from barley ears and shoots on the germination and early growth of clover and fescue seedlings. These studies have shown that barley has a clear allelopathic potential.

***Key words:*** allelopathy, barley, *Festuca rubra* L., stress factors, *Trifolium repens* L. cv. *Grassland Huia*

#### ***Souhrn***

Experiment se týká alelopatického účinku *Hordeum murinum* L. subsp. *murinum* na běžné luční a travní druhy. Za tímto účelem byly provedeny testy v Petriho miskách, které se staly základem pro analýzu vlivu vodních extraktů z klasů a stonků ječmene na klíčení a raný růst semenáčků jetele a kostřavy. Tyto studie ukázaly, že ječmen má jasný alelopatický potenciál.

***Klíčová slova:*** alelopatie, ječmen, *Festuca rubra* L., stresové faktory, *Trifolium repens* L. cv. *Grassland Hui*

## **INTRODUCTION**

Plants can affect the growth and development of other plants through the chemical compounds they secrete or substances derived from their decomposition /10/. This impact is referred to as allelopathic stress. Native plant species are often more susceptible to allelochemicals released from non-native colonizers than to those from the species they evolved from, which may explain the invasiveness of some alien species /2/. *Hordeum murinum* L. is an example of a species that has spread from the Mediterranean region to most areas of the temperate zone, becoming a nuisance weed /1/. It is considered invasive in the western part of the USA, South America, Australia, New Zealand, where it most often colonizes grasslands and semi-deserts /9/. It has low habitat requirements. In Poland, it grows in synanthropic sites, devoid of natural vegetation, and is considered a pioneer species /3/.

The aim of this experiment is to determine whether the expansion of the alien species *Hordeum murinum* L. subsp. *murinum* may pose a threat to native meadow plants by generating allelopathic stress

## MATERIAL AND METHODS

The samples of *Hordeum murinum* L. subsp. *murinum* were obtained in 2022 from sites located on the roadside in Gorzów Wielkopolski and Piła (north-western Poland). The plant material was dried in the dark at room temperature and stored in paper bags for the duration of the experiment. *Festuca rubra* L. seeds were bought from DLF Seeds s. r. o. (Hladké Životice, Czech Republic). Seeds of *Trifolium repens* L. cv. Grassland Huia were obtained from the Prusy Experimental Station of the University of Agriculture in Krakow (southern Poland).

Dried parts of *H. murinum* (ears and shoots with leaves), each separately, were ground in a laboratory mill and extracts were prepared from them at concentrations of 2.5, 5 and 7.5% (2.5 g of raw material + 97.5 ml-1 H<sub>2</sub>O = 2.5% extract). For the extraction of chemical substances, plant material flooded with distilled water was stored for 24 h in the dark at room temperature 23 °C ±2 °C. After this time, the aqueous extracts were filtered through filter paper and stored in a refrigerator at 8°C ±2°C for the duration of the experiment.

White clover and red fescue seeds (each separately) were sterilized in 1% acetone solution for 1 min and then rinsed 3 times with distilled water. 25 seeds were placed on sterile Petri dishes with three layers of paper moistened with an appropriate *H. murinum* extract. The control group consisted of seeds moistened with distilled water only. Seeds on the plates were placed in the dark, at room temperature 23 °C ±2 °C, and relative humidity of about 60–70%. Every 24 hours for 7 days (for clover seeds) and 14 days (for fescue seeds) the number of germinated seeds was checked. The experiment was carried out in 3 repetitions for each concentration and type of false barley extract and control. On this basis, the Germination Percentage – G (%) was determined according to the formula:  $G\% = \sum n_{ki} / N \times 100$ ,

$$G\% = \sum n_{ki} / N \times 100,$$

where:  $n_i$  – number of seeds newly germinating on  $i$ -day;  $N$  – total number of seeds tested and  $k$  – last day of germination /5/.

After 7 days of germination of white clover seeds and 14 days of germination of fescue seeds, fresh and dry mass were determined for individual seedlings on a laboratory scale (Radwag, WPS-120). In order to determine the dry mass, individual seedlings were dried for 48 h at 105 °C in a dryer (WAMED SUP 100, Poland). Calculations of the percentage water content were made according to the following formula:

$$WC (\%) = 100 - [(DM \times 100) / FM]$$

WC – water content, DM – dry mass, FM – fresh mass /6/.

Statistica 13.3 software was used for statistical calculations. To determine the differences between the obtained experimental values, the standard deviation (±SD) was calculated for each parameter and Duncan's test was used ( $n = 5$ , at  $p \leq 0.05$ ).

## RESULTS AND DISCUSSION

*Festuca rubra* seeds sprouted similarly in the first 6 days of the experiment both in the presence of *Hordeum murinum* L. ssp. *murinum* ear and stalk extracts and in the control group. From the 7<sup>th</sup> day of germination, a significant decrease in the GP value was observed

in relation to the control for seeds watered with 7.5% extracts from ears and shoots. Ear extract at a concentration of 5% significantly inhibited fescue germination from the 7th day (except for the 8th and 13th day), and at a concentration of 2.5% only on the 12th and 14th day. The extract from the shoots at a concentration of 5% significantly reduced the GP value for *F. rubra* seeds on days 9–10, 13–14 of the experiment, and at a concentration of 2.5% only on day 14 (Fig. 1B, D). Germination of *Trifolium repens* in the first two days of the experiment was significantly inhibited by all extracts used. From the 4th day of the experiment, shoot extracts had a significant germination-inhibiting effect only at a concentration of 7.5%. Ear extracts with a concentration of 7.5% also significantly weakened germination on each day of the experiment, while extracts with 5% from the 5th day of the experiment and 2.5% only on the 6th day (Fig. 1A, C).

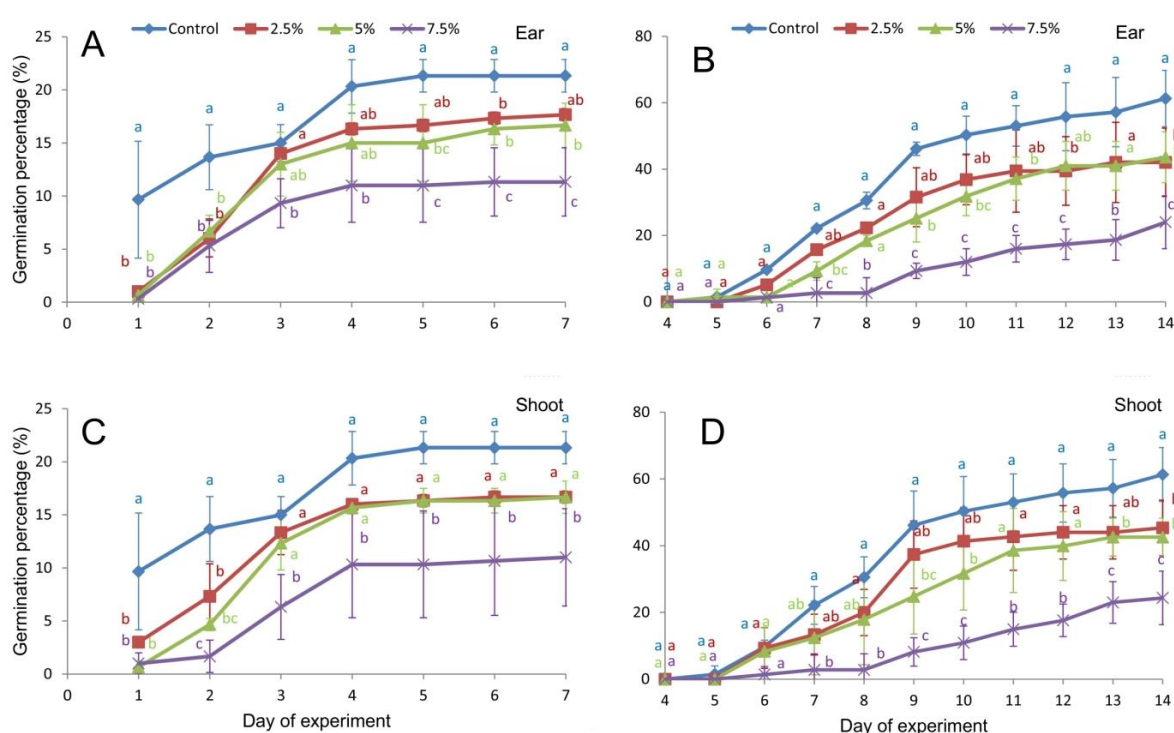


Fig. 1: Germination percentage of seeds of *Trifolium repens* L. cv. Grassland Huia (A, C) and *Festuca rubra* L. (B, D), watered with organ extracts of *Hordeum murinum* L. subsp. *murinum* at different percentages (2.5%, 5%, 7.5%); aqueous extracts from the following parts of barley: A, B – ears, C, D – shoots with leaves; mean values from 3 repetitions ( $\pm$ SD) marked with different letters differ significantly according to the Duncan test  $p \leq 0.05$

Studies conducted by other authors also indicate the inhibition of germination by *H. murinum* extracts. Puig et al. /8/ showed that 24.8% water extract from *H. murinum* completely inhibits the germination of *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist and *Aster squamatus* Michx. seeds and significantly reduces the germination of *Brassia scoparia* (L.) A.J. Scott seeds, compared to the control. The authors found that water extracts from *H. murinum* contain 7 phenolic acids (protocatechuic, vanillic, p-hydroxybenzoic, p-hydroxybenzaldehyde, p-coumaric, syringic, and ferulic acid) and five flavonoids (apigenin,

apigenin derivative '1', apigenin derivative '2, ellagic acid and luteolin derivative '5'), that act allelopathically.

Changes in seedling germination and growth in the presence of water extracts from *H. murinum* resulted in differences in biomass production. A decrease in the fresh weight of *F. rubra* seedlings was shown when watering them with extracts from the ear and shoot of *H. murinum* at a concentration of 7.5%. On the other hand, 2.5% extract from the spike caused an increase in their fresh mass. Ear extracts caused a significant reduction in the fresh mass of *T. repens* at a concentration of 7.5%, and shoot extracts at a concentration of  $\geq 2.5\%$ . All types of extracts reduced water content in *T. repens* tissues, but had no significant effect on water content in *F. rubra* tissues (Tab. 1).

Tab. 1: Fresh and dry mass and water content in seedlings of *Trifolium repens* L. cv. Grassland Huia (A) and *Festuca rubra* L. (B), watered with aqueous extracts from organs of *Hordeum murinum* L. subsp. *murinum*., at different percentages (2.5%, 5%, 7.5%); mean values from 3 repetitions ( $\pm$ SD) marked with different letters differ significantly according to the Duncan test  $p \leq 0.05$

Extract type (%)	Fresh mass (g)		Dry mass (g)		Total water content (%)	
	A	B	A	B	A	B
Ear						
Control	0,0059 a $\pm 0.0000$	0,0059 b $\pm 0.0010$	0,0003 c $\pm 0.0000$	0,0010 ab $\pm 0.0001$	94,5942 a $\pm 0.2602$	83,1933 a $\pm 3.2783$
2.5	0,0057 a $\pm 0.0013$	0,0073 a $\pm 0.0013$	0,0005 ab $\pm 0.0001$	0,0010 a $\pm 0.0002$	91,9138 b $\pm 1.0159$	85,8796 a $\pm 2.8015$
5	0,0053 ab $\pm 0.0009$	0,0059 b $\pm 0.0004$	0,0005 a $\pm 0.0001$	0,0008 ab $\pm 0.0001$	89,9071 c $\pm 2.8838$	85,7143 a $\pm 2.0797$
7.5	0,0046 b $\pm 0.0006$	0,0043 c $\pm 0.0007$	0,0004 bc $\pm 0.0001$	0,0007 b $\pm 0.0002$	91,5094 bc $\pm 0.5973$	83,3605 a $\pm 3.1469$
Shoot						
Control	0,0059 a $\pm 0.0000$	0,0059 a $\pm 0.0010$	0,0003 b $\pm 0.0000$	0,0010 a $\pm 0.0001$	94,5942 a $\pm 0.2602$	83,1933 a $\pm 3.2783$
2.5	0,0052 b $\pm 0.0012$	0,00572 a $\pm 0.0005$	0,0006a $\pm 0.0001$	0,0010 a $\pm 0.0001$	88,5846 b $\pm 1.3340$	82,3205 a $\pm 3.0180$
5	0,0045 c $\pm 0.0020$	0,00492 a $\pm 0.0005$	0,0006 a $\pm 0.0001$	0,00082 ab $\pm 0.0001$	85,5712 c $\pm 4.1885$	83,3782 a $\pm 1.6657$
7.5	0,0043 c $\pm 0.0002$	0,00244 b $\pm 0.0009$	0,0006 a $\pm 0.0000$	0,00064 b $\pm 0.0003$	86,1026 c $\pm 0.2433$	69,3282 a $\pm 19.1781$

Hamidi et al. /4/ examining the effect of *H. murinum* extracts on wheat growth, they also showed its inhibitory effect. They found that false barley shoot extract has stronger allelopathic properties than its root extract. Growth inhibition results in reduced biomass production. The greater sensitivity of the root to allelochemicals probably resulted from the contact time of this organ with the extract. During germination, the seed coat is the first to be exposed to environmental factors, followed by the developing roots of the seedling /7/.

## CONCLUSION

In the experiment, a significant effect of water extracts from *Hordeum murinum* L. ssubp. *murinum* on the germination of clover and fescue was observed. From the 7<sup>th</sup> day of germination, a significant reduction in the G (%) value was found in relation to the control for

the tested seeds watered with 7.5% extracts from the ears and shoots of *H. murinum*. Germination of *Trifolium repens* cv. Grassland Huia in the first two days of the experiment was inhibited by all extracts used. A decrease in the fresh mass of *F. rubra* seedlings was shown when watering them with extracts from the ear and shoot at a concentration of 7.5%. Ear extracts caused a significant reduction in the fresh mass of *T. repens* at a concentration of 7.5%, and shoot extracts at a concentration of  $\geq 2.5\%$ . In conclusion, *H. murinum* L. subsp. *murinum* has allelopathic potential, which can be a significant environmental stress for meadow plants.

## REFERENCES

- /1/ Błońska, A., Kompała-Bąba, A.: Spektrum fitocenotyczno-siedliskowe *Hordeum murinum* (Poaceae) na obszarze Wyżyny Śląskiej w porównaniu z wybranymi regionami Polski. *Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica*, 16(2), 2009: 325–338.
- /2/ Chen, B.M., Liao, H.X., Chen, W.B., Wei, H.J., Peng, S.L.: Role of allelopathy in plant invasion and control of invasive plants. *Allelopathy Journal*, 41, 2017: 155–166.
- /3/ Frey, L.: Grasses in Poland: invincible, but threatened. *Biodiversity Research and Conservation*, 19, 2010: 93–102. <https://doi.org/10.2478/v10119-010-0025-z>
- /4/ Hamidi, D., Ghadiri, H., Bahrani, M.J., Moradshahi, A., Reza, H.: Allelopathic effects of wild barley (*Hordeum spontaneum* Koch) extracts on growth of five wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *International Journal of Ecology and Environmental Sciences*, 40(2/3), 2014: 149–152.
- /5/ Khan, R., Khan, M. A., Waqas, M., Khan, A. M., Hussain, Z., Khan, A., Raza, M. A.: Allelopathic potential of *Silybum marianum* L. against the seed germination of edible legumes. *Pakistan Journal of Weed Science Research*, 17(3), 2011: 293–302.
- /6/ Lipniak, K., Kliszcz, A.: Allelopathic effect of goosefoot on germination and early stage growth of triticale and radish. *AUPC Studia Naturae*, 5, 2020, 110–128. <https://doi.org/10.24917/25438832.5.8>
- /7/ Mazur, A.: The role of seed coat in the germination and early stages of growth of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in the presence of chickweed (*Stellaria media* (L.) Vill.). *AUPC Studia Naturae*, 4(1), 2019: 103–118. <https://doi.org/10.24917/25438832.4.6>
- /8/ Puig, C.G., Valencia-Gredilla, F., Pardo-Muras, M., Souto, X.C., Recasens, I., Guinjuan, J., Pedrol, N.: Predictive phytotoxic value of water-soluble allelochemicals in plant extracts for choosing a cover crop or mulch for specific weed control. Special issue: Integrated weed management. *Italian Journal of Agronomy*, 16(4), 2021: 1872. <https://doi.org/10.4081/ija.2021.1872>
- /9/ Tokarska-Guzik, B.: Trawy inwazyjne. – In: L. Frey (ed.), *Księga polskich traw*, 2007: 361–387. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków.
- /10/ Wojtasik, W., Kulma, A.: Odporność roślin na biotyczne czynniki stresowe. *Postępy Biologii Komórki*, 43(3), 2016: 453–476.

## Acknowledgments

These studies were co-funded by the Scientific Grant Agency of the Ministry of Education, Science, Research and Sport of the Slovak Republic and the Slovak Academy of Science under grant VEGA 2/0132/21.

## ZHODNOTENIE KVALITY TRVALÝCH TRÁVNÝCH PORASTOV S VÝSKYTM BORIEVKY OBYČAJNEJ

### *ASSESSMENT OF THE QUALITY OF PERMANENT GRASSLAND WITH THE OCCURRENCE OF JUNIPER*

Vladimíra Vargová, Ľubica Jančová

Národné 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 quality of phytomass of permanent grassland with the occurrence of juniper. Locations at different altitudes were monitored: Ostrá hora (568 m a.s.l.), Liptovská Lúžna (903 m a.s.l.), Priechod (576 m a.s.l.), Horné Lazy (470 m a.s.l.) and Chrámec (185 m a.s.l.). The botanical composition of sward was determined using the projective dominance method by Maloch /4/ and the grassland quality (EGQ) was evaluated according to Novák /6/. The monitoring results showed valuable until less valuable grassland with the occurrence of juniper (EGQ 51.17-68.13). The best-rated grassland was at the Horné Lazy location. At the locations, the soil was mostly 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 content of potassium (K) and a very high content of magnesium (Mg).

*Keywords: grassland, botanica, quality phytomass, Juniperus communis L., soil reaction*

#### *Souhrn*

Cieľom výskumu bolo zhodnotenie kvality fytomasy trvalých trávnych porastov s výskytom borievky obyčajnej. Boli monitorované lokality v rozdielnych nadmorských výškach: Ostrá hora (568 m n. m.), Liptovská Lúžna (903 m n. m.), Priechod (576 m n. m.), Horné Lazy (470 m n. m.) a Chrámec (185 m n. m.). Botanické zloženie trávneho porastu sme stanovili pomocou metódy projektívnej dominancie podľa Malocha /4/ a kvalitu trávneho porastu (EGQ) podľa Nováka /6/. Výsledky monitorovania ukázali hodnotný až menej hodnotný trávny porast (EGQ 51.17–68.13) takmer na všetkých lokalitách. Najlepšie hodnotený trávny porast bol na lokalite Horné Lazy. Na lokalitách bola pôda väčšinou charakterizovaná neutrálnou pôdnou reakciou, s vysokým obsahom humusu a dusíka (N), nízkym až veľmi nízkym obsahom fosforu (P), dobrým obsahom draslíka (K) a veľmi vysokým obsahom horčíka (Mg).

*Kľúčové slová: trávny porast, botanika, kvalita fytomasy, borievka obyčajná, pôdna reakcia*

## ÚVOD

Trávny ekosystém má schopnosť fungovať v uzavretom kolobehu organickej hmoty, energie, minerálnych látok a vody za pomoci abiotických činiteľov prostredia, ale aj pravidelného využívania človekom /1/. Borievka obyčajná (*Juniperus communis* L.) sa na Slovensku rozšírila spontánne na pastvinách a lúkach odlesnených počas valašskej kolonizácie. Po ústupe pastvy mnohé pasienky začali zarastať ďalšími drevinami a priestor pre svetlomilnú borievku sa začal výrazne zmenšovať. 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 /8/. Cieľom príspevku bolo zhodnotenie kvality fytomasy trávnych porastov s výskytom borievky obyčajnej.

## MATERIÁL A METÓDY

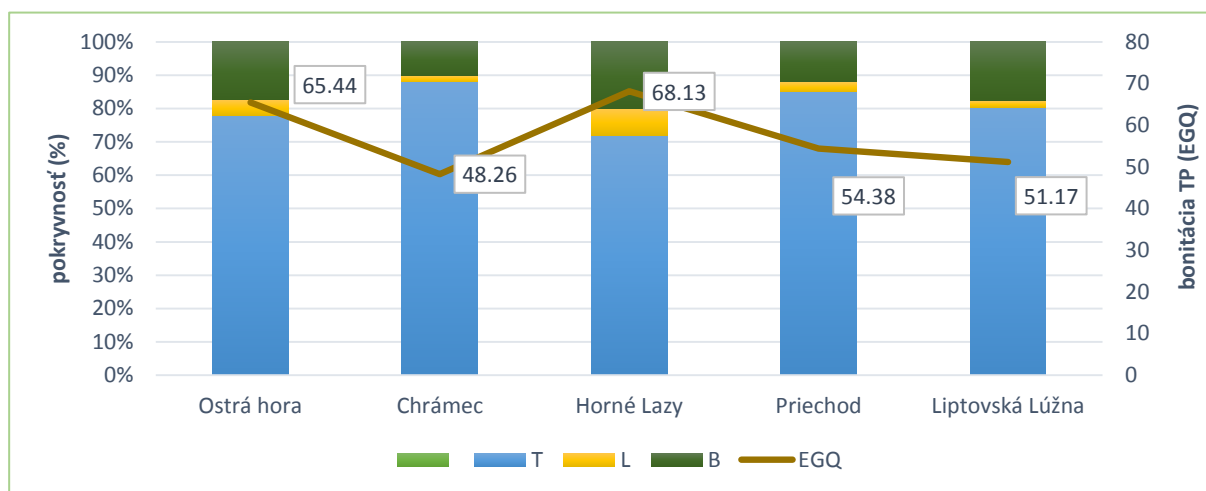
Zhodnotenie trvalých trávnych porastov s výskytom borievky obyčajnej sme realizovali v rokoch 2020–2022 na lokalitách Ostrá hora, Liptovská Lúžna, Priechod, Horné Lazy a Chrámec. Pomocou redukovanej projektívnej dominancie podľa Malocha /4/ sme analyzovali floristické zloženie hlavných skupín tráv, leguminóz, ostatných lúčnych bylín a prázdnych miest. Na základe podielov rastlín a kŕmnych hodnôt jednotlivých druhov sme určili bonitáciu trávneho porastu EGQ (Evaluation of grassland quality) podľa Nováka /6/, ktorá sa vypočítala pomocou kŕmnej hodnoty (FV – Forage value) jednotlivých druhov a ich percentuálneho podielu v trávnom poraste. Pôdne vzorky sme odoberali v jesennom období (október) z hĺbky 0-150 mm. Z odobratých pôdnych vzoriek sme stanovili pH v KCl, Cox, N, P, K a Mg, z ktorých sme určili štatistickú významnosť rozdielu jednotlivých lokalít metódou analýzy rozptylu ANOVA pomocou Tukeyovho testu na hladine významnosti 0,05 v programe STATGRAPHIC Centurion XVII.I.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Monitorované trávne porasty sa nachádzajú v lokalitách Ostrá hora, Liptovská Lúžna, Priechod, Horné Lazy a Chrámec v nadmorskej výške od 185 m do 903 m. Lokalitu Chrámec (okres Rimavská Sobota) zaradujeme do teplej agroklimatickej oblasti, okrskov T7, do mierne teplej agroklimatickej oblasti, okrskov M2 (mierne teplej a mierne vlhkej oblasti, so studenou zimou, typ kotlinovej klímy) patrí Ostrá hora (okres Levoča) a do okrsku M7 (mierne teplého silne vlhkého vrchovinového) patria lokality Priechod a Horné Lazy (okres Banská Bystrica). Liptovská Lúžna (okres Ružomberok) patrí do chladnej agroklimatickej oblasti, okrskov C1 (mierne chladného, veľmi vlhkého) s teplotou v júli  $\geq 12^{\circ}\text{C}$  až  $< 16^{\circ}\text{C}$  a dlhodobým ročným úhrnom zrážok 955 mm.

Trávny porast na monitorovanej lokalite Ostrá hora bol zložený predovšetkým z trávnych druhov, ktoré mali 81 %-né zastúpenie. Podiel bylín bol 18 % a leguminóz len 5%. Z tráv v poraste dominovali *Festuca pratensis* L., *Festuca rubra* L., *Arrhenatherum elatius* L., *Briza media* L., *Deschampsia caespitosa* (L.) P. Beauv. Z leguminóz prevládali predovšetkým *Trifolium repens* L. a *Vicia tenuifolia* L. Byliny boli v poraste zastúpené predovšetkým *Agrimonia eupatoria* L., *Salvia pratensis* L., *Tragopogon orientalis* L., *Daucus carota* L. a *Leontodon autumnalis* L. Bonitácia trávneho porastu počas vegetácie mala hodnotu EGQ 65,44, čo znamená menejhodnotný až hodnotný trávny porast (Graf 1). Na lokalite Chrámec dominovali trávy (88 %), s 2 %-ným podielom leguminóz a 10 %-ným podielom bylín. Dominantné trávne druhy boli *Arrhenatherum elatius* L., *Bromus tectorum* L., *Poa chaixii* L., *Calamagrostis epigejos* L. Leguminózy zastupovali *Anthyllis vulneraria* L. a *Dorycnium herbaceum* Vill. V poraste prevládali bylinné druhy ako *Agrimonia eupatoria* L., *Calamintha clinopodium* L. a *Cirsium arvense* L. Pri hodnotení trávneho porastu pomocou bonitácie, bol porast málo hodnotný až menejhodnotný s hodnotami EGQ 48,26. Tieto hodnoty odpovedajú nižšiemu zastúpeniu vysokohodnotných druhov tráv s vysokou kŕmnou hodnotou /7/.

Lokalita Horné Lazy mala trávny porast zložený najmä z tráv (72 %), ktorých podiel ku koncu vegetácie mierne stúpol. Z trávnych druhov v poraste dominovali *Bromus inermis* L., *Arrhenatherum elatius* L., *Briza media* L. a *Festuca rubra* L. Bylinné druhy mali 20 %-né zastúpenie s dominanciou *Agrimonia eupatoria* L., *Salvia pratensis* L., *Thymus pulegioides* L., *Plantago media* L. a *Polygala major* Jac. Bonitácia porastu dosiahla hodnoty EGQ 68,13, čo znamená menejhodnotný až hodnotný trávny porast. Aj na lokalite Priechod prevládali trávy s 85 %-ným podielom. Percentuálne zastúpenie bylín (12 %) a leguminóz bolo nízke (3 %).



Graf 1: Pokryvnosť floristických skupín a bonitácia trávneho porastu

Prevládajúce trávne druhy: *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 bylinami v poraste boli *Agrimonia eupatoria* L., *Salvia pratensis* L. a *Leontodon hispidus* L. Hodnoty bonitácie trávneho porastu EGQ boli 54,38, čo znamená menejhodnotný až hodnotný trávny porast. Porast na lokalite Liptovská Lúžna s výskytom borievok bol zložený najmä z tráv, ktoré mali 82 %-né zastúpenie. Podiel bylín bol 18 % a leguminóz len 2%. V poraste z trávnych druhov dominovali *Briza media* L., *Deschampsia caespitosa* (L.) P. Beauv., *Festuca rubra* L., *Bromus ramosus* L., *Agrostis stolonifera* L., *Carex* spp. Byliny dominovali: *Hypericum vulgare* L., *Galium molugo* L., *Cirsium eriophyllum* L. a *Alchemilla vulgaris* L. Pri hodnotení trávneho porastu pomocou bonitácie, bol porast málo hodnotný až menejhodnotný s hodnotami EGQ 51,17. V poraste sa vyskytovali druhy tráv s nízkou kŕmnu hodnotou /6/. Vlastnosti pôd sú ovplyvňované edafickými faktory ako geologický podklad, pôdny druh a pôdny typ /9/. Lokalita Ostrá hora mala neutrálnu pôdnu reakciu s vysokým obsahom humusu a dusíka (tab. 1). Zásoba prijateľného fosforu v pôde bola nízka, s vyhovujúcim obsahom prijateľného draslíka a horčíka. Na stanovišti Chrámec, ktorý sa nachádza v okrese Rimavská Sobota, bola pôdna reakcia slabokyslá (pH 6,32). Obsah humusu bol nízky, rovnako aj obsah dusíka a fosforu a zásoba draslíka bola dobrá. Obsah prijateľného Mg a bol veľmi vysoký. Lokalita Horné Lazy vykazovala neutrálnu pôdnu reakciu, s vysokým obsahom humusu a dusíka. Zásoba prijateľného fosforu v pôde bola nízka. Obsah draslíka v pôde bol dobrý s veľmi vysokým obsahom prijateľného horčíka (1352,98 mg.kg<sup>-1</sup>).

Tab. 1: Priemerné hodnoty agrochemických vlastností pôdy. Rozdielne indexy znamenajú štatisticky preukazné rozdiely medzi úrovňami faktorov (Tukey t-test, P = 0,05).

Lokalita	pH/KCl	Cox	N	P	K	Mg
		g.kg <sup>-1</sup>	g.kg <sup>-1</sup>	mg.kg <sup>-1</sup>	mg.kg <sup>-1</sup>	mg.kg <sup>-1</sup>
Ostrá hora	6,64 <sup>ab</sup>	49,23 <sup>b</sup>	4,94 <sup>bc</sup>	2,74 <sup>b</sup>	225,71 <sup>b</sup>	253,02 <sup>a</sup>
Chrámec	6,32 <sup>ab</sup>	16,92 <sup>a</sup>	1,72 <sup>a</sup>	1,46 <sup>ab</sup>	227,03 <sup>b</sup>	550,35 <sup>b</sup>
Horné Lazy	6,90 <sup>b</sup>	46,76 <sup>b</sup>	3,77 <sup>ab</sup>	1,36 <sup>ab</sup>	220,44 <sup>ab</sup>	1352,98 <sup>c</sup>
Priechod	6,66 <sup>ab</sup>	55,60 <sup>b</sup>	6,08 <sup>c</sup>	0,89 <sup>a</sup>	222,95 <sup>ab</sup>	1416,66 <sup>c</sup>
Liptovská Lúžna	5,55 <sup>a</sup>	35,95 <sup>ab</sup>	2,87 <sup>ab</sup>	1,92 <sup>ab</sup>	110,73 <sup>a</sup>	598,49 <sup>b</sup>

Pôdna reakcia na lokalite Liptovská Lúžna mala kyslú pôdnu reakciu (pH 5,55) s vysokým obsahom humusu a dusíka. Obsah fosforu v pôde bol na nízkej hodnote. V pôde bola vyhovujúca zásoba draslíka a vysoká zásoba horčíka. Lokalita Priechod zaznamenala neutrálnu pôdnu reakciu, s veľmi vysokým obsahom dusíka (6,08 g.kg-1). Zásoba prijateľného fosforu v pôde bola nízka, s vysokým obsahom prijateľného draslíka a veľmi vysokým obsahom horčíka. Naše pôdy sú dobre zásobené horčíkom čo potvrdzujú aj naše zistenia /3/. Vysoký obsah humusu, prijateľného dusíka, draslíka a horčíka v pôde súvisí s pasením zvierat, čím sa zvyšujú zásoby živín v pôde. Dostupnosť živín v pôde sa mení pôsobením zrážok, teploty, vetra, pôdneho typu a pôdnej reakcie /5/.

## ZÁVER

Zhodnotenie kvality trávnych porastov s výskytom borievky obyčajnej (*Juniperus communis* L.) sa uskutočnil na lokalitách v nadmorskej výške od 185 do 903 m. Trávne porasty boli charakteristické vyššou prezenciou menej kvalitných trávnych druhov a nízkym zastúpením bylín a leguminóz. Na základe bonitácie trávneho porastu, môžeme trávny porast na sledovaných lokalitách ohodnotiť ako hodnotný až menejhodnotný, okrem lokality Chrámec, kde bol porast málo hodnotný až menejhodnotný. Pôdna reakcia sa zistila neutrálna, s výnimkou dvoch lokalít (Liptovská Lúžna a Chrámec), s vysokým obsahom humusu a dusíka, nízkou zásobou fosforu, dobrou zásobou draslíka a veľmi vysokou zásobou horčíka.

## LITERATÚRA

- /1/ Holúbek, R., Jančovič, J., Gregorová, H., Novák, J., Ďurková, E.: Krmovinnárstvo – manažment pestovania a využívania krmovín. 1. vyd. Nitra : SPU, 2007: 420 s.
- /2/ Jankovič, et al.: Poznatky z mapovania borievkových porastov na Slovensku. In Dlhodobý ekologický výskum a monitoring lesov, zborník recenzovaných príspevkov z konferencie. Zvolen : NLC, 2017: 67-71.
- /3/ Kobza, J. et al.: Aktuálny stav a vývoj obsahu fosforu, draslíka a horčíka v poľnohospodárskych pôdach Slovenska. In Agrochémia, 50, 2010: 1, 3–8.
- /4/ Maloch, M.: Krmovinnárstvo. II. Diel. Bratislava : Príroda. 1953: 488 s.
- /5/ Maathuis, F.: Physiological function of mineral macronutrients. In Current Opinion in Plant Biology 12 (3), 2009: 250-258.
- /6/ Novák, J.: Evaluation of grassland quality. In Ekológia (Bratislava), vol. 23, 2004: 2, 127-143.
- /7/ Novák, J.: Pasienky, lúky a trávniky. Prievidza : Patria I. spol. s r. o., 2008: 708 s.
- /8/ Thomas, Pa., El-Barghathi, M., Polwart, A. : Biological flora of the british isles: *Juniperus communis* L. J. Ecol., 95, 2007: (6), 1404-1440.
- /9/ Skládanka, J. et al.: Pícninnárství. Brno: MU, 2014: 368 s.

## Pod'akovanie

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

## FORMOVÁNÍ STRUKTURNÍCH BARIÉR PRIMÁRNÍHO KOŘENE HRACHU POD VLIVEM NAPROXENU A ZMĚN HLADIN FYTOHORMONŮ

### FORMATION OF STRUCTURAL BARRIERS IN THE PEA PRIMARY ROOT UNDER NAPROXEN STRESS AND CHANGES IN PHYTOHORMONE LEVELS

Lucie Hanáková<sup>1</sup>, Marie Kummerová<sup>1</sup>, Štěpán Zezulka<sup>1</sup>, Michal Martinka<sup>2</sup>, Marek Klemš<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Ústav experimentální biologie – oddělení experimentální biologie rostlin, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita Brno, Kotlářská 2, 611 37 Brno, zezulka@sci.muni.cz, Česká republika

<sup>2</sup> Katedra fyziologie rostlin, Přírodovědecká fakulta, Universita Komenského v Bratislavě, Mlynska dolina B2, 842 15 Bratislava, Slovensko

<sup>3</sup> Ústav biologie rostlin, Agronomická fakulta, Mendelova Univerzita, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika

#### Summary

Naproxen (NPX; 0.1 to 10 mg/L) can stimulate the formation of structural barriers. Primary root of pea plants under NPX treatment exhibited an earlier formation of Casparian strips (CS) and a deposition of suberin lamellae (SL) in endodermis closer to the apex. Structural barrier formation under NPX treatment can be influenced indirectly by auxin-supported cell division and differentiation and directly by abscisic acid-induced SL deposition as proved by the higher portion of endodermal cells with SL in the primary root base. The earlier modification of endodermis in plant roots can participate to limit the drug uptake and transfer and maintain the homeostasis of the plant.

*Key words: NSAID, root system, Casparian strips, suberin lamellae, phytohormones*

#### Souhrn

Naproxen (NPX; 0.1 až 10 mg/L) může stimulovat formování strukturních bariér. V primárním kořenu rostlin hrachu vystavených NPX byla zjištěna včasnější tvorba Casparioho proužků (CS) a také ukládání suberinových lamel (SL) v endodermis blíže k apexu. Tvorba strukturní bariéry pod vlivem NPX může být ovlivněna nepřímo auxinem stimulujícím buněčné dělení a diferenciaci a přímo kyselinou abscisovou (ABA) indukující depozici SL, jak dokazuje vyšší podíl endodermálních buněk s SL u báze primárního kořene. Uspíšená modifikace buněčných stěn endodermis v kořenech rostlin se může podílet na omezení příjmu a transportu léčiva a udržení homeostázy rostliny.

*Klíčová slova: NSAID, kořenový systém, Casparioho proužky, suberinová lamela, fytohormony*

#### ÚVOD

Léčiva patří do skupiny pseudo-perzistentních polutantů díky jejich neustálému vstupu do životního prostředí a hazardnímu potenciálu pro necílové organismy včetně rostlin, u kterých mohou ovlivňovat biochemické a fyziologické procesy. Rostliny jsou schopny léčiva přijímat, transportovat, akumulovat a metabolizovat. Tolerance k léčivům a schopnost jejich akumulace je komplexní proces, který zahrnuje funkční i strukturní adaptace na úrovni buněk, pletiv a orgánů.

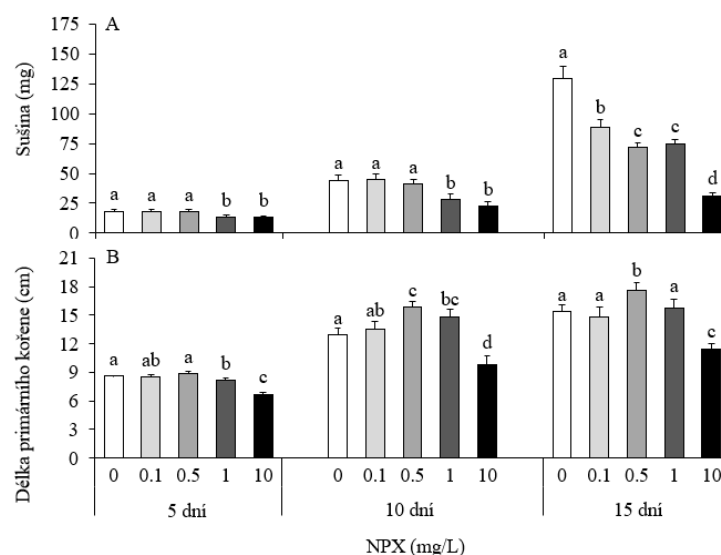
Cílem této studie bylo prozkoumat účinek léčiva naproxen na modifikaci buněčných stěn endodermálních buněk primárního kořene hrachu. Vývoj apoplastických bariér (Casparyho proužky, suberinové lamely) byl hodnocen ve vztahu k hladině fytohormonů (endogenní ABA a auxin), které hrají důležitou roli v regulaci růstu kořenů.

## MATERIÁL A METODA

Hrách setý (*Pisum sativum*, cv. Zázrak) byl kultivován v Reid-York živném roztoku bez (kontrola) a s přidavkem NPX 0,1, 0,5, 1 a 10 mg/L. Kultivace probíhala v řízených podmínkách (teplota  $23\pm 1^\circ\text{C}$ , relativní vzdušná vlhkost 60%, ozáření 400  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ , fotoperioda 14/10; provzdušňování; výměna roztoků po 10 dnech). Po 5, 10 a 15 dnech kultivace byla u rostlin hodnocena délka primárního kořene, hmotnost sušiny kořenů a pomocí fluorescenční mikroskopie byly na příčných řezech primárním kořenem (tloušťka 15  $\mu\text{m}$ ) mapovány výskyt Casparyho proužků /1,2/ a depozice suberinových lamel /3/. Hladiny fytohormonů byly stanoveny v apikálních částech (2 cm) a zbytku kořenového systému po 10 dnech kultivace. Obsah auxinu byl stanoven metodou ELISA /4/ a kyselina abscisová metodou RIA /5/. Výsledky byly vyhodnoceny neparametrickým Kruskal-Wallisovým testem s vícenásobným porovnáním a nebo jednocestnou analýzou rozptylu (ANOVA) a Tukey HSD testem při  $p < 0.05$ .

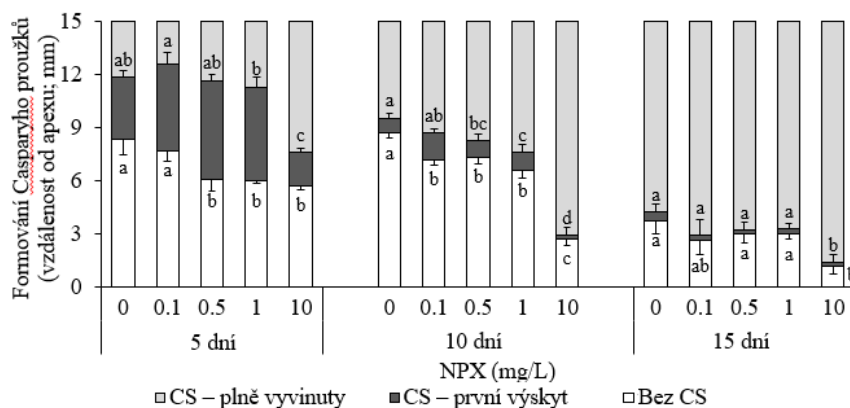
## VÝSLEDKY A DISKUSE

Změny v růstu kořenů hrachu odrážejí přímý kontakt s kontaminací (naproxen) v prostředí. Biomasa kořenů i délka primárního kořene se s prodlužující se dobou kultivace zvyšovaly. Účinek 1 a 10 mg/L NPX se projevil již po 5 dnech kultivace (sušina nižší až o 11 %, resp. 13 % oproti kontrole) a prohluboval se s prodlužující se dobou kultivace (snížení sušiny až o 72 % u 10 mg/L NPX po 15 dnech; obr. 1A). Nejkratší primární kořen byl zaznamenán u rostlin vystavených 10 mg/L NPX po celou dobu kultivace (cca o 16 % kratší ve srovnání s kontrolou; obr. 1B). Krátkodobý stimulační účinek byl zjištěn u 0,5 mg/L NPX, kde byl primární kořen delší o 12 % po 10 dnech a o 4 % po 15 dnech.



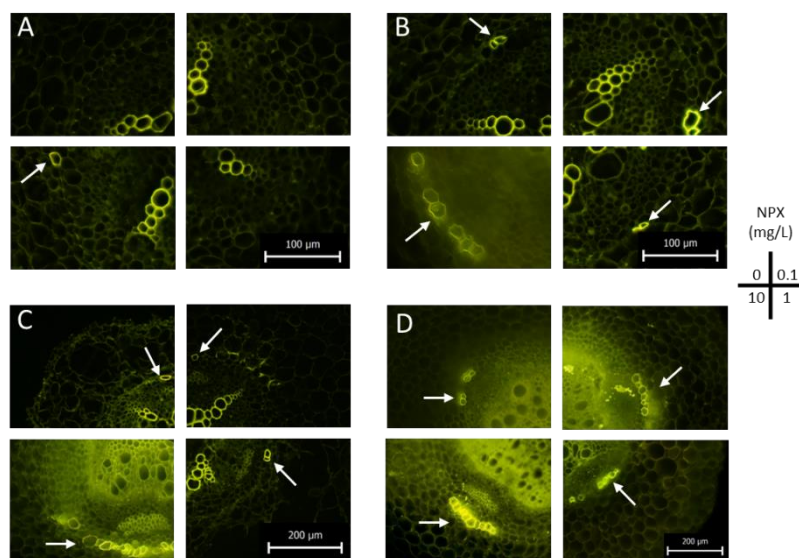
Obr. 1 Sušina kořenů (mg; A) a délka primárního kořene (cm; B) hrachu kultivovaného v živném roztoku s NPX (0, 0,1, 0,5, 1 a 10 mg/l) po dobu 5, 10 a 15 dní (sloupec = průměr, chybová úsečka = směrodatná odchylka, ANOVA, Tukey HSD test,  $p < 0.05$ ).

U primárního kořene rostlin zatížených 0,5, 1 a 10 mg/L NPX byla po pěti dnech kultivace zjištěna tvorba Casparyho proužků blíže k vrcholu kořene (o 9–20 % oproti kontrole, obr. 2). Nejvýraznější vliv NPX na včasější formování Casparyho proužků se projevil po deseti dnech, a to od nejnižšího zatížení (o 8–63 %). Po patnácti dnech kultivace u nejvyššího zatížení byla prokázána včasější diferenciaci pletiv v kořenovém vrcholu. Casparyho proužky se formovaly již ve vzdálenosti od 1 mm od apexu.



Obr. 2 Formování Casparyho proužků (CS) v buňkách endodermis (vzdálenost od kořenového vrcholu, mm) od prvního výskytu po plně vyvinutý kruh v endodermis primárních kořenů hrachu kultivovaného v živném roztoku s NPX (0, 0,1, 0,5, 1 a 10 mg/L) po 5, 10 a 15 dnech (statistika viz. obr. 1).

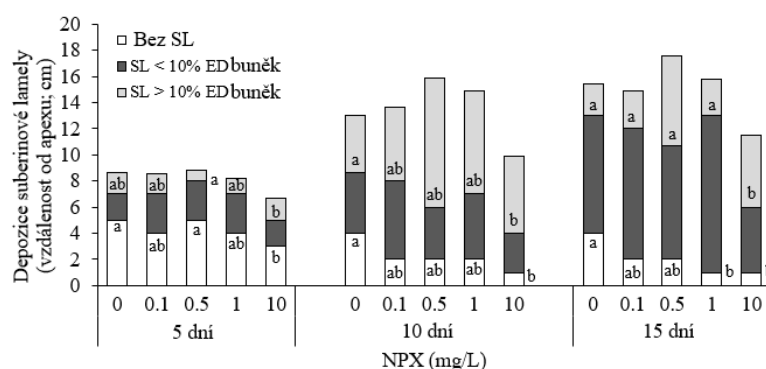
Suberinové lamely (SL) se ukládaly v endodermálních buňkách (obr. 3) významně blíže k apexu u 10 mg/L NPX o 40 až 75% oproti kontrole (obr. 4). Podíl buněk s vytvořenou SL byl vyšší u všech zatížení NPX v porovnání s kontrolou, a to až o 8–33% 5. den, o 17–44% 10. den a o 15–40% 15. den (tab. 1), nejvyšší podíl byl pozorován u báze kořene. Překvapivě nejvyšší podíl endodermálních buněk se SL nebyl prokázán u 10 mg/L NPX, ale při nižších zatíženích.



Obr. 3 Depozice suberinových lamel v endodermálních buňkách primárního kořene hrachu kultivovaného v živném roztoku s NPX (0, 0,1, 1 a 10 mg/l) po dobu 10 dnů. Ruční příčné řezy byly provedeny ve vzdálenosti 2 cm (A), 5 cm (B), 7 cm (C) a 10 cm (D) od vrcholu

primárního kořene. Bílé šipky označují endodermální buňky s vyvinutými suberinovými lamelami.

Naproxen ovlivnil i hladiny auxinu a kyseliny abscisové. Vyšší hladina auxinu (obr. 5A) při nejvyšším zatížení (2x vyšší v apikální části a 8x vyšší ve zbytku kořenového systému) se mohla podílet na dřívější diferenciaci kořene včetně formování Casparyho proužků a depozici suberinové lamely. Vyšší hladina kyseliny abscisové (obr. 5B) v apikálních částech kořenů u vyššího zatížení se spolupodílela na dřívější suberinizaci blíže kořenovému vrcholu, naopak nižší zatížení NPX způsobilo nárůst hladiny ABA ve zbytku kořenového systému (mimo apex), a tím zvýšenou suberinizaci v bazálních částech kořene (0.5 mg/L o cca 15%).

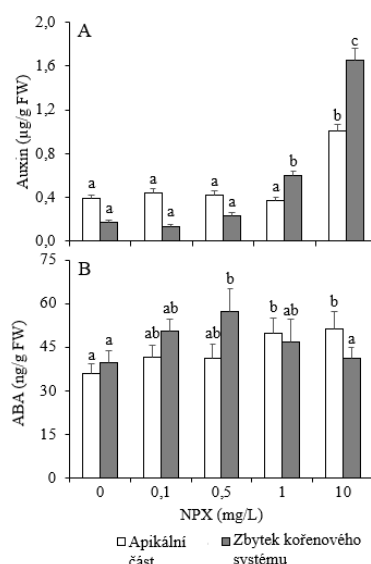


Obr. 4 Lokalizace depozice suberinových lamel (SL) v buňkách endodermis (vzdálenost od kořenového vrcholu, cm) v primárních kořenech hrachu kultivovaného v živném roztoku s NPX (0, 0.1, 0.5, 1 a 10 mg/L) po 5, 10 a 15 dnech. (statistika viz. obr. 1, Kruskal-Wallisův test s vícenásobným srovnáním,  $p < 0.05$ ).

Tab. 1 Podíl endodermálních buněk se suberinovými lamelami na bázi primárního kořene hrachu kultivovaného v živném roztoku s NPX (0, 0.1, 0.5, 1 a 10 mg/l) po dobu 5, 10 a 15 dnů (průměr ± směrodatná odchylka, ANOVA, Tukey HSD test,  $p < 0.05$ ).

NPX (mg/L)	Maximální podíl endodermálních buněk se suberinovou lamelou (%)		
	5 den	10 den	15 den
0	20.7 ± 0.9 a..	20.3 ± 1.5 a..	33.2 ± 0.7 a..
0.1	22.5 ± 2.1 ab	28.0 ± 1.1 bc	48.3 ± 1.0 c..
0.5	30.8 ± 2.1 d..	31.6 ± 0.1 c..	41.2 ± 2.3 b..
1	25.2 ± 1.9 bc	27.0 ± 1.5 b.	44.2 ± 0.3 bc
10	28.6 ± 1.5 cd	27.7 ± 1.7 bc	41.5 ± 1.7 b..

Naproxen ovlivnil i hladiny auxinu a kyseliny abscisové. Vyšší hladina auxinu (obr. 5A) při nejvyšším zatížení (2x vyšší v apikální části a 8x vyšší ve zbytku kořenového systému) se mohla podílet na dřívější diferenciaci kořene včetně formování Casparyho proužků a depozici suberinové lamely. Vyšší hladina kyseliny abscisové (obr. 5B) v apikálních částech kořenů u vyššího zatížení se spolupodílela na dřívější suberinizaci blíže kořenovému vrcholu, naopak nižší zatížení NPX způsobilo nárůst hladiny ABA ve zbytku kořenového systému (mimo apex), a tím zvýšenou suberinizaci v bazálních částech kořene (0.5 mg/L o cca 15%).



Obr. 5 Hladiny auxinu ( $\mu\text{g/g}$  čerstvé hmotnosti; A) a kyseliny abscisové (ABA,  $\text{ng/g}$  čerstvé hmotnosti; B) v apikálních částech (délka 2 cm) a zbytku kořenů hrachu kultivovaného v živném roztoku s NPX (0, 0.1, 0.5, 1 a 10  $\text{mg/l}$ ) po dobu deseti dnů (statistika viz. obr. 1).

## ZÁVĚR

Tato studie dokládá, že NPX, zástupce nesteroidních protizánětlivých léčiv, může stimulovat formování endodermis jako strukturální bariéry včasnější tvorbou Casparého proužků a suberinové lamely v jejich buněčných stěnách již v koncentracích vyskytujících se v životním prostředí. Výsledky rovněž dokládají vliv NPX na hladiny fytohormonů (auxin, ABA) a jejich možný vztah s dřívější tvorbou strukturálních bariér. Včasnější modifikace endodermálních buněčných stěn v kořenech rostlin může omezit příjem a transport toxických sloučenin a udržet homeostázu celého rostlinného těla.

## LITERATURA

- 1/ Brundrett MC, Enstone DE, Peterson CA (1988) A berberine-aniline blue fluorescent staining procedure for suberin, lignin, and callose in plant tissue. *Protoplasma* 146(2-3):133–142.
- 2/ Vitha S, Baluška F, Jasik J, Volkmann D, Barlow PW (2000) Steedman's wax for F-Actin visualization. In: Staiger CJ, Baluška F, Volkmann D, Barlow PW (Eds.) *Actin: A Dynamic Framework for Multiple Plant Cell Functions*. Developments in Plant and Soil Sciences, Vol. 89. Springer, Dordrecht.
- 3/ Brundrett MC, Kendrick B, Peterson CA (1991) Efficient lipid staining in plant material with Sudan Red 7B or Fluoral Yellow 088 in polyethylene glycol-glycerol. *Biotech Histochem* 66(3):111–116.
- 4/ Eder J, Rovenská J, Kutáček M, Čermák V (1988) HPLC analysis of indoles in *Agrobacterium* and transformed tobacco cells. In: Kutáček M, Bandurski RS, Krekule J (Eds.) *Physiology and biochemistry of auxins in plants*. Academia Praha and SPB Acad, Hague, p 389–390
- 5/ Quarrie SA, Whitford PN, Appleford NEJ, Wang TL, Cook SK, Henson IE, Loveys BR (1988) A monoclonal antibody to (S)-abscisic acid: its characterisation and use in a radioimmunoassay for measuring abscisic acid in crude extracts of cereal and lupin leaves. *Planta* 173(3):330–339.

## Poděkování

Tato práce byla podpořena z Operačního programu Výzkum, vývoj a vzdělávání – Projekt „Interní grantová agentura Masarykovy univerzity“ (No. CZ.02.2.69/0.0/0.0/19\_073/0016943).



## ZMĚNY V PROFILU STRESOVÝCH HORMONŮ *RAPHANUS SATIVUS* VAR. *SATIVUS* PERS. VLIVEM TOXICITY ARSENU

### CHANGES OF STRESS HORMONES PROFILE IN *RAPHANUS SATIVUS* VAR. *SATIVUS* PERS. BY ARSENIC TOXICITY

Veronika Zemanová<sup>1</sup>, Daniela Pavlíková<sup>1</sup>, Milan Novák<sup>1</sup>, Milan Pavlík<sup>1</sup>, Petre I. Dobrev<sup>2</sup>,  
Václav Motyka<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Česká zemědělská univerzita v Praze, FAPPZ, Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin, Kamýcká 129, 165 00 Praha 6 – Suchdol, zemanovav@af.czu.cz

<sup>2</sup> Ústav experimentální botaniky AV ČR, v. v. i., Laboratoř hormonálních regulací u rostlin, Rozvojová 263, 165 02 Praha 6 - Lysolaje

#### Summary

Accumulation and toxicity of arsenic in the biomass of *Raphanus sativus* L. var. *sativus* were observed in a pot experiment with haplic chernozem (locality Prague – Suchdol) and an arsenic dose of 100 mg/kg of soil. After 50 days of growth, arsenic accumulated mainly in the roots and showed low translocation to the leaves. Arsenic toxicity reduced the yield of leaves, bulbs, and roots. The results showed that the bioactive forms of stress hormones were altered by arsenic toxicity and that the profile of stress hormones differed between leaves and bulbs. However, a significant change due to arsenic toxicity was observed only for abscisic acid in leaves (decrease compared to control) and jasmonic acid in bulbs (increase compared to control).

*Key words: bioaccumulation, metalloid, phytohormones, radish, stress*

#### Souhrn

Akumulace a toxicita arsenu v biomase *Raphanus sativus* L. var. *sativus* byly sledovány v nádobovém pokusu s černozemí haplickou (lokalita Praha – Suchdol) a dávkou arsenu 100 mg/kg půdy. Po 50 dnech růstu byl arsen akumulován především v kořenech a výsledky ukázaly jeho nízkou translokaci do listů. Toxicita arsenu snížila výnos listů, bulv a kořenů. Výsledky ukázaly změnu v bioaktivních formách stresových hormonů v *R. sativus* var. *sativus* vlivem toxicity arsenu a rozdíl v profilu stresových hormonů mezi listy a bulvami. Statisticky významné změny vlivem toxicity arsenu byly však zjištěny pouze u kyseliny abscisové v listech (snížení v porovnání s kontrolou) a kyseliny jasmonové v bulvách (zvýšení v porovnání s kontrolou).

*Klíčová slova: bioakumulace, metalloid, fytohormony, ředkvička, stres*

## ÚVOD

V životním prostředí jsou rostliny vystaveny abiotickým a biotickým stresovým faktorům, pro které vyvinuly různé způsoby detekce a odpovědi pro zajištění svých důležitých biologických procesů /1/. Jednou ze skupin metabolitů, která reguluje obranyschopnost rostliny a zajišťuje její homeostázi prostřednictvím synergických a antagonistických vztahů, jsou fytohormony /1,2/, zejména kyselina abscisová (ABA), kyselina salicylová (SA) a kyselina jasmonová (JA) /3/. Tyto tři růstové regulátory, které zprostředkovávají adaptaci k podmínkám prostředí jsou často spojovány s tolerancí rostlin vůči stresu způsobenému působením toxických prvků včetně arsenu (As) /2,4-6/.

## MATERIÁL A METODA

Pro nádobový pokus byly založeny dvě varianty: kontrola bez aplikace As – As0 a kontaminovaná varianta s As v dávce 100 mg/kg půdy – As100. Pokusným materiálem byly rostliny ředkvičky (*Raphanus sativus* L. var. *sativus* 'Viola'; Nohel Garden a.s.), pěstované v nádobách 50 dní od přímého výsevu do půdy. Bylo vyseto 10 semen na nádobu a po vzejití byl počet sjednocen na 6 rostlin na nádobu. Pokusnou půdou byla haplická černozem z lokality Praha – Suchdol (50°8'8" N, 14°22'43" E): pseudototální obsah As – 16 mg/kg, vodorozpustná frakce As – 0,1 mg/kg, pH – 7,1, kationtová výměnná kapacita – 258 mmol(+)/kg, organický uhlík – 1,83 %. Do nádob s půdou (2,5 kg; 4 opakování/varianta) byla aplikována dávka živin 0,5 g N, 0,16 g P a 0,4 g K na nádobu (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> a K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>). Arsen byl přidáván ve formě roztoku Na<sub>2</sub>HAsO<sub>4</sub>. Při odběru byla biomasa ředkvičky rozdělena na listy, bulvy a kořeny. Obsah As v jednotlivých částech ředkvičky byl stanoven metodou ICP-OES (Agilent 720, Agilent Technologies Inc.) po nízkotlakém mikrovlnném rozkladu (0,2 ± 0,05 g DW, 10 mL HNO<sub>3</sub> + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 4:1 v/v; Ethos 1). Fytohormony byly extrahovány dle metodiky Prerostova et al. /7/ a analyzovány systémem LC/MS (UHPLC 1290 Infinity II s 6495 Triple Quadrupole Mass Spectrometer, Agilent Technologies Inc.). Výsledná data byla vyhodnocena v programu Statistica 12.0 (lineární korelace, jednofaktorová ANOVA a Tukeyův post-hoc test,  $p \leq 0,05$ ).

## VÝSLEDKY A DISKUSE

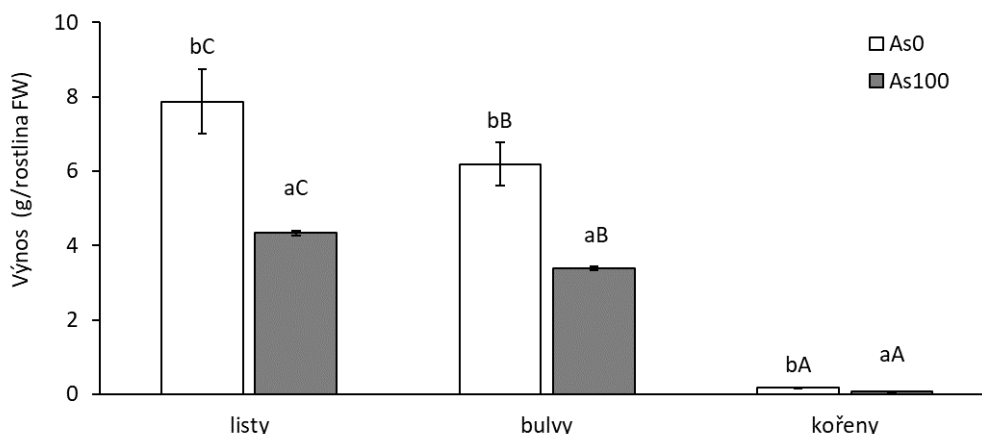
Akumulace As v jednotlivých částech ředkvičky potvrdila omezený přesun As do listů a významné ukládání As v kořenech (tab. 1) – u varianty As100 byl obsah v kořenech 53krát vyšší než v listech a 11krát vyšší než v bulvě. Také v porovnání kontaminované a kontrolní varianty byl obsah As u varianty As100 30krát vyšší v kořenech a 9krát vyšší v bulvách ředkvičky než u kontroly. Vyšší akumulace As v biomase ředkvičky kontaminované varianty (As100) ovlivnila její růst a snížila výnos čerstvé biomasy jednotlivých částí ředkvičky, jak ukazují výsledky v grafu 1. Lineární korelací byl potvrzen vztah mezi obsahem As v půdě a výnosem listů ( $r = -0,96$ ;  $p \leq 0,01$ ), bulv ( $r = -0,97$ ;  $p \leq 0,01$ ) a kořenů ( $r = -0,99$ ;  $p \leq 0,001$ ). V porovnání s kontrolou byl výnos listů a bulv snížen o 45 % a výnos kořenů o 59 %. Podobné výsledky byly stanoveny pro rostliny ředkvičky rostoucí v půdě s nízkou a vysokou kontaminací As – 20 a 100 mg/kg půdy /5/.

Tab. 1: Obsah As v biomase ředkvičky. Rozdílná písmena vyjadřují statisticky významný rozdíl ( $p < 0,05$ ) mezi variantami (malá písmena) a mezi rostlinnou částí (velká písmena).

	As (mg/kg DW)		
	listy	bulvy	kořeny
As0	nd	3,6 ± 0,2 <sup>aA</sup>	11,9 ± 2,6 <sup>aB</sup>
As100	6,6 ± 0,5 <sup>A</sup>	31,1 ± 0,4 <sup>bB</sup>	352,9 ± 55,8 <sup>bC</sup>

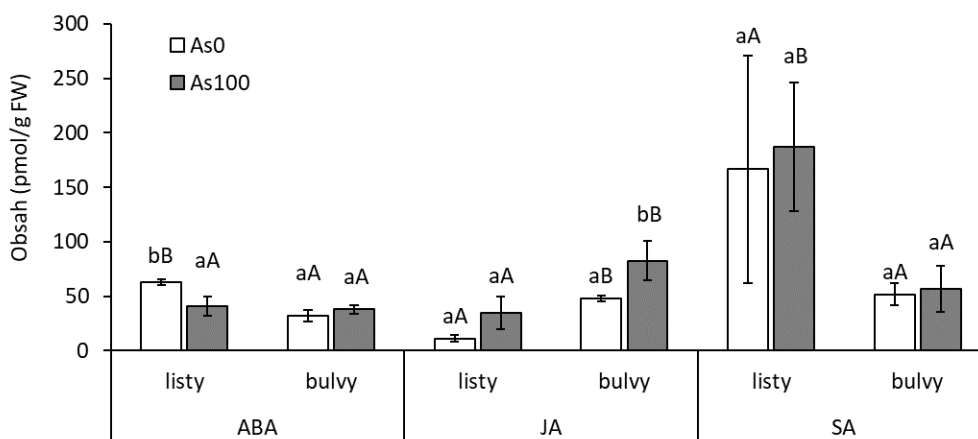
nd – hodnota pod mezí detekce (<3 mg/kg DW)

Výsledky v grafu 2 ukazují rozdíly v obsahu stanovených bioaktivních forem stresových hormonů v listech a bulvách ředkviček. Rozdíl mezi rostlinnou částí se projevil zejména u JA, jejíž obsah byl vyšší v bulvách obou variant v porovnání s listy. Naopak u ABA a SA byl vyšší obsah zjištěn v listech, avšak statisticky signifikantně pouze u kontroly v případě ABA a u kontaminované varianty As100 v případě SA (graf 2). Stanovené obsahy SA ukázaly velkou variabilitu měření tohoto fytohormonu, u něhož nebyl statisticky průkazný vliv varianty, přestože byl v porovnání s kontrolou u varianty As100 obsah SA v listech o 12,5 % vyšší a v kořenech o 10 % vyšší. Přestože je tento fytohormon důležitý pro odpověď rostliny na stres, jeho vysoké koncentrace mohou prohloubit oxidační stres zvýšením produkce reaktivních forem kyslíku a vést k buněčné smrti /4/.

Graf  
Výnos

1: čerstvé biomasy ředkvičky. Rozdílná písmena nad sloupci vyjadřují statisticky významný rozdíl ( $p < 0,05$ ) mezi variantami (malá písmena) a mezi rostlinnou částí (velká písmena).

Vliv varianty As100 byl statisticky významný pouze v případě ABA v listech (snížení o 35 % v porovnání s kontrolou) a JA v bulvách (zvýšení o 73 % v porovnání s kontrolou) (graf 2). V souvislosti s touto změnou byla zjištěna korelace mezi kontaminací As v půdě a obsahem ABA v listech ( $r = -0,90$ ;  $p \leq 0,001$ ) a JA v bulvách ( $r = 0,85$ ;  $p \leq 0,001$ ). Procesy regulující homeostázu ABA se liší podle podmínek abiotického stresu, které vedou ke zvýšení nebo snížení obsahu ABA /8/. U sóji rostoucí v perlitu s přidávkem 25  $\mu\text{M}$  As byl pozorován pokles obsahu ABA /8/, zatímco u rostlin hořčice byl zaznamenán nárůst ABA na půdě s obsahem As 24 mg/kg půdy /9/. V listech ředkvičky je snížení ABA pravděpodobně důsledkem inhibice její biosyntézy nebo naopak indukce jejího katabolismu a konjugace způsobenými vyšší toxicitou As v důsledku vyšší dávky As v půdě. Řada autorů /1,2,4,5,8/ uvádí zvýšení obsahu JA v důsledku stresu. V bulvách ředkvičky byl pozorován zvýšený obsah JA také v půdě s nízkou kontaminací As – 20 mg/kg půdy /5/.



Graf 2: Obsah kyseliny abscisové (ABA), kyseliny jasmonové (JA) a kyseliny salicylové (SA) v listech a bulvách ředkvičky. Rozdílná písmena nad sloupci vyjadřují statisticky významný rozdíl ( $p < 0,05$ ) mezi variantami (malá písmena) a mezi rostlinnou částí (velká písmena).

Vliv varianty As100 byl statisticky významný pouze v případě ABA v listech (snížení o 35 % v porovnání s kontrolou) a JA v bulvách (zvýšení o 73 % v porovnání s kontrolou) (graf 2). V souvislosti s touto změnou byla zjištěna korelace mezi kontaminací As v půdě a obsahem ABA v listech ( $r = -0,90$ ;  $p \leq 0,001$ ) a JA v bulvách ( $r = 0,85$ ;  $p \leq 0,001$ ). Procesy regulující homeostázu ABA se liší podle podmínek abiotického stresu, které vedou ke zvýšení

nebo snížení obsahu ABA /8/. U sóji rostoucí v perlitu s přidavkem 25  $\mu\text{M}$  As byl pozorován pokles obsahu ABA /8/, zatímco u rostlin hořčice byl zaznamenán nárůst ABA na půdě s obsahem As 24 mg/kg půdy /9/. V listech ředkvičky je snížení ABA pravděpodobně důsledkem inhibice její biosyntézy nebo naopak indukce jejího katabolismu a konjugace způsobenými vyšší toxicitou As v důsledku vyšší dávky As v půdě. Řada autorů /1,2,4,5,8/ uvádí zvýšení obsahu JA v důsledku stresu. V bulvách ředkvičky byl pozorován zvýšený obsah JA také v půdě s nízkou kontaminací As – 20 mg/kg půdy /5/.

Dle Kapoor et al. /1/ pomáhá cross-talk mezi fytohormony při působení stresových faktorů pomáhat rostlině při stanovení priorit a optimalizaci odpovědi dle úrovně specifického stresu, např. umožňuje rostlině využívat méně energie na obranné reakce a alokovat energii pro růst a vývoj. V případě ředkvičky byl vztah mezi stanovenými bioaktivními formami stresových hormonů zjištěn pouze v listech mezi ABA a JA ( $r = -0,95$ ;  $p \leq 0,01$ ).

## ZÁVĚR

Jak ukazují výsledky, As se hromadí především v kořenech ředkvičky a je transportován do listů pouze tehdy, je-li v půdě obsažen ve vyšší dávce. Vlivem toxické dávky As dochází ke snížení výnosu jednotlivých částí ředkvičky. Toxicita As ovlivňuje také profil stresových hormonů a obsah jejich bioaktivních forem v listech a bulvách ředkvičky, zejména obsah ABA v listech a JA v bulvách.

## LITERATURA

- /1/ Kapoor B, Kumar P, Sharma R, Kumar A: Regulatory interactions in phytohormone stress signaling implying plants resistance and resilience mechanisms. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 30, 2021: 813-828
- /2/ Wani SH, Kumar V, Shriram V, Sah SK: Phytohormones and their metabolic engineering for abiotic stress tolerance in crop plants. *The Crop Journal*, 4, 2016: 162-176
- /3/ Waadt R, Seller CA, Hsu PK, Takahashi Y, Munemasa S, Schroeder JI: Plant hormone regulation of abiotic stress responses. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 23, 2022: 680-694
- /4/ Rahman SU, Li Y, Hussain S, Hussain B, Khan WD, Riaz L, Ashraf MN, Khaliq MA, Du Z, Cheng H: Role of phytohormones in heavy metal tolerance in plants: A review. *Ecological Indicators*, 146, 2023: 109844
- /5/ Pavlíková D, Pavlík M, Zemanová V, Novák M, Doležal P, Dobrev PI, Motyka V, Kraus K: Accumulation of toxic arsenic by cherry radish tuber (*Raphanus sativus* var. *sativus* Pers.) and its physiological, metabolic and anatomical stress responses. *Plants*, 12, 2023: 1257
- /6/ Asgher M, Rehaman A, Islam SN, Arshad M, Khan NA: Appraisal of functions and role of selenium in heavy metal stress adaptation in plants. *Agriculture*, 13, 2023: 1083
- /7/ Prerostova S, Dobrev PI, Knirsch V, Jarosova J, Gaudinova A, Zupkova B, Prášil IT, Janda T, Brzobohatý B, Skalák J, Vankova R: Light quality and intensity modulate cold acclimation in *Arabidopsis*. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 2021: 2736
- /8/ Veza ME, Alemanno S, Agostini E, Talano MA: Arsenic toxicity in soybean plants: impact on chlorophyll fluorescence, mineral nutrition and phytohormones. *Journal of Plant Growth Regulation*, 41, 2022: 2719-2731
- /9/ Sehar Z, Iqbal N, Fatma M, Rather BA, Albaqami M, Khan NA: Ethylene suppresses abscisic acid, modulates antioxidant system to counteract arsenic-inhibited photosynthetic performance in the presence of selenium in mustard. *Frontiers in Plant Science*, 13, 2022: 852704

## Poděkování

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

## HODNOTENIE FYTOTOXICITY MEDI V ŽABURINKE MENŠEJ (*LEMNA MINOR L.*)

### *PHYTOTOXICITY ASSESSMENT OF COPPER IN DUCKWEED (*LEMNA MINOR L.*)*

Yilan Zeng<sup>1</sup>, Milan Novák<sup>2</sup>, Pavlína Eliška Šotek<sup>1</sup>, Ammara Nawaz<sup>1</sup>, Marianna Molnárová<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Environmental Ecology and Landscape Management, Faculty of Natural Sciences, Comenius University Bratislava, Mlynská dolina B2, Ilkovičova 6, SK-842 15 Bratislava, Slovak Republic; zeng2@uniba.sk, liscakova5@uniba.sk, nawaz3@uniba.sk, marianna.molnarova@uniba.sk

<sup>2</sup>Department of Agroenvironmental Chemistry and Plant Nutrition, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, CZ-165 00 Prague, Czech Republic; milannovak@fld.czu.cz

#### *Summary*

Anthropogenic activities (e.g., mining, agriculture), are contributing to increased concentration of copper (Cu) in the environment. The main objective was to study the toxic effect of Cu on the growth inhibition and photosynthetic (PS) pigments of duckweed. The inhibition of the growth rate was already 35.10% at 0.001 mg Cu.l<sup>-1</sup>, while the highest death of fronds was observed at the presence of 0.1 mg Cu.l<sup>-1</sup>. All PS pigments (chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, total carotenoids) were significantly in the Cu presence. We confirmed the negative correlation between the Cu concentration and the number of fronds ( $r = -0.39$ ). Very strong positive correlations were found between area/fronds and chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, or total carotenoids, respectively. However, the correlation between the frond area and all PS pigments was 50% lower.

*Key words: correlation; growth rate; phytoremediation; photosynthetic pigments*

#### *Súhrn*

Kvôli zvýšenej antropogénnej činnosti (napr. z baníctva, poľnohospodárstva) sa koncentrácia medi v životnom prostredí zvyšuje. Hlavným cieľom bolo študovať toxický účinok Cu na inhibíciu rastu a fotosyntetické (FS) pigmenty žaburinky menšej. Inhibícia rastovej rýchlosti s hodnotou 35,10 % bola už pri 0,001 mg Cu.l<sup>-1</sup>, zatiaľ čo najvyšší počet mŕtvych frondov sa pozoroval pri 0,1 mg Cu.l<sup>-1</sup>. Všetky sledované FS pigmenty (chlorofyl *a*, chlorofyl *b*, celkové karotenoidy) boli štatisticky významne nižšie v prítomnosti Cu. Potvrdili sme negatívnu koreláciu medzi Cu koncentráciách a počtom frondov ( $r = -0,39$ ). Vysoko pozitívna korelácia bola medzi plochou frondov a chlorofylom *a*, chlorofylom *b*, či celkovými karotenoidami. Avšak korelácia medzi plochou frondov a všetkými FS pigmentami bola dvojnásobne nižšia.

*Kľúčové slová: korelácia; rastová rýchlosť; fytoremediácia; fotosyntetické pigmenty*

## INTRODUCTION

Copper (Cu) is essential for plant metabolism because it plays a crucial role in photosynthesis, respiration, and defence against reactive oxygen species (ROS). However, sublethal levels of Cu have been observed to disrupt photosynthetic activity and compromise photoprotection mechanisms, thus affecting overall growth [1]. Common duckweed is a good model organism for ecotoxicity studies, which exhibits the ability to thrive with limited

nutrient availability or unfavourable circumstances /2/. In this study, our aim was to investigate the influence of copper on *L. minor* and its impact on the levels of photosynthetic pigments (chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, total carotenoids). The results attempt to provide insights into the suitability of *L. minor* for phytoremediation of Cu-contaminated aquatic systems.

## MATERIALS AND METHODS

Common duckweed (*Lemna minor* L.) was collected from the canal reservoir located along the cycle route from Bratislava to Svätý Jur in Slovakia (GPS coordinates: 48° 13' 30.6407764" N, 17° 11' 9.0251239" E) in 2017 and identification was performed by botanist Dr. Jana Ružičková, PhD. from the Department of Environmental Ecology and Landscape Management at the Comenius University Bratislava, Slovakia. The plants were cultivated in Steinberg medium modif. Altenburger in our laboratory /3, 4/. The final concentrations were as follows (in mmol.dm<sup>-3</sup>): 3.461 KNO<sub>3</sub>; 0.661 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0.072 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0.406 MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 1.249 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O; and microelements in μmol.dm<sup>-3</sup>: 1.94 H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 0.63 ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0.18 Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O; 0.91 MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O; 2.81 FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O; 4.03 Na<sub>2</sub>EDTA.2H<sub>2</sub>O; final pH 8.30 ± 0.05). We used the following chemicals (p.a.): KNO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, and Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O from Centralchem (Slovak Republic); FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O from Slavus Ltd. (Slovak Republic); all other chemicals were purchased from Lachema-Chemapol (Czech Republic).

Tap water was used after leaving 24 hours to decrease the chlorine concentration (72.6 mg Ca.l<sup>-1</sup>; 17.7 mg Mg.l<sup>-1</sup>; free Cl <0.02 mg.l<sup>-1</sup>; pH 7.06 ± 0.05) as the cultivation medium. A series of concentrations (0; 0.001; 0.1; 1; 10, and 100 mg Cu.l<sup>-1</sup>) were prepared from CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O (p.a., Merck, Germany) to study the phytotoxic effect of Cu on *L. minor*. Each 250 ml beaker was filled with 200 ml of tap water and contains 5 plants with 15 fronds. The beakers were protected against light from the sides by black paper. Each concentration was tested in triplicate and the plants were exposed to Cu for 8 days. The plants were grown under controlled conditions with a luminous intensity of 1628 lux, a temperature of 24 ± 1 °C, and a photoperiod of 16/8 light/darkness /3, 4/. Frond images were captured for quantification of frond area and number on days 1., 2., 3., 4., 7., and 8. for the assessment. The analysis of the area of the fronds was evaluated by ImageJ software, version 13.0.6 (National Institutes of Health, Bethesda, USA), and calculated as /3/:

$$r = \frac{\ln(x(t_2)) - \ln(x(t_1))}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

where *r* represents the daily growth rate in units of d<sup>-1</sup>, *x*(*t*<sub>1</sub>) and *x*(*t*<sub>2</sub>) are the indicator value at the beginning and end of the experiment, and *t*<sub>2</sub>-*t*<sub>1</sub> represents the time interval between the first and last day of the experiment.

Photosynthetic pigments (chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, total carotenoids) were determined in the fronds where 30 mg of fresh leaf biomass of leaves was homogenized in 3 ml of 95% ethanol. After centrifugation at 2900 g for 2 mins, the supernatant was spectrophotometrically measured at 470, 649 and 665 nm (UV-1600PC, VWR, China) against 95% ethanol used as a reference. Chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and total carotenoids were calculated following the following equations and were subsequently recalculated to μg.mg<sup>-1</sup> of fresh biomass (FM) /5/:

$$Chl\ a = 13.95x\ A(665\ nm) - 6.88x\ A(649\ nm) \quad (2)$$

$$Chl\ b = 24.96x\ A(649\ nm) - 7.32x\ A(665\ nm) \quad (3)$$

$$total\ car = \frac{1000x\ A(470\ nm) - 2.05x\ (C_a) - 114.8x\ (C_b)}{245} \quad (4)$$

Statistical analyses were performed with GraphPad Prism Version 9.5.0 macOS (GraphPad Software, USA). A comparison between different treatments was performed using

one-way Analysis of Variance (ANOVA) with the post-hoc Tukey's multiple comparison test. All samples were compared with their control and statistical significance was evaluated as  $*p < 0.05$ ;  $**p < 0.01$ ;  $***p < 0.001$ . The correlations between different parameters were analysed based on Pearson's correlation coefficients. The English was checked by Writefull software (the Netherlands and the UK).

## RESULTS AND DISCUSSION

Phytotoxic effects of Cu are shown in more parameters in Fig. 1. Despite inhibition of the growth rate reaching the maximum at 10 mg Cu.l<sup>-1</sup> (Fig. 1A), higher mortality was observed at a concentration of Cu 100 times lower (0.1 mg Cu.l<sup>-1</sup> on Fig. 1B). Other authors also observed similar results at concentrations higher than 0.3 mg Cu.l<sup>-1</sup> /6/.

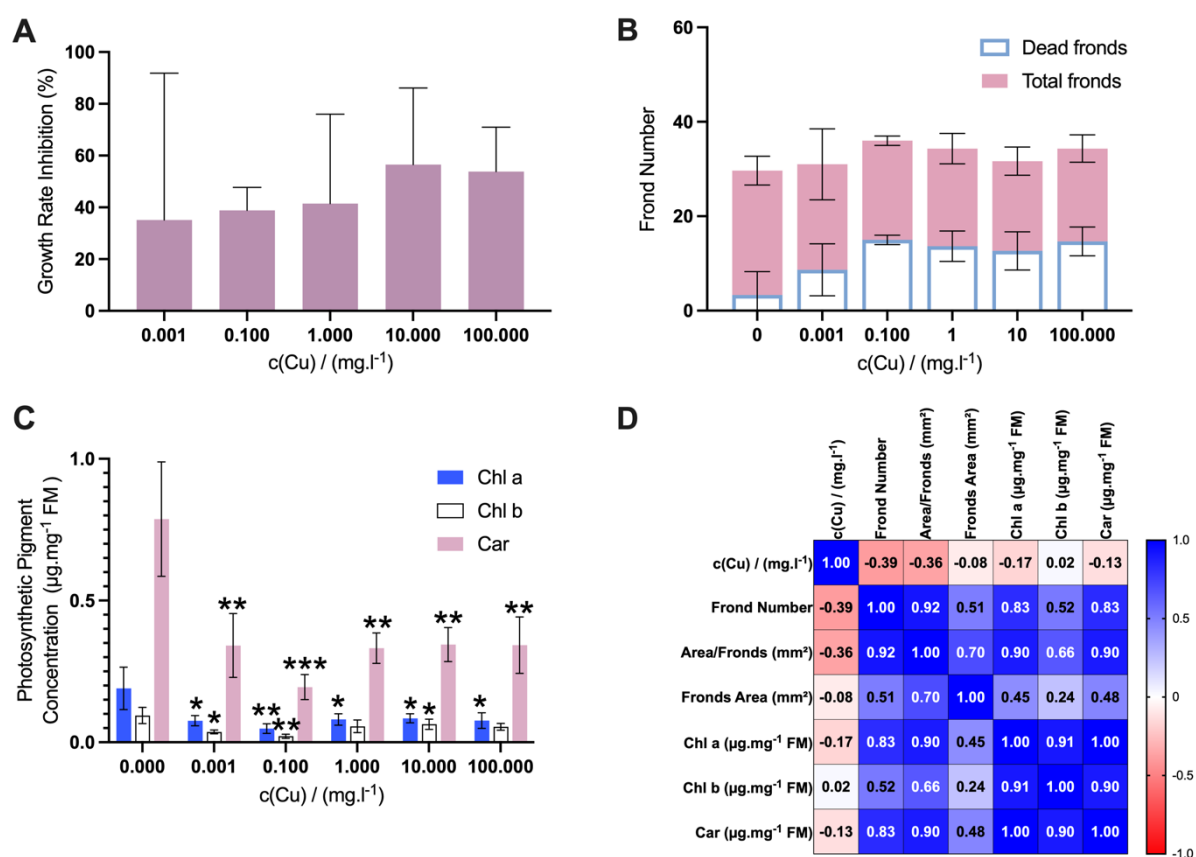


Fig. 1: Inhibition of the *L. minor* growth rate and cumulative fronds (A, B), and concentration of PS pigments concentration in fronds of *L. minor* (C) after 8 days of Cu exposure ( $n=3$ ); Pearson's correlation coefficients between different parameters (D). The graph represents the arithmetic means with their standard deviation (SD). The statistical significance of the Tukey multiple comparison test is at  $*p < 0.05$ ;  $**p < 0.01$ ;  $***p < 0.001$  for Chl a, Chl b and Car compared to their control. Legend: Chl a – chlorophyll a, Chl b – chlorophyll b, and Car - total carotenoids.

The levels of PS pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, and total carotenoids) decreased significantly in the presence of Cu (Fig. 1C). However, the concentration of total carotenoids showed slight variation, except at 0.1 mg Cu.l<sup>-1</sup>, but increased the level of chlorophyll a together with chlorophyll b at higher concentrations (1; 10 and 100 mg Cu.l<sup>-1</sup> in Fig. 1C). Chlorophyll a, chlorophyll b, and total carotenoids already decreased by 60%, 61%, and 57% at the lowest concentration tested (0.001 mg Cu.l<sup>-1</sup>), respectively, compared to the

control. Interestingly, chlorophyll *b* was the only positive correlated parameter with Cu concentration among other parameters (Fig. 1D). The highest negative and positive correlations were observed between Cu concentration and fronds number ( $r = -0.39$ ), and between area/fronds and chlorophyll *a*, or total carotenoids ( $r = 0.90$  for both of them), respectively (Fig. 1D). However, the correlation between the frond area and all PS pigments was 50% lower compared with the previous statement. Other authors revealed that *L. minor* has a strong potential for the hyperaccumulation of many other bivalent metal cations, such as Cd, Ni, and Pb [7]. Therefore, this plant has potential for the phytoremediation of water contaminated with heavy metals.

## CONCLUSION

Phytotoxic effects of Cu were confirmed in our experiments on *L. minor*. The amount of dead frond number to total frond number was increased at higher Cu concentrations and remained stable from  $0.1 \text{ mg Cu.l}^{-1}$ . All photosynthetic pigments decreased significantly in the presence of Cu. Although the correlation of area and number of fronds is highly positive with chlorophyll *a* or total carotenoids, respectively, the correlations between all PS pigments and the frond area were less than  $r = 0.5$ . We can confirm that the plant demonstrated growth even at higher Cu concentrations. Despite its comparatively lower efficiency as a “helper” plant, it remains a good alternative option for phytoremediation of the removal of Cu from contaminated waters.

## REFERENCES

- /1/ Cavalletti, E., Romano, G., Palma Esposito, F., Barra, L., Chiaiese, P., Balzano, S., Sardo, A.: Copper effect on microalgae: Toxicity and bioremediation strategies. *Toxics*, 10(9), 2022: Art. No. 527.
- /2/ Walsh, É., Coughlan, N.E., O'Brien, S., Jansen, M., Kuehnhold, H.: The density dependence influences the efficacy of the wastewater remediation by *Lemna minor*. *Plants*, 10(7), 2021: Art. No. 1366.
- /3/ STN EN ISO 20079 (July 2008) Water Quality. Determination of the toxicity of water and wastewater components to *Lemna minor* (duckweed). Growth inhibition test (ISO 20079:2005). Slovak Institute of Technical Standardisation, Bratislava, Slovak Republic, 2008. [in Slovak]
- /4/ OECD (2006): Test No. 221: *Lemna* sp. Growth inhibition test. OECD guidelines for the testing of chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris, France.
- /5/ Lichtenthaler, H.K., Wellburn, A.R.: Determination of the total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11(5), 1983: 591-592.
- /6/ Khellaf, N., Zerdaoui, M.: Growth, photosynthesis, and respiratory response to copper in *Lemna minor*: A potential use of duckweed in biomonitoring. *Iranian Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 19(8), 2010: 1363-1368.
- /7/ Khan, M.A., Wani, G.A., Majid, H., Farooq, F.U., Reshi, Z.A.: Differential bioaccumulation of selected heavy metals from wastewater by *Lemna minor*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 105(5), 2020: 777–783.

## ACKNOWLEDGMENT

The study was supported by the Rector's grant from Comenius University Bratislava UK/148/2023.



## DOCHÁDZA K BIOAKUMULÁCII (POLO)KOVOV V LOVČÍKOVÍ HÁJNOM (*PISAURA MIRABILIS* CLERCK, 1757) ŽIJÚCOM NA KONTAMINOVANOM ÚZEMÍ?

### *DOES THE BIOACCUMULATION OF (SEMI)METALS OCCUR IN THE NURSERY-WEB SPIDER (*PISAURA MIRABILIS* CLERCK, 1757) LIVING IN A CONTAMINATED AREA?*

Marianna Molnárová, Ammara Nawaz, Zuzana Ježová, Pavol Prokop

Katedra environmentálnej ekológie a manažmentu krajiny, Prírodovedecká fakulta,  
Univerzita Komenského v Bratislave, Mlynská dolina B2, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava,  
Slovenská republika; marianna.molnarova@uniba.sk, nawaz3@uniba.sk,  
zuzana.jezova@uniba.sk, pavol.prokop@uniba.sk

#### *Summary*

Our studied localities were Kolársky vrch (KV) near Pezinok town (Slovak Republic), known for the high concentration of several (semi)metals, including As and Sb; the control locality was the area in Trnava. We monitored the bioaccumulation of (semi)metals in female of nursery-web spider as well as in the plants on which they live, specifically in the common nettle. We observed a high bioaccumulation of Ni in spiders ( $34.4 \text{ mg.kg}^{-1}$  of dry mass), while Ni was also found in high concentrations in the soil ( $21.0 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). We found bioaccumulation of Ni, Sb, and Zn in the roots of the common nettle at the KV site, but not at the control site in Trnava.

*Key words: bioaccumulation; cadmium; nickel; spiders*

#### *Súhrn*

Našími študovanými lokalitami boli Kolársky vrch (KV) pri Pezinku (Slovenská republika) známy vysokou koncentráciou viacerých (polo)kovov vrátane As a Sb, kontrolnou lokalitou bola plocha v Trnave. Sledovali sme bioakumuláciu (polo)kovov v samičkách pavúkov lovčíka hájneho ako aj v rastlinách, na ktorých žijú, konkrétne v prhl'ave dvojdomej. Pozorovali sme vysokú bioakumuláciu Ni v pavúkoch ( $34,4 \text{ mg.kg}^{-1}$  sušiny), pričom Ni sa nachádzal vo vysokých koncentráciách aj v pôde ( $21,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). V koreňoch prhl'avy sme zistili bioakumuláciu Ni, Sb a Zn na lokalite KV, ale na kontrolnej lokalite v Trnave nie.

*Kľúčové slová: bioakumulácia; kadmium; nikel; pavúky*

## ÚVOD

Kolársky vrch (KV) pri Pezinku je známy banskou činnosťou v minulosti, kde po uzavretí antimónových baní zostali ešte stále vysoké koncentrácie arzénu a antimónu, ale aj kadmia, olova, niklu, zinku, či medi /1/. Pavúky v terestrických ekosystémoch sú kľúčovými predátormi mnohých druhov hmyzu a kovy sa v nich koncentrujú vo veľkej miere /2/. Naším cieľom bolo zistiť, či dochádza k bioakumulácii týchto prvkov v telách samičiek bežne sa vyskytujúceho pavúka lovčíka hájneho, ktoré sú oproti samčekom väčšie a často vzhľadom na ich rozmnožovanie (kanibalizmus) žijú dlhšie. Tieto pavúky žijú popri iných rastlinách často aj na prhl'ave dvojdomej. Zamerali sme sa preto na bioakumuláciu viacerých kovov (Cd, Cu, Pb, Ni, Zn) a polokovov (As, Sb) ako v pavúkoch, tak v rastlinách.

## MATERIÁL A METÓDY

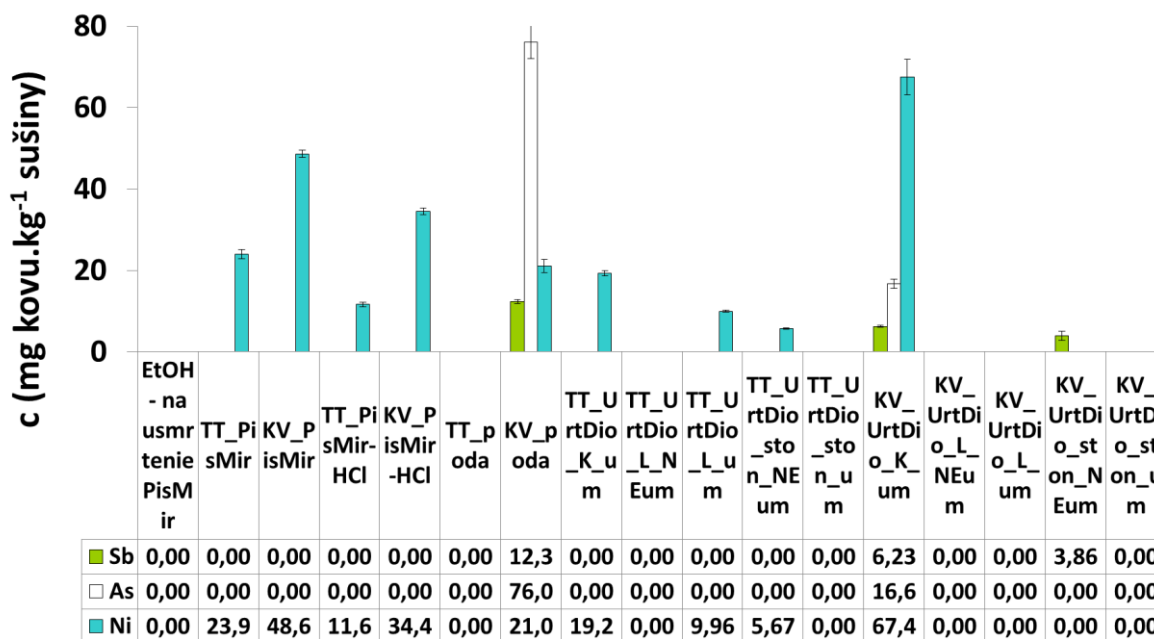
Jedince pavúka lovčíka hájneho (*Pisaura mirabilis* Clerck, 1757) žijúce na pŕhl'ave dvojdomej (*Urtica dioica* L.) spolu s pôdou boli zbierané na lokalitách Kolársky vrch pri Pezinku (KV, 23.5.2022, 48°19'N, 17°14'E) a v okolí mesta Trnava (TT, 29.5.2022, 48°23'N, 17°34'E) v Slovenskej republike, ktorá bola kontrolnou lokalitou. Správanie pavúkov sa sledovalo potom v laboratórnych podmienkach a usmrtené boli roztokom 95 % denaturovaného etanolu dňa 9.6.2022.

Po vysušení pri laboratórnej teplote bola ich biomasa zvážená a koncentrácie (polo)kovov boli prepočítané na sušinu týchto jedincov. Na kontrolnú vzorku (TT) ako aj na vzorku s výskytom ťažkých kovov (KV) pripadali 3 samice pavúka. Na rozlíšenie, či kovy sú bioakumulované v organizmoch a/alebo len naviazané na povrchu tela pri prechode kontaminovanou pôdou/rastlinou boli ďalšie 3 samice pavúkov po usušení premyté 0,1 mol.dm<sup>-3</sup> HCl a opláchnuté dva razy v destilovanej vode (označené ako „HCl“). Až potom boli mineralizované. Niektoré listy a stonky rastlín neboli umyté (označené ako „NEum“), aby sme rozlíšili podiel sledovaných prvkov aj na ich povrchu vo forme prachu, po daždi a z ďalších zdrojov. Ostatné rastliny (zvlášť korene, zvlášť stonky ako aj listy) boli umyté vo vodovodnej vode, následne v destilovanej (označené ako „um“) a sušené spolu so vzorkami pôdy do úplného vysušenia v termostate pri 56 °C. Všetky pripravené vzorky boli mineralizované v 5 ml zmesi koncentrovaných roztokov HNO<sub>3</sub>:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (4:1) počas noci v autoklávoch ZA-1 (Česká republika) a na ďalší deň 1 hod pri 180 °C v sušiarňi. Po ochladení autoklávu bola vzorka zriedená destilovanou vodou na objem 25 ml a pripravená na analýzu (polo)kovov. Obsah týchto prvkov sa vo vzorkách stanovil galvanostatickou chronopotenciometrickou elektrochemickou metódou na prístroji Ecaflow 150GLP (Istran, Slovenská republika) /3/.

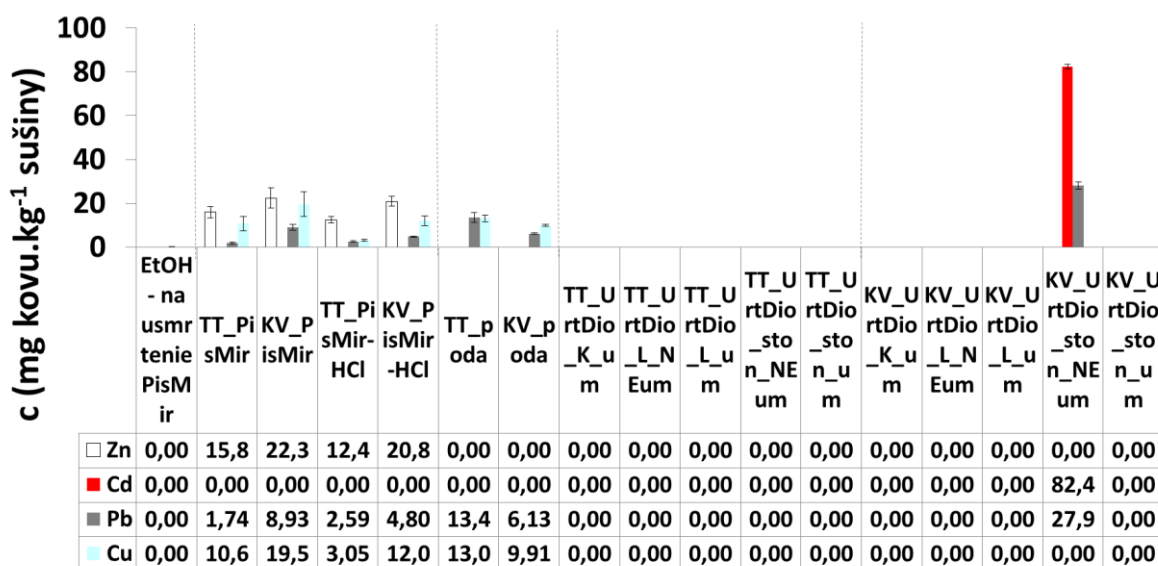
Bioakumulačný faktor (BAF) sa vypočítal ako:  $BAF = \frac{\text{koncentrácia (polo)kovu v koreňoch príp. výhonkoch príp. v pavúkoch}}{\text{koncentrácia (polo)kovu v pôde}}$ . Štandardné roztoky a elektrolyty pochádzali z firmy Istran (Slovenská republika), ďalšie chemikálie analytickej čistoty (p.a.) 35 % HCl z firmy centralCHEM (Slovenská republika), 65 % HNO<sub>3</sub> a 35 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ITES Vranov, s.r.o. (Slovenská republika). Anglický text bol skontrolovaný pomocou programu Writefull (Holandsko a Veľká Británia).

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z našich výsledkov na grafe 1 a 2 vyplýva, že na kontaminovanej lokalite Kolárskeho vrchu sa Ni akumuloval len v koreňoch pŕhl'avy dvojdomej, v organizme lovčíka hájneho sa nachádzali pomerne vysoké hodnoty Ni (34,4 mg Ni.kg<sup>-1</sup> sušiny), niečo bolo naviazané aj na povrchu tela, kde sme namerali Ni 0,71-násobne vyššiu koncentráciu (graf 1), čo sa prejavilo aj na bioakumulačnom faktore, ktorý bol v oboch prípadoch vyšší ako 1 (tab. 1). Kým arzén a antimón, ktoré sa nachádzajú v pôde KV vo vysokých koncentráciách (graf 1), boli namerané len v koreňoch UrtDio, príp. na povrchu neumytej stonky UrtDio (Sb), ich prítomnosť sa v lovčíkovi hájnom nepotvrdila. Vysoké hodnoty Cd a Pb na povrchu stonky UrtDio na grafe 2 sú pravdepodobne z nejakého lokálneho zdroja, napr. po prípadnej depozícii z ovzdušia vo forme prachu, ktoré sa v rastline nenamerali po jej umytí. Kým meď a olovo sa v pôde nachádzalo, ich bioakumulácia sa potvrdila len v pavúkoch, ale nie v rastlinách, či už na kontrolnej (TT) alebo kontaminovanej (KV) lokalite (graf 2, tab. 1). Kovy ovplyvňujú syntézu proteínov v pavúkoch. V *Steatoda grossa* sa napr. zistili zmeny v expresii 90 proteínov v prítomnosti Cd a viac ako 60 proteínov pri jedincoch vystavených účinkom Cu /2/.



Graf 1: Koncentrácie Sb, As a Ni v pôde, v samiciach lovčika hájneho (PisMir) a prhlave dvojdomej (UrtDio) na lokalitách Trnava (TT) a Kolárov vrch (KV). V grafe sú uvedené aritmetické priemery spolu so štandardnými odchýlkami (SD); n = 3. Legenda: EtOH = denaturovaný etanol; NEum = neumyté; um = umyté.



Graf 2: Koncentrácie Zn, Cd, Pb a Cu v pôde, samiciach lovčika hájneho (PisMir) a prhlave dvojdomej (UrtDio) na lokalitách Trnava (TT) a Kolárov vrch (KV). V grafe sú uvedené aritmetické priemery spolu so štandardnými odchýlkami (SD); n = 3. Legenda: EtOH = denaturovaný etanol; NEum = neumyté; um = umyté.

V tab. 1 neuvádzame hodnoty bioakumulačného faktora pre prhlavu dvojdomé z lokality Trnava (TT) pre nenamerané hodnoty príslušných prvkov v rastline (graf 1, 2) sa tieto hodnoty nedajú vypočítať. Bioakumulácia Cd, Cu, Pb a Zn sa pozorovala aj v samičkách

*Pardosa astrigera* L. Koch, pričom autori navrhujú tohto pavúka za biologického indikátora Cd kontaminovaných pôd /4/. Nikel je súčasť viacerých enzýmov, napr. glyoxyláz, superoxidáz a pod. /5/, ktoré sú prítomné aj v niektorých bezstavovcoch. Avšak podľa nášho vedomia nie je zatiaľ preskúmané, či Ni hrá esenciálnu úlohu aj v pavúkoch. Zvýšená koncentrácia Cd, Cu a Zn podľa iných autorov tiež významne menila aktivitu antioxidantných enzýmov /6/.

Tab. 1: Bioakumulačný faktor (BAF) pre študované (polo)kovy v samiciach lovčika hájneho (*PisMir*) a prhl'ave dvojdomej (*UrtDio*) na lokalitách Trnava (TT) a Kolárov vrch (KV). V tabuľke sú uvedené aritmetické priemery spolu so štandardnými odchýlkami (SD); n = 3. Legenda: K = korene; L = listy; nd = nedetekovateľné; Neum. = neumyté; Um. – umyté.

Vzorka / BAF	Zn	Cd	Pb	Cu	Sb	As	Ni
TT_ <i>PisMir</i>	-	-	0,13	0,82	-	-	-
KV_ <i>PisMir</i>	-	-	1,45	1,97	-	-	2,31
TT_ <i>PisMir</i> - HCl	-	-	0,19	0,23	-	-	-
KV_ <i>PisMir</i> - HCl	-	-	0,78	1,22	-	-	1,64
KV_ <i>UrtDio</i> , K	-	-	-	-	0,51	0,22	3,20
KV_ <i>UrtDio</i> , L-NEum.	-	-	-	-	-	-	-
KV_ <i>UrtDio</i> , L-Um.	-	-	-	-	-	-	-
KV_ <i>UrtDio</i> , stonka-Neum.	-	-	4,56	-	0,31	-	-
KV_ <i>UrtDio</i> , stonka-Um.	-	-	-	-	-	-	-

## ZÁVER

V našej štúdií sme pozorovali biakumuláciu Pb, Cu a Ni v tele samičiek lovčika hájneho na (polo)kovmi kontaminovanej lokalite Kolárskeho vrchu. Na kontrolnej lokalite v Trnave sme nenamerali žiadne zo sledovaných prvkov v prhl'ave dvojdomej, kým na lokalite KV sme pozorovali povrchovú kontamináciu na stonkách rastliny v prípade Pb a Sb a bioakumuláciu As, Ni a Sb v koreňoch.

## LITERATÚRA

- /1/ Lukianenko, E., Čerňanský, S., Štubňa, J.: Banská oblasť Pezinok – Kolársky vrch ako príklad znečistenej krajiny (teoretické podklady pre učiteľov). Acta Environmentalica Universitatis Comenianae (Bratislava), 16(1), 2008: 64-68.
- /2/ Wiśniewska, K., Siatkowska, M., Komorowski, P., Napieralska, K., Kasperkiewicz, K., Surmiak-Stalmach, K., Wilczek, G.: Effects of chronic exposure to cadmium and copper on the proteome profile of hemolymph in false widow spider *Steatoda grossa* (Theridiidae). Ecotoxicology and Environmental Safety, 249, 2023: Art. No. 114448.
- /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/ Jung, M.-P., Lee, J.-H.: Bioaccumulation of heavy metals in the wolf spider, *Pardosa astrigera* L. Koch (Araneae: Lycosidae). Environmental Monitoring and Assessment, 184, 2012: 1773-1779.
- /5/ Ragsdale, S.W.: Nickel-based enzyme systems. The Journal of Biological Chemistry, 284(28), 2009: 18571-18575.

/6/ Wilczek, G., Babczyńska, A., Augustyniak, M., Migula, P.: Relations between metals (Zn, Pb, Cd and Cu) and glutathione-dependent detoxifying enzymes in spiders from a heavy metal pollution gradient. *Environmental Pollution* 132, 2004: 453-461.

**PodĎakovanie**

Uvedená práca bola podporená grantom APVV-20-0081.

## VPLYV PRÍZEMNÉHO OZÓNU NA VIDITEĽNÉ POŠKODENIE BUKA LESNÉHO (*Fagus sylvatica* L.) NA VYBRANÝCH PLOCHÁCH ČMS LESY

### IMPACT OF AMBIENT OZONE ON VISIBLE INJURY OF EUROPEAN BEECH (*Fagus sylvatica* L.) AT SELECTED PLOTS OF PMS FORESTS

Hana Pavlendová, Zuzana Sitková, Pavel Pavlenda

Národné lesnícke centrum – Lesnícky výskumný ústav Zvolen, T. G. Masaryka 22, 96001  
Zvolen, Slovensko

#### Summary

Visible ozone injury of beech has been connected with different ozone metrics, such as mean concentration during vegetation season (VS), AOT40 and POD<sub>1</sub>. Ozone and meteorological parameters were measured in open plot, other parameters needed for the calculation of POD were assessed in forest stand. The incidence of visible ozone injury was evaluated at the light exposed sampling site (LESS) near the open plot. The results show that the number of LESS areas with the occurrence of visible ozone injury at the Turová location gave better correlation results when compared to the mean concentration from VS and AOT40, than when compared to POD<sub>1</sub>. At Poľana – Hukavský grúň, the comparison with POD<sub>1</sub> gave better results than the average from VS and AOT40. However, the convergence of the trend lines when comparing the occurrence of visible injury and POD<sub>1</sub> suggests that we could determine a POD<sub>1</sub> value, at which visible damage may occur in beech.

*Key words: ozone visible injury, European beech, Fagus sylvatica L., vegetation season average, AOT40, POD<sub>1</sub>*

#### Súhrn

Viditeľné poškodenie buka ozónom bolo dávané do súvislosti s rôznymi ozónovými metrikami, ako sú priemer koncentrácií z vegetačnej sezóny (VS), AOT40 a POD<sub>1</sub>. Ozón a meteorologické parametre boli merané na voľnej ploche, ostatné parametre potrebné na výpočet POD sa zisťovali v poraste. Výskyt viditeľného poškodenia ozónom sa hodnotil na slnkom osvetlenom porastovom okraji (LESS) v blízkosti voľnej plochy. Z výsledkov vyplýva že počet LESS plôch s výskytom viditeľného poškodenia buka ozónom na lokalite Turová dával lepšie výsledky korelácie pri porovnaní s priemerom z VS a AOT40, ako pri porovnaní s POD<sub>1</sub>, na Poľane – Hukavskom grúni dávalo lepšie výsledky porovnanie s POD<sub>1</sub>, ako priemer z VS a AOT40. Súbeh trendových čiar pri porovnávaní výskytu viditeľného poškodenia a POD<sub>1</sub> však naznačuje, že by sa dala určiť hodnota POD<sub>1</sub>, pri ktorej sa viditeľné poškodenie u buka môže prejaviť.

*Kľúčové slová: viditeľné poškodenie ozónom, buk lesný, Fagus sylvatica L., priemer z vegetačnej sezóny, AOT40, POD<sub>1</sub>*

#### ÚVOD

Kvalita ovzdušia v synergickom pôsobení s ďalšími abiotickými a biotickými činiteľmi má stále významný vplyv na vývoj a zdravotný stav živých organizmov. Napriek realizácii opatrení na zníženie tvorby primárnych emisií zo stacionárnych i mobilných zdrojov, tvorba sekundárnych polutantov a ich diaľkový prenos naďalej predstavujú riziko nepriaznivého

působení na životné prostredie, najmä v rurálnych a horských oblastiach /1, 2/. Dial'kový prenos ozónu a jeho prekurzorov spolu s lokálnou tvorbou radia Slovensko medzi krajiny s najvyšším ozónovým znečistením spomedzi európskych krajín /3/.

Troposférický ozón je jeden z najdôležitejších stresových faktorov, ktorý okrem priameho poškodenia a vplyvu na produkciu prispieva k oslabeniu lesných drevín a môže tak spôsobiť ich väčšiu náchylnosť na poškodenie ostatnými biotickými a abiotickými škodlivými činiteľmi. Z tohoto dôvodu sa ukázalo ako nevyhnutné venovať pozornosť výskumu potenciálneho vplyvu ozónu na lesné ekosystémy.

V príspevku sme použili viaceré dlhodobé imisné limity AOT40 (Accumulated Ozone over a Threshold of 40 ppb, kritická úroveň (KÚ) pre lesné ekosystémy je 5 ppm.h) a priemer z vegetačnej sezóny (KÚ je  $65 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-2} = 32,5 \text{ ppb}$ ). Ďalej sme použili hodnotenie na princípe stomatálnych tokov ozónu, prostredníctvom fytotoxických ozónových dávok (POD, Phytotoxic Ozone Dose) /4, 5/, s prahovou hodnotou akumulovaného stomatálneho toku  $1,0 \text{ nmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{PLA}\cdot\text{s}^{-1}$  (POD<sub>1</sub>). Na základe viacerých výskumov je navrhovaná hodnota jej kritickej úrovne  $5,2 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}$  pre buk a brezu a  $9,2 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}$  pre smrek /6/.

V príspevku sú vyhodnotené priemerné koncentrácie ozónu z vegetačnej sezóny (VS), AOT40 a POD<sub>1</sub> vo vzťahu k viditeľnému poškodeniu buka lesného (*Fagus sylvatica* L.) na dvoch trvalých monitorovacích (TMP) plochách ČMS Lesy, ktoré sú aj súčasťou ICP Forests.

## METÓDY A ÚDAJE

Merania koncentrácií ozónu a ostatných vstupných parametrov sa uskutočňujú na vybraných trvalých monitorovacích plochách II. úrovne ČMS Lesy s rôznym drevinovým zložením a nadmorskou výškou. Stručný popis vybraných plôch je uvedený v tabuľke 1.

Tab. 1 Stručný popis vybraných TMP II. úrovne

ID plochy	Názov lokality	Nadm. výška [m n.m.]	Zemepisná šírka	Zemepisná dĺžka	Skupina lesných typov	Hlavné drevinové druhy	Hodnotené dreviny
TMP 204	Poľana – Hukavský grúň	850	48°38'34''	19°32'22''	Abieto-Fagetum	bk, sm, jd	bk
TMP 213	Turová II	640	48°37'35''	19°01'55''	Fagetum pauper	bk	bk

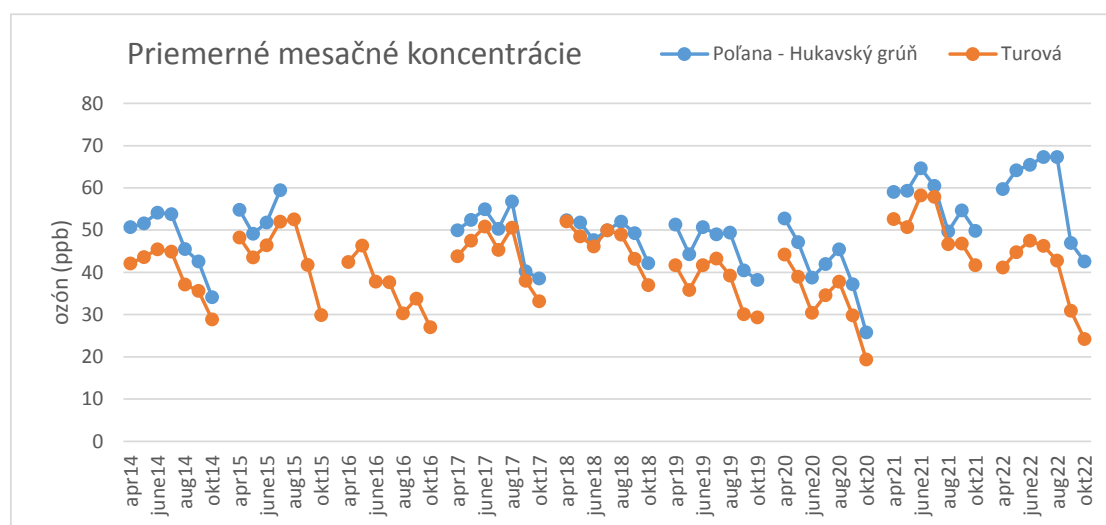
Detailné postupy merania ozónu, meteorologických parametrov a ostatných parametrov potrebných na výpočet POD<sub>1</sub> sú popísané v práci /7/. Samotný výpočet POD a detailná parametrizácia modelu je popísaná v práci /6/.

Vplyv ozónu na viditeľné poškodenie buka sme sledovali na plochách LESS (Light Exposed Sampling Site – stanovište vystavené svetlu). Plochy LESS sa nachádzali v blízkosti ozónovej a meteorologickej monitorovacej stanice. Pri hodnotení viditeľného poškodenia sme sa zameriavali najmä na výskyt tzv. bronzingu, tieniaceho efektu a faktu, že najviac bývajú poškodené najstaršie listy. Postup hodnotenia viditeľného poškodenia ozónom na plochách LESS je uvedený v metodike ICP Forests /8/.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Koncentrácie ozónu ovplyvňuje okrem prítomnosti prekurzorov najmä priebeh počasia. Mimoriadne sucho a teplo, s vysokými úhrnmi žiarenia, podporili vyššie koncentrácie ozónu v lete roku 2021 a 2022. Naopak, mimoriadne daždivý a chladný jún v roku 2020 spôsobil výrazné zníženie koncentrácií ozónu. Priebeh koncentrácií ozónu dosahoval typický ročný priebeh s maximami na jar až v lete a s minimami v zimnom období. Výsledné hodnoty

priemerných mesačných koncentrácií v období apríl až október v jednotlivých rokoch merania sú znázornené na obrázku 1.



Obr. 1 Priemerné mesačné koncentrácie ozónu v období mesiacov apríl až október rokov 2014 – 2022 na lokalitách Poľana – Hukavský grúň a Turová

Pre posúdenie vplyvu ozónu na výskyt viditeľného poškodenia sme okrem priemeru z vegetačnej sezóny (KÚ 32,5 ppb) zvolili dlhodobé imisné limity AOT40 (KÚ 5 ppm.h) a  $POD_1$  (KÚ 5,2 mmol.m<sup>-2</sup>). Na rozdiel od AOT40 do výpočtu  $POD_1$  vstupujú okrem koncentrácií ozónu aj ostatné parametre prostredia, ako sú napr. hodinové údaje o meteorologických parametroch, údaje o pôde (najmä jej vlhkosti), fenológii a pod. Ako vidno z tabuľky 2, roky 2014 – 2019 sú pomerne konzistentné (čo sa týka pomeru priemerných údajov, AOT a  $POD$ ), len roky 2021 a 2022 dosahujú výrazne nižšie  $POD_1$  v porovnaní s priemerom ako v iných rokoch a to najmä na Poľane.

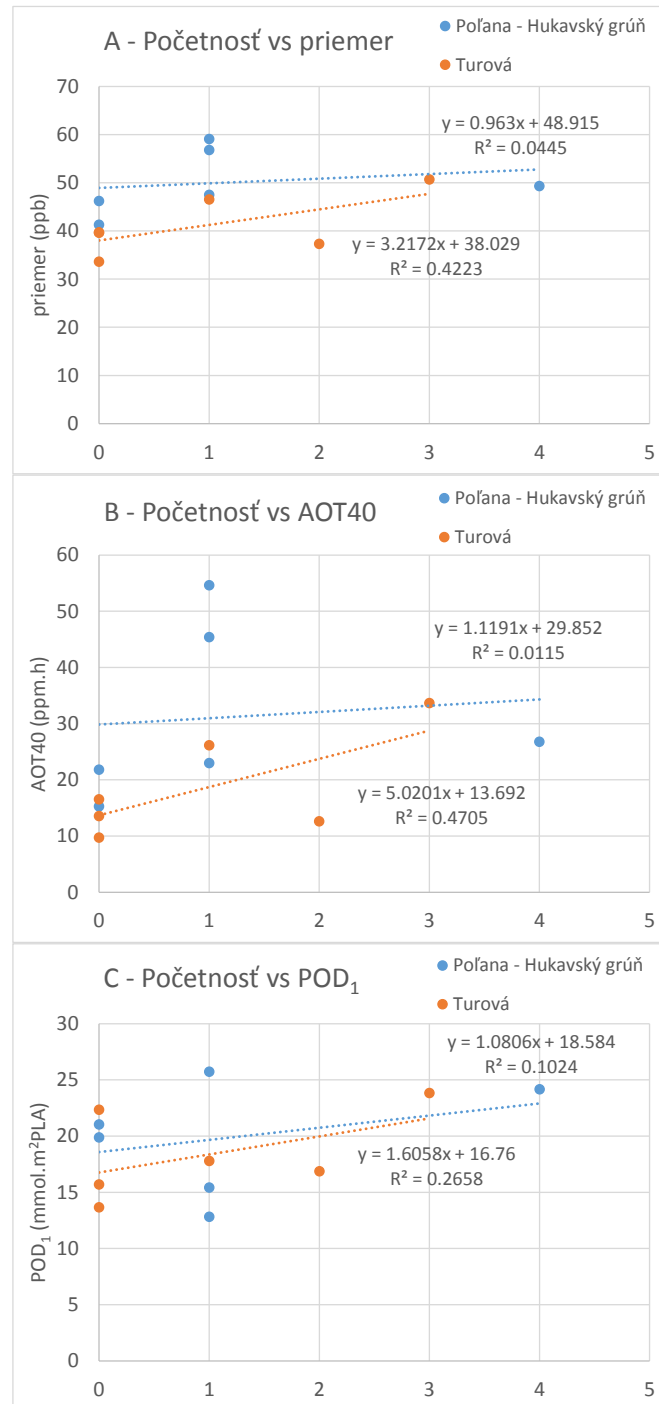
Tab. 2 Priemer ozónu z rozšírenej vegetačnej sezóny, AOT40 a  $POD_1$  z rokov 2014, 2018 – 2022 na lokalitách Poľana – Hukavský grúň a Turová

	Poľana - Hukavský grúň			Turová		
	priemer (ppb)	AOT40 (ppm.h)	$POD_1$ (mmol.m <sup>-2</sup> )	priemer (ppb)	AOT (ppm.h)	$POD_1$ (mmol.m <sup>-2</sup> )
2014	47,50	23,00	25,73	39,67	13,57	22,34
2015	*			44,92	25,50	12,69
2016	*			36,49	20,60	24,15
2017	49,03	29,19	24,49	44,18	24,79	20,14
2018	49,33	26,80	24,16	46,56	26,17	17,80
2019	46,21	21,83	21,04	37,31	12,63	16,87
2020	41,30	15,28	19,88	33,60	9,72	15,69
2021	56,81	45,42	12,82	50,68	33,67	23,84
2022	59,09	54,62	15,43	39,66	16,52	13,66

\* porucha prístroja v júni 2015, obnovené meranie v septembri 2016



Na plochách LESS sme vykonávali hodnotenie viditeľného poškodenia v septembri 2014 a 2018 – 2022, kedy je už veľká pravdepodobnosť rozvinutia symptómov ale ešte nie jesenného žltnutia listov. V tomto príspevku sme sa zamerali na buk, keďže je to jedna z najcitlivejších drevín na ozón a zároveň je na Slovensku najviac zastúpenou drevinou z listnatých drevín.



Obr. 2 Porovnanie počtu LESS subplôch s výskytom viditeľného poškodenia buka lesného ozónom s priemerom ozónu počas vegetačnej sezóny (A), AOT40 (B) a  $POD_1$  (C) v rokoch 2014 a 2018 – 2022 na plochách Poľana – Hukavský grúň a Turová

Z výsledkov porovnania výskytu viditeľného poškodenia buka ozónom na LESS vyplývajú pomerne veľké rozdiely medzi sledovanými lokalitami (Obr. 2). Kým na Turovej boli pomerne vysoké korelačné koeficienty medzi počtom výskytu viditeľného poškodenia buka ozónom (početnosť) a priemerom z VS, resp. početnosťou a AOT40 ( $r = 0,65$  resp.  $0,69$ ), na Poľane dosiahli oveľa nižšie hodnoty ( $r = 0,21$  resp.  $0,11$ ). Inak tomu bolo pri porovnaní početnosti a  $POD_1$ . Na Turovej dosiahol korelačný koeficient nižšie hodnoty ako pri početnosti vs. priemer z VS resp. AOT40 ( $r = 0,52$ ), na Poľane, naopak, vyššie ( $r = 0,32$ ). Stále sú to slabé závislosti, pri priemere z VS a AOT40 na Poľane dokonca nevýznamné.

Súbeh trendových čiar pri porovnávaní početnosti a  $POD_1$  však naznačuje, že ak by bol väčší počet údajov o hodnotení viditeľného poškodenia buka lesného ozónom (viac rokov, viac plôch), dala by sa odvodiť hodnota  $POD_1$ , pri ktorej sa viditeľné poškodenie u buka prejaví.

## ZÁVER

Prízemný ozón je v súčasnosti jeden z najnebezpečnejších polutantov pre vegetáciu. Preto boli rozhodnutím expertov stanovené krátkodobé a dlhodobé imisné limity a kritické úrovne. V tejto štúdii sme skúmali vplyv rôznych dlhodobých imisných limitov na viditeľné poškodenie buka ozónom. Vysoká závislosť sa neprejavila, ale je tu možnosť odvodenia hodnoty  $POD_1$  kedy sa môže objaviť viditeľné poškodenie.

## LITERATÚRA

- /1/ Bičárová, S., Sitková, Z., Pavlendová, H., Fleischer, P., Bytnerowicz, A. 2018. The role of environmental factors in ozone uptake of *Pinus mugo* Turra. *Atmospheric Pollution Research* 10, 283-293. <https://doi.org/10.1016/j.apr.2018.08.003>
- /2/ Pavlendová, H., Bičárová, S., Sitková, Z., 2019: Prekračovanie kritických úrovní ozónu na výškovom tranzekte vo Vysokých Tatrách. *Meteorologické zprávy*, 72, 2019, s. 19-25, ISSN 0026-1173
- /3/ Schaub, M., Haeni, M., Calatayud, V., Ferretti, M., Gottardini, E., 2018: ICP Forests: Ozone concentrations are decreasing but exposure remains high in European forests. *ICP Forests Brief #3*, Thünen Institute of Forest Ecosystems, Eberswalde, 2018. 6 p., ISSN 2625-0985, DOI 10.3220/ICP1525258743000
- /4/ Karlsson, P.E., Braun, S., Broadmeadow, M., Elvira, S., Emberson, L., Gimeno, B.S., Le Thiec, D., Novak, K., Oksanen, E., Schaub, M., Uddling, J., Wilkinson, M., 2007. Risk assessment for forest trees: The performance of the ozone flux versus AOT concepts. *Environmental Pollution* 146:608-616, ISSN 0269-7491
- /5/ Matyssek, R., Kozovits, A.R., Schnitzler, Jp., Pretzsch, H., Dieler, J., Wieser, G., 2014. Forest Trees Under Air Pollution as a Factor of Climate Change. In: Tausz M., Grulke N. (eds) *Trees in a Changing Environment. Plant Ecophysiology*, vol 9. Springer, Dordrecht, pp. 117–163, ISBN 978-94-017-9100-7
- /6/ CLRTAP, 2017. Mapping Critical Levels for Vegetation, Chapter III of Manual on methodologies and criteria for modelling and mapping critical loads and levels and air pollution effects, risks and trends. UNECE Convention on Long range Transboundary Air Pollution, [www.icpmapping.org](http://www.icpmapping.org), 2017
- /7/ Pavlendová, H., Sitková, Z., Pavlenda, P., Bičárová, S., 2017: Prekračovanie kritických úrovní ozónu na na vybraných trvalých monitorovacích plochách, In: *Sitková, Z., Pavlenda, P. (eds.): Dlhodobý ekologický výskum a monitoring lesov – súčasné poznatky a výzvy do budúcnosti*. Zborník recenzovaných príspevkov z konferencie, 7.-8.11.2017, Zvolen, Národné lesnícke centrum – Lesnícky výskumný ústav Zvolen, s. 103-107, ISBN 978-80-8093-231-2
- /8/ Schaub, M., Calatayud, V., Ferretti, M., Brunialti, G., Lövblad, G., Krause, G., Sanz, M.J., Pitar, D., Gottardini, E., 2020: Part VIII: Monitoring of Ozone Injury, Version 2020-1. Thünen Institute of Forest Ecosystems, Eberswalde, Germany, 15 p. [<http://www.icp-forests.org/manual.html>], ISBN: 978-3-86576-162-0

## Pod'akovanie

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmlúv APVV-20-0365 a APVV-18-0223 a vznikla aj vďaka projektu TreeAdapt, financovaného z rozpočtovej kapitoly MPRV SR (prvok 08V0301).

## OXIDATÍVNY STRES PRI RASTLINÁCH SLNEČNICE POD VPLYVOM VYSOKÝCH DÁVOK KADMIA

### OXIDATIVE STRESS IN SUNFLOWER PLANTS UNDER THE INFLUENCE OF HIGH DOSES OF CADMIUM

Roman Kuna, Peter Boleček, Patrik Mészáros, Beáta Piršelová

Univerzita Konštantína filozofa v Nitre, Fakulta prírodných vied a informatiky, Katedra  
botaniky a genetiky, Nábřežie mládeže 91, 949 74 Nitra, SR, rkuna@ukf.sk

#### Summary

In the work, we focused on the evaluation of the sensitivity of the annual sunflower (*Helianthus annuus* L., P64HE133), at two concentrations of Cd<sup>2+</sup> at soil (200 and 300 mg/kg). After 12 weeks of cultivation we took material to determine the cadmium content in the dry matter of the experimental plants. During the growing period of the plants, three samples of material (leaves) were taken for the continuous evaluation of parameters focused primarily on oxidative stress. We noticed a statistically significant differences especially in the evidence of •O<sub>2</sub><sup>-</sup> formation as well as in the level of cell death, with an emphasis on the developmental factor. A less significant factor across the analyzes was the effect of the used cadmium concentration. The results generally point to a high level of resistance of sunflower to cadmium weighdown and also to acclimation or adaptive responses of stressed plants.

*Keywords: cadmium, Helianthus annuus* L., *stress parameters, factor of ontogenesis*

#### Souhrn

V práci sme sa zamerali na hodnotenie citlivosti slnečnice ročnej (*Helianthus annuus* L., P64HE133), pri dvoch koncentráciách Cd<sup>2+</sup> v substráte (200 a 300 mg/kg). Po 12 týždňoch pestovania, sme odobrali materiál na stanovenie obsahu kadmia v sušine experimentálnych rastlín. Počas doby pestovania rastlín boli vykonané tri odbery materiálu (listy) na priebežné hodnotenie parametrov zameraných predovšetkým na oxidatívny stres. Štatisticky významné rozdiely sme zaznamenali predovšetkým pri dôkaze tvorby •O<sub>2</sub><sup>-</sup> ako aj pri úrovni bunkovej smrti, s dôrazom na faktor vývinového štádia rastliny. Menej významným faktorom naprieč analýzami bol vplyv použitej koncentrácie kadmia. Výsledky vo všeobecnosti poukazujú na vysokú mieru odolnosti slnečnice ku kadmiovej záťaži a tiež na aklimáčne resp. adaptačné odpovede stresovaných rastlín.

*Klíčová slova: kadmium, Helianthus annuus* L., *parametre stresu, faktor ontogenézy*

## ÚVOD

Kontaminácia pôd rizikovými prvkami predstavuje globálny problém. Kadmium (Cd) je pre rastliny neesenciálny prvok a je považovaný za jeden z najtoxickjších ťažkých kovov v prostredí vďaka jeho vysokej mobilite v prostredí a schopnosti vyvolávať toxicitu už pri nízkych koncentráciách v organizmoch. K zvyšovaniu obsahu kadmia v pôdach prispieva najmä aplikácia fosforečných hnojív, rôzne odpady vo forme kompostov a kaly z čistiarní odpadových vôd. Toxicita kadmia sa aktívne skúma a viaceré štúdie uvádzajú vplyv toxicity Cd na produktivitu plodín, produkciu ROS, peroxidáciu lipidov a jej potenciálne remediačné stratégie [1]. Prah fytotoxickej koncentrácie Cd sa výrazne líši medzi rastlinami na základe druhov, ekotypov či kultivarov. Pri poľných experimentoch sa uvádza, že koncentrácia Cd v

půde 5,0 mg.kg<sup>-1</sup> je toxická a ovplyvňuje zdravie rastlín /2/. Produkcia ROS vyvolaná kadmium je bežná a patrí medzi prvé biochemické zmeny, ktoré sa prejavujú u rastlín vystavených Cd stresu /3/. Po vystavení Cd dochádza k nerovnováhe medzi produkciou a elimináciou ROS, čo vedie k dramatickým fyziologickým problémom v rastline označovaným ako "oxidačný stres". Vo všeobecnosti je oxidačný stres spojený s hyperakumuláciou reaktívnych foriem kyslíka, ako je superoxidový anión či peroxid vodíka, ktoré spôsobujú premenu mastných kyselín na toxické lipidové peroxidy a poškadzujú biologické membrány. U rastlín ako je hrach, slnečnica a fazuľa obyčajná došlo pod vplyvom kadmia k zvýšenej peroxidácii lipidov, pri tabaku viedla toxicita kadmia k bunkovej smrti vyvolanej nadprodukciou H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> v mastných kyselinách /4/. Slnečnica patrí medzi plodiny s vysokým potenciálom pre remediáciu pôd kontaminovaných rizikovými prvkami (najmä Cd, Pb a Zn), je tolerantná voči viacerým kovom. Cieľom práce bolo zhodnotiť vývin viacerých faktorov kadmiovej stresovej reakcie slnečnice ročnej (hybrid P64HE133) počas ontogenézy rastliny.

## MATERIÁL A METODA

Semená/nažky slnečnice ročnej (*Helianthus annuus*, hybrid P64HE133), sme zasiali do pôdneho substrátu (TS2, Klasmann-Deilmann, Germany, EC 400 μS, pH 6.5, stopové množstvá rizikových prvkov, vlhkosť max. 75 %) a pestovali v rastovej komore Fitotron HGC 1514 (UK), fotoperiódou 16/8 h, teplota 23 °C, intenzite osvetlenia od 173 do 253 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, vlhkosť 60 %. Podmienky stresu boli navodené aplikáciou 200 mg resp. 300 mg Cd<sup>2+</sup>/kg substrátu vo forme CdCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O v prvej zálievke. Vzorky sme odoberali postupne – po 21 dňoch z 1. listu, po 33 dňoch z 3. listu a po 49 dňoch zo 7. listu na stonke. Na „*in situ*“ lokalizáciu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sme využili farbenie pomocou 3,3'-diaminobenzidín (DAB) podľa /5, 6/. Na stanovenie prítomnosti superoxidového radikálu ( $\bullet\text{O}_2^-$ ) sme použili roztok tetrazóliovej modrej (NBT) podľa metodiky /7/. Výskyt oboch zafarbení sme kvantifikovali pomocou analýzy obrazu s použitím voľne dostupného softvéru ImageJ/Fiji v1.53u. Peroxidáciu lipidov sme vyhodnotili na základe obsahu malondyaldehydu (MDA) podľa práce /8/. Životaschopnosť buniek v listoch bola meraná na základe absorpcie činidla – Evansova modrá (EB) podľa /8, 9/. Získané údaje sme podrobili štatistickým analýzám využitím programu MS Excel.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Na základe hodnotených parametrov sme zaznamenali pomerne vysokú toleranciu testovaného hybridu slnečnice na ióny kadmia. Ani po 12 týždňoch kultivácie nevykazovali sledované rastliny voľne viditeľné alebo výrazné zmeny v raste alebo sfarbení medzi kontrolnými a atakovanými rastlinami. Vo všeobecnosti môžeme hovoriť o výraznej aklimatizácii a nepotvrdila sa stúpajúca citlivosť na pôsobenie dvoch použitých koncentrácií stresora. Súhrn výsledkov ponúka tabuľka 1. Trend nárastu citlivosti na pôsobenie dvoch koncentrácií sa ukázal väčšinou len pri prvom liste. Postupným vývinom sa rozdiely strácali nielen v porovnaní dvoch koncentrácií ale aj v porovnaní s kontrolnými vzorkami. Výrazne klesala histochemická detekcia ROS od skorších vývinových štádií k neskorším. Čiastočne to platí aj pre obsah malondyaldehydu. Prvý a tretí list reagovali citlivejšie na dávku 300 mg Cd, výsledky zo siedmeho listu naznačujú (o 46 % menej ako pri 3. liste a 13 % menej ako pri 1. liste), že rastliny sa starnutím v podstate adaptovali na záťaž. Význam vývinového štádia v stresovej reakcii podčiarkujú aj autori /10/. Podobná odpoveď platí aj pre dávku 200 mg Cd. Medzi 3. a 7. listom je rozdiel iba minimálny. Rastliny starnutím reagovali na dávky Cd menej citlivo, prispôbobi sa. Nelineárny vzťah v obsahu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a MDA so zvyšujúcou sa dávkou kadmia uvádza aj práca /11/. Trend citlivosti bol pri miere bunkovej smrti rozdielny. Tolerantnejšie reagovali rastliny vo fáze tretieho listu (najnižšie hodnoty), naopak v siedmom

liste dosiahli hladiny EB najvyššie hodnoty vo všetkých variantoch. Antioxidačné mechanizmy sa pri rôznych parametroch aktivovali v rastlinách pomerne premenlivo.

V princípe sme zaznamenali pomerne veľkú premenlivosť v analyzovaných parametroch stresovaných rastlín v priebehu ich vývinu. Vo všetkých znakoch sme vykonali dvojfaktorovú analýzu rozptylu. Ani v jednom prípade sa nepotvrdil faktor aplikovanej koncentrácie kovu ako ťažiskový; naopak faktor vývinového štádia, teda faktor listu, bol prevažujúci a v prípade farbenia na prítomnosť  $\bullet\text{O}_2^-$  ako aj v stanovenej hladine EB (tzn. bunkovej smrti) sme zaznamenali štatisticky významné výsledky (tabuľka 1).

Tab. 1: Súhrn výsledkov z analýz rastlín slnečnice počas experimentu (priemerné hodnoty). DAB – farbenie na prítomnosť  $\text{H}_2\text{O}_2$ , NBT – farbenie na prítomnosť  $\bullet\text{O}_2^-$ . MDA – obsah malondyaldehydu, EB – stanovenie bunkovej smrti, K – kontrola, 200Cd – 200 mg/kg Cd v substráte, 300Cd – 300 mg/kg Cd v substráte, \* – štatisticky významný rozdiel, ANOVA  $p < 0,05$

	DAB (% plochy)	NBT * (% plochy)	MDA ( $\mu\text{M}/200 \text{ mg}$ )	EB * (ng/150 mg)
	<b>1. list</b>	<b>1. list *</b>	<b>1. list</b>	<b>1. list *</b>
<b>K</b>	4,60	13,638	4,444	246,00
<b>200Cd</b>	15,10	13,614	3,602	474,00
<b>300Cd</b>	2,78	24,868	9,196	649,00
	<b>3. list</b>	<b>3. list *</b>	<b>3. list</b>	<b>3. list *</b>
<b>K</b>	1,14	6,82	16,276	211,00
<b>200Cd</b>	1,59	11,96	9,79	154,50
<b>300Cd</b>	3,47	9,68	14,592	120,50
	<b>7. list</b>	<b>7. list *</b>	<b>7. list</b>	<b>7. list *</b>
<b>K</b>	1,06	0,699	8,899	708,00

Podobne aj korelačné väzby medzi analyzovanými premennými (tabuľka 2) poukazujú na vysokú a veľmi tesnú väzbu medzi faktormi stresu predovšetkým v štádiu prvého listu, čiastočne aj siedmeho. Ide predovšetkým o hladinu bunkovej smrti v kombinácii s peroxidáciou lipidov a prítomnosťou  $\bullet\text{O}_2^-$ .

Tab. 2: Prehľad korelačných koeficientov ( $r$ ) medzi analyzovanými faktormi.

	DAB	NBT	MD A	EB	DAB	NBT	MDA	EB	DAB	NBT	MDA	EB
	<b>1. list</b>				<b>3. list</b>				<b>7. list</b>			
<b>DAB</b>	1				1				1			
<b>NBT</b>	-0,6150	1			0,2427	1			-0,5405	1		
<b>MDA</b>	-0,7178	0,9904	1		0,0894	-0,9444	1		0,8968	-0,8569	1	
<b>EB</b>	-0,0611	0,8246	0,7388	1	-0,8846	-0,6670	0,3852	1	-0,7599	0,9576	-0,9691	1

Vo fáze kvitnutia sme stanovili obsah kadmia v nadzemných častiach všetkých dopestovaných rastlín. Potvrdila sa vyššia akumulácia kovu vo výhonkoch v porovnaní so súkvetiami, ale tiež nevýznamný rozdiel v reakcii na použité koncentrácie kadmia (tabuľka 3). Nepreukaznú inhibíciu rastu, napriek vysokej akumulácii kovu popisuje aj práca [12/].

Tab. 3: Obsah kadmia v analyzovaných vzorkách rastlín slnečnice po 12-týždňovej kultivácii.

Obsah kadmia v sušine (mg/kg)			
<b>K (výhonok)</b>	0,107	<b>K (súkvetie)</b>	0,099
<b>200Cd (výhonok)</b>	22,5	<b>200Cd (súkvetie)</b>	9,59
<b>300Cd (výhonok)</b>	20,0	<b>300Cd (súkvetie)</b>	12,6

## ZÁVER

Na základe našich zistení možno skonštatovať, že testovaný hybrid slnečnice reagoval citlivo na kadmiovú záťaž v substráte hlavne v skorších štádiách vývinu. Postupne sa prejavili výrazné aklimatizačné schopnosti rastlín a súčasne sa strácali aj rozdiely v pôsobení dvoch vysokých koncentrácií kadmia na oxidačný stres a akumuláciu kovu v rastlinách.

## LITERATURA

- /1/ Bashir, S., Zhu, J., Fu, Q., Hu, H. (2018). Cadmium mobility, uptake and anti-oxidative response of water spinach (*Ipomoea aquatic*) under rice straw biochar, zeolite and rock phosphate as amendments. *Chemosphere* 194, 579–587.
- /2/ Ismael, M. A., Elyamine, A. M., Moussa, M. G., Cai, M., Zhao, X., & Hu, C. (2019). Cadmium in plants: uptake, toxicity, and its interactions with selenium fertilizers. *Metallomics : integrated biometalscience*, 11(2), 255–277. <https://doi.org/10.1039/c8mt00247a>
- /3/ Ishtiyag, S., Kumar, H., Varun, M., Kumar, B., Paul, M. S. (2018). Heavy metal toxicity and the antioxidant response of plants: a review. In: Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Fujita, M. (eds.) *Plants Under Metal and Metalloid Stress*. Springer, Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-2242-6\\_3](https://doi.org/10.1007/978-981-13-2242-6_3)
- /4/ Haider, F. U., Liqun, C., Coulter, J. A., Cheema, S. A., Wu, J., Zhang, R., Wenjun, M., & Farooq, M. (2021). Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies. *Ecotoxicology and environmental safety*, 211, 111887. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111887>
- /5/ Thordal-Christensen, H., Zhang, Z., Wei, Y. & Collinge, B.D. (1997) Subcellular Localization of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in Plants. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Accumulation in Papillae and Hypersensitive Responses during the Barley-Powdery Mildew Interaction. *Plant Journal*, 11, 1187–1194.
- /6/ Kumar, D., Yusuf, M. A., Singh, P., Sardar, M., & Sarin, N. B. (2014). Histochemical detection of superoxide and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation in Brassica juncea seedlings. *Bio-protocol*, 4(8), e1108–e1108.
- /7/ Zhou, W.J., Leul, M., 1999. Uniconazole-induced tolerance of rape plants to heat stress in relation to changes in hormonal levels, enzyme activities and lipid peroxidation. *Plant Growth Regul.* 27, 99–104
- /8/ Ederli, L., Reale, L., Madeo, L., Ferranti, F., Gehring, C., Fornaciari, M., Romano, B., & Pasqualini, S. (2009). NO release by nitric oxide donors in vitro and in planta. *Plant physiology and biochemistry: PPB*, 47(1), 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2008.09.008>
- /9/ Vijayaraghavareddy P., Adhinarayanreddy V., Vemanna R. S., Sreeman S., Makarla U. Quantification of Membrane Damage/Cell Death Using Evan's Blue Staining Technique. *Bio Protoc.* 017;7(16):e2519.
- /10/ Garcia, J. S., Souza, G. H. M. F., Eberlin, M. N., Arruda, M. A. Z. (2009). Evaluation of metal-ion stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.) leaves through proteomic changes. *Metallomics*, 1. 107–113. [10.1039/b816146a](https://doi.org/10.1039/b816146a).
- /11/ Zhao, H., Guan, J., Liang, Q., Zhang, X., Hu, H., & Zhang, J. (2021). Effects of cadmium stress on growth and physiological characteristics of safflower seedlings. *Scientific reports*, 11(1), 9913. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89322-0>
- /12/ Li, X., Zhang, X., Wu, Y., Li, B., & Yang, Y. (2018). Physiological and biochemical analysis of mechanisms underlying cadmium tolerance and accumulation in turnip. *Plant diversity*, 40(1), 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2017.12.005>

## Pod'akovanie

Uvedená práca vznikla s finančnou podporou výskumného zámeru VEGA 1/0073/20.

## HODNOTENIE TOLERANCIE RAJČIAKA (*SOLANUM LYCOPERSICUM*) NA IÓNY KADMIA

### EVALUATION OF TOMATO (*SOLANUM LYCOPERSICUM*) TOLERANCE TO CADMIUM IONS

Karin Stránska<sup>1</sup>, Radoslava Matúšová<sup>2</sup>, Beáta Piršelová<sup>1</sup>, Veronika Kubová<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre, Fakulta prírodných vied a informatiky, Katedra botaniky a genetiky, Nábrežie Mládeže 91, 949 74 Nitra, Slovenská republika, bpirselova@ukf.sk

<sup>2</sup>Centrum biológie rastlín a biodiverzity SAV, v. v. i., Ústav genetiky a biotechnológií rastlín, Akademická 2, 950 07 Nitra, Slovenská republika, radka.matusova@savba.sk

#### Summary

The tolerance of tomato (*Solanum lycopersicum*, cv. Moneymaker) to cadmium (Cd) ions was evaluated. The plants were grown hydroponically in 1/2 modified Hoagland solution, to which Cd was added in doses of 10, 20, 30, 50 and 100  $\mu\text{M}$  after 7 days of cultivation. After 19 days of cultivation in Cd solution, the growth parameters and the content of photosynthetic pigments were evaluated. The tested tomato variety showed a high tolerance to Cd, lower doses (10 and 20  $\mu\text{M}$ ) had a stimulating effect on growth and also on the content of chlorophyll *a*, carotenoids and total chlorophylls. Application of the highest doses (50 and 100  $\mu\text{M}$ ) resulted in a significant decrease of chlorophyll *a* (by 53.6 and 54.22%), chlorophyll *b* (by 56.0 and 51.36%) and total chlorophylls (by 54.37 and 53.39%) content.

*Key words: tomato, cadmium, growth, photosynthetic pigments, tolerance*

#### Súhrn

V príspevku hodnotíme toleranciu rajčiaka jedlého (*Solanum lycopersicum*, cv. Moneymaker) na ióny kadmia (Cd). Rastliny boli pestované hydroponicky v 1/2 modifikovanom Hoaglandovom roztoku, do ktorého sme pridali po 7 dňoch kultivácie Cd v dávkach 10, 20, 30, 50 a 100  $\mu\text{M}$ . Po 19 dňoch kultivácie v roztoku Cd sme hodnotili rastové parametre a obsah fotosyntetických pigmentov. Testovaná odroda rajčiaka prejavila vysokú toleranciu na Cd, nižšie dávky (10 a 20  $\mu\text{M}$ ) pôsobili stimulačne na rast a tiež na obsah chlorofylu *a*, karotenoidov a celkových chlorofylov. Vplyvom najvyšších dávok (50 a 100  $\mu\text{M}$ ) došlo k preukaznému poklesu obsahu chlorofylu *a* (o 53.6 a 54.22%), chlorofylu *b* (o 56.0 a 51.36 %) a celkových chlorofylov (o 54.37 a 53.39% ).

*Kľúčové slová: rajčiak, kadmium, rast, fotosyntetické pigmenty, tolerancia*

## ÚVOD

Kadmium (Cd) je neesenciálny prvok pre rastliny a je považovaný za jeden z najtoxickejších ťažkých kovov v prostredí vďaka jeho vysokej mobilite v prostredí a schopnosti vyvolať toxicitu už pri nízkych koncentráciách v organizmoch /1/. K zvyšovaniu obsahu Cd v pôdach prispieva najmä aplikácia fosforečných hnojív, rôzne odpady vo forme kompostov a kaly z čistiarní odpadových vôd. Rôzne rastlinné druhy a odrody reagujú rôzne na ióny ťažkých kovov, pri pestovaní na pôdach s Cd vykazujú napr. rastliny rajčiaka vyššiu toleranciu ako iné druhy /2, 3/ a sú schopné akumulovať tento kov vo svojich výhonkoch niekedy nad prahom hyperakumulácie Cd (100  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) /4/. Doterajšie štúdie


naznačujú, že zvýšená akumulácia Cd v pletivách rajčiaka môže indukovať obranu voči rôznym byľinožravcom /5/. Selekcia tolerantných, resp. citlivých odrôd rajčiaka zároveň umožňuje zhodnotiť riziká pestovania tejto plodiny v pôdach kontaminovaných Cd.

Cieľom práce bolo zhodnotiť toleranciu vybranej odrody rajčiaka jedlého na rôzne koncentrácie Cd v rastovom médiu. Pre hodnotenie tolerancie sme zvolili jednoduchý, rýchly a pritom pomerne spoľahlivý prístup - meranie rastových parametrov a obsahu fotosyntetických pigmentov v listoch.

## MATERIÁLY A METÓDY

Semená rajčiaka (*Solanum lycopersicum*, cv. Moneymaker) sme sterilizovali roztokom zloženia: 2 % (v/v) chlórnan sodný a 0,02 % (v/v) Tween-20 po dobu 10 minút, dôkladne premyli v sterilnej vode a následne sme ich predklíčovali 6 dní v Petriho miskách s navlhčeným filtračným papierom. Po naklíčení sme klíčence pestovali hydroponicky v 50 ml skúmavkách (1 rastlina/ 1 skúmavka) naplnených 1/2 modifikovaným Hoaglandovým roztokom (Obr. 1) 7 dní.

ZLOŽKY MÉDIA HOAGLAND	
MAKRONUTRIENTY	mmol/l
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1,6
KNO <sub>3</sub>	2,4
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,4
MgSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	0,8
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,18
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	0,1
MIKRONUTRIENTY	mmol/l
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,023
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0,0045
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0,0003
ZnCl <sub>2</sub>	0,0015
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,0001



Obr. 1: Zloženie modifikovaného Hoaglandovho rastového média a schéma pestovania predklíčených rastlín v in vitro podmienkach.

Po 7 dňoch sme do rastového média pridali Cd v dávkach: 10, 20, 30, 50 a 100 μM a pestovali ďalších 19 dní. Kadmium bolo pridávané do média vo forme CdCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O. Rastové médium bolo vymieňané každých 7 dní. Celkovo bolo v každom variante experimentu 8 rastlín. Rajčiaky boli počas experimentu umiestnené v kultivačnej miestnosti s teplotou 22 °C, intenzitou svetla 50 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> a 16 hodinovou fotoperiódou. Kontrolný variant neobsahoval Cd. Po 33 dňoch rastu od začiatku naklíčovania semien sme pokus ukončili a rastliny podrobili analýzám (celkovo 5-7 rastlín z každého variantu experimentu).

### Stanovenie rastových parametrov a tolerančného indexu

Po odmeraní dĺžky koreňov, výhonkov a stanovení čerstvej hmotnosti (FW) sme korene a výhonky sušili v sušiarňi počas 48 hodín pri teplote 60 °C a stanovili sme obsah suchej hmoty (DW). Tolerančný index (TI) pre výhonky bol stanovený podľa vzťahu: TI (%) = (priemerný obsah DW stresovaných rastlín / priemerný obsah DW kontrolných rastlín) x 100.

### Stanovenie obsahu fotosyntetických pigmentov v listoch

Obsah fotosyntetických pigmentov: chlorofylu a (*Chla*), chlorofylu b (*Chlb*), karotenoidov a celkových chlorofylov v listoch sme stanovili spektrofotometricky podľa Lichtenthaler /6/. Listové extrakty sme získali rozdrvením 80 mg listového pletiva v 10 ml 80% acetónu.

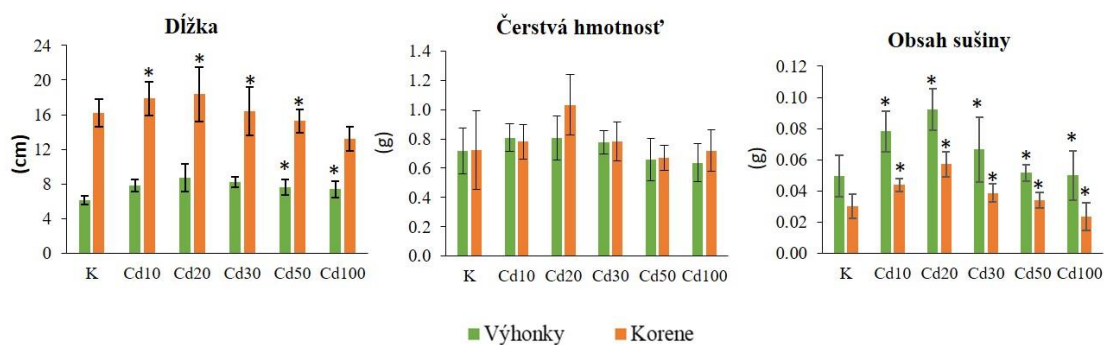
### Štatistické spracovanie výsledkov

Základné štatistické charakteristiky (aritmetický priemer, štandardná odchýlka) sme stanovili pomocou programu MS EXCEL. Preukaznosť rozdielov medzi kontrolou a ďalšími variantmi experimentu sme hodnotili Studentovým t-testom pomocou programu MS EXCEL.



## VÝSLEDKY A DISKUSIA

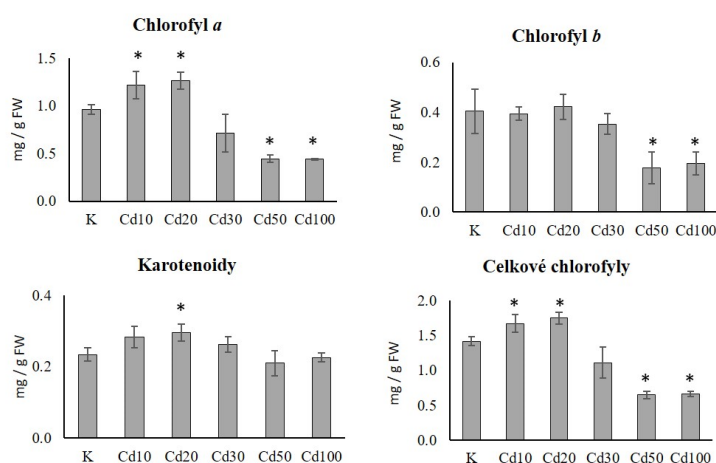
Testovaná odroda rajčiaka prejavila vysokú toleranciu na Cd, v prípade nižších dávok (10 a 20  $\mu\text{M}$ ) sme zaznamenali dokonca stimulačný účinok vo väčšine hodnotených parametrov (Obr. 2-3). V prípade dĺžky výhonkov sa daný účinok prejavil pri všetkých dávkach Cd (Obr. 2). Najvyššiu stimuláciu (o 90%) sme zaznamenali v prípade DW koreňov vplyvom 20  $\mu\text{M}$  Cd. Tolerančné indexy pre výhonky boli v rozmedzí 91.79-173.20 a pre korene 77.69-188,98 (Tab. 1).



Obr. 2: Vplyv kadmia (Cd) na dĺžku, čerstvú hmotnosť a obsah sušiny koreňov a výhonkov rajčiaka. Údaje zodpovedajú aritmetickému priemeru  $\pm$  štandardná odchýlka. \* - štatisticky významný rozdiel oproti kontrole (K) pri  $p < 0.05$  (t-test).

Tab. 1: Tolerančné indexy v % stanovené na základe obsahu sušiny (DW) výhonkov a koreňov

	Cd10	Cd20	Cd30	Cd50	Cd100
<b>TI (%) DW výhonkov</b>	147.07	173.2	122.95	96.82	91.79
<b>TI (%) DW koreňov</b>	144.98	188.98	127.82	112.87	77.69



Obr. 3: Vplyv Cd na obsah fotosyntetických pigmentov v listoch rajčiaka. Údaje zodpovedajú aritmetickému priemeru  $\pm$  štandardná odchýlka. \* - štatisticky významný rozdiel oproti kontrole (K) pri  $p < 0.05$  (t-test). Cd – kadmium.

Stimulačný účinok dávok Cd10 a Cd20 sa prejavil aj v obsahu *Chla*, karotenoidov a celkových chlorofylov (Obr. 3).

Preukazná inhibícia sa prejavila najmä v obsahu *Chla* (pokles o 53.6 a 54.22%) a *Chlb* (pokles o 56.0 a 51.36%) pri dávkach Cd50 a Cd100. Celkový obsah chlorofylov klesol o 54.37 a 53.39% (Obr. 3). Stimulačný účinok nízkych dávok a toxicita vyšších dávok chemikálií na rast rastlín sa označuje ako horméza, ktorá sa prejavuje najmä v prípadoch toxických neesenciálnych, často stopových prvkov /7/. Daný fenomén je typickejší pre tolerantné druhy a má tendenciu zvyšovať obranyschopnosť rastlín, hlavne v dôsledku indukcie syntézy obranných molekúl, sekundárnych metabolitov a zmeny aktivity antioxidantných enzýmov /8/. Naše závery sú v rozpore so štúdiou Piotta a kol. /9/, ktorí nepozorovali žiadny hormetický prejav u piatich odrôd rajčiaka pestovaných 7 dní hydroponicky v rozsahu dávok 5 -100  $\mu\text{M}$  Cd. Pokles biomasy bol však v rámci tejto štúdie pozorovaný už pri dávke 10  $\mu\text{M}$  Cd. Inhibičný účinok Cd na rast a fotosyntézu bol tiež zaznamenaný aj pri dávkach < 5  $\mu\text{M}$  Cd /10, 11/.

## ZÁVER

Testovaná odroda rajčiaka (*Solanum lycopersicum*, cv. Moneymaker) prejavila vysokú toleranciu na Cd s výraznejšou stimuláciou rastu pri dávkach 10 a 20  $\mu\text{M}$  Cd. Pri týchto dávkach došlo zároveň k zvýšeniu obsahu *Chla*, *Chlb* a celkových chlorofylov v listoch. Preukazný inhibičný vplyv vyšších dávok Cd (50 a 100  $\mu\text{M}$ ) sa prejavil iba v zníženom obsahu *Chla*, karotenoidov a celkových chlorofylov. Poznanie tolerancie rajčiaka na ióny Cd a jeho akumuláčného potenciálu umožní zhodnotiť riziká pestovania tejto plodiny v pôdach kontaminovaných Cd.

## LITERATÚRA

- /1/ Ducsay, L.: Obsah chlorofylu, kadmia a zinku v listoch snečnice v podmienkach Cd a Zn stresu. Chem. Listy, 105, 2011: 269–272.
- /2/ Khan, S.; Khan, N.N.: Influence of lead and cadmium on the growth and nutrient concentration of tomato (*Lycopersicon esculentum*) and egg-plant (*Solanum melongena*). Plant Soil., 74, 1983: 387–394.
- /3/ Kuboi, T.; Noguchi, A.; Yazaki, J. (1986). Family-dependent cadmium accumulation characteristics in higher plants. Plant Soil, 92, 1986: 405–415.
- /4/ Gratão, P. L.; Monteiro, C. C.; Antunes, A.M.; Peres, L.E.P.; Azevedo, R.A.: (2008). Acquired tolerance of tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Micro-Tom) plants to cadmium-induced stress. Ann. Appl. Biol., 153, 2008: 321–333.
- /5/ Godinho, D.P., Janssen, A., Dias, T., Cruz, C., and Magalhães, S.: Down-regulation of plant defence in a resident spider mite species and its effect upon con- and heterospecifics. Oecologia, 180, 2016: 161–167.
- /6/ Lichtenthaler, H.K.: Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Meth. Enzymol., 148, 1987: 350–382.
- /7/ Calabrese, E.J.; Blain, R.B. Hormesis and plant biology. Environ. Pollut., 157, 2009: 42–48.
- /8/ Allender, W.J.; Cresswell, G.C.; Kaldor, J.; Kennedy, I.R.: Effect of lithium and lanthanum on herbicide induced hormesis in hydroponically-grown cotton and corn. J. Plant Nutr., 20, 1997: 81–95.
- /9/ Piotta, F.A.; Carvalho, M.E.A.; Souza, L.A.; Rabêlo, F.H.S.; Franco, M.R.; Batagin-Piotta, K.D.; Azevedo, R.A.: Estimating tomato tolerance to heavy metal toxicity: cadmium as study case. Environ. Sci. Pollut. Res., 25, 2018: 27535–27544.
- /10/ Haouari, C.C.; Nasraoui, A.H.; Bouthour, D.; Houda, M.D.; Daieb, C.B.; Mnai, J.; Gouia, H.: Response of tomato (*Solanum lycopersicon*) to cadmium toxicity: Growth, element uptake, chlorophyll content and photosynthesis rate. Afr. J. Plant Sci., 6, 2012: 1–7.
- /11/ Dong, J.; Wu, F.; Zhang, G. Effect of cadmium on growth and photosynthesis of tomato seedlings. Zhejiang Univ. Sci., 6, 2005: 974–980.

## PodĎakovanie

Práca bola podporená výskumným zámerom projektu VEGA 1/0415/18: Ekologický potenciál vybraných poľnohospodárskych plodín pre zlepšenie kvality zaťaženej pôdy Slovenska.

## VPLYV ENVIRONMENTÁLNYCH FAKTOROV NA DIVERZITU RÔZNE MANAŽOVANÝCH PODHORSKÝCH LÚK V ŠTIAVNICKÝCH VRCHOCH A NA POĽANE

### **THE INFLUENCE OF ENVIRONMENTAL FACTORS ON THE DIVERSITY OF DIFFERENTLY MANAGED SUBMONTANE MEADOWS IN ŠTIAVNICKÉ VRCHY AND POĽANA**

Andrea Diviaková<sup>1</sup>, Hana Ollerová<sup>2</sup>, Andrea Zacharová<sup>2</sup>, Slavomír Stašiov<sup>1</sup>, Milan Novikmec<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra biológie a všeobecnej ekológie, Fakulta ekológie a environmentalistiky,  
Technická univerzita vo Zvolene, T. G. Masaryka 24, 960 01 Zvolen, SR;  
diviakova@tuzvo.sk, stasiov@tuzvo.sk, novikmec@tuzvo.sk

<sup>2</sup> Katedra environmentálneho inžinierstva, Fakulta ekológie a environmentalistiky,  
Technická univerzita vo Zvolene, T. G. Masaryka 24, 960 01 Zvolen, SR;  
ollerova@tuzvo.sk, maruskova@tuzvo.sk

#### *Summary*

In Central Europe, submontane grassland biodiversity is nowadays threatened by intensification of management, but also by its cessation and abandonment of management activities. Though vegetation of Central European grasslands is well described by phytosociological papers, there is still a need for studies of the effect of management on species richness and community composition and the relationships between their species richness and environment. We studied submontane grassland communities in central part of Slovakia. Our study showed that environmental variables and management are important in shaping the submontane grassland species richness and floristic composition. Plant species richness showed weak negative relationship with pH. When each management type grasslands were analyzed individually, amount of phosphorus, nitrogen, pH, and altitude were found to be significantly correlated with plant species richness or diversity.

*Key words: diversity, soil chemistry, nutrients, botanical composition, Slovakia*

#### *Súhrn*

V strednej Európe je v súčasnosti biodiverzita podhorských lúk ohrozená zintenzívnením manažmentu, ale aj jeho zánikom či upustením od manažmentu. Aj keď je vegetácia stredoeurópskych lúk dobre popísaná vo fytoecologických prácach, stále existuje potreba štúdia vplyvu manažmentu na druhovú bohatosť a zloženie spoločenstiev a vzťahy medzi ich druhovou bohatosťou a prostredím. Študovali sme podhorské lúky v strednej časti Slovenska. Naša štúdia ukázala, že environmentálne premenné a manažment sú dôležité pri formovaní druhovej bohatosti podhorských lúk a ich floristického zloženia. Druhová bohatosť rastlín vykazovala slabý negatívny vzťah k pH. Keď sa lúky každého typu manažmentu analyzovali individuálne, zistilo sa, že množstvo fosforu, dusíka, pH a nadmorská výška významne korelujú s druhovou bohatosťou alebo diverzitou rastlín.

*Kľúčové slová: diverzita, vlastnosti pôdy, živiny, druhové zloženie rastlín, Slovensko*

## ÚVOD

Poloprírodné podhorské lúky, cenné biotopy s mimoriadne vysokou druhovou bohatosťou, patria v mnohých európskych krajinách k reprezentatívnym krajinným prvkom

/17, 18, 19/. Majú vysoké zastúpenie charakteristických rastlinných /1/ i živočíšnych druhov /23/. Tieto druhy sa prispôbili určitému typu a intenzite disturbancií a mnohé z nich tieto disturbance vyžadujú na prežitie. Splňajú mnoho ekologických a environmentálnych funkcií, poskytujú dôležité ekosystémové služby. Všeobecne platí, že vysoké druhové bohatstvo trávnych porastov je výsledkom kombinácie prírodných podmienok, množstva environmentálnych faktorov a ľudských aktivít /8, 10, 15/. Spomedzi environmentálnych determinantov vplývajúcich na rozmanitosť trávnych porastov sa často zdôrazňuje úloha chemických a fyzikálnych vlastností pôd. Jedným z kľúčových faktorov ovplyvňujúcich zloženie a druhovú bohatosť spoločenstiev je pH pôdy /5, 14, /. Koncentrácia živín v pôde, najmä dusíka a fosforu, je ďalším dôležitým miestnym environmentálnym faktorom. Mnoho štúdií dokumentovalo negatívny vzťah medzi druhovou bohatosťou a prísunom fosforu v pôde pasienkov /4, 12/. Aj keď sú miestne premenné považované za hlavné environmentálne faktory diverzity trávnych porastov, dôležité môžu byť aj regionálne procesy, ako aj vek biotopov, klíma, nadmorská výška, okolité biotopy či rozsiahle krajinné charakteristiky /3/. Abiotické podmienky môžu dokonca prekonať účinok radiacií aktivít. Avšak, vznik a existencia väčšiny podhorských lúk sú podmienené hospodárskou činnosťou človeka. Manažment podhorských lúk si pre podporu biologickej rozmanitosti vyžaduje často odstraňovanie sukcesných náletov drevín /25/, či odstraňovanie nadzemnej biomasy pasiením a kosením. Vysoká druhová bohatosť a výskyt vzácných druhov je preto determinovaná ich vhodným manažmentom /20/. Napríklad extenzívne spásanie alebo kosenie prispieva k udržiavaniu diverzity rastlín, ktorá sa po ukončení manažovania postupne znižuje /4/. Opustenie pasienia alebo kosenia, po ktorom nasleduje sukcesia alebo zalesňovanie, sa dokonca považuje za hrozbu pre miestnu alebo regionálnu biodiverzitu /24/. Udržiavanie tradične manažovaných, druhovo bohatých lúčnych spoločenstiev je však na Slovensku a v Európe čoraz náročnejšie.

## MATERIÁL A METODIKA

Výskum bol realizovaný v Štiavnických vrchoch a na Poľane, v geomorfologických celkoch Západných Karpát v strednej časti Slovenska. V rámci výskumu sa hodnotili a porovnávali biocenózy na sérii 3 typov rôzne manažovaných podhorských lúk (pasienky, kosienky, nemanážené, v rozpätí nadmorských výšok 481-767 m n.m.), pričom postup a intenzita manažmentu sa na študovaných lokalitách nemenila posledných 5 rokov, s cieľom zodpovedať na otázku “Ako súvisí druhová bohatosť fytocenóz s hodnotenými environmentálnymi premennými?”

### Terénny prieskum, pôdne analýzy, štatistické analýzy

Terénne prieskum sa realizoval vo vegetačnom období 2020-2021, na 30 fytocenologických plochách, každá o výmere 16 m<sup>2</sup>. Mapované lokality boli vybrané tak, aby reprezentovali 3 typy podľa aktuálne aplikovaného manažmentu: kosené lúky (MEADOW), pasiené lúky (PASTURE) a nedávno opustené trávne porasty bez obhospodarovania (ABANDONED). Každý typ bol zastúpený 10 lokalitami. Jednotlivé lokality sa vyskytovali v podobnej nadmorskej výške a reprezentovali podobné miestne klimatické podmienky medzi študovanými typmi manažmentu (zvyčajne 3 lokality blízko seba, pričom každá predstavovala 1 z typov manažmentu). Treba však spomenúť, že opustené trávne porasty boli apriori očakávané s vyššími hodnotami pôdnej vlhkosti, pretože tento typ lúk bol jediný neobhospodarovávaný v rámci riešeného územia. Zaznamenali sa všetky druhy cievnatých rastlín a ich pokryvnosť v zmysle Zürich-Montpellierovej školy /2/. Taxonómia a nomenklatúra sledovali /16/. Na niektorých lokalitách (opustené) sa v dôsledku postupujúcej sukcesie vyskytlo niekoľko drevín s nižšou pokryvnosťou. Tieto druhy neboli zahrnuté do ďalších analýz. Z fytocenologického hľadiska bola skúmaná vegetácia zastúpená najmä tr. *Molinio-Arrhenatheretea* Tx. 1937, zv. *Arrhenatherion elatioris*, *Cynosurion cristati* a

*Calthion palustris*. Druhovú bohatosť bola vyjadrená počtom druhov v zápise a diverzita rastlinných spoločenstiev Shannonovým indexom diverzity. Nadmorská výška bola zaznamenaná v čase terénneho prieskumu pomocou GPS zariadenia. Údaje o sklonitosti boli zisťované z verejne prístupnej databázy. Pôvodná intervalová stupnica bola nahradená strednopercentnými hodnotami pre každý interval sklonu.

Na každej ploche boli v čase vegetačného prieskumu odobraté 3 vzorky pôdy z hĺbky 10 cm z náhodne vybraných miest, pred analýzou zmiešané do 1 zloženej vzorky. Analýzy boli vykonané podľa /13/. Obsah C, H, N bol charakterizovaný pomocou organického elementárneho analyzátoru FLASH 2000 (ThermoFisher Scientific). Obsah P bol stanovený spektrofotometricky vo filtráte roztoku po prevedení na fosfomolybdénovú modrú. Základné charakteristiky študovaných plôch sú uvedené v tab. 1.

Tab. 1 Základné charakteristiky študovaných lokalít

Variable	Abbreviation	MEADOW	PASTURE	ABANDONED
Average (min.; max.)				
Altitude	ALT	626 (490; 765)	626.7 (481; 767)	616 (502; 743)
pH	pH	5.6 (4.9; 6.6)	5.5 (5.0; 6.3)	6.1 (5.3; 7.1)
Electric conductivity ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	EC	207 (106; 379)	263 (172; 575)	569 (220; 1110)
Phosphorus ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	P	9.77 (2.9; 24.1)	11.2 (1.8; 32.5)	4.7 (1.5; 11.5)
Nitrogen (% w)	N	0.37 (0.24; 0.53)	0.45 (0.38; 0.56)	0.62 (0.23; 1.17)
Carbon (% w)	C	4.07 (2.60; 6.11)	5.13 (3.86; 6.24)	7.96 (4.00; 15.00)
Slope inclination	INC	8.5 (0.5; 14.5)	12.1 (5.0; 21.0)	2.6 (0.5; 14.5)
Species richness	Richness	36 (28; 45)	38 (30; 48)	29 (18; 42)
Shannon diversity ( <i>H</i> )	H	2.80 (2.40; 3.22)	3.00 (2.51; 3.62)	2.41 (1.44; 2.91)

Rozdiely v diverzite rastlín medzi tromi typmi manažmentu boli skúmané pomocou Kruskal-Wallisovho testu. Predtým boli hodnoty diverzity testované na homogenitu rozptylu medzi typmi manažmentu pomocou Bartlettovho testu. Aby sme preskúmali vzorce diverzity, vypočítali sme párové Spearmanove korelačné koeficienty medzi environmentálnymi charakteristikami a druhovou bohatosťou a diverzitou Shannon na študovaných plochách. Pre lepší prehľad sme vypočítali Spearmanove koeficienty pre celkové údaje a pre každý typ manažmentu zvlášť.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Celkovo bolo na študovaných lokalitách zaznamenaných 187 druhov rastlín. Z nich je niekoľko druhov niekoľkých druhov uvedených v Červenom zozname papraďorastov a kvitnúcich rastlín Slovenska /9/: *Carex flava* (NT), *Carex hartmanii* (NT), *Cephalanthera longifolia* (NT), *Dactylorhiza majalis* (NT), *Lilium martagon* (LC), *Orchis morio* (NT), *Trollius europeus* (NT). Najčastejšími druhmi s vysokou pokryvnosťou na kosených boli *Arrhenatherum elatius*, *Dactylis glomerata*, *Avenula pubescens*. Takmer všetky pasené lúky boli charakteristické výskytom *Festuca rubra*, *Agrostis capillaris* a *Anthoxanthum odoratum*. *Filipendula ulmaria* bola dominantným druhom opustených lokalít. Často sa vyskytovali aj *Lysimachia vulgaris*, *Scirpus sylvaticus*, *Cirsium oleraceum*, ale ich pokryvnosť a početnosť boli nižšie. Najvyššia priemerná druhová bohatosť bola zaznamenaná na pasených lúkach, nasledovali kosené lúky. Opustené lokality boli druhovo najchudobnejšie spoločenstvá (tab. 1).

Vzťahy medzi druhovou bohatosťou rastlín a diverzitou študovaných plôch a environmentálnych premenných boli hodnotené pomocou korelačnej analýzy. Druhová bohatosť rastlín vykazovala len slabý negatívny vzťah k pH (tab. 2). Pri individuálnej analýze

pre každý typ manažmentu sa zistilo, že množstvo fosforu, dusíka, pH a nadmorská výška významne korelujú s druhovou bohatosťou rastlín alebo diverzitou v rámci jednotlivých typov manažmentu (tab. 2).

Tab. 2 Spearmanove korelačné koeficienty medzi environmentálnymi premennými a bohatosťou rastlinných druhov (Richness) a diverzita (H) hodnotená na všetkých lokalitách (celkovo) a samostatne pre každý typ manažmentu. Štatisticky významné korelácie (pri  $p < 0,05$ ) sú zvýraznené tučným písmom. Skratky v tab. 1.

Variable	Overall		MEADOW		PASTURE		ABANDONED	
	Richness	H	Richness	H	Richness	H	Richness	H
pH	<b>-0.32</b>	-0.25	0.13	0.06	0.12	0.34	<b>-0.70</b>	-0.52
P	-0.03	-0.02	<b>-0.64</b>	<b>-0.92</b>	0.16	0.28	0.02	-0.19
N	-0.03	-0.04	-0.41	-0.50	-0.39	-0.15	<b>0.86</b>	<b>0.73</b>
ALT	0.23	0.19	-0.05	0.10	0.01	-0.18	<b>0.72</b>	0.61
SLOPE	0.08	0.11	0.30	-0.07	-0.54	-0.28	-0.34	-0.21

Počátek, koniec 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).

Lokálne environmentálne faktory často silne ovplyvňujú druhovú bohatosť trávnych porastov /26/. V našej štúdií sme skúmali vzťah medzi druhovou bohatosťou a Shannon diverzitou rôzne manažovaných lúk a základnými pôdnymi fyzikálno-chemickými parametrami, sklonom a nadmorskou výškou. pH sa ukázalo ako jediná významná premenná v rámci všetkých študovaných lokalít, ktorá negatívne korelovala s druhovým bohatstvom. Pôdna reakcia je jedným z kľúčových faktorov regulujúcich druhovú bohatosť rastlín /14/. Vzťah medzi druhovou bohatosťou rastlín a pH by mal byť negatívny v oblastiach, kde druhový fond odráža podmienky nízkeho pH v evolučnej minulosti /19/. Merunková et Chytrý (2012) /17/ tvrdia, že účinky pH by mohli byť potlačené inými vlastnosťami pôdy, najmä negatívnym účinkom produktivity. Pretože naše lokality sa nejakým spôsobom líšili v zaznamenaných environmentálnych premenných medzi typmi manažmentu (tab. 1), skúmali sme tiež najmä vzťahy medzi druhovým bohatstvom a Shannon diverzitou a environmentálnymi vlastnosťami pre každý typ manažmentu. Vzhľadom na pH bola negatívna korelácia s druhovou bohatosťou zistená na opustených lokalitách. To by mohlo aspoň čiastočne zodpovedať spomínanej teórii /19/.

Fosfor má veľký význam pre druhovú bohatosť trávnych porastov /17/. Pri anlyzách jednotlivých manažmentov sa zistili negatívne vzťahy medzi fosforom a druhovou bohatosťou v kosených (MEADOW) lúkach. Hoci diverzitu trávnych porastov zvyčajne negatívne ovplyvňuje obohacovanie živinami a zvyšujúca sa koncentrácia fosforu sa často považuje za hlavnú príčinu úbytku druhov /7, 11/ .

Niektoré štúdie dokumentovali aj negatívny vplyv ďalšej dôležitej živiny, dusíka, na druhovú bohatosť trávnych porastov /21/, najmä v dôsledku poklesu oligotrofných druhov rastlín a zníženia prieniku svetla do koruny rastlín spôsobeného zvýšením nadzemnej čistej primárnej produktivity. V našej štúdií bola jediným pozorovaným vzťahom, akosi prekvapivo,

pozitívna korelácia dusíka s druhovou bohatosťou a Shannonovou diverzitou opustených lokalít. Na druhej strane tieto lokality podporovali najnižšiu priemernú druhovú bohatosť a diverzitu v porovnaní s ostatnými typmi hospodárenia. Zovšeobecnenie príspevku jednotlivých živín k znižovaniu alebo zvyšovaniu druhovej bohatosti trávnych porastov je však komplikované a stále nejasné aj preto, že fyzikálno-chemické vlastnosti pôdy ovplyvňujúce dostupnosť pôdnych živín sú charakteristické vysokou priestorovou heterogenitou aj na malom území a jednotlivé živiny sa pri ich vplyve vzájomne ovplyvňujú /22/.

Druhové bohatstvo lúk môže byť tiež ovplyvnené nadmorskou výškou a topografiou. Neprítomnosť jasnej korelácie medzi nadmorskou výškou a druhovou bohatosťou v našej štúdii by sa dala pravdepodobne vysvetliť úzkym rozsahom nadmorských výšok v našej štúdii.

## ZÁVER

Naša štúdia preukázala, že pôdne živiny a pH sú dôležitými faktormi ovplyvňujúcimi diverzitu podhorských lúk. Aj keď sa diverzita spoločenstiev trávnych porastov medzi typmi manažmentu značne nelíšila, naša štúdia preukázala, že obhospodarovanie lúk a lokálne environmentálne premenné sú determinantmi zloženia spoločenstiev.

## LITERATÚRA

- /1/ Bazzoffi, P., 2009: Soil erosion tolerance and water runoff control: Minimum environmental standards. *Reg. Environ. Chang.* 9, 169–179.
- /2/ Braun-Blanquet, J. *Pflanzensoziologie. Grundzüge der Vegetationskunde*, 3rd ed.; Springer: Vienna, Austria, 1964.
- /3/ Bruun, H.H., 2000: Patterns of species richness in dry grassland patches in an agricultural landscape. *Ecography* 23, 641–650.
- /4/ Collins, S.L.; Knapp, A.K.; Briggs, J.M.; Blair, J.M.; Steinauer, E.M., 1998: Modulation of diversity by grazing and mowing in native tallgrass prairie. *Science* 280, 745–747.
- /5/ Crawley, M.J.; Johnston, A.E.; Silvertown, J.; Dodd, M.; de Mazancourt, C.; Heard, M.S.; Henman, D.F.; Edwards, G.R., 2005: Determinants of species richness in the Park Grass Experiment. *Am. Nat.* 165, 179–192.
- /6/ Critchley, C.N.R.; Chambers, B.J.; Fowbert, J.A.; Bhogal, A.; Rose, S.C.; Sanderson, R.A., 2002: Plant species richness, functional type and soil properties of grasslands and allied vegetation in English environmentally sensitive areas. *Grass Forage Sci.* 57, 82–92.
- /7/ Dijkstra, F. A., West, J. B., Hobbie, S. E., Reich, P. B., 2007: Plant diversity, CO<sub>2</sub>, and N influence inorganic and organic N leaching in grasslands. *Ecology*, 88, 490–500.
- /8/ Dorresteyn, I.; Loos, J.; Hanspach, J.; Fischer, J., 2015: Socioecological drivers facilitating biodiversity conservation in traditional farming landscapes. *Ecosyst. Health Sustain.* 1, 1–9.
- /9/ Eliáš, P., Dítě, D., Kliment, J., Hrivnák, R., 2015: Red list of ferns and flowering plants of Slovakia, 5th edition. (October 2014). *Biologia*, 70, 218–228.
- /10/ Ellenberg, H. *Vegetation Mitteleuropas mit den Alpen in Ökologischer, Dynamischer und Historischer Sicht*; Ulmer: Stuttgart, Germany, 1996.
- /11/ Gilbert, J., Gowing, D., Wallace, H., 2009: Available soil phosphorus in semi-natural grasslands: assessment methods and community tolerances. *Biological Conservation*, 142, 1074–1083.
- /12/ Hejman, M.; Klauisová, M.; Schellberg, J.; Honsová, D., 2007: The Rengen Grassland Experiment: Plant species composition after 64 years of fertilizer application. *Agric. Ecosyst. Environ.* 122, 259–266.
- /13/ Hrivnáková K., Makovníková J., Barančíková G., Bezák P., Bezáková Z., Dodok R., Grešo V., Chlpík J., Kobza J., Lištjak M., Mališ J., Piš V., Schlosserová J., Slávik O., Styk J., Širáň M., 2011: Jednotné pracovné postupy rozborov pôd. Výskumný ústav pôdozvedectva a ochrany pôdy, Bratislava 136 pp.
- /14/ Chytrý M., Danihelka J., Ermakov, N., Hájek, M., Hájková, P., Kočí, M., Valachovič, M., 2007: Plant species richness in continental southern Siberia: effects of pH and climate in the context of the species pool hypothesis. *Global Ecology and Biogeography*, 16, 668–678.
- /15/ Janišová, M.; Michalcová, D.; Bacaro, G.; Ghisla, A., 2014: Landscape effects on diversity of semi-natural grasslands. *Agric. Ecosyst. Environ.* 182, 47–58.
- /16/ Marhold, K., Hindák, F. (eds.), 1998: Checklist of non-vascular and vascular plants of Slovakia. *Veda*, Bratislava, 687 pp.

- /17/ Merunková, K.; Chytrý, M., 2012: Environmental control of species richness and composition in upland grasslands of the southern Czech Republic. *Plant Ecol.* 213, 591–602.
- /18/ Myklesstad, A.; Satersdal, M., 2004: The importance of traditional meadow usement techniques for conservation of vascular plant species richness in Norway. *Biol. Conserv.* 118, 133–139.
- /19/ Pärtel, M., Bruun, H. H., Sammul, M., 2005: Biodiversity in temperate European grasslands: origin and conservation. In: Lillak, R., Viiralt, R., Linke, A., Geherman, V. (eds.), *Integrating Efficient Grassland Farming and Biodiversity. Grassland Science in Europe 10.* Estonian Grassland Society, Tartu, pp. 1–14.
- /20/ Pykälä, J.; Luoto, M.; Heikkinen, R.K.; Kontula, T., 2005: Plant species richness and persistence of rare plants in abandoned semi-natural grasslands in northern Europe. *Basic Appl. Ecol.* 6, 25–33.
- /21/ Ren, Z., Li, Q., Chu, Ch., Zhao, L., Zhang, J., Ai, D., Wang, G., 2010: Effects of resource additions on species richness and ANPP in an alpine meadow community. *Journal of Plant Ecology*, 3, 25–31.
- /22/ Roem, W. J., Berendse, F., 2000: Soil acidity and nutrient supply ratio as possible factors determining changes in plant species diversity in grassland and heathland communities. *Biological Conservation*, 92, 151–161.
- /23/ Stašiov, S., 2004. *Harvestmen (Opiliones) of Slovakia.* Zvolen: Technical University in Zvolen.
- /24/ Tschardtke, T.; Klein, A.M.; Kruess, A.; Steffan-Dewenter, I.; Thies, C., 2005: Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity—ecosystem service management. *Ecol. Lett.* 8, 857–874.
- /25/ Wahlman, H., Milberg, P., 2002. Management of semi-natural grassland vegetation; evaluation of long-term experiment in southern Sweden. *Annales Botanici Fennici* 39: 159-166.
- /26/ Wellstein, C., Otte, A., Waldhardt, R., 2007: Impact of site and management on the diversity of central European mesic grassland. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 122, 203–210.

### **Pod'akovanie**

Príspevok bol podporený vedeckou grantovou agentúrou VEGA - projekt č. 1/0076/22, projekt 1/0057/22 a projektom ENVIHEALTH č. ITMS 313011T721.



## ZMĚNY RYCHLOSTI VÝMĚNY PLYNŮ U VYBRANÉHO SORTIMENTU OVOCNÝCH DŘEVIN

### CHANGES IN THE RATE OF GAS EXCHANGE IN A SELECTED ASSORTMENT OF FRUIT TREES

František Hnilička, Barbora Tunklová, Jiří Kudrna, Tomáš Rýgl

Česká zemědělská univerzita v Praze, FAPPZ, katedra botaniky a fyziologie rostlin,  
Kamýcká 129, Praha – Suchdol 16500, hnilicka@af.czu.cz

#### Summary

The gas exchange rate was measured in 2022 in the plantations of the Holovousy University of Science and Technology at an altitude of 290 m above sea level, where the soil type is brown earth. The varieties of apricot - Harogem, Bergeron and Candela, cherry - Regina and Kordia, plum - Tophit and Totaste, apple - Galaval and Rubinola were included in the experiment. The results show that the following fruit tree varieties appear to be sensitive to water stress caused by the weather in the 2022 growing year: Candela, Kordia, Toptaste and Rubinola. There were no intervarietal differences in transpiration rates between plum and apple trees. Furthermore, no differences in photosynthetic rate were found between apricot cultivars. Changes in the rate of gas exchange in cherries could also have been caused by mechanical damage (windstorm) to the Regina variety.

*Key words: fruit trees; photosynthesis; transpiration, genotypes*

#### Souhrn

Rychlost výměny plynů byla měřena v roce 2022 ve výsadbách VŠÚO Holovousy v nadmořské výšce 290 m n. m., kde je půdním typem hnědozem. Do pokusu byly zařazeny odrůdy meruněk – Harogem, Bergeron a Candela, třešní – Regina a Kordia, slivoní – Tophit a Totaste, jabloní – Galaval a Rubinola. Z výsledků je patrné, že jako citlivé k vodnímu stresu, vyvolanému průběhem počasí ve vegetačním roce 2022, se jeví tyto odrůdy ovocných dřevin: Candela, Kordia, Toptaste a Rubinola. Nebyly prokázány meziodrůdové rozdíly v rychlosti transpirace u slivoní a jabloní. Dále nebyly zjištěny rozdíly v rychlosti fotosyntézy mezi odrůdami meruněk. Změny v rychlosti výměny plynů u třešní mohly být také způsobeny mechanickým poškozením (vichřice) odrůdy Regina.

*Klíčová slova: ovocné stromy, výměna plynů, genotypy*

## ÚVOD

V přirozeném prostředí jsou rostliny vystaveny různým abiotickým vlivům, které mohou mít nepříznivé účinky na jejich růst, vývoj, výnos a kvalitu. Očekává se, že tyto faktory (stresory) se v blízké budoucnosti budou mít stále větší vliv na rostliny, a to v důsledku globální změny klimatu, potenciálně ovlivňující a omezující výnos zemědělských plodin /1/. Podle údajů Světové meteorologické organizace (WMO) jsou hlavními příčinami globálního oteplování za posledních 50 let skleníkové plyny a zvýšená koncentrace oxidu uhličitého. Důsledky zvýšením teplot jsou snížení množství srážek a měnící se rozložení srážek v průběhu roku, což má za následek výskyt období sucha v různých oblastech světa /3/. Abiotický stres je také jedním z hlavních omezení produkce ovoce na celém světě, který

ovlivňuje vegetativní růst, kvetení, tvorbu plodů a kvalitu /4/. Podle těchto autorů je právě sucho tím nejvýznamnějším stresorem.

V důsledku klimatických změn je zemědělství jedním z nejméně ovlivněných odvětví lidské činnosti /5/. Stres rostlin se proto v posledních letech stává součástí nejenom pěstování rostlin, ale také teoretického a aplikovaného výzkumu.

Reakce rostlin na abiotické stresory v různých vývojových fázích, ale také v průběhu ontogeneze jsou monitorovány a sledovány, jak dokládá např. práce /6/. Rostliny si vyvinuly určitou odolnost vůči stresu během jejich vývoje, jako jsou specifické fyziologické a metabolické mechanismy, které jim umožňují adaptovat se a přežít nepříznivé faktory či prostředí /7/. Ty rostliny, které mají schopnost tolerovat určitý stres nebo se přizpůsobit a aklimatizovat na něj stresové podmínky jsou považovány za rostliny odolné vůči stresu. Tato odolnost či přizpůsobení může být dána jejich genetickými vlastnostmi, které ovlivňují jejich míru přizpůsobení se či aklimatizace /8/. Vedle genetické predispozice svou roli hraje také působení na jednotlivá pletiva, orgány v rámci jednotlivých vývojových fází /9/. Proto cílem našeho výzkumu je sledování fyziologických charakteristik vybraných druhů ovocných dřevin pěstovaných v sadu v závislosti na působení vnějších faktorů, především počasí, agrotechniky apod.

## MATERIÁL A METODY

Rychlost výměny plynů byla měřena v roce 2022 ve výsadbách VŠÚO Holovousy v nadmořské výšce 290 m n. m., kde je půdním typem hnědozem. Do pokusu byly zařazeny odrůdy meruňek – Harogem, Bergeron a Candela, třešň – Regina a Kordia, slivoní – Tophit a Toptaste, jabloní – Galaval a Rubinola. Od každé odrůdy byly fyziologické charakteristiky měřeny na 6 stromech a 3 listech. Rychlost fotosyntézy a transpirace byla měřena ve vybraných fázích ontogenetického vývoje, které zahrnují celou vegetaci od rašení listů po podzimní senescenci listů.

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 /10/, při zachování 3 opakování.

Statistická analýza dat se uskutečnila pomocí softwaru STATISTICA, verze 12 (StatSoft Inc.) při zachování 3 opakování a hladině významnosti  $\alpha=0,05$ .

## VÝSLEDKY A DISKUSE

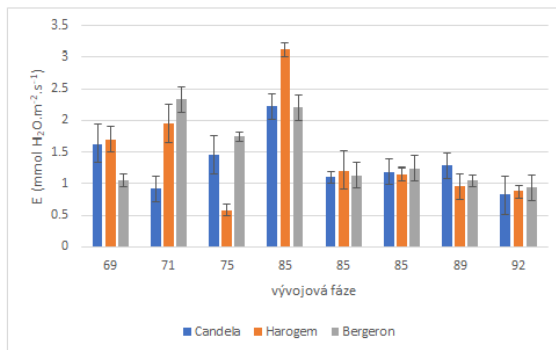
Měřenými charakteristikami byly změny rychlosti výměny plynů, rychlost transpirace (obr. 1) a fotosyntézy (obr. 2).

V obr. 1a jsou uvedeny změny rychlosti transpirace sledovaných odrůd meruňky v závislosti na vegetaci. Z něho nevyplývá průkazný vliv fáze vývoje na uvedenou charakteristiku. Na počátku sledovaného období byla transpirace v rozpětí od 1,06 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s (Bergeron) do 1,69 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s (Harogem). Naopak maximální rychlost transpirace byla naměřena ve fázi 85.BBCH. V této vývojové fázi byla nejvyšší rychlost transpirace zjištěna u odrůdy Harogem (3,11 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s) a naopak nejnižší u odrůdy Bergeron (2,20 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s).

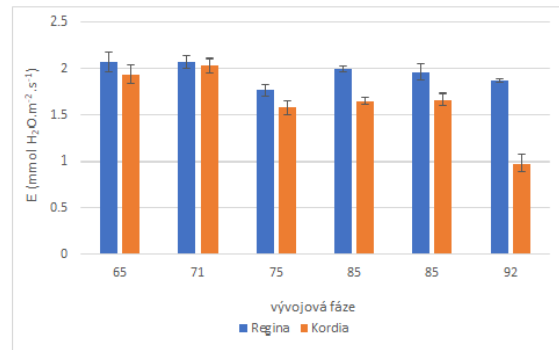
Vlivem poškození stromů odrůdy Regina vichřicí došlo k navýšení rychlosti transpirace v porovnání s odrůdou Kordia. Proto u této odrůdy byla rychlost transpirace průkazně vyšší než u odrůdy Kordia. Průměrná rychlost transpirace odrůdy Regina byla 1,96 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s a u odrůdy Kordia – 1,64 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s. U odrůdy Regina se ohybovala transpirace v rozmezí hodnot od 1,76 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s (75.BBCH) do 2,07 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s (65. a 71.BBCH). V případě odrůdy Kordia byla rychlost transpirace nejnižší ve fázi 92.BBCH

(0,98 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s) a nejvyšší ve fázi 71.BBCH (2, mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s), jak dokumentuje obr. 1b.

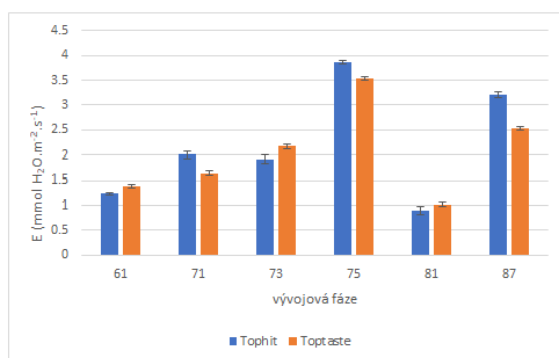
Z grafu 1c je patrný vývoj rychlosti transpirace slivoní v závislosti na jejich ontogenetickém vývoji. Mezi odrůdami nebyly nalezeny průkazné diference, přičemž vyšší hodnot transpirace o 0,13 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s vykazovala odrůda Tophit (2,18 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s) ve srovnání s odrůdou Toptaste. Rychlost transpirace se u obou odrůd zvyšovala od fáze 61.BBCH (1,31 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s) do fáze 75.BBCH (3,70 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s).



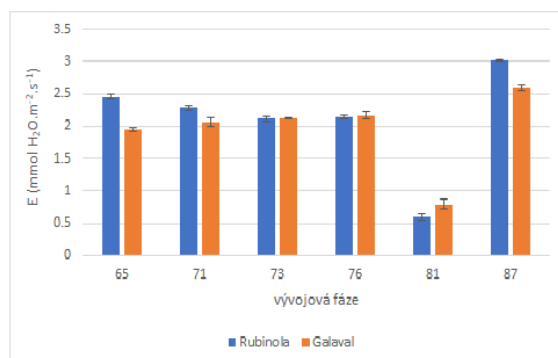
a)



b)



c)



d)

Obr. 1: Rychlost transpirace (mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s) sledovaných ovocných druhů a genotypů v závislosti na ontogenetickém vývoji. a) meruňky, b) třešně, c) slivoně a d) jabloně.

Mezi odrůdami jabloní, viz obr. 1d, nebyly nalezeny průkazné diference v rychlosti transpirace. Avšak je možné konstatovat, že vyšší transpiraci vykazovala odrůda Rubinola (2,10 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s).

V souladu s výsledky [11,12] je možné konstatovat, že rozdíly v rychlosti transpirace jsou dány především změnami v intenzitě světla, což ovlivňuje otevírání průduchů a vede ke snížení gs a uzavírání průduchů. Dále se jedná o vliv teploty vzduchu, půdní vlhkosti a vlastnostem jednotlivých druhů a odrůd.

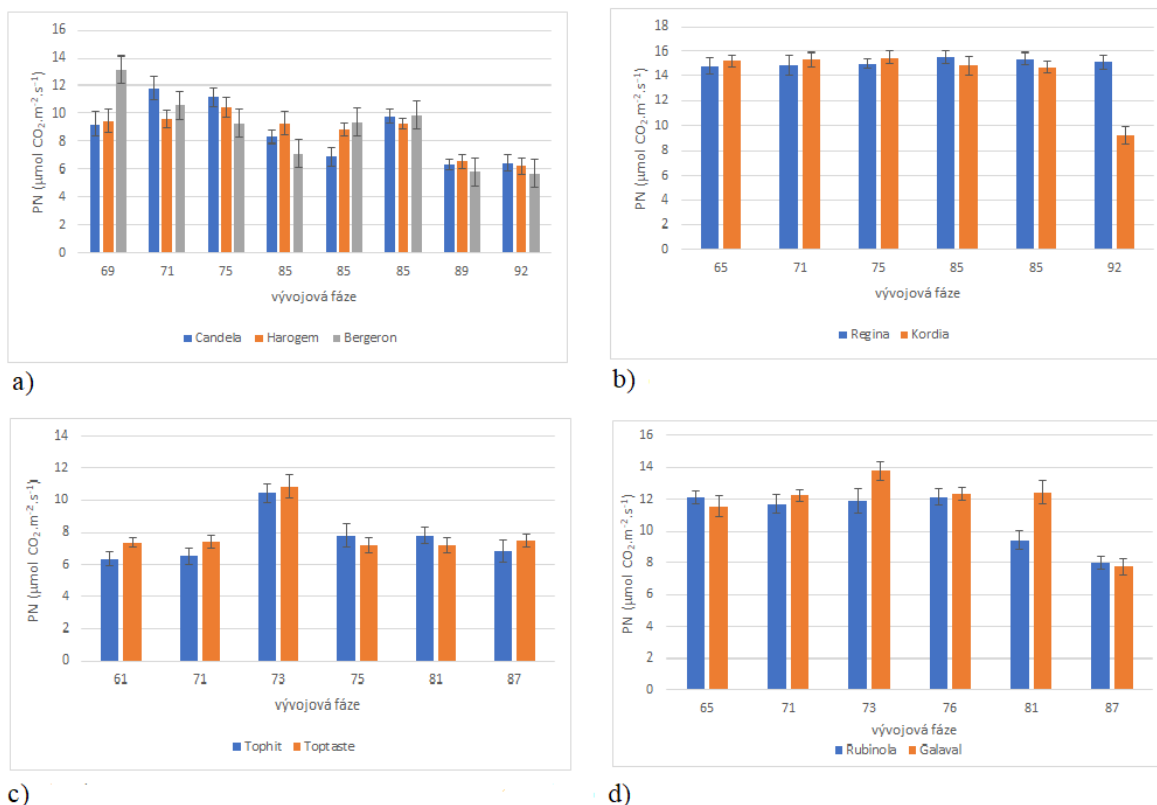
Další měřenou charakteristikou byla rychlost fotosyntézy, její změny u sledovaných druhů ovocných dřevin jsou uvedeny v obr. 2.

Ze získaných výsledků je patrné, že mezi odrůdami meruněk nebyly nalezeny průkazné diference v rychlosti fotosyntézy, jak dokládá obr. 2a. Přesto je možné konstatovat, že nejvyšší průměrnou rychlost fotosyntézy vykazovaly rostliny odrůdy Bergeron (8,86 μmol CO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>/s) a naopak nejnižší odrůda Harogem (8,72 μmol CO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>/s).

Mezi odrůdovými rozdíly byly zjištěny u třešní, kdy nižší fotosyntézu vykazovala odrůda Kordia (15,12 μmol CO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>/s) a naopak vyšší odrůda Regina (14,14 μmol CO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>/s), viz obr. 2b. Rozdíl mohl být v porovnání s loňským rokem způsoben poškozením porostu vichřicí.

Rychlost fotosyntézy u obou sledovaných odrůd měla obdobný trend v závislosti na ontogenetickém vývoji.

Rychlost fotosyntézy vybraných odrůd slivoní narůstala od fáze 61.BBCH do fáze 73.BBCH. V těchto vývojových fázích byla průměrná rychlost fotosyntézy 6,86  $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$  a 10,64  $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ . Poté je možné zaznamenat postupný pokles rychlosti fotosyntézy až do konce vegetace, kdy nižší rychlost fotosyntézy vykazovala odrůda Tophit (6,84  $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ ) a vyšší odrůda Toptaste (7,51  $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ ). V rámci sledovaného období vykazovala odrůda Tophit nižších hodnot fotosyntézy ve srovnání s odrůdou Toptaste. Přesto mezi oběma odrůdami slivoní nebyly nalezeny průkazné diference, jak dokládá obr. 2c.



Obr. 2: Rychlost fotosyntézy ( $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ ) sledovaných ovocných druhů a genotypů v závislosti na ontogenetickém vývoji. a) meruňky, b) třešně, c) slivoně a d) jabloně.

Poslední sledovanou skupinou ovocných dřevin byly jabloně. Průkazně vyšších hodnot dosahovala odrůda Galaval (11,69  $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ ) ve srovnání s odrůdou Rubinola. Odrůda Rubinola měla o 0,82  $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$  nižší rychlost fotosyntézy než odrůda Galaval, viz obr 2d.

Změny v rychlosti fotosyntézy ovocných dřevin v závislosti na ontogenetickém vývoji ve své práci uvádí např. /13,14,15/. Snížení rychlosti fotosyntézy vlivem snížení příjmu vody, v závislosti na jejím obsahu v půdě, potvrzují také /16,17,18/. Též byly potvrzeny mezidruhové rozdíly.

## ZÁVĚR

Z výsledků je patrné, že jako citlivé k vodnímu stresu, vyvolanému průběhem počasí ve vegetačním roce 2022, se jeví tyto odrůdy ovocných dřevin: Candela, Kordia, Toptaste a Rubinola. Nebyly prokázány mezidruhové rozdíly v rychlosti transpirace u slivoní a jabloní. Dále nebyly zjištěny rozdíly v rychlosti fotosyntézy mezi odrůdami meruňek. Změny v

rychlosti výměny plynů u třešní mohly být také způsobeny mechanickým poškozením (vichřice) odrůdy Regina.

## LITERATURA

- /1/ Peters, G.P., Andrew, R.M., Boden, T., Canadell, J.G., Ciais, P., Le Quéré, C., Marland, G., Raupach, M.R., Wilson, C.: The challenge to keep global warming below 2 C. *Nature Climate Change*, 2013: 3: 4-6.
- /2/ WMO, (2021). World Meteorological Organization. (Accessed: <https://public.wmo.int/en/media/press-release/new-climate-predictions-increase-likelihood-of-temporarily-reaching-15-%C2%B0c-next-5>)
- /3/ Sheffield, J., Wood, E.F.: Projected changes in drought occurrence under future global warming from multi-model, multi-scenario, IPCC AR4 simulations. *Climate Dynamics*, 2008:31: 79-105.
- /4/ Mattos, L.M., Moretti, C.L., Jan, S., Sargent, S.A., Lima, C.E.P., Fontenelle, M.R.: Climate changes and potential impacts on quality of fruit and vegetable crops. In *Emerging technologies and management of crop stress tolerance*. *Biological Techniques*, 2014: 1: 467-486.
- /5/ Raza, A., Razzaq, A., Mehmood, S.S., Zou, X., Zhang, X., Lv, Y., Xu, J.: Impact of climate change on crops adaptation and strategies to tackle its outcome: A review. *Plants*, 2019: 8 (2): 34
- /6/ Kumar, S.: Abiotic stresses and their effects on plant growth, yield and nutritional quality of agricultural produce. *International Journal of Food Science and Agriculture*, 2020: 4 (4): 367-378
- /7/ Hirayama, T., Shinozaki, K.: Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future. *The Plant Journal*, 2010: 61: 1041-1052.
- /8/ Martínez-García, P.J., Hartung, J., Pérez de los Cobos, F., Martínez-García, P., Jalili, S., Sánchez-Roldán, J.M., Rubio, M., Dicenta, F., & Martínez-Gómez, P.: Temporal response to drought stress in several prunus rootstocks and wild species. *Agronomy*, 2020: 10: 1383
- /9/ Robinson, J.C., Alberts, A.J.: Growth and yield responses of banana (cultivar "Williams") to drip irrigation under drought and normal rainfall conditions in the subtropics. *Scientia Horticulture*, 1986: 30: 187-202.
- /10/ Holá D, Benešová M, Honnerová J, Hnilička F, Rothová O, Kočová M, Hniličková 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
- /11/ Pires M.V., Almeida A.A.F., Figueiredo A.L. et al.: Photosynthetic characteristics of ornamental passion flowers grown under different light intensities. *Photosynthetica*. 2011: 49: 593-602
- /12/ Yan N., Wang X.Q., Xu X.F. et al.: Plant growth and photosynthetic performance of *Zizania latifolia* are altered by endophytic *Ustilago esculenta* infection. – *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 2013: 83: 75-83.
- /13/ Palmer, J.W. Effects of varying crop load on photosynthesis, dry-matter production and partitioning of 'Crispin'/M.27 apple trees. *Tree Physiol.* 1992: 11, 19–33.
- /14/ Palmer, J.W.; Giuliani, R.; Adams, H.M. Effect of crop load on fruiting and leaf photosynthesis of 'Braeburn'/M.26 apple trees. *Tree Physiol.* 1997: 17, 741–746.
- /15/ Wünsche, J.N.; Palmer, J.W.; Greer, D.H. Effects of crop load on fruiting and gas-exchange characteristics of 'Braeburn'/M.26 apple trees at full canopy. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 2000: 125, 93–99.
- /16/ Ding, N.; Chen, Q.; Zhu, Z.; Peng, L.; Ge, S.; Jiang, Y. Effects of crop load on distribution and utilization of <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N and fruit quality for dwarf apple trees. *Sci. Rep.* 2017: 7, 14172.
- /17/ Samuolienė, G.; Čeidaitė, A.; Sirtautas, R.; Duchovskis, P.; Kvikly, D. Effect of crop load on phytohormones, sugars, and biennial bearing in apple trees. *Biol. Plant.* 2016: 60, 394–400.
- /18/ Zhang, W.W.; Fu, X.Z.; Peng, L.Z.; Ling, L.L.; Cao, L.; Ma, X.H.; Xie, F.; Li, C. Effects of sink demand and nutrient status on leaf photosynthesis of spring-cycle shoot in 'Newhall' navel orange under natural field conditions. *Sci. Hort.* 2013: 150, 80–85.

## Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory projektu QK21010200 s názvem „Šlechtění ovocných druhů na odolnost k abiotickým vlivům v kombinaci s vysokým obsahem antioxidantů v plodech“.

## VLIV VODNÍHO DEFICITU NA FYZIOLOGICKÉ CHARAKTERISTIKY RÉVY VINNÉ

### *EFFECT OF WATER DEFICIT ON PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF VINES*

František Hnilička, Barbora Tunklová, Jan Kubeš, Tomáš Rýgl

Česká zemědělská univerzita v Praze, FAPPZ, katedra botaniky a fyziologie rostlin,  
Kamýcká 129, Praha – Suchdol 16500, hnilicka@af.czu.cz

#### *Summary*

The effect of water deficit on grapevine cuttings of Riesling, Tramin red and Pinot Noir was studied in partially controlled greenhouse experiments. The amount of irrigation water was 120 ml for control plants and the irrigation rates were 90 ml, 60 ml, 15 ml and 30 ml for the stressed variants. From the results obtained, it can be seen that the Tramin and Riesling varieties show a similar trend compared to the Pinot noir variety in the change in photosynthetic rate as a function of the duration of water deficit. A decrease in transpiration rate as a function of water deficit is observed. Of the vine varieties studied, the variety Riesling has the lowest transpiration rate compared with Tramin and Pinot Noir. There is therefore a realistic assumption that this variety manages water better than the other two varieties tested. Pinot Noir was the least sensitive to water deficit and Tramin the most sensitive.

*Key words: water deficit, photosynthesis, transpiration, genotypes, vines*

#### *Souhrn*

Vliv vodního deficitu na řízků révy vinné odrůd Ryzlink rýnský, Tramin červený a Rulandské šedé byl sledován v částečně řízených skleníkových pokusech. Množství závlivkové vody činilo u kontrolních rostlin 120 ml a v rámci stresovaných variant činila závlivková dávka 90 ml, 60 ml, 15 a 30 ml. Ze získaných výsledků je patrné, že odrůdy Tramin a Ryzlink vykazují obdobný trend ve srovnání s odrůdou Rulandské ve změně rychlosti fotosyntézy v závislosti na délce trvání vodního deficitu. Je patrný pokles rychlosti transpirace v závislosti na působení vodního deficitu. Ze sledovaných odrůd révy vinné vykazuje odrůda Ryzlink nejnižší rychlost transpirace v porovnání s odrůdami Tramin a Rulandské. Je zde tedy reálný předpoklad, že uvedená odrůda hospodaří lépe s vodou nežli dvě další testované odrůdy. Na vodní deficit nejméně citlivě reagovala odrůda Rulandské šedé a citlivě odrůda Tramin.

*Klíčová slova: réva vinná, genotypy, vodní deficit, fotosyntéza, transpirace*

## ÚVOD

Podle páté hodnotící zprávy Mezivládního panelu pro změnu klimatu (IPCC) se očekává, že se srážkové vzorce změni, s pravděpodobným častějším výskytem sucha v regionech, které jsou již suché /1/. Proto, i když dešťové srážky lokálně neklesají, vodní deficit (WD) zažívaný plodinami se pravděpodobně zvýší v důsledku vlivu teploty a relativní vlhkosti na evapotranspirace, zejména v létě /2/. Vinná réva (*Vitis vinifera* L.) se v Evropě v rámci celosvětové plochy pěstuje na 39 %.

Vlivem vodního deficitu dochází u révy vinné ke snížení její vitality a výnosu /3, 4/. Z tohoto důvodu je zapotřebí určitá adaptace budoucího vinařství. V tomto kontextu je výběr vhodného rostlinného materiálu jedním z nejučinnějších nástrojů. Proto cílem naší práce bylo vyhodnotit odezvu tří odrůd révy vinné na vodné deficit na základě měření fyziologických parametrů, kterými byly rychlost výměny plynů a vodní potenciál.

## MATERIÁL A METODY

Vliv vodního deficitu na řízky révy vinné odrůd Ryzlink rýnský, Tramín červený a Rulandské šedé byl sledován v částečně řízených skleníkových pokusech. Rostliny byly pěstovány za přirozeného světelného režimu. Teplota byla nastavena ve dne na 22 °C a v noci na 17 °C. Vlhkost vzduchu byla 66 %. Rostliny révy vinné byly pěstovány v perlitu, v nádobách o velikosti 6x6 cm. Řízky révy vinné byly získány z vinice sv. Kláry, z Botanické zahrady hl. m. Prahy. Množství závlivkové vody činilo u kontrolních rostlin 120 ml a v rámci stresovaných variant činila závlivková dávka 90 ml, 60 ml, 15 a 30 ml. Fyziologické parametry se měřily v týdenním intervalu.

U rostlin révy vinné byly měřeny fyziologické parametry rychlosti výměny plynů (rychlost transpirace a fotosyntézy) pomocí infračerveného analyzátoru plynů LCpro+ (ADC, Hoddesdon, UK), parametry fluorescence OS30p+ (ADC, Hoddesdon, UK). Dále byl hodnocen vodní režim rostlin na základě stanovení vodního sytostního deficitu a vodní potenciálu WP4C (Meter Environment, Pullman, USA) Měření uvedených fyziologických parametrů se uskutečnilo na základě metodických pokusů /5/, při zachování 3 opakování.

Statistická analýza dat se uskutečnila pomocí softwaru STATISTICA, verze 12 (StatSoft Inc.) při zachování 3 opakování a hladině významnosti  $\alpha=0,05$ .

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Ze získaných výsledků je patrné, že odrůdy Tramín a Ryzlink vykazují obdobný trend ve srovnání s odrůdou Rulandské ve změně rychlosti fotosyntézy v závislosti na délce trvání vodního deficitu. Dále je patrný pokles rychlosti fotosyntézy v závislosti na délce působení vodního deficitu, jak dokumentuje obr. 1. Podle /6,7,8/ dochází v případě vodního deficitu k uzavírání průduchů, snížení příjmu plynů a tím dochází ke snížení fotosyntézy. Tento efekt byl pozorován u všech sledovaných odrůd révy vinné pěstovaných v podmínkách vodního deficitu. Rozdíly mezi klony odrůdy Tempranillo v reakci na vodní deficit potvrzuje na vodní deficit potvrzuje např. /9, 10/.

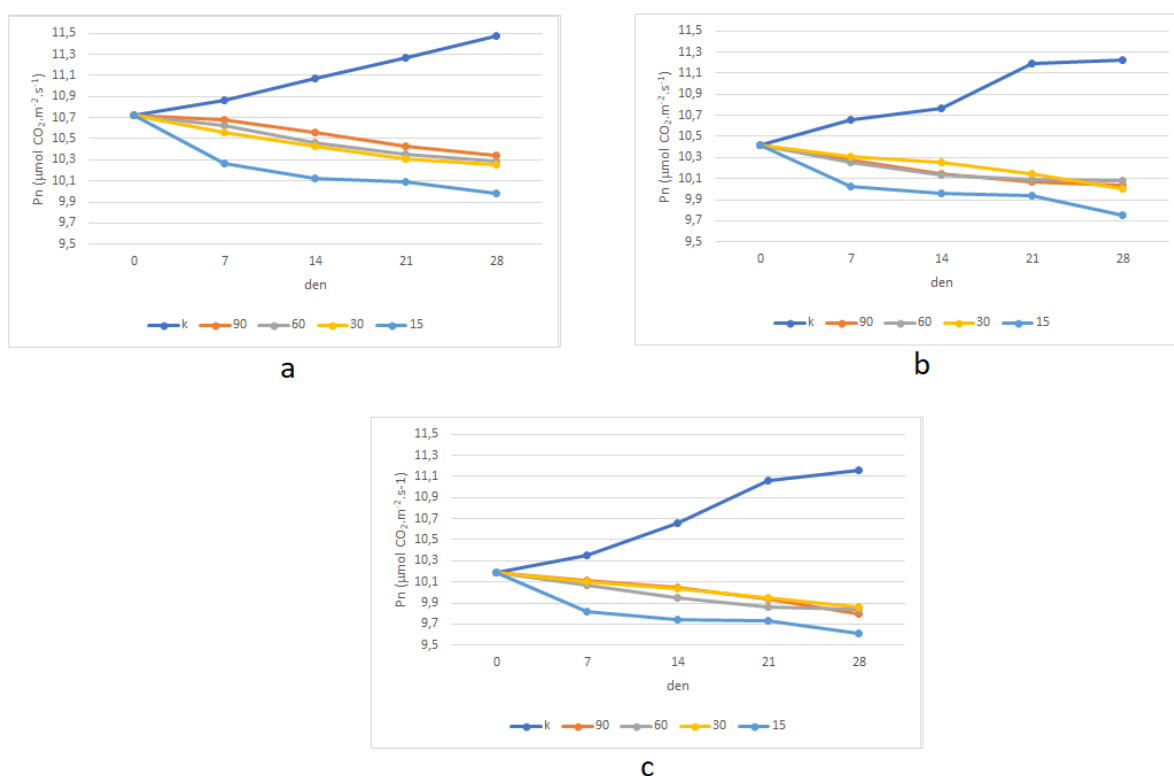
Rychlost fotosyntézy odrůdy Tramín je uvedena v grafu 1a. Z něho vyplývá, že nejvyšší rychlost fotosyntézy vykazují rostliny kontrolní a nejnižší rostliny zavlažované 15 ml vody. Mezi stresovanými variantami 90, 60 a 30 ml nebyly nalezeny průkazné rozdíly. Změny rychlosti fotosyntézy rostlin odrůdy Ryzlink jsou zaznamenány v grafu 1b. Z něho je patrný pozvolný nárůst rychlosti fotosyntézy u kontrolních rostlin, kdy nejnižší rychlost fotosyntézy byla na počátku pokusu ( $10,41 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ ) a nejvyšší na jeho konci ( $11,22 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ ). Nejnižší průměrnou rychlost fotosyntézu měly rostliny ve variantě 15 ml ( $10,02 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ ) a naopak v rámci stresovaných rostlin u varianty 30 ml ( $10,23 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ ) byla nejvyšší. Mezi variantami 90 a 60 ml nebyly nalezeny průkazné diference.

V případě odrůdy Rulandské šedé se rychlost fotosyntézy kontrolních rostlin zvyšovala po celou dobu pokusy, kdy na jeho konci činila  $11,16 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$  z hodnoty  $10,19 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ . V případě rostlin stresovaných vodním deficitem nebyly opět mezi variantami 90, 60 a 30 ml nalezeny průkazné rozdíly. Rozdíly také nebyly nalezeny mezi variantami 60 a 15 ml. Průkazně nejnižší rychlost fotosyntézy vykazovaly rostliny pěstované v podmínkách 15 ml závlivky ( $10,19 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ ), viz graf 1c.

Další měřenou charakteristikou byla rychlost transpirace. Změny rychlosti transpirace u sledovaných odrůd révy vinné jsou uvedeny v grafech 2a-2c. Z uvedených grafů vyplývá

pokles rychlosti transpirace v závislosti na působení vodního deficitu, který způsobil postupné uzavírání průduchů a pokles turgoru /7,8/. Meziodrůdové rozdíly mohou být způsobeny raností a nástupem jednotlivých fenofází, jak dokládá práce /11/.

Transpirace rostlin Tramínu je uvedena v grafu 4a. Z něho je patrný téměř lineární nárůst rychlosti transpirace u kontrolních rostlin, kdy nejnižší transpirace byla na počátku měření ( $1,50 \text{ mmol H}_2\text{O/m}^2/\text{s}$ ) a naopak nejvyšší na jeho konci ( $1,60 \text{ mmol H}_2\text{O/m}^2/\text{s}$ ). Pokles rychlosti transpirace rostlin révy vinné byl zaznamenán od 7. dne po navození stresu až do konce pokusu, přičemž rozdíly v rychlosti transpirace mezi stresovanými variantami byly zaznamenány až 21. den po navození stresu. Rozdíly byly zjištěny mezi variantami 90 a 60 ml vůči variantám 30 a 15 ml.



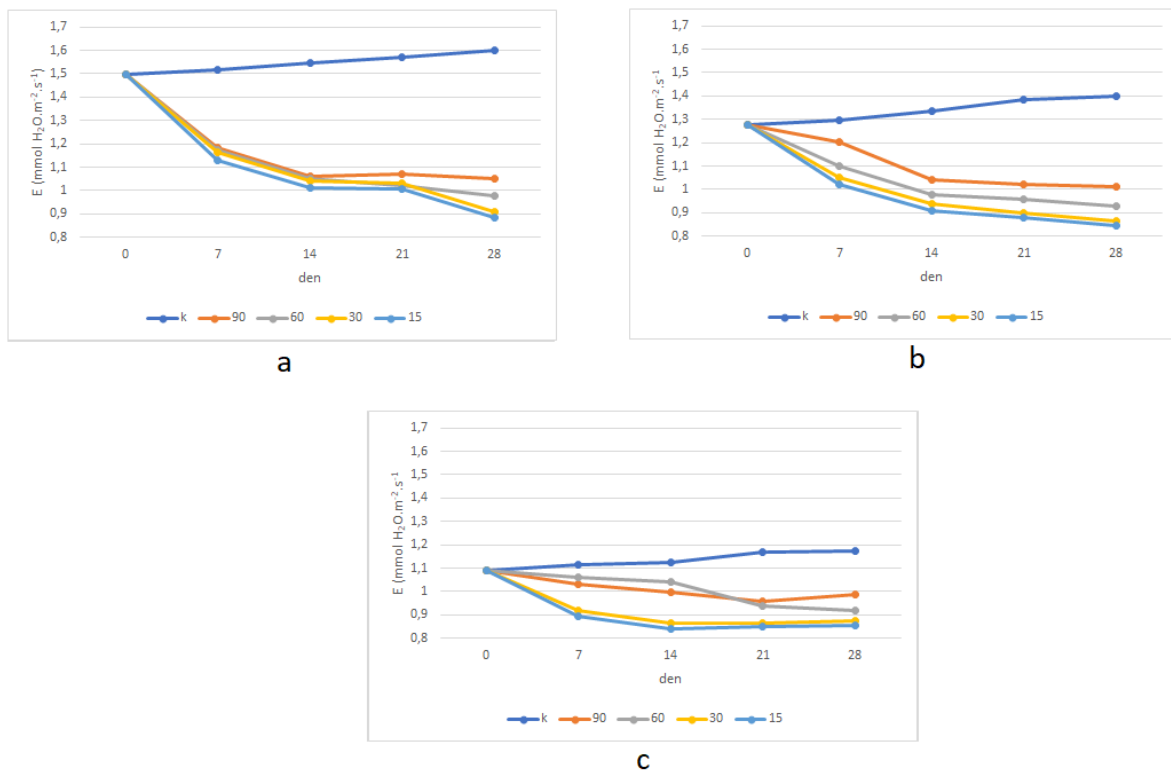
Graf 1: Změny rychlosti fotosyntézy ( $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ ) vybraných odrůd révy vinné v závislosti na působení vodního deficitu. Legenda: a) Tramín; b) Ryzlink rýnský; c) Rulandské šedé

Transpirace rostlin Tramínu je uvedena v grafu 4a. Z něho je patrný téměř lineární nárůst rychlosti transpirace u kontrolních rostlin, kdy nejnižší transpirace byla na počátku měření ( $1,50 \text{ mmol H}_2\text{O/m}^2/\text{s}$ ) a naopak nejvyšší na jeho konci ( $1,60 \text{ mmol H}_2\text{O/m}^2/\text{s}$ ). Pokles rychlosti transpirace rostlin révy vinné byl zaznamenán od 7. dne po navození stresu až do konce pokusu, přičemž rozdíly v rychlosti transpirace mezi stresovanými variantami byly zaznamenány až 21. den po navození stresu. Rozdíly byly zjištěny mezi variantami 90 a 60 ml vůči variantám 30 a 15 ml.

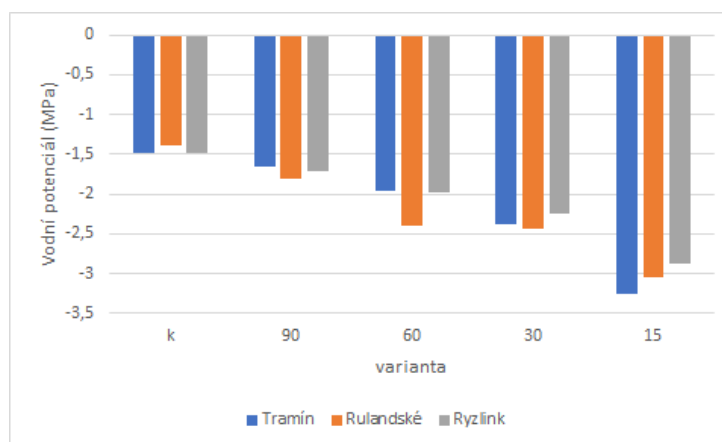
Z grafu 2b je patrné, že odrůda Rulandské dosahuje nižších hodnot transpirace v porovnání s odrůdou Tramín. Dále je patrný, vliv vodního deficitu na rostliny, neboť pokles transpirace je zaznamenán již od druhého termínu měření až do jeho konce. Opět nejnižší transpiraci vykazují rostliny z varianty 15 ml. Průměrná rychlost transpirace kontrolních rostlin byla  $1,34 \text{ mmol H}_2\text{O/m}^2/\text{s}$  a u varianty 15 ml činila  $0,84 \text{ mmol H}_2\text{O/m}^2/\text{s}$ . shodně s předcházející odrůdou Tramín byly difference nalezeny mezi stresovanými variantami 90 a 60 ml. Rozdíly nebyly zaznamenány mezi variantami s 30 a 15 ml.



Ze sledovaných odrůd révy vinné vykazuje odrůda Ryzlink nejnížší rychlost transpirace v porovnání s odrůdami Tramín a Rulandské, viz obr. 2c. Je zde tedy reálný předpoklad, že uvedená odrůda hospodáří lépe s vodou nežli dvě další testované odrůdy. Rozdíly nebyly nalezeny mezi variantami 30 a 15 ml. U těchto variant byla průměrná rychlost transpirace 0,88 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s a 0,85 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s. U rostlin kontrolních se rychlost transpirace téměř lineárně zvyšovala z hodnoty 1,09 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s na 1,17 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s. U varianty s nejnižší záhlvkou se transpirace naopak pozvolna snižovala na hodnotu 0,85 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s (5. odběr) z hodnoty 1,09 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s (1. odběr).



Graf 2: Změny rychlosti transpirace (mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s) vybraných odrůd révy vinné v závislosti na působení vodního deficitu. Legenda: a) Tramín; b) Rulandské šedé; c) Ryzlink rýnský



Graf 2: Průměrné hodnoty vodního potenciálu (MPa) vybraných odrůd révy vinné v závislosti na působení vodního deficitu.

V grafu 2 jsou uvedeny průměrné hodnoty vodního potenciálu vybraných odrůd révy vinné. Z něho vyplývá, že mezi odrůdami byly nalezeny průkazné diference, neboť na vodní deficit nejméně citlivě reagovala odrůda Rulandské šedé, i přestože se vodní potenciál snížil již od varianty 60 ml zálivky (-1,98 MPa) do varianty 15 ml (-3,04 MPa), přičemž u kontrolních rostlin byla jeho hodnota -1,40 MPa. Na straně druhé jako citlivější se jeví odrůda Tramín. U této odrůdy byla průměrná hodnota vodního potenciálu u kontrolních rostlin -1,49 MPa a u zálivky 15 ml -3,26 MPa. Rozdíly v hodnotách vodního potenciálu mezi odrůdami potvrzuje např. /12, 13/. Vlivem vodního deficitu se snižuje vodní potenciál v důsledku sníženému obsahu vody v listech /14, 15/.

## ZÁVĚR

Ze získaných výsledků je patrné, že odrůdy Tramín a Ryzlink vykazují obdobný trend ve srovnání s odrůdou Rulandské ve změně rychlosti fotosyntézy v závislosti na délce trvání vodního deficitu. Je patrný pokles rychlosti transpirace v závislosti na působení vodního deficitu. Ze sledovaných odrůd révy vinné vykazuje odrůda Ryzlink nejnižší rychlost transpirace v porovnání s odrůdami Tramín a Rulandské. Je zde tedy reálný předpoklad, že uvedená odrůda hospodářší lépe s vodou nežli dvě další testované odrůdy. Na vodní deficit nejméně citlivě reagovala odrůda Rulandské šedé a citlivě odrůda Tramín.

## LITERATURA

- /1/ Intergovernmental Panel on Climate Change (2013) Climate change 2013: the physical science basis. Contribution of working group I to the fifth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (Cambridge University Press: Cambridge, England)
- /2/ van Leeuwen, C. and Darriet, P. (2016) The impact of climate change on viticulture and wine quality. *Journal of Wine Economics* 11, 150–167.
- /3/ Salazar-Parra, C., Aguirreolea, J., Sánchez-Díaz, M., Irigoyen, J.J. and Morales, F. (2012) Photosynthetic response of Tempranillo grapevine to climate change scenarios. *Annals of Applied Biology* 161, 277–292.
- /4/ Kizildeniz, T., Mekni, I., Santesteban, H., Pascual, I., Morales, F. and Irigoyen, J.J. (2015) Effects of climate change including elevated CO<sub>2</sub> concentration, temperature and water deficit on growth, water status, and yield quality of grapevine (*Vitis vinifera* L. cultivars). *Agricultural Water Management* 159, 155–164
- /5/ 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
- /6/ Charrier, G., Delzon, S., Domec, J.-C., Zhang, L., Delmas, C.E.L., Merlin, I., Corso, D., King, A., Ojeda, H., Ollat, N., Prieto, J.A., Scholach, T., Skinner, P., van Leeuwen, C. and Gambetta, G.A. (2018) Drought will not leave your glass empty: low risk of hydraulic failure revealed by long-term drought observations in world's top wine regions. *Science Advances* 4, eaao6969.
- /7/ Flexas, J., Escalona, J.M. and Medrano, H. (1998) Down-regulation of photosynthesis by drought under field conditions in grapevine leaves. *Functional Plant Biology* 25, 893.
- /8/ Chaves, M.M., Zarrouk, O., Francisco, R., Costa, J.M., Santos, T., Regalado, A.P., Rodrigues, M.L. and Lopes, C.M. (2010) Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Annals of Botany* 105, 661–676
- /9/ Arrizabalaga-Arriazu, M., Morales, F., Irigoyen, J. J., Hilbert, G., Pascual, I. (2021). Growth and physiology of four *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo clones under future warming and water deficit regimes. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 27(3), 295-307.
- /10/ Arrizabalaga, M., Morales, F., Oyarzun, M., Delrot, S., Gomès, E., Irigoyen, J.J., Hilbert, G. and Pascual, I. (2018) Tempranillo clones differ in the response of berry sugar and anthocyanin accumulation to elevated temperature. *Plant Science* 267, 74–83
- /11/ Martínez-Lüscher, J., Kizildeniz, T., Vucetic, V., Dai, Z., Luedeling, E., van Leeuwen, C., Gomès, E., Pascual, I., Irigoyen, J.J., Morales, F. and Delrot, S. (2016) Sensitivity of grapevine phenology to water availability, temperature and CO<sub>2</sub> concentration. *Frontiers in Environmental Science* 4, 1–14.
- /12/ Greer, D.H. (2018) The short-term temperature-dependency of CO<sub>2</sub> photosynthetic responses of two *Vitis vinifera* cultivars grown in a hot climate. *Environmental and Experimental Botany* 147, 125–137.

- /13/ Galat Giorgi, E., Sadras, V.O., Keller, M. and Perez Peña, J. (2019) Interactive effects of high temperature and water deficit on Malbec grapevines. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 25, 345–356
- /14/ Tomás, M., Medrano, H., Escalona, J.M., Martorell, S., Pou, A., Ribas-Carbó, M. and Flexas, J. (2014) Variability of water use efficiency in grapevines. *Environmental and Experimental Botany* 103, 148–157.
- /15/ Bota, J., Flexas, J. and Medrano, H. (2001) Genetic variability of photosynthesis and water use in Balearic grapevine cultivars. *Annals of Applied Biology* 138, 353–361

### **Poděkování**

Uvedená práce vznikla za finanční podpory projektu NAZV: QK21010189 – Implementace ekosystémových služeb se zaměřením na vodní bilanci ve vinohradnické praxi.

## **BODNOPELV HROZNATÝ PODÉL OKRAJE SILNICE – PŘÍPADOVÁ STUDIE SELENEC**

### ***TRAGUS RACEMOSUS ALONG THE EDGE OF THE ROAD - CASE STUDY SELENEC***

Božena Šerá, Hubert Žarnovičan

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

#### ***Summary***

The occurrence of the species *Tragus racemosus* (L.) All. near Seleneč village at the interchange with the R1 highway (48°18'35.1"N, 18°08'24.5"E) has been monitored since 2021. The population is vital and fertile (approx. 130 individuals). It grows in the driest and warmest part of the strip around the road asphalt, where it occurs without the presence of other species. The population continues to grow along the road.

*Key words: highway, contaminated soil, NaCl, road*

#### ***Souhrn***

Výskyt druhu bodloplev hroznatý (*Tragus racemosus* (L.) All.) u obce Seleneč při mimoúrovňové křižovatce s rychlostní silnicí R1 (48°18'35.1"N, 18°08'24.5"E) je monitorován od roku 2021. Populace druhu je vitální a plodná (cca 130 ks). Druh roste v nejsušší a nejteplejší části pruhu kolem silničního asfaltu, kde se vyskytuje bez přítomnosti jiných druhů. Populace se rozrůstá.

*Klíčová slova: dálnice, kontaminovaná půda, NaCl, silnice*

## **ÚVOD**

Kontaminovaná půda chloridem sodným (NaCl) je následkem zimní údržby silnic. Tato půda má dopad na strukturu vegetace, její druhovou diverzitu a fyziologický stav rostlin v úzkém pruhu v těsné blízkosti u asfaltu /1,2/. Okraje silnic a dálnic jsou místa s výskytem halofytních druhů rostlin a rostlin, které nejsou senzitivní na zasolenou půdu /3/.

Při výzkumu zaměřeném na vliv silnic na okolní biotu na trvalých plochách na mimoúrovňové křižovatce u obce Seleneč (Nitrianský okres) byla nalezena populace bodloplevu hroznatého (*Tragus racemosus* (L.) All.). Tato poléhavá tráva (Poaceae) je jednoletým ruderalním druhem pocházejícím ze Středozeří. Druh osidluje nezapojené porosty na písčítých, kamenitých nebo sprašových půdách. Ve střední Evropě je neofytem, který roste na antropicky ovlivněných písčítých lokalitách, jako jsou okraje silnic a dálnic, násypy železnic, úhory, vinice nebo rumišť /4-7/.

Bodloplev hroznatý je poměrně vzácným taxonem, který se v posledních letech pravděpodobně více šíří a zasluhuje si naši pozornost. Tento příspěvek vznikl jako doklad jeho výskytu kolem dálnic.

## MATERIÁL A METODA

Na mimoúrovňové křižovatce u obce Selenec (východně města Nitra, Nitrianský okres) při rychlostní cestě R1 (parametry dálnice) byl v roce 2021 zahájen výzkum zaměřený m.j. na druhovou diverzitu rostlin. Jedna z trvalých ploch (10 × 2 m) byla vybrána tak, aby obsahovala přirozeně se vyskytující populaci bodloplevu hroznatého. Těsný okraj silnice, kde bodloplev hroznatý roste, je hrubě písčité, s mělkým profilem, s maximálním osluněním a s minimálním sklonem. Poslední monitorovací kontrola byla dne 10. 7. 2023.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Populace druhu je evidována na stanovišti od roku 2021. jedinci druhu rostlou v těsné blízkosti asfaltu, tak, že nesousedí s žádnými jinými druhy. Populace se rozšířila i mimo monitorovací obdélník; populace je vitální a fertilní, v současné době čítá cca 130 ks jedinců.

Soupis druhů vyskytujících se na trvalé ploše (48°18'35.1"N, 18°08'24.5"E) ke dni 8.10.2021: *Atriplex oblongifolia*, *Atriplex patula*, *Atriplex tatarica*, *Bassia scoparia*, *Brassica napus*, *Cardaria draba*, *Chenopodium album*, *Cichorium intybus*, *Conyza canadensis*, *Crepis foetida* subsp. *rhoeadifolia*, *Digitaria sanguinalis*, *Festuca* sp., *Geranium pusillum*, *Helminthotheca echinoides*, *Lepidium ruderales*, *Picris hieracioides*, *Plantago lanceolata*, *Polygonum aviculare*, *Portulaca oleracea*, *Setaria pumila*, *Sonchus oleraceus*, *Stenactis annua*, *Taraxacum* sect. *Ruderalia*, *Tragus racemosus*, *Tripleurospermum perforatum*.

Druh má zajímavou strategii jednoletého S-stratéga. Z toho důvodu bude v probíhajícím výzkumu sledován s ohledem na reprodukční kapacitu a na vlastnosti plodů (klíčivost semen, senzitivita vůči zasolené půdě, možnosti šíření).

## ZÁVĚR

Od roku 2021 je evidován výskyt jedné vitální plodné populace druhu bodloplev hroznatý (*Tragus racemosus*) u obce Selenec (východně od Nitry, Slovensko) při mimoúrovňové křižovatce s rychlostní silnicí R1. Druh roste v těsné blízkosti silničního asfaltu na písčitém, osluněném, výhřevném a velmi suchém místě v počtu cca 130 jedinců. Je plánován výzkum ohledně jeho způsobu reprodukce a šíření.

## 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/ erá, B.: Road-side herbaceous vegetation: Life history groups and habitat preferences. Polish Journal of Ecology 2010, 58: 69-79.
- /4/ Eliáš, P.: Tribulo-Tragetum a Hibisco-Eragrostietum na Slovensku. Biológia (Bratislava), 1982, 37: 99–101.
- /5/ Baláž, D.: *Tragus racemosus* (L.) All. na Devínskej Kobyle. Bull. Slov. Bot. Spol., Bratislava, 1995, 17: 91-92.
- /6/ Kocián, P., Ducháček, M., Kúr, P.: Bodloplev hroznatý (*Tragus racemosus*) na dálnicích České republiky. Zpráva Čes. Bot. Společ., Praha, 2018, 53: 1-9.
- /7/ Kaplan Z. et al.: Klíč ke květeně České republiky. Praha: Academia, 2019.

## Poděkování

Výzkum byl finančně podpořený dvěma projekty VEGA 1/0155/19 a VEGA 1/0217/23 a firmou GRANVIA a.s.

## TRÁVNE PORASTY A ICH TOLERANCIA A ADAPTÁCIE NA ENVIRONMENTÁLNE STRESORY

### *GRASSLANDS TOLERANCE AND ADAPTATIONS TO ENVIRONMENTAL STRESSORS*

Ján Tomaškin<sup>1</sup>, Judita Tomaškinová<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Univerzita Mateja Bela v Banskej Bystrici, FPV, katedra biológie, ekológie a životného prostredia, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica, jan.tomaskin@umb.sk

<sup>2</sup>Malta College of Arts, Science and Technology, Applied Research and Innovation Centre MCAST Resource Centre, Main Campus, Triq Kordin, Paola, PLA 9032 Malta, judita.tomaskinova@mcast.edu.mt

#### *Summary*

Grasslands and the spread of grass biomes on Earth are discussed in the introduction of the paper. The following section provides an overview of grasses' adaptations, tolerances, and resistances to a wide range of environmental stress factors.

*Key words: adaptation, environmental stress, environmental stressor, grass biome, grassland*

#### *Súhrn*

V úvode príspevku sú charakterizované trávne porasty a rozšírenie trávnych biómov na Zemi. V ďalšej časti uvádzame prehľad adaptácií, tolerancií, odolností a rezistencie trávnych porastov na širokú skupinu environmentálnych stresových faktorov.

*Kľúčové slová: adaptácia, environmentálny stres, environmentálny stresor, trávny bióm, trávny porast*

## ÚVOD

Trávne porasty (TP) sú plošne jedným z najväčších terestrických biómov na Zemi. O'Mara /11/ uvádza, že podľa odhadov pokrývajú 50 miliónov km<sup>2</sup>, alebo 37 % zemskej plochy. Existujú rôzne typy TP, v príspevku máme na mysli sekundárne TP v ktorých dominujú spoločenstvá nevysiatych rastlín a nazývame ich „poloprírodnými“ trávnymi ekosystémami. Hoci ich rastlinné spoločenstvá sú prirodzené, udržiavanie uvedených ekosystémov závisí od antropogénnych činností, ako sú režimy pastvy, kosenia prípadne vypaľovania. Na Slovensku sa v poľnohospodárskej praxi používa termín trvalé trávne porasty (TTP). Trvalé trávne porasty sú prevažne extenzívnym druhom poľnohospodárskeho pôdneho fondu. Existujú variácie v chápaní, po koľkých rokoch je územie s TP považované za „trvalý porast“, bežne sa uplatňuje hranica 5 rokov. Trávne porasty majú na rôznych kontinentoch svoje typické pomenovanie: v Euroázii sa nazývajú stepi, V Afrike savany, v Severnej Amerike prérie, v Južnej Amerike je známych pomenovaní viac, napr. pre oblasť Kolumbie, Ekvádoru a severnú časť Peru – paramos, pre južnú oblasť Peru, Bolívie a severnú časť Chile – puna, pre stredojúžnú časť Brazílie – cerrado, prípadne pantanal, pre južnú časť Brazílie, Uruguay a severovýchodnú časť Argentíny – pampas a campos, pre južnú časť Argentíny – patagónska step. Trávne porasty sa využívajú pasením alebo kosením a ich nadzemná biomasa slúži ako zdroj objemového krmiva pre herbivory domáce ale aj divo žijúce živočíšne druhy. Medzi TTP nepatria trávnaté plochy letísk, športovísk, urbánnych

a rekreačných sídiel, vojenských lokalít a ani plochy jednoročných tráv a kŕmnych plodín pestovaných na ornej pôde.

V TTP dominuje vegetácia tvorená trávnymi druhmi (čel'ad' lipnicovité – Poaceae), taktiež sú zastúpené d'atelinoviny a byliny rôznych d'alších čel'adí a bežný je aj výskyt rozptýlenej drevinovej vegetácie a stromov zaberajúce najviac 30 % plochy. Okrem produkčnej funkcie TTP zabezpečujú aj celý rad dôležitých mimoprodukčných funkcií a ekosystémových služieb (napr. ekologické, environmentálne, sociálne atd.).

## TRÁVNE PORASTY A ICH ADAPTÁCIE NA ENVIRONMENTÁLNE STRESORY

Počas niekoľko miliónov rokov trvajúcej evolúcie (uvádza sa, že trávy sa objavili na planéte pred 67 až 65 miliónmi rokmi) si TP vyvinuli viaceré efektívne adaptácie, tolerancie a rezistencie na celý rad pôsobiacich environmentálnych faktorov, resp. stresorov:

- **Adaptácia na rôznorodé klimatické podmienky** – trávne biómy sú prispôsobené na širokú valenciu ekologických a environmentálnych podmienok, vďaka čomu sa vyskytujú na všetkých kontinentoch našej planéty. V oblasti rovníka až po obratníky raka, resp. kozorožca sa vyskytujú tropické TP, severne a južne od obratníkov sú TP mierneho pásma. Ricklefs /15/ uvádza, že výskyt a vytváranie biómov formuje predovšetkým slnečná energia (vyjadrená priemernou vzdušnou teplotou) a ročný úhrn zrážok. V intervale teplôt od  $-8$  do  $20^{\circ}\text{C}$  a úhrne zrážok od 150 do 1 300 mm sa vyskytujú TP mierneho pásma a pri teplotách od  $16$  do  $30^{\circ}\text{C}$  a úhrne zrážok od 400 do 1 200 mm sa formujú savany (tropické TP). Je možné skonštatovať, že trávny bióm má intermediálne postavenie medzi lesom a púšťou.

- **Suchovzdornosť** – trávne porasty sú dobre adaptované aj na vyššie teploty vzduchu a sucho. Deficit vlhky inhibuje rast asimilujúcich orgánov - listov, dôsledkom čoho dochádza k distribúcii vytvorených asimilátov do koreňov. Tieto adaptácie na jednej strane znižujú straty vody transpiráciou, na druhej strane rozvojom koreňového systému sú schopné získať vodu aj zo značných hĺbok, čo umožňuje TP vegetovať aj v podmienkach nedostatku vody /19/. V podmienkach sucha TP vytvárajú mohutný koreňový systém (sušina koreňovej biomasy je 4 – 5 krát vyššia ako sušina nadzemnej fytohmoty z jednej kosby TP) so zásobou asimilátov a ďalších biogénnych prvkov použiteľných pre následnú regeneráciu po skončení obdobia sucha. Dôležitým hodnotiacim parametrom vplyvu sucha je pomer sušiny koreňového systému k nadzemnej fytohmote R:S (root : shoot ratio, pričom nadzemná fytohmota je pri TTP vyjadrená úrodou fytohmoty z jednej kosby). Pomer R:S je geneticky fixovaný a je mierou schopnosti vegetácie vyhnúť sa suchu /17/, resp. sa mení a citlivo reaguje aj na iné formy stresu. Vyššie hodnoty R:S indikujú väčšiu odolnosť vegetácie voči suchu. Tomaškin, Tomaškinová /19/ zaznamenali na TTP na Slovensku (výskum v rokoch 1993 až 1998) priemernú hodnotu R:S = 5,16 (nadzemná fytohmota je vyjadrená úrodou fytohmoty z jednej kosby) a bola signifikantne vyššia ako na dočasnom TP (šľachtené odrody tráv a d'atelinovín pestované 3 – 4 roky na ornej pôde), kde R:S = 4,27. Výsledky dokumentujú vyššiu ekologickú stabilitu TTP voči stresovému faktoru sucha. Možné je preto predpokladať, že TTP môžu uspokojivo znášať následky globálneho otepľovania Zeme a prispieť k stabilite poľnohospodárskej krajiny. Pomer R:S (5,16) zaznamenaný na TTP má ešte aj ďalšiu výpovednú hodnotu: jednoročné a dvojročné kultúrne rastliny majú tento pomer pod hodnotu 1, resp. blízko 1, až pri divorastúcich trvalkách (teda aj TTP), kríkoch a stromoch sa pomer zvyšuje na výrazne vyššie hodnoty.

- **Stratégia rozmnožovania** – viaceré trávne druhy majú súbežne vyvinuté obidve formy reprodukcie, sú schopné rozmnožovať sa generatívne aj vegetatívne. Trvalé trávne porasty zvyčajne preferujú nepohlavnú formu reprodukcie. S rozmnožovaním bezprostredne súvisí aj schopnosť trávnych druhov odnožovať. V priebehu odnožovania sa vytvárajú dva základné typy výhonkov: vegetatívne a generatívne. Odnožovanie je adaptácia nielen pre

úspěšnou reprodukci, ale podporuje aj konkurenčné schopnosti tráv vytvoriť dobre zapojený porast.

▪ **Evolúcia resp. vývoj C<sub>3</sub> a C<sub>4</sub> typu fotosyntézy** – metabolizmus C<sub>3</sub> rastlín je účinný najmä v miernom a chladnom podnebnom pásme. Pravdepodobne v súvislosti s poklesom množstva CO<sub>2</sub> v atmosfére sa v oligocéne približne pred 25 miliónmi rokov objavili trávy C<sub>4</sub>, ktorých metabolizmus je účinnejší pri vyšších teplotách. Vznik metabolizmu C<sub>4</sub> bol v evolúcii tráv kľúčový evolučný krok, ktorý sa odohral nezávisle niekoľkokrát a v súčasnosti je známych viac ako 5 000 druhov tráv C<sub>4</sub>. Fyziológia rastlín C<sub>4</sub> im v porovnaní s rastlinami C<sub>3</sub> poskytuje konkurenčnú výhodu ak je pomer atmosférického CO<sub>2</sub> k O<sub>2</sub> nízky. Rastliny C<sub>4</sub> sú schopné zvyšovať koncentráciu CO<sub>2</sub> v listoch a znižovať vodivosť prieduchov, čo vedie k lepšiemu hospodáreniu s vodou. Takéto adaptácie sú výhodné v horúcom prostredí s priamym slnečným ožiarením a vodným deficitom. Trávy C<sub>4</sub> sú charakteristické pre sezónne, vyprahnuté a teplé prostredie a preto sú najbežnejšími druhmi na prériách Severnej Ameriky, rozľahlých savanách Afriky a Južnej Ameriky /22/.

▪ **Koevolúcia s herbivormi** – trávne porasty sú adaptované na spásanie herbivormi, následne dokážu regenerovať a obnoviť svoju listovú plochu. Taktiež dobre znášajú ušľapávanie a mechanické zaťaženie dobytkom, resp. divo žijúcimi stádami zvierat.

▪ **Vysoká biodiverzita** – ďalšou adaptáciou TP na rôznorodé podmienky prostredia je ich vysoká biodiverzita. Botanická čeľaď tráv lipnicovité (Poaceae) patrí medzi druhovo najpočetnejšie čeľade cievnatých rastlín. Mártonfi /10/ uvádza údaj o počte rodov 650 a počet druhov 9 700. V súčasnej dobe čeľaď Poaceae zahŕňa 793 akceptovaných rodov a približne 12 000 druhov /14/. Kier et al. /7/ uvádzajú priemerné druhové bohatstvo cievnatých rastlín v trávnych biómoch. Pre tropické a subtropické TP, savany a kroviny počet 1731 druhov, pre TP mierneho pásma, stepi a kroviny 1372, pre vysokohorské TP a kroviny 1397 a pre zaplavované TP a savany 767 druhov. Aj v Českej republike sú trávy početnou rastlinnou skupinou, sú zastúpené v 64 rodoch (vrátane významných obilnín) s počtom viac ako 200 druhov /9/. Poloprírodné TP obsahujú okrem tráv aj mnoho ďalších druhov divo rastúcich rastlín. Pärtel et al. /13/ uvádzajú, že európsky rekord v počte rastlinných druhov, ktoré sa našli na lúke v Estónsku, predstavuje 76 druhov na m<sup>2</sup>. Ružičková, Kalivoda /16/ uvádzajú, že poloprírodný TP (na Slovensku) je zložený z 30 – 70 druhov cievnatých rastlín. Vysoká diverzita trávnych ekosystémov umožňuje rozšírenie rôznych druhov s rôznymi nárokmi na prostredie do rôznych oblastí sveta (kozmpolitné rozšírenie). Vďaka autoregulačným homeostatickým mechanizmom v ekosystéme, reagujú rôzne druhy TP na výkyvy vonkajších podmienok kompenzačným spôsobom tak, že ich produkčný štandard kolíše veľmi málo v porovnaní s faktormi prostredia. Vysoká funkčná diverzita je predpokladom ekologickej stability a odolnosti TP na rôzne extrémne abiotické aj biotické vplyvy.

▪ **Adaptácia na defoliáciu** – v trávnych porastoch prevládajú trvalé trávne druhy (vytrvalosť, resp. viacročnosť druhov možno tiež považovať za určitú adaptáciu na prostredie), ktoré veľmi dobre znášajú stres častej defoliácie, či už vo forme spásania, kosenia, prípadne iného poškodenia porastu. Počas vegetačnej sezóny sú prispôsobené aj opakovanému spásaniu resp. koseniu a v priaznivých podmienkach rýchlo regenerujú tvorbu novej listovej plochy. To umožňuje ich trvalé využívanie.

▪ **Eliminácia erózie** – trávne porasty si vytvorili veľmi efektívnu stratégiu na elimináciu mechanicky pôsobiaceho stresora akým je erózia. Erózia spôsobuje degradáciu až odnos pôdy, čo má bezprostredný negatívny dopad aj na vegetačnú pokrývku. Trávne druhy vyvinuli stratégiu: ich protieróznu ochranu zabezpečuje mohutne vyvinutý koreňový systém a pevná kompaktná trávna mačina, ktorá spevňuje pôdu a bráni jej odnosu. Mačinová vrstva sa podieľa na zvýšenom vsakovaní (infiltrácii) vody do pôdy. Taktiež podzemná biomasa a mačina významne obohacuje pôdu o organickú hmotu, následne sa z nej vytvára humus, čo zvyšuje schopnosť porastu a pôdy zadržiavať zrážkovú vodu, ktorá stráca povrchovú



deštrukčnú silu. Na význam mačiny a rizosféry pri plnení protieróznej funkcie poukazujú autori /8/, /5/ a mnohí ďalší. Podzemná biomasa TP je súčasťou biologickej úrody, ktorej tvorí podstatný podiel (niekedy až 50 - 70 %, na jar i 90 %). Holúbek, Jančovič /4/ konštatujú, že v pôdach, kde rastú kvalitnejšie TP sa nachádza 4,0 – 8,0 t.ha<sup>-1</sup> sušiny koreňovej hmoty, ktorá môže v extrémnych prípadoch kolísať od 1,0 do 45,0 t.ha<sup>-1</sup>. Hmotnosť koreňovej biomasy TTP na strednom Slovensku (výskum z obdobia r. 1993 až 1998) uvádzajú aj Tomaškinová, Šťastná, Tomaškin /21/ a to v intervale od 6,69 – 10,31 t.ha<sup>-1</sup>. Trávny porast znižuje účinky erózie v porovnaní s ornou pôdou asi 25 až 100-krát, jeho protierózny efekt je násobne väčší aj preto, že pôdu pokrýva celoročne. Protierózny účinok jednotlivých kultúr (rastlinnej pokrývky) je možné zoradiť nasledovne: dobre zapojený les > TTP > krmoviny > jednoročné trávy > oziminy > jariny > okopaniny. Uvedené protierózne dispozície umožňujú TP úspešne vegetovať aj v alpínskom stupni vysokých pohorí nad hornou hranicou lesa (vysokohorské TP, hole), ale aj v oblastiach morského pobrežia s piesočnými dunami, kde jemný naviaty piesok, ktorý sa takmer stále premiestňuje atakuje húževnatú trávnu vegetáciu.

▪ **Regenerácia po prírodných požiaroch** – prírodný požiar napr. v savanách je chápaný ako veľmi dôležitý a užitočný prírodný činiteľ. Oheň odstraňuje odumretú rastlinnú biomasu a likviduje semenáčky stromov. Bez ohňa by savana postupne zarastala drevinami a menila sa na lesný ekosystém.

▪ **Odolnosť proti chorobám a škodcom** – oproti kultúrnym plodinám na ornej pôde sú TP relatívne dobre odolné proti chorobám a škodcom. Na trávach sa môžu vyskytnúť hubové ochorenia (napr. plesne, hrdze), machy, lišajníky, zo škodcov sú bežné hľadavce.

▪ **Tolerancia a adaptácia na chemické látky** – problematika je veľmi rozsiahla, uvedieme len stručný komentár. Trávne druhy si vytvorili rôznorodé mechanizmy stratégií a adaptácií na kontamináciu, napr. v príjme a obsahu ťažkých kovov na základe biokoncentračného faktora (BCF) rozlišujeme tri skupiny stratégií: exklúдеры (BCF < 1), indikátory (BCF = 1), akumulátory až hyperakumulátory (BCF > 1). Z trávnych druhov medzi hyperakumulátory patrí napríklad *Agrostis stolonifera* (psinček poplázový), ktorý dokáže z pôdy odčerpať 300-krát viac arzenu, ako na tom istom stanovišti voľne rastúce iné rastliny /6/. Takéto druhy je možné využiť napr. na fytoremediáciu životného prostredia, prípadne fytoextrakciu. Tomaškin et al. /20/ hodnotili príjem a akumuláciu ťažkých kovov (Cd, Co, Cr, Pb, Zn, Mn, Cu, Fe a Ni) v systéme pôda – koreň – nadzemná fytomasa TTP na troch stanovištiach stredného Slovenska. Konštatujú, že ťažké kovy sú najviac koncentrované v koreňoch rastlín a v pôde. Výrazne nižší obsah bol stanovený v nadzemnej fytomase. Na základe biokoncentračného faktora (BCF < 1) sa TP prejavili ako exklúder všetkých hodnotených ťažkých kovov (s výnimkou Zn, pri ktorom sa TP prejavili ako akumulátor).

Táto stratégia je veľmi vhodná aj pre produkciu objemových krmív, koncentrácia ťažkých kovov je v nadzemných častiach porastu relatívne nízka a nedochádza ku kontaminácii potravinového reťazca.

▪ **Sekvestrácia uhlíka** – trávne porasty sú z terestrických ekosystémov veľmi dobre adaptované aj na vyššiu koncentráciu a obsah uhlíka v životnom prostredí. Conant /2/ uvádza, že na trávnatých plochách sa nachádza asi 20 percent celosvetových zásob uhlíka v pôde. Stypinski, Mastalerczuk /18/ konštatujú, že TP celkovou fytomasou viažu približne 9,6 t.ha<sup>-1</sup> C (z toho približne 70 % podzemná biomasa) a výraznou mierou prispievajú k zníženiu skleníkového efektu. Na TP dominuje bylinná vegetácia a uhlík sa na rozdiel od lesov ukladá predovšetkým v koreňoch a pôde. Podzemná biomasa môže siahať niekoľko metrov pod povrch a ukladať veľké množstvo uhlíka do pôdy, čo vedie k tvorbe hlbokých, úrodných pôd s vysokým obsahom organickej hmoty. Pretože produktivita rastlín na trávnatých plochách je obmedzená zrážkami, zásoby uhlíka sú najvyššie v regiónoch, kde sú zrážky najväčšie, ako je napríklad vysoká trávnatá préria vo vlhkej miernej oblasti Spojených štátov. Podobne ako

ročné teploty stúpajú, zásoby uhlíka sa na TP znižujú a to v dôsledku zvýšenej evapotranspirácie /12/.

▪ **Reakcia trávnych porastov na zmenu klímy** – extrémne poveternostné podmienky môžu vyvolať rýchlu a závažnú reakciu, ktorá zmení ekosystémy aj ľudské spoločenstvá. Čoraz vážnejšie a častejšie suchá, záplavy, požiare a hurikány pravdepodobne ovplyvnia aj trávne ekosystémy. Väčšia variabilita zrážok prispeje k častejším požiarom, čo môže znížiť zasahovanie drevín do TP. Iné rozšírené rušivé javy, ako napríklad výskyt hmyzu, môžu urýchliť premenu lesov na TP. Väčšia biodiverzita a redundancia funkčných úloh druhov v TP vytvára väčšiu stabilitu ekosystémov a je spojená s väčšou odolnosťou voči meniacim sa podmienkam. Obnova degradovaných TP môže zvýšiť odolnosť voči zmene klímy spolu s poskytnutím ochrany pred eróziou pôdy, stratou uhlíka a inými negatívnymi vplyvmi /1/. Úspešnú adaptáciu TP na zmenu klímy predpokladá aj Hebda /3/. Zmena klímy má potenciál vyvolať zmenu ekosystémov k lepšiemu ale aj horšiemu stavu (dopad na stabilitu, biodiverzitu, ďalšie funkcie). Predpokladá sa, že v dôsledku otepľovania a sucha a tým aj častejším požiarom bude dochádzať k poklesu výskytu lesných ekosystémov. Na úkor lesov sa bude rozširovať ekosystém TP ktorý bude prenikať do vyšších nadmorských výšok a zemepisných šírok. Na modelovom príklade z British Columbia (JZ Canada) konštatuje, že rastlinné druhy TP sa stanú pravdepodobne najvhodnejšie pre budúce podnebie. Jeho model dokumentuje úbytok lesov a dobrú adaptáciu TP na klimatickú zmenu globálneho oteplenia.

## ZÁVER

Trávne porasty si počas evolúcie vytvorili viaceré dômyselné a efektívne stratégie a adaptácie na zmiernenie negatívneho pôsobenia viacerých abiotických aj biotických stresorov. Ale na nadmernú exploataciu prírodných ekosystémov a zdrojov človekom, často krát až s deštruktívnym a devastačným rozsahom si trávny ekosystém (ale ani žiadny iný) adaptácie nevytvorí. Na ochranu a rozumné, udržateľné využívanie funkcií a služieb ekosystémov je potrebné predovšetkým zmeniť správanie človeka.

## LITERATÚRA

- /1/ Bagne, K., Ford, P., Reeves, M.: Grasslands and Climate Change [online]. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Climate Change Resource Center, 2012 [cit. 2023-08-02]. Dostupné na: <https://www.fs.usda.gov/ccrc/topics/grasslands-and-climate-change>
- /2/ Conant, R. T.: Challenges and opportunities for carbon sequestration in grassland systems. Vol. 9. Rome, Italy : FAO, 2010.
- /3/ Hebda, R. J.: Ancient and Future Grasslands. Climate change and insights from the fossil record and climate models. BC Grasslands, Magazine of the grasslands conservation council of British Columbia, Spring, 2007: 14–16.
- /4/ Holúbek, R., Jančovič, J.: Lúkárstvo a pasienkárstvo. Nitra : VŠP, 1995: 209
- /5/ Kacorzyk, P., Kasperczyk, M., Szkutnik, J.: The share of roots, sward and stubble biomass in biological yield of selected grass species. *Modern Phytomorphology*, 4, 2013: 79–82.
- /6/ Kaduková, J., Miškuřová, A., Štofko, M.: Využitie rastlín na stabilizáciu a čistenie pôdy a vody kontaminovanej kovmi. *Acta Montanistica Slovaca*, 2, 2006: 130–136.
- /7/ Kier, G., Mutke, J., Dinerstein, E., Ricketts, T. H., Küper, W., Krefl, H., Barthlott, W.: Global patterns of plant diversity and floristic knowledge. *Journal of Biogeography*, 7, 2005: 1107–1116.
- /8/ Krajčovič, V.: Produkčné a mimoprodukčné zmeny v trávnych ekosystémoch pri rôznej intenzite hnojenia. Teória a prax v odvetví lúkarstva, pasienkárstva a trávnych porastov : Zborník prednášok z konferencie ÚLP. Banská Bystrica : ÚLP, 1987: 225–234.
- /9/ Kubát, K. (ed.): Klíč ke květeně České republiky. Praha : Academia, 2002: 928
- /10/ Mártonfi, P.: Systematika cievnatých rastlín. Košice: Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, 2006: 220
- /11/ O'Mara, F. P.: The role of grasslands in food security and climate change. *Annals of botany*, 6, 2012: 1263–1270.
- /12/ Ontl, T., Janowiak, M.: Grassland and Carbon Management. [online]. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Climate Change Resource Center, 2017, [cit. 2023-08-02]. Dostupné na: <https://www.fs.usda.gov/ccrc/topics/grassland-carbon-management>

- /13/ Pärtel, M., Bruun, H. H, Sammul, M.: Biodiversity in temperate European grasslands: origin and conservation. *Grassland science in Europe*, 10.1, 2005: 14
- /14/ Plants of the World Online: [online]. 2023, [cit. 2023-08-02]. Dostupné na: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30000032-2>
- /15/ Ricklefs, R. E.: *The Economy of Nature*. Publisher : W. H. Freeman, 2000: 550
- /16/ Ružičková, H., Kalivoda, H.: *Kvetnaté lúky prírodné bohatstvo Slovenska*. Bratislava : VEDA Vydavateľstvo Slovenskej akadémie vied, 2007: 133
- /17/ Rychnovská, M., Balátová-Tuláčková, E., Úlehlová, B., Pelikán, J.: *Ekologie lučných porostů*. Praha : Academia, 1985: 291
- /18/ Stypinski, P., Mastalerczuk, G.: Carbon sequestration by polish grassland biomass. *Grassland Science in Europe*, 11, Sustainable Grassland Productivity, Proceedings of the 21<sup>st</sup> General Meeting of the European Grassland Federation Badajoz, Spain, 2006: 763–765
- /19/ Tomaškin, J., Tomaškinová, J.: *Produkčné a ekologické funkcie trávnych ekosystémov v poľnohospodárskej krajine*. Banská Bystrica : Vydavateľstvo Univerzity Mateja Bela - Belianum, 2018: 93
- /20/ Tomaškin, J., Tomaškinová, J., Kmeťová, J., Drimal, M.: The concentration of heavy metals in grassland ecosystems of the Central Slovakia national parks. *Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences*, 4, 2013: 35–40.
- /21/ Tomaškinová, J., Šťastná, M., Tomaškin, J.: *Produkčné, ekologické a environmentálne funkcie trávnych porastov v agrárnej krajine*. Banská Bystrica : Belianum. Vydavateľstvo Univerzity Mateja Bela v Banskej Bystrici, 2018: 135
- /22/ Trávnaté biómy: [online]. 2022, [cit. 2023-08-02].  
Dostupné na: <https://www.ekologiauk.sk/wpcontent/uploads/2022/01/Tr%C3%A1vnat%C3%A9%20spolo%C4%8Denstv%C3%A1.pdf>

### PodĎakovanie

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory vedeckého projektu VEGA č. 1/0220/23: Biodostupnosť potenciálne toxických prvkov na opustených Cu-ložiskách.

**STUDIUM FYTOTOXICITY BIOUHLU Z POMERANČOVÉ KŮRY  
(*CITRUS SINENSIS*) NA KLÍČENÍ SEMEN ŘEŘICHY SETÉ  
(*LEPIDIUM SATIVUM L.*)**

***STUDY OF PHYTOTOXICITY OF ORANGE PEEL BIOCHAR (*CITRUS SINENSIS*) ON  
SEED GERMINATION OF GARDEN CRESS (*LEPIDIUM SATIVUM L.*)***

Barbora Tunklová<sup>1,2</sup>, Jan Velebil<sup>2</sup>, Jan Malat'ák<sup>2</sup>, František Hnilička<sup>1</sup>

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

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

***Summary***

Currently, orange peel is still disposed of as a valueless waste. However, it can be processed and further used. In our experiment, orange peel was first treated by slow pyrolysis to biochar. For each biochar sample, the phytotoxicity of the leachate was tested using the cress test. And the total phenolic content, flavonoids and total antioxidant activity were also determined. The original sample and the sample treated at 250 °C were the most toxic. Of all the samples tested, the one treated at 350 °C performed best. This material be applied to soil.

*Key words: orange peel, biochar, phytotoxicity, waste, garden cress*

***Souhrn***

V současné době se pomerančová kůra stále likviduje jako bezcenný odpad. Přitom jí lze dále zpracovat a využít. V našem experimentu byla pomerančová kůra nejprve upravena pomalou pyrolýzou na biouhel. U každého vzorku biouhlu byla testována fytotoxicita výluhů pomocí řeřichového testu. A dále byl stanoven celkový obsah fenolů, flavonoidů a celková antioxidační aktivita. Nejvíce toxický byl původní vzorek a vzorek upravený při 250 °C. Ze všech testovaných vzorků dopal nejlépe vzorek upravený při teplotě 350 °C. Tento materiál by bylo možné aplikovat do půdy.

*Klíčová slova: pomerančová kůra, biouhel, fytotoxicita, odpad, řeřicha setá*

**ÚVOD**

Světová produkce citrusových plodů se odhaduje na více než 88 milionů tun ročně. Hlavní ovoce v této skupině tvoří pomeranče, mandarinky, grapefruity, limetky a citrony. Téměř polovina těchto plodů je vymačkána na džusy, čímž vznikne zbytek tvořený slupkami, segmentovými membránami a dalšími vedlejšími produkty, které jsou považovány za citrusový odpad. Nejčastější nakládání s citrusovým odpadem je anaerobní digesce, spalování, zplyňování, kompostování, vermikompostování nebo pyrolýza /1,2/. Nicméně i nadále je velká část citrusového odpadu ukládána na skládkách. Zároveň tímto nešetrným zacházením

dochází k velkým ztrátám cenných látek, které tento materiál obsahuje. Citrusový odpad, který z velké části tvoří pomeranče je bohatý na cukry, celulózu, pektin, hemicelulózu a další cenné látky /3/.

Proto se pomerančová kůra jeví jako další vhodný materiál, který lze dále využít a získat a vyrobit tak materiál s přidanou hodnotou.

Výroba biouhlu z odpadu, tedy i pomerančové kůry, je jedním z přístupů k jeho materiálovému využití a potenciálně i zmírnění změn klimatu, resp. snížení produkce skleníkových plynů. Dle Evropského biouhelného certifikátu /4/ je biouhel pórovitý uhlíkatý materiál, který vznikl pyrolýzou rostlinné biomasy, přičemž produkt je dále využíván jinak než jako palivo. Biouhel se vyrábí z biomasy pyrolýzou při širokém teplotním rozmezí 200 až 700 °C bez přístupu vzduchu /5/. Jedná se o materiál, s vysokým obsahem uhlíku (5-95 %). Obecně lze konstatovat, že čím je teplota pyrolýzy nižší, tím více uhlíku se z biomasy zachová. Zároveň je nutné si uvědomit, že výroba biouhlu je výhodná pouze tehdy, jestliže pyrolýza probíhá za nízkých teplot a při nízké koncentraci kyslíku /6/. Biouhel má všestranné využití a mnoho výhod; je šetrný k životnímu prostředí, není drahý a lze jej vyrábět z většiny zdrojů biomasy. Při náhradě jiných materiálových zdrojů může přispět ke snížení emisí CO<sub>2</sub>. Lze jej použít i jako půdní aditivum, neboť díky své struktuře dokáže dobře vázat a zadržovat vodu v půdě. Zároveň umožňuje její lepší provzdušňování, podporuje mikrobiální aktivitu a transfer živin /7,8/. Případným rizikem, které biouhel pro rostliny představuje je jeho možná toxicita.

## MATERIÁL A METODA

V experimentu byl použit materiál rostlinného původu – pomerančová kůra. Kůra byla nejprve upravena pomalou pyrolýzou za pěti různých teplot - 250 °C; 300 °C; 350 °C; 450 °C a 550 °C na Technické fakultě ČZU v termogravimetrickém analyzátoru LECO TGA 701.

U vyrobených biohlů byla nejprve otestována fytotoxicita na základě tzv. řeřichového testu. Nejprve byly z původního materiálu a biohlů podle metodiky /9/ připraveny vodní výluhy.

Semena řeřichy seté (*Lepidium sativum* L.) (Sonnentor s.r.o, Čajkovice) byla vyseta do plastových vertikálních nádob Phytotoxkit® (MicroBioTests Inc., Belgie) na buničinu a filtrační papír, který byl namočený 20 ml příslušného výluhu. Pro kontrolní variantu byla použita destilovaná voda. Destičky byly ponechány klíčit 72 hodin v termostatu ve tmě při teplotě 25 ± 1 °C. Po 72 hodinách byla změřena délka kořínku a hypokotylu. Semeno bylo považováno fyziologicky za vyklíčené, pokud byl kořínek delší než 2 mm.

Index klíčivosti, který je ukazatelem toxicity byl vypočítán pomocí následujícího vzorce:

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

$k_v$  – klíčivost vzorku

$k_k$  – klíčivost kontroly

$l_v$  – průměrná délka kořínku vzorku (mm)

$l_k$  – průměrná délka kořínku kontroly (mm)

Dále byl stanoven obsah fenolů, flavonoidů a celková antioxidační aktivita podle následujících metodik /10,11,12/.

K vyhodnocení výsledků byla použita analýza rozptylu ANOVA a Tukeyho test, pomocí programu STATISTICA 14.0 CZ na hladině významnosti 0,05.

### VÝSLEDKY A DISKUSE

Naměřené parametry vodných výluhu z pomerančové kůry jsou uvedeny v Tab. 1. Jak původní vzorek pomerančové kůry, tak vzorek upravený při 250 °C inhiboval klíčení testovaných semen. Hlavním důvodem je pravděpodobně přítomnost limonenu a dalších organických látek, které se v pomerančové kůře vyskytují a byly vyluhované do extraktů /13/. Negativní účinky limonenu popisuje i práce /14,15/. S rostoucí teplotou pyrolýzy se míra fytotoxicity snížila. Při vyšších teplotách lze očekávat degradaci silic a dalších látek. Nejlepší výsledky byly dosaženy u varianty upravené při 350 °C. Z tohoto testu je zřejmé, že zkoumané vzorky pyrolýzované při teplotách 300–550 °C by bylo možné aplikovat do půdy jako půdní doplněk. Lze říci, že pro možnou aplikaci do půdy je potřeba, aby index klíčivosti byl minimálně 50 % jak doporučuje práce /9/. Dalšími sledovanými parametry byla průměrná délka kořínku a hypokotylu. Nejdelší kořínek i hypokotyl byl zjištěn u varianty 350 °C 60,2 a 29,2 mm.

Tab. 1: Vliv fytotoxicity vodných extraktů z pomerančové kůry na klíčení semen *Lepidium sativum* L.

Vzorky pomerančové kůry	Teplota pyrolýzy (°C)	Index klíčivosti (%)	Průměrná délka kořínku (mm)	Průměrná délka hypokotylu (mm)
Kontrola - Destilovaná voda	-	100 ± 4,75 e	49,89 ± 2,36de	18,98 ± 0,85b
Původní vzorek	-	0	0	0
250°C	250°C	2 ± 1,33a	6,52 ± 2,23a	1,79 ± 0,03a
300°C	300°C	57 ± 0,58b	28,3 ± 0,99b	12,91 ± 0,27e
350°C	350°C	122 ± 11,46e	60,16 ± 3,17e	29,19 ± 1,75d
450°C	450°C	89 ± 9,78cd	43,89 ± 0,19cd	25,17 ± 0,02cd
550°C	550°C	69 ± 6,64bc	34,25 ± 3,58bc	20,28 ± 2,23bc

Hodnoty celkových obsahů flavonoidů, fenolů a celková antioxidační aktivity jsou uvedeny v Tab. 2. Nevyšší obsahy těchto sekundárních metabolitů byl naměřen vždy u původního vzorku pomerančové kůry. Se zvyšující se teplotou pyrolýzy docházelo ke snižování obsahu těchto metabolitů, které se vlivem rostoucí teploty rozkládají.

Tab. 2: Celkový obsah flavonoidů, fenolů a celková antioxidační aktivita metanolového extraktu z pomerančové kůry.

Vzorky pomerančové kůry	Teplota pyrolýzy (°C)	Flavonoidy QE mg. g <sup>-1</sup> DW	Fenoly GAE mg. g <sup>-1</sup> DW	Celková antioxidační aktivita AAE mg. g <sup>-1</sup> DW
Původní vzorek	-	90,05 ± 3,4c	53,84 ± 0,69d	27,58 ± 0,05g
250 °C	250 °C	8,07 ± 0,04b	4,77 ± 0,08c	6,32 ± 0,09f
300 °C	300 °C	3,52 ± 0,05ab	2,22 ± 0,03b	2,87 ± 0,02e
350 °C	350 °C	1,34 ± 0,02a	0,57 ± 0,01a	1,12 ± 0,04d
450 °C	450 °C	1,17 ± 0,07a	0,24 ± 0,01a	0,64 ± 0,06c
550 °C	550 °C	0,32 ± 0,01a	0,05 ± 0,01a	0,39 ± 0,02b

## ZÁVĚR

Z výsledků testu fytotoxicity jsou původní vzorky pomerančové kůry a vzorky pyrolýzované při 250 °C toxické a nevhodné pro půdní aplikaci k rostlinám Tepelnou úpravou při vyšších teplotách dochází dle výsledků testů k rozkladu a úniku fytotoxických látek, které

se v původním materiálu přirozeně vyskytují a mají negativní vliv na klíčení. Nejlépe se ze všech sledovaných parametrů projevil vzorek upravený při teplotě 350 °C, který by bylo možné aplikovat do půdy jako půdní doplněk. Nicméně aby materiál mohl být aplikovatelný do půdy je potřeba aby současně splňoval další legislativní kritéria.

## LITERATURA

- /1/ Pourbafrani, M. et al., 2010. Production of biofuels, limonene and pectin from citrus wastes. *Bioresource Technology*, 101(11), 4246-4250.
- /2/ Sharma, K. et al., 2017. Converting citrus wastes into value-added products: Economic and environmentally friendly approaches. *Nutrition*, 34, pp.29-46.
- /3/ Ayala, J.R. et al. 2021. "Characterization of Orange Peel Waste and Valorization to Obtain Reducing Sugars." *Molecules* 26.
- /4/ European Biochar Certificate - Guidelines for a Sustainable Production of Biochar. [online]. Arbaz, Switzerland, [cit. 2023-08-13]. Dostupné z: <https://www.european-biochar.org/en>
- /5/ Mayson, S., and Williams, I.D. 2021. Applying a circular economy approach to valorize spent coffee grounds. *Resources, Conservation and Recycling* 172.
- /6/ Malaťák J, Kic P, Skanderova K. 2015. Energetic use of solid products of pyrolysis technology. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal* 2015, 208–217.
- /7/ 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.
- /8/ Dragone, G, Kerssemakers A.A, Mussatto, S.I. 2020. Innovation and strategic orientations for the development of advanced biorefineries. *Bioresource Technology*.
- /9/ Hejátková K, et.al. 2007. Kompostování přebytečné travní biomasy: metodická pomůcka. ZERA - Zemědělská a ekologická regionální agentura.
- /10/ Tsantili, E. Quality Attributes and Their Relations in Fresh Black Ripe 'Kalamon' Olives (*Olea Europaea* L.) for Table Use – Phenolic Compounds and Total Antioxidant Capacity. *Int J Food Sci Technol* 2014, 49, 657–665.
- /11/ Chang, C.C.; Yang, M.H.; Wen, H.M.; Chern, J.C. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colometric Methods. *J Food Drug Anal* 2002, 10, 3.
- /12/ Prieto, P.; Pineda, M.; Aguilar, M. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Anal Biochem* 1999, 269, 337–341.
- /13/ Omoba, O. S., Obafaye, R. O., Salawu, S. O., Boligon, A. A., & Athayde, M. L. (2015). HPLC-DAD phenolic characterization and antioxidant activities of ripe and unripe sweet orange peels. *Antioxidants*, 4(3), 498–512.
- /14/ Abraham, D., Braguini, W. L., Kelmer-Bracht, A. M., & Ishii-Iwamoto, E. L. (2000). Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth, and mitochondrial respiration of maize. *Journal of chemical ecology*, 26, 611-624.
- /15/ Nawanopparatsakul, S., Phuagphong, P., & Kitcharoen, N. (2012). Effect of the citrus extractions on plant growth inhibition by lettuce (*Lactuca sativa* L.) seed germination and seedling length bioassay. *J. Pharm. Biomed. Sci.*, 22(25).

## Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory výzkumného záměru GA 2023:31170/1312/3109.

## MARKÉRY RETROTRANSPÓZÓNŮ V HODNOTENÍ ZMIEN POLYMORFIZMU POD STRESOM ŤAŽKÝCH KOVOV

### ***RETROTRANSPONSON MARKERS IN ANALYSIS OF POLYMORPHISM UNDER THE HEAVY METALS STRESS***

Silvia Farkasová<sup>1</sup>, Jana Žiarovská\*<sup>2</sup>, Dagmar Moravčíková<sup>2</sup>, Andrea Hricová<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Výskumné centrum AgroBioTech, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

<sup>2</sup> Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FAPZ, Ústav rastlinných a environmentálnych vied, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra; \* jana.ziarovska@uniag.sk

<sup>3</sup> Slovenská akadémia vied, CBRB, ÚGBR, Akademická 969, 949 01 Nitra

#### ***Summary***

In this study, the effectiveness and application potential of the iPBS (Inter Primer Binding Sites Polymorphism) technique was evaluated in the analysis of length polymorphism changes between retrotransposons for plants of the amaranth Pribina variety growing in an environment conditions of abiotic stress. The plant material was obtained from the roots of the plants. The plants were grown in the hydroponic mode of Hoagland's media in variants of control plants and plants with the addition of Pb, Zn or Mn in the medium. The iPBS primers used (1854, 1867, 1868) provide specific and stable profiles, and in all three, differences in the amplified profiles between the control plants and individual variants of plants growing under heavy metal load stress were noted.

*Key words: amaranth, Amaranthus cruentus, iPBS, heavy metals*

#### ***Súhrn***

V štúdiu bola hodnotená efektivita a aplikačný potenciál iPBS (Inter Primer Binding Sites Polymorphism) techniky pri analýze zmien dĺžkového polymorfizmu medzi retrotranspozónmi v prípade rastlín ľaskavca odrody Pribina rastúcich v prostredí abiotického stresu. Rastlinný materiál bol tvorený koreňmi ľaskavca metlinatého. Rastliny ľaskavca boli dopestované v hydroponickom režime Hoaglandových médií vo variantoch kontrolné rastliny a rastliny s prídavkom Pb, Zn alebo Mn v médiu. Použité iPBS prajmery (1854, 1867, 1868) poskytli špecifické a stabilné profily, pričom vo všetkých troch boli zaznamenané odlišnosti v amplifikovaných profilech medzi kontrolnými rastlinami a jednotlivými variantami rastlín rastúcich pod záťažou stresu prítomnosti ťažkých kovov v médiu.

*Kľúčové slová: ľaskavec, Amaranthus cruentus, iPBS, ťažké kovy*

## ÚVOD



Kovy a metaloidy sa vplyvom antropogénnej činnosti stali významným kontaminantom pôd. Ako najvýznamnejšie činnosti majúce na tomto podiel sú uvádzané industrializácia, urbanizácia, baníctvo a postupy poľnohospodárstva spojené s aplikáciou hnojív a pesticídov /1,2/. Jednotlivé kovy majú vo vzťahu k rastlinám rôzne pôsobenie. Neesenciálne kovy jako kadmium, olovo, ortuť alebo arzén sú pre rastliny veľmi nebezpečné, nakoľko nevykazujú žiadne fyziologické alebo biochemické funkcie a ich akumulácia je spojená s poškodzovaním jednotlivých štruktúr. Esenciálne kovy sú v nízkych fyziologických koncentráciách prospešné, pri vysokých dávkach však tiež nežiadúce /3/. Odpoveď rastlín na pôsobenie ťažkých kovov je komplexná a zahŕňa viaceré deje na úrovni fyziologických, genetických, transkriptomických a epigenetických mechanizmov /4/. Dôležité pokroky v charakteristike genetických mechanizmov spojených s toleranciou ťažkých kovov a najmä popis molekulárnych dráh zapojených do reakcií rastlín na toxicitu boli v poslednom desaťročí publikované napríklad pre Al. Existuje viacero štúdií zameraných na genetické mapovanie a identifikáciu QTL alebo up/down-reguláciu génov zapojených do odpovede na stres spôsobený Al /5,6/. Ďalšou oblasťou pôsobenia ťažkých kovov sú zmeny spojené s metyláciou DNA. Metylácia DNA je mechanizmus naväzovania sa metylových skupín na DNA, ktorý zohráva významnú úlohu v expresii individuálnych génov a aktivite transponovateľných prvkov, pseudogénov a repetitívnych sekvencií /7-9/. DNA metylácia tak prispieva k aktivácii odpovede rastlín na podmienky tohoto abiotického stresu /10,11/.

V prípade *Amaranthus* spp. bolo realizovaných viacero štúdií zameraných na špecifiká rastu, transportovateľnosť a akumuláciu kovov ako aj schopnosť ich odstraňovania /12-14/. Možnosti markérovania zmien na DNA vo vzťahu k polymorfizmu spôsobených vplyvom ťažkých kovov pre laskavec však známe nie sú. V tejto štúdii bola na mapovanie zmien v druhu *Amaranthus cruentus* odrody Pribina rastúcej pod záťažou ťažkých kovov v rastovom médiu použitá metóda iPBS, ktorá mapuje polymorfizmus medzi miestami naväzovania sa primérov na PBS retrotranspozónov /15/.

## MATERIÁL A METÓDY

Rastlinný materiál bol tvorený korenkami laskavca metlinatého odrody Pribina. Rastliny laskavca boli dopestované v hydroponickom režime Hoaglandových médií. Do analýz boli použité biologické triplikáty vo variantách – kontrolné rastliny, rastliny s prídavkom Pb v médiu s koncentráciou 200 ng/L, rastliny s prídavkom Zn v médiu s koncentráciou 150 ng/L a rastliny s prídavkom Mn v médiu s koncentráciou 300 ng/L.

Izolácia DNA bola realizovaná pomocou extrakčného kitu GeneJet Plant Genomic Purification Kit podľa protokolu výrobcu. Analýza zmien dĺžkového polymorfizmu bola realizovaná použitím iPBS techniky /15/ pomocou troch primérov: 1854 (5'gcatcagcctggaccagtctctctcc3'), 1867 (5'tcgaacttgatccgctgctgcca3') a 1868 (5'cacttcaaattttggcagcagcgatc3'). PCR reakcie boli realizované v 10 µl objeme s použitím DreamTaq Green PCR Master Mix (2X) (ThermoScientific). Časovo teplotný profil reakcií bol nasledovný: 95 °C – 3 min, 35 cyklov 95 °C – 30 s, 55 °C – 40 s, 72 °C – 2 min and finálnych 72 °C – 5 min. Separácia amplikónov bola uskutočnená v 3% AGE.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Použité iPBS prajmery poskytli špecifické a stabilné profily, pričom vo všetkých troch boli zaznamenané odlišnosti v amplifikovaných profilech medzi kontrolnými rastlinami a jednotlivými variantami rastlín rastúcich pod záťažou stresu prítomnosti ťažkých kovov v médiu. Rozdiely v profilech kontrolných a ovplyvnených rastlín boli charakterizované variabilitou v intenzite amplikónov, deléciách a inzerciach amplikónov (tabuľka 1).

V prípade prajmera 1854 boli v kontrolnej skupine získané amplikóny v dĺžkovom rozpätí 200 bp – 970 bp. Prítomnosť olova v médiu pri analýze prajmerom 1854 poskytla monomorfný profil všetkých troch biologických opakovaní pre Pb a Zn. V prípade Mn bola medzi biologickými triplikátmi zaznamenaná variabilita získaných amplikónov. Prajmerom 1867 boli v kontrolnej skupine syntetizované amplikóny v rozpätí 180 bp – 980 bp a v prípade prítomnosti ani jedného z analyzovaných ťažkých kovov nebol iPBS profil triplikátov monomorfný. V prípade použitia prajmera 1868 bola zaznamenaná najvyššia zhoda medzi amplifikovanými profilmi kontrolnej skupiny a skupiny rastlín rastúcich v médiách pod záťažou ťažkých kovov, kde bol vo všetkých ovplyvnených variantách amplifikovaný fragment s dĺžkou 850 bp. Pri tomto prajmeri sa však vždy pri jednom z trojice biologických opakovaní vyskytol jedinečný fragment s dĺžkou 700 bp (Pb), 750 bp (Zn) a 720 bp (Mn).

Tab. 1. Charakteristika zmien v iPBS profilech použitých prajmerov v porovnaní s kontrolnými rastlinami

prajmer	Rozpätie amplikónov v kontrole	Delécie (+) / inzercie (-) amplikónov	Pb	Zn	Mn
1854	200 bp – 970 bp	+	350 bp	720 bp	330 bp, 970 bp
		-	320 bp, 880bp	x	x
1867	180 bp – 980 bp	+	870 bp	900 bp	800 bp, 820 bp, 890 bp
		-	260 bp, 280 bp, 810 bp	260 bp	260 bp
1868	100 bp – 900 bp	+	150 bp, 700 bp	150 bp, 450 bp, 750 bp	180 bp, 430 bp, 720 bp
		-	100 bp	100 bp	100 bp

V prípade prajmera 1854 boli v kontrolnej skupine získané amplikóny v dĺžkovom rozpätí 200 bp – 970 bp. Prítomnosť olova v médiu pri analýze prajmerom 1854 poskytla monomorfný profil všetkých troch biologických opakovaní pre Pb a Zn. V prípade Mn bola medzi biologickými triplikátmi zaznamenaná variabilita získaných amplikónov. Prajmerom 1867 boli v kontrolnej skupine syntetizované amplikóny v rozpätí 180 bp – 980 bp a v prípade prítomnosti ani jedného z analyzovaných ťažkých kovov nebol iPBS profil triplikátov monomorfný. V prípade použitia prajmera 1868 bola zaznamenaná najvyššia zhoda medzi amplifikovanými profilmi kontrolnej skupiny a skupiny rastlín rastúcich v médiách pod záťažou ťažkých kovov, kde bol vo všetkých ovplyvnených variantách amplifikovaný fragment s dĺžkou 850 bp. Pri tomto prajmeri sa však vždy pri jednom z trojice biologických opakovaní vyskytol jedinečný fragment s dĺžkou 700 bp (Pb), 750 bp (Zn) a 720 bp (Mn).

iPBS technika bola doteraz úspešne aplikovaná pri rôznych rastlinných a mikrobiálnych druhoch a tieto markéry je možné použiť ako pre účely izolácie LTR retrotranspozónov, tak aj k analýzám reprodukovateľných, efektívnych a univerzálne aplikovateľných DNA profilov /16, 17/. Konkrétne použitie tejto metódy pri laskavci bolo realizované a overené pre bezizolačný prístup amplifikácie DNA pomocou PCR /18/. Použitie tejto techniky pre markérovanie zmien rastlinných genómov pod stresom prítomnosti kovov však zatiaľ publikované nebolo, aj keď sú štúdie používajúce iné typy DNA markérov /19/. Reakcia genómu laskavca na kadmium bola analyzovaná PBA markérmí /20/ a táto technika sa ukázala ako efektívna pri analýzách polymorfizmu generovaného v prípade rastu rastlín pod stresom prítomnosti ťažkého kovu v rastovom médiu.

## ZÁVER

Analýza iPBS profilov laskavca rastúceho pod vplyvom prítomnosti ťažkých kovov v rastovom médiu preukázala ich schopnosť zaznamenania zmien na úrovni celogenómového polymorfizmu s rôznym stupňom polymorfizmu v závislosti od použitého markéra.

## LITERATURA

- /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/ Gallo-Franco, J. et al.: Epigenetic control of plant response to heavy metal stress: A New view on Aluminum Tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 11, 2020: 602625
- /5/ Famoso, A. N., et al.: Genetic architecture of aluminum tolerance in rice (*oryza sativa*) determined through genome-wide association analysis and qtl mapping. *PLoS Genet.*, 7, 2011: 1002221.
- /6/ Zhang, P. et al: Mining candidate gene for rice aluminum tolerance through genome wide association study and transcriptomic analysis. *BMC Plant Biol.* 19, 2019: 490.
- /7/ Sudan, J., Raina, M., Singh, R. (2018). Plant epigenetic mechanisms: role in abiotic stress and their generational heritability. *3 Biotech*, 8, 2018:1–12.
- /8/ Chang, Y. N. et al. Epigenetic regulation in plant abiotic stress responses. *J. Integrat. Plant Biol.* 62, 2020:563–580.
- /9/ Eichten, S.R. et al: Epigenetic and genetic influences on DNA methylation variation in maize populations. *The Plant Cell* 25, 2013: 2783-2797.
- /10/ Mirouze, M., Paszkowski, J. Epigenetic contribution to stress adaptation in plants, *Current Opinion in Plant Biology* 14, 2011: 267-274.
- /11/ Kumar, S. Epigenetics and epigenomics for crop improvement: current opinion. *Advances in Biotechnology and Microbiology* 14, 2019: 5558
- /12/ 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.
- /13/ 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.
- /14/ Prasad M. Phytoremediation of Metal-Polluted Ecosystems: Hype for commercialization. *Russ. J. Plant Physiol.* 2003, 50, 686–700.
- /15/ Kalendar, R. et al. iPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation. *Theoretical and Applied Genetics*, 2010, 121, 1419–1430.
- /16/ Aydin, F. et al. The utility of iPBS retrotransposons markers to analyze genetic variation in yeast. *International Journal of Food Microbiology*, 2020, 16, 325,108647.
- /17/ Baránek, M. et al. Utility of retrotransposon-derived marker systems for differentiation of presumed clones of the apricot cultivar Velkopavlovická. *Scientia Horticulturae*, 2020, 143, 1–6.
- /18/ Žiarovská J, Hricová A, Gálová Z, Zájorský M, Bošelořová D. Využitie DNA bezizolačných prístupov v analýzách genómov rastlín. *Vhemické listy*, 2016, 110, 931-934.
- /19/ Yüksel E A, et al: Iron toxicity-induced DNA damage, DNA methylation changes, and LTR retrotransposon polymorphism in *Zea mays*. *Turkish Journal of Botany*, 2022, 46, 197-204.

/20/ Žiarovská J, et al: Profily PBA polymorfizmu slovenských odrôd laskavca v prostredí rastu kontaminovaného kadmíom. Vlyv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2022, 137-140.

### **Pod'akovanie**

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

## **AKTUÁLNY STAV MYKOBIOTY POD VPLYVOM ZÁSADITÝCH IMISIÍ V OKOLÍ MAGNEZITOVÉHO ZÁVODU V LUBENÍKU (STREDNÉ SLOVENSKO)**

### **ACTUAL STATE OF MYCOBIOTA UNDER THE INFLUENCE OF ALKALINE EMISSIONS IN THE VICINITY OF THE MAGNESITE PLANT IN LUBENÍK (CENTRAL SLOVAKIA)**

Ivan Mihál, Margita Kuklová, Ivica Pivková

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

#### *Summary*

In the conditions of strong immission pollution of the alkaline type in the vicinity of the magnesite plant in Lubeník, a long-term trend of minimal occurrence of any mycobiota (with the small exception of wood-inhabiting macromycetes) is confirmed in the most polluted zone A (from 7 to 21 fungal taxa), while the abundance of macromycete species increases from zone B (7 to 60 taxa) and C (38 to 172) to control areas in the least polluted zone D (from 43 to 149 taxa). The values of ectomycorrhizal potential have a similar trend (A=0.0, B=0.08, C=1.66, D=1.71). We present the values of the contents of chemical elements in selected species of macromycetes, which have not yet been published in areas with magnesite immission pollution. We recorded the highest decrease in element content values (43%) for magnesium in zone D compared to zone C, and the second highest decrease (33%) for copper. On the contrary, we also noticed an increase in values in zone D compared to zone C, namely for calcium (18%), sodium (56%) and manganese (49%).

*Key words: alkaline immissions; magnesite plant; mycoflora; Central Slovakia*

#### *Súhrn*

V podmienkach silného imisného znečistenia zásaditého typu v okolí magnezitového závodu v Lubeníku sa dlhodobo potvrdzuje trend minimálneho výskytu akejkoľvek mykobioty (s malou výnimkou drevoosídľujúcich makromycét) v najviac znečistenom pásme A (od 7 až 21 druhov húb), pričom početnosť druhov makromycét vzrastá od pásma B (7 až 60 druhov) a C (38 až 172) až po kontrolné plochy v najmenej znečistenom pásme D (od 43 až 149 druhov). Podobný trend majú aj hodnoty ektomykorízneho potenciálu (A=0,0, B=0,08, C=1,66, D=1,71). Uvádzame hodnoty obsahov chemických prvkov u vybraných druhov makromycét, ktoré v oblastiach s magnezitovým imisným znečistením neboli doposiaľ publikované. Najvyšší pokles hodnôt obsahov prvkov (43%) sme zaznamenali u horčíka v pásme D oproti pásme C a druhý najvyšší pokles (33%) u medi. Naopak, zaznamenali sme aj nárast hodnôt v pásme D oproti pásme C a to u vápnika (18%), sodíka (56%) a mangánu (49%).

*Kľúčové slová: zásadité imisie; magnezitka; mykoflóra; stredné Slovensko*

## **ÚVOD**

Jedným z najviac aktuálnych problémov pri ochrane lesa je problém priemyselných imisií a ich dopad na zdravotný stav lesov. Najväčšie škody na lesných porastoch z hľadiska imisného poškodenia zaznamenávame v oblastiach so zvýšenou koncentráciou imisií. Klasickým príkladom v tomto smere je okolie magnezitových závodov v Lubeníku a Jelšave,

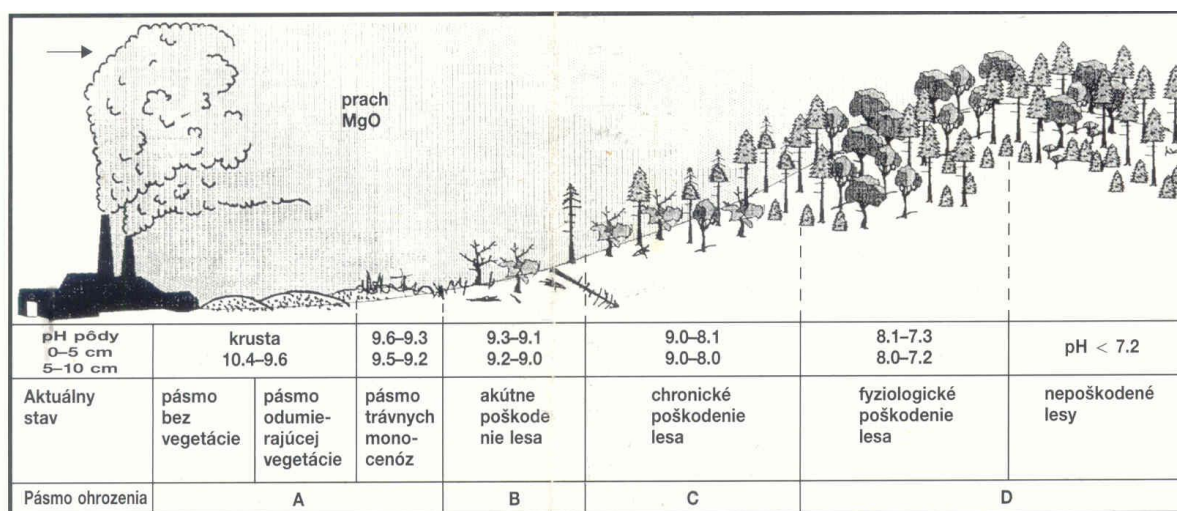
ktoré produkujú množstvo imisií vznikajúcich pri spracovaní magnezitu. V tomto prípade sa jedná o tzv. magnezitový (zásaditý) typ imisného znečistenia, ktorý na rozdiel od napr. fluórového (kyslého) typu imisného znečistenia v Žiarskej kotline, má lokálny charakter avšak s výraznými negatívnymi krajinnno-ekologickými dopadmi /1, 2/. Výskumu mykobioty v okolí magnezitových závodov Jelšava a Lubeník sa v minulosti venovalo viacero autorov, pričom v každej práci sa konštatuje výrazný negatívny vplyv imisného znečistenia na mykobiotu /1–5/.

V tejto práci uvádzame aktuálny stav o štruktúre spoločenstiev makromycét v okolí magnezitového závodu v Lubeníku v závislosti od imisných pásiem, a zároveň chceme prispieť k predchádzajúcim výskumom mykobioty uvedeného územia.

## MATERIÁL A METODIKA

Aktuálny monitoring mykobioty sme uskutočňovali počas jesenných mesiacov v rokoch 2021 a 2022 na výskumných plochách situovaných v jednotlivých pásmach imisného ohrozenia A až D v okolí magnezitky v Lubeníku (Obr. 1). Najnovšie získané údaje sme porovnávali s predchádzajúcim výskumom mykobioty /1–5/. V imisných pásmach C a D sme odobrali plodnice viacerých druhov makromycét, v ktorých sme stanovili obsahy vybraných chemických prvkov. 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 ektomykoríznych (EKM) druhov k druhovému spektru terestrických saprotrofných (TS) druhov:  $M = EKM/TS$ .

Obr. 1: Schéma pásiem imisného ohrozenia lesných porastov v okolí magnezitového závodu v Lubeníku (prevzaté z manuálu Oddelenia ekológie a ekofyziológie lesných drevín – Lesnícky výskumný ústav, Zvolen, 1995; upravené).



## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z údajov uvedených v tab. 1 až 3 vidno, že výskum mykobioty v okolí magnezitového závodu v Lubeníku prebiehal viac-menej pravidelne už od 90-tych rokov minulého storočia. Odhliadnuc od často sa meniacich klimatických podmienok počas výskumu, možno konštatovať, že uvedení autori /1–5/ dostatočne zdokumentovali dynamiku druhovej diverzity tu vyskytujúcej sa mykobioty, pričom vždy zaznamenávali vyššiu diverzitu od najviac imisne postihnutého pásma A po najmenej postihnuté pásmo D (kontrola). Najvýznamnejším

výsledkom bola vždy vyššia početnosť EKM húb najmä v pásme D ale i v pásme C. Tento trend sme potvrdili aj počas nášho výskumu v rokoch 2021 – 2022. Súvisí to s nedostatkom mykoríznej mykobioty a extrémnymi klimatickými podmienkami počas letných mesiacov, kedy v pásme A na vytvorenej magnezitovej kruste na povrchu pôdy s najväčšou intenzitou prашného spadu dochádzalo k tzv. púštnemu efektu. Podobne v pásme B výskyt mykobioty limituje vysoký a hustý záras trávnatých monocenóz. Vyšší výskyt EKM druhov v pásmach C a D súvisí s pestrým drevinovým zložením lesných porastov v týchto pásmach, ktoré na rozdiel od pásma B už majú charakter zapojeného porastu bez viditeľných poškodení vplyvom imisií. O význame EKM makromycét v jednotlivých imisných pásmach hovoria aj údaje o ektomykoríznom potenciáli (tab. 3), kde vidno nulové hodnoty v pásme A a ich postupný nárast smerom k pásmam C a D.

Tab. 1: Početnosť druhov makromycét v jednotlivých imisných pásmach počas minulých výskumov

Imisné pásmo	Cicák et al. (1999) výskum 1995 až 1997	Mihál & Blanár (2007) výskum 1995 až 2006	Mihál et al. (2015) výskum 2011 až 2014
A	13	21	15
B	19	60	33
C	28	172	107
D	32	143	149
Spolu	57	261	215

Tab. 2: Ektotrofické zatriedenie druhov makromycét v jednotlivých imisných pásmach počas výskumu v rokoch 2021–2022

Imisné pásmo	LP	HP	MP	LS	TS	EKM	Spolu
A	0	0	0	7	0	0	7
B	0	0	0	4	3	0	7
C	1	2	0	11	9	15	38
D	5	2	1	16	7	12	43
Spolu	6	2	1	28	19	24	80

LP – lignikolný parazit, HP – herboparazit, MP – mykoparazit, LS – lignikolný saprotrof, TS – terestrický saprotrof, EKM – ektomykorízny symbiont

Tab. 3: Hodnoty ektomykorízneho potenciálu makromycét v jednotlivých imisných pásmach počas minulých výskumov a počas výskumu v rokoch 2021–2022

Mihál et al. (2015)	A = 0,0	B = 0,08	C = 0,45	D = 0,56
2021–2022	A = 0,0	B = 0,0	C = 1,66	D = 1,71

V tab. 4 a 5 uvádzame hodnoty obsahov chemických prvkov u troch druhov húb, ktoré zastupujú hlavné ekotrofické skupiny a rásť v pásmach C a D. Treba dodať, že tieto hodnoty prezentujeme ako vôbec prvé údaje o obsahu chemických prvkov v hubách pod vplyvom magnezitového znečistenia. Keď uvedené hodnoty zrátame a porovnáme, môžeme konštatovať, že u druhu *Hymenochaete rubiginosa* boli v pásme D hodnoty o 9,6% nižšie ako v pásme C, podobne u *Lepista saeva* boli nižšie o 25,5% a u EKM druhu *Russula cyanoxantha* nižšie až o 27%. Vôbec najvyšší pokles hodnôt (43%) sme zaznamenali u Mg v pásme D oproti pásmu C a druhý najvyšší pokles (33%) u Cu. Naopak, zaznamenali sme aj nárast hodnôt v pásme D oproti pásmu C a to u Ca (18%), Na (56%) a Mn (49%). V odbornej

literatúre poznáme viacero prác, ktoré skúmali obsahy makroživín, ťažkých kovov a iných chemických prvkov v plodniciach húb, často aj v imisne znečistených lesných ekosystémoch, napr. v okolí Kovohút v Rudňanoch /6/ alebo v okolí hliníkárne v Žiari nad Hronom /7/.

Tab. 4: Obsahy chemických prvkov (mg/kg) v plodniciach vybraných druhov makromycét v imisnom pásme C hodnotených v rokoch 2021–2022

Druhy	Ca	K	Mg	Zn	Na	Cu	Mn
<b>LS: <i>Hymenochaete rubiginosa</i></b>	2927,24	2494,37	4143,87	13,78	1,61	36,21	23,87
<b>TS: <i>Lepista saeva</i></b>	66,69	36199,57	2084,03	115,39	10,0	77,98	40,73
<b>EKM: <i>Russula cyanoxantha</i></b>	52,25	43144,4	1405,16	73,01	57,0	24,56	1,58

S, TS, EKM – pozri vysvetlivky Tab. 2

Tab. 5: Obsahy chemických prvkov (mg/kg) v plodniciach vybraných druhov makromycét v imisnom pásme D hodnotených v rokoch 2021–2022

Druhy	Ca	K	Mg	Zn	Na	Cu	Mn
<b>LS: <i>Hymenochaete rubiginosa</i></b>	3419,35	3547,68	1601,52	17,55	1,62	42,3	82,55
<b>TS: <i>Lepista saeva</i></b>	52,97	26986,36	1524,88	104,0	33,7	26,97	38,41
<b>EKM: <i>Russula cyanoxantha</i></b>	242,83	30986,51	1201,52	44,17	118	24,7	9,9

LS, TS, EKM – pozri vysvetlivky Tab. 2

## ZÁVER

V podmienkach silného imisného znečistenia zásaditého typu v okolí magnezitového závodu v Lubeníku sa dlhodobo potvrdzuje trend minimálneho výskytu akejkoľvek mykobioty (s malou výnimkou drevoosídľujúcich makromycét) v najviac znečistenom pásme A, pričom početnosť druhov makromycét vzrastá od pásma B a C až po kontrolné plochy v najmenej znečistenom pásme D. Podobný trend majú aj hodnoty ektomykorízneho potenciálu. Uvádzame hodnoty obsahov chemických prvkov u vybraných druhov makromycét, ktoré v oblastiach s magnezitovým imisným znečistením neboli doposiaľ publikované. Výskum bude v budúcnosti pokračovať s dôrazom na zaznamenávanie druhovej diverzity makromycét, ich šírenia sa v jednotlivých imisných pásmach, ako aj z hľadiska hodnotenia vybraných pedobiologických a chemických ukazovateľov.

## LITERATÚRA

- /1/ Cicák A., Mihál I., Kulfan J., Šušlík V., Zach P., Krištín A. 1999. Health state of forest tree species and selected groups of fungi and animals in surroundings of a magnesium factory (central Slovakia). *Ekológia (Bratislava)* 18, p. 211–222.
- /2/ Cicák, A., Kellarová, D., Kulfan, J., Mihál, I. 2011. Imisie ako škodlivý činiteľ. p. 555–573. In: Barna, M., Kulfan, J., Bublinc, E. (eds.): *Buk a bukové ekosystémy Slovenska*. VEDA, Bratislava, 636 pp.
- /3/ Mihál, I., Blanár, D. 2007. Mykoflóra v oblasti magnezitového závodu Slovomag a.s., Lubeník (Slovenské rudohorie - Revúcka vrchovina). *Reussia*, 4, 1-2, p. 35–59.
- /4/ Mihál, I., Blanár, D., Glejdura, S. 2015. Enhancing knowledge of mycoflora (*Myxomycota*, *Zygomycota*, *Ascomycota*, *Basidiomycota*) in oak-hornbeam forests in the vicinity of the magnesite plants of Lubeník and Jelšava (Central Slovakia). *Thaiszia – J. Bot.*, Košice, 25, 2, p. 121–142.
- /5/ Blanár, D., Guttová, A., Mihál, I., Plášek, V., Hauer, T., Palice, Z., Ujházy, K. 2019. Effect of magnesite dust pollution on biodiversity and species composition of oak-hornbeam woodlands in the Western Carpathians. *Biologia, Bratislava*, 74, 12, p. 1591–1611.
- /6/ Árvay, J., Tomáš, J., Hauptvogel, M., Kopernická, M., Kováčik, A., Bajčan, D., Massányi, P. 2014. Contamination of wild-grown edible mushrooms by heavy metals in a former mercury-mining area. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 49, 11, p. 815–827.
- /7/ Bučinová, K., Janík, R., Jamnická, G., Kuklová, M. 2014. Accumulation and bioconcentration factors of mineral macronutrients in representative species of macrofungi prevailing in beech dominated forests affected by air pollution. *Czech Mycology*, 66, 2, p. 193–207.



**PodĎakovanie**

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory výskumného projektu VEGA 2/0045/22 a VEGA 2/0009/21.

## POZNATKY FYZIOLOGIE ROSTLIN KLÍČEM KE ZVLÁDNUTÍ KLIMATICKÝCH ZMĚN

### KNOWLEDGE OF PLANT PHYSIOLOGY KEY TO COPING WITH CLIMATE CHANGE

Eduard Šiman

#### Summary

Production of electricity in photovoltaic panels is inescapable. The paper draws attention to its potential in accommodation to climate change by using the shadows of panels to reduce the need of plants for water.

*Key words: photovoltaic panels; plants, water, shadow*

#### Souhrn

Výroba elektřiny ve fotovoltaických panelech je nevyhnutelná. Článek upozorňuje na jeho potenciál při přizpůsobování se klimatickým změnám pomocí stínů panelů ke snížení potřeby rostlin na vodu.

*Klíčová slova: fotovoltaické panely; rostliny, voda, stín*

## ÚVOD

Závěry 21. konference smluvních stran Rámcové úmluvy OSN o změně klimatu Paříž 30. 11. – 12. 12. 2015. Do konce století:

udržet globální oteplování pod 2 °C,

dosáhnout rovnováhy mezi vypouštěním a pohlcováním emisí,

### Na oteplování se musíme připravit.

Změny v rostlinstvu v důsledku větší spotřeby vody na transpiraci při vyšší teplotě a větší frekvence extrémního počasí.

Nutnost provést přestavbu společnosti na jiné energetické zdroje.

- Na polích přednostní pěstování druhů rostlin odolnějších k suchu (C4,CAM)
- Šlechtění na odolnost k suchu
- Změny v agrotechnice, hnojení a ochraně
- Pěstování citlivých plodin v uzavřených prostorech

### Jaká jsou řešení pro ČR?

- Úspory a zateplení
- Jaderná energie (s potenciálním nebezpečím zákazu jako v Německu či Rakousku)
- Zbývající ekonomicky efektivní vodní energie
- Zbývající ekonomicky efektivní větrná energie
- Biomasa nekonkurující výrobě potravin (odpadní dřevo, sláma,...)
- Sluneční energie

### Podpora solárních elektráren

- Elektřina ze solárních elektráren musí být dotovaná, aby byla konkurenceschopná (Elektrárny postavené do konce roku 2010 mají zaručeny extrémně zvýhodněné výkupní ceny elektřiny na dobu 15 let)
- Solární elektrárny se povolovaly na zemědělské půdě

**Tento směr rozvoje slunečních elektráren se ukázal jako neperspektivní**

S růstem počtu obyvatel planety význam půdy schopné produkovat potraviny a biomasu poroste (USCB).

Rok	Dosažený počet obyvatel v miliardách
1804	1
1927	2
1960	3
1974	4
1987	5
1999	6
2012	7
2022	8

**Z čeho se v ČR vyrábělo teplo v roce 2021 (ČSÚ, 1 PJ = 1 000 000 000 000 000 J, zaokrouhleno)**

• Pevná fosilní paliva	60 PJ
• Vyrobené plyny	6 PJ
• Ropné produkty	1 PJ
• Zemní plyn	37 PJ
• Pevná biomasa	10 PJ
• Bioplyn (z biomasy)	1 PJ
• Obnovitelný odpad	2 PJ
• Neobnovitelný odpad	2 PJ
• Jaderná energie	1 PJ
• Celkem	120 PJ

**Perspektivní jen biomasa, obnovitelný odpad a jádro (12 % v roce 2021)**

#### Jak dál ve využití sluneční energie

- Vývoj technologií směrem ke zlevnění
- Recyklace vysloužilých součástí
- Jiné umístění než orná půda (neplodná půda, střechy)
- Využití dalších vlastností FV panelů:
- ✓ Využití nosné konstrukce FV panelů pro upevnění dalších technologických prvků
- ✓ Využití stínu (polostínu) pod FV panely ke zlepšení vláhového režimu rostlin
- ✓ Využití FV panelů jako střešní krytiny

**Z čeho se v ČR vyráběla elektřina v roce 2021 (ČSÚ, Pramen: ČSÚ, 1 TWh = 1 000 000 000 000 Wh, zaokrouhleno)**

• Pevná fosilní paliva	34 TWh
• Vyrobené plyny	1 TWh
• Zemní plyn	7 TWh
• Obnovitelné zdroje celkem	12 TWh
• Z toho Vodní energie	4 TWh
•         Větrná energie	1 TWh
•         Fotovoltaika	2 TWh
•         Pevná biomasa	3 TWh
•         Bioplyn	2 TWh
• Jaderná energie	31 TWh
• Celkem	85 TWh

### **Perspektivní jen obnovitelné zdroje a jádro (51 % v roce 2021)**

#### **Možnosti, jak zlevnit a zatraktivnit solární elektrárny na střechách zřizováním střešních FV skleníků**

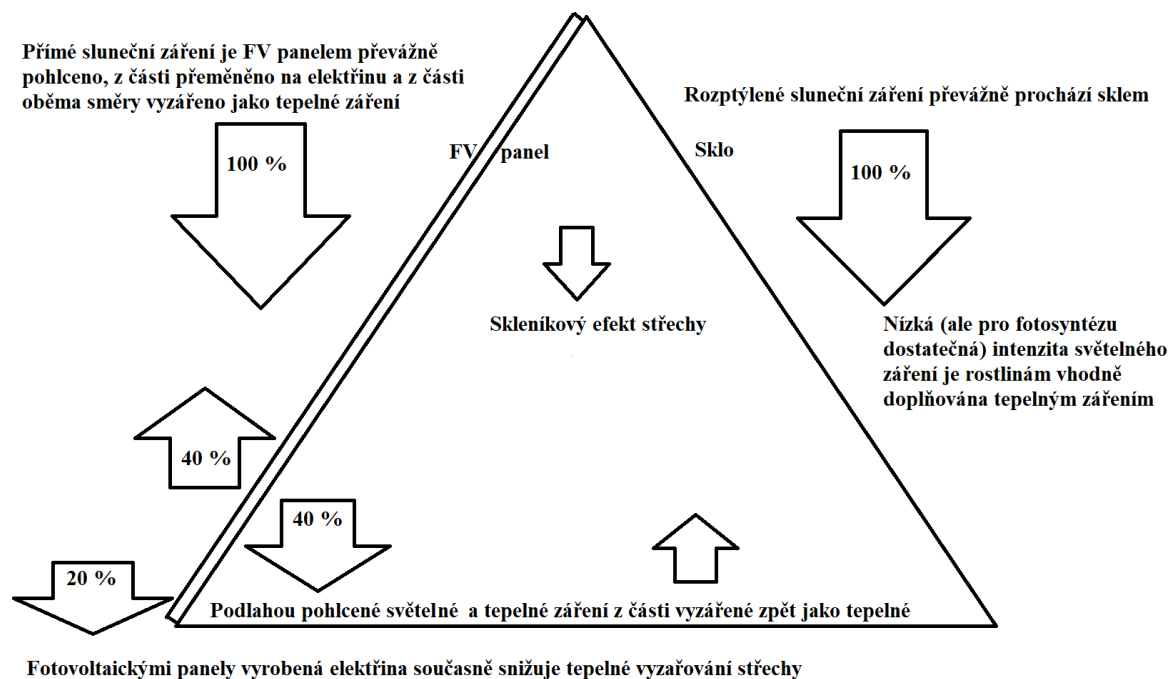
- Využít solární panely jako zevnitř vyměnitelnou střešní krytinu a zjednodušit tak jejich kontrolu, údržbu a výměnu a zajistit jim lepší chlazení
- Doplnit plochu solárních panelů skleněnými panely (např. recyklovanými FV panely) a využívat střešní prostor jako vegetační skleník
- Využít stínu solárních panelů a ochrany před větrem ke snížení potřeby vody na transpiraci a umožnit tak pěstování šťavnaté čerstvé zeleniny i v suchých oblastech
- Využít temperování střešního FV skleníku k uchování čerstvé zeleniny po celý rok
- Zatraktivnit střešní FV skleník využitím filtrů proti hmyzu, sporám, prachu a pylu a umožnit tak pobyt na čerstvém vzduchu i v ohrožených oblastech a citlivým lidem
- Voda zachycovaná okapy a přes vhodné filtry jímaná ve střešním prostoru by byla všestranně použitelná bez potřeby ji čerpat
- V případě využití k pěstování rostlin by stavba nezabírala zemědělskou půdu
- Po dovybavení přístroji ke kontrole a úpravě atmosféry by bylo možné střešní FV skleník využívat jako dočasnou umělou biosféru umožňující úplné oddělení od ovzduší v případě úniku chemikálií nebo radioaktivních látek

#### **Některé ekonomické výhody střešních FV skleníků**

- Nahrazovaly by zemědělskou půdu, kterou zabrala budova, na které byly zřízeny
- Řešily by některé obtížně odstranitelné vady životního prostředí (bodavý hmyz, hmyzí škůdce, nedostatek vody na zalévání, při dokonalejších filtrech i polétavý prach, pyl)
- Snižovaly by tepelné vyzařování střech a tím i oteplování planety

- Jejich využití k pěstování užitkových nebo okrasných rostlin a k jejich přezimování a zpříjemňující pobyt na čerstvém vzduchu při nepříznivém počasí by mohly vést k větší ochotě stavebníků nést vyšší náklady na jejich pořízení a provoz
- Ve světě je mnoho oblastí, kde by podobné řešení našlo uplatnění (příležitost k exportu)

### Energetické poměry střešního FV skleníku



### Nevyřešená rizika střešních FV skleníků

- Legislativa zatím nepovoluje užít FV panely jako střešní krytinu
- Zatím nejsou vypracované optimální pěstební technologie pro střešní FV skleníky, zejména z hlediska režimu dusičnanů
- Bez hromadné výroby odzkoušených konstrukčních prvků by střešní FV skleníky byly příliš drahé

## VÝVOJ OBSAHU SÍRY V ASIMILAČNÝCH ORGÁNOCH BUKA LESNÉHO A SMREKA OBYČAJNÉHO NA ÚZEMÍ SLOVENSKA

### *DEVELOPMENT OF SULFUR CONTENT IN THE FOLIAGE OF E. BEECH AND NORWAY SPRUCE IN SLOVAKIA*

Danica Krupová, Slávka Tóthová, Luptáková Jana

Národné lesnícke centrum – Lesnícky výskumný ústav vo Zvolene, T. G. Masaryka 22, 960  
01 Zvolen,

danica.krupová@nlcsk.org, slavka.tothova@nlcsk.org, jana.luptakova@nlcsk.org

#### *Summary*

The content of sulphur in the foliage of the forest trees (*Picea abies* Karst., *Fagus sylvatica* L.) on the territory of Slovakia between 1995 and 2021 have been evaluated. Samples were taken during the monitoring of the state of forests in Slovakia on PMP II. levels in programme ICP Forests in the grid 16x16 km. The highest sulphur content was found in leaves of *Fagus sylvatica* L. on PMP Turová in 2013 (2,87 g.kg<sup>-1</sup>) and in 1997 in the needles of spruce on PMP Jasenie, 1,84 g/kg. The content of sulphur was higher than the maximal optimum in the most beech and spruce areas till 2019 and 2021, respectively. Linear regression analysis confirmed a significant decrease ( $R^2 = 0.56$ ,  $P \leq 0.01$ ) in the sulfur content on spruce areas. No statistically significant changes in the sulfur content were detected on the beech plots.

*Key words: foliage, sulphur, monitoring, European beech, Norway spruce*

#### *Súhrn*

Zmeny v obsahu síry v asimilačných orgánoch lesných drevín (*Fagus sylvatica* L., *Picea Abies* Karst.) na území Slovenska sú hodnotené v období 1995 až 2021. Vzorky boli odoberané počas monitoringu stavu lesov v rámci program ICP Forests v sieti 16x16 km na území Slovenska. Maximálna hodnota síry bola zistená v roku 2013 vo vzorkách listov z buka na TMP 206 Turová 2,87 g/kg a v ihličí smreka v 1997 na TMP Jasenie 1,84 g/kg. Obsahy síry boli na väčšine bukových do roku 2019 a smrekových plôch do roku 2021 vyššie ako horný limit optimálneho rozsahu. Lineárna regresná analýza potvrdila na smrekových plochách signifikantný pokles ( $R^2 = 0,56$ ,  $P \leq 0,01$ ) v obsahu síry. Na bukových plochách neboli zistené signifikantné zmeny v obsahu síry.

*Kľúčové slová: asimilačné orgány, síra, monitoring, buk lesný, smrek obyčajný*

## ÚVOD

Zhoršenie stavu lesov začiatkom osemdesiatych rokov minulého storočia viedlo v roku 1979 k iniciovaniu programu ICP Forests (International Co-operative Programme on Monitoring and Assessment of Air Pollution Effect on Forests). Hlavným cieľom intenzívneho monitoringu je sledovanie stavu lesov z hľadiska dlhodobých zmien a vzájomných interakcií so získaním periodického prehľadu o priestorových rozdieloch a

časových zmenách stavu lesa. Za týmto účelom sa vykonáva zber informácií z prieskumov zameraných na rôzne zložky lesných ekosystémov na celom území Európy. Jeden z týchto prieskumov sleduje kvantitatívny obsah minerálnych prvkov v asimilačných orgánoch. Plochy II. úrovne (intenzívny monitoring) sú na území Slovenska rozmiestnené nepravidelne v sieti 16x16 km, pričom v súlade s metodikou sa nachádzajú mimo lokalít s intenzívnou imisnou záťažou napr. z priemyselných zdrojov /8/. V tomto príspevku boli vyhodnotené obsahy síry u dreveniny buk lesný (*Fagus sylvatica* L) na troch TMP a smrek obyčajný (*Picea abies*) na 5 TMP II. úrovne v rokoch 1995-2021.

## MATERIÁL A METÓDY

Odber asimilačných orgánov (ihlice 1. ročník) sa vykonal podľa metód pre harmonizovaný zber a spracovanie výsledkov v rámci ICP Forests popísaných v XII. časti Manuálu ICP Forests „Sampling and Analysis of Needles and Leaves /9/. Odber sa mal uskutočniť každé 2 roky, avšak z ekonomických dôvodov tento interval odberov nebol vždy dodržaný. Základné údaje o trvalých monitorovaných plochách (TMP) s výskytom buka a smreka sú uvedené v tabuľke 1 /8/.

Tab.1 Popis trvalo monitorovaných plôch (TMP) II. úrovne na Slovensku

Plocha	Rok založenia	Vek	Nadm. Výška (m n. m.)	Zemepisná šírka	Zemepisná dĺžka	Pôdny typ	Zastúpenie drevín
TMP 203 Jasenie	1995	72	1250	48°55'31"	19°29'15"	Podzol kambizemný	sm 94 %
TMP 204 Poľana	1991	90-120	850	48°38'34"	19°32'22"	Kambizem andozemná	bk 45 %, sm 42 %
TMP 206 Turová	1997	70	575	48°37'58"	19°02'49"	Kambizem modálna	Bk 99 %
TMP 207 Tatranská Lomnica	1998	60-140	1150	49°10'49"	20°14'30"	Ranker podzolový	sm 50 % (2 %)
TMP 208 Svetlice	1999	53	570	49°11'41"	22°05'41"	Kambizem modálna	bk 78 % (2 %)
TMP 209 a 210 Grónik	1998	94	875	49°29'54"	18°34'04"	podzol modálny	sm 100 %
TMP 212 Železnô	2009	90	1010	48°57'17"	19°23'20"	kambizem modálna	sm 100 %

Vysušené vzorky boli pomleté na laboratórnom strižnom mlyne Retsch SM 100. Obsah síry vo vzorkách bol stanovený na prístroji N/C/S Elementary Flash 1112 fy Thermo podľa medzinárodnej normy ISO 15178 /2/. Na vyhodnotenie nameraných údajov bol použitý software Eager Xperience verzia 0.00.0031.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky analýz asimilačných orgánov sledovaných drevín sú štatisticky spracované v tab. 2.

Tab. 2 Obsah síry v asimilačných orgánech buka lesného a smreka obyčajného v rokoch 1995 – 2021

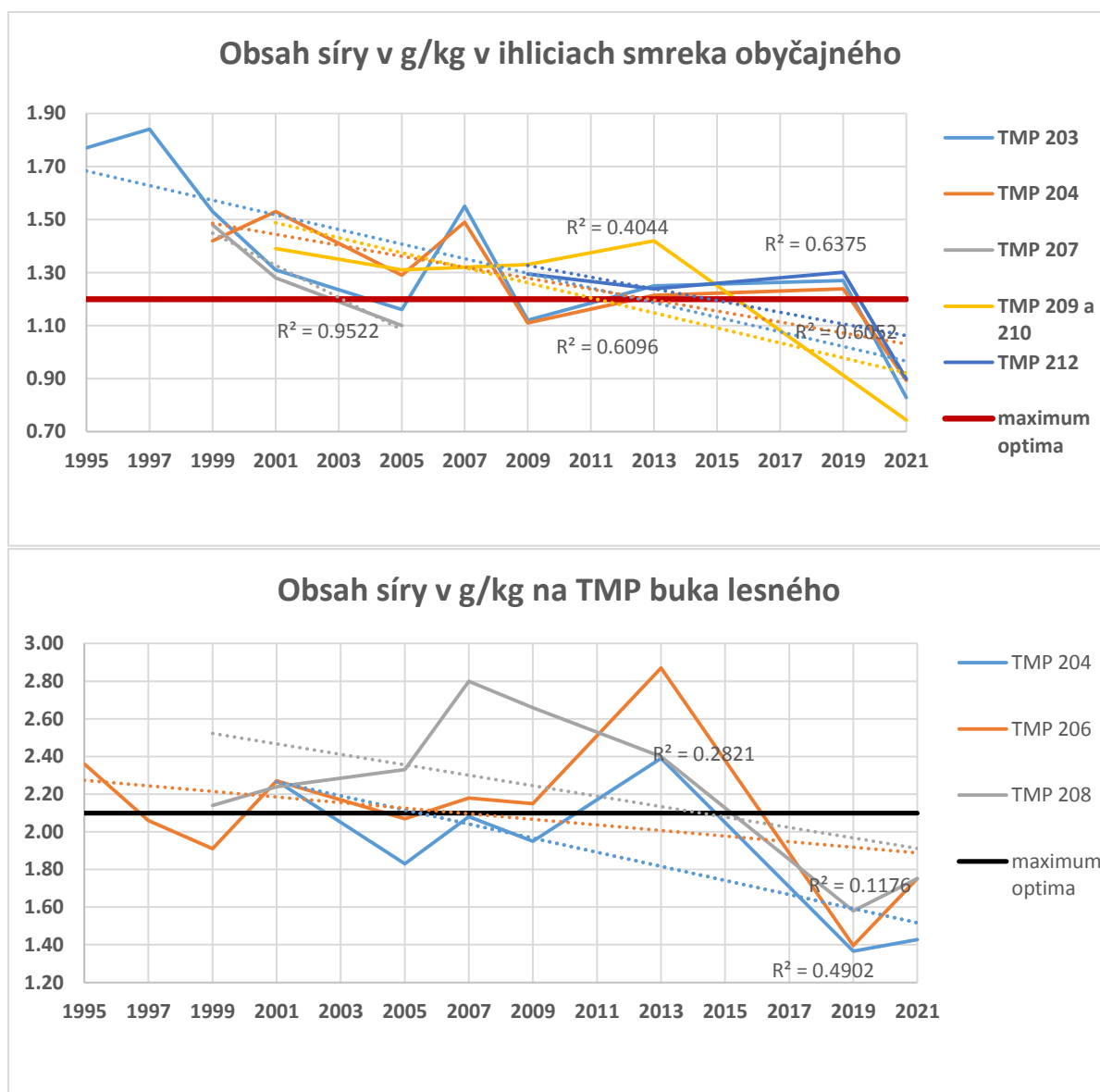
<b>Buk lesný</b>					
Názov TMP	počet meraní	obsah S g/kg			
		priemer	sm.odch	min	max
TMP 204 Poľana	n = 7	1,90	0,36	1,37	2,39
TMP 206 Turová I. a II.	n = 10	<b>2,10</b>	0,37	1,40	2,87
TMP 208 Svetlice	n = 8	<b>2,24</b>	0,39	1,58	2,80
<b>Optimum od 1,1 do 2,1 g/kg</b>					
<b>Smrek obyčajný</b>					
Názov TMP	počet meraní	obsah S g/kg			
		priemer	sm.odch	min	max
TMP 203 Jasenie	n=10	<b>1,36</b>	0,29	0,83	1,84
TMP 204 Poľana	n=8	<b>1,27</b>	0,20	0,89	1,53
TMP 207 T.Lomnica	n=3	<b>1,29</b>	0,16	1,10	1,48
TMP 209 a 210 Grónik	n=5	<b>1,24</b>	0,25	0,74	1,42
TMP 212 Železnô	n=4	1,18	0,17	0,90	1,30
<b>Optimum od 0,7 do 1,2 g/kg</b>					

Poznámka \* Bold označuje hodnotu nad horným limitom optima

Podľa manuálu ICP Forests /9/ sú pre buk prijateľné obsahy síry v rozsahu 1,1 – 2,1 g/kg a pre smrek v rozsahu 0,70 – 1,2 g/kg. Na väčšine plôch boli do roku 2019 prekročené horné limity u buka i smreka (Obr. 1). Maximálna hodnota síry bola zistená v roku 2013 vo vzorkách listov z buka na TMP 206 Turová 2,87 g/kg a v ihličí smreka v 1997 na TMP Jasenie 1,84 g/kg. Aritmetický priemer všetkých nameraných hodnôt na bukových aj smrekových TMP je blízko horného limitu optimálneho obsahu. V minulosti bolo územie Slovenska zaťažované vysokými dávkami síry, čo sa odrážalo v obsahu síry v asimilačných orgánoch drevín. V imisných oblastiach na Slovensku boli v 80. rokoch namerané aj hodnoty nad 5 g/kg, pričom obsahy síry v asimilačných orgánoch jednoznačne ukazovali značné regionálne rozdiely /6/. Pri monitoringu asimilačných orgánov na plochách I. úrovne na území Európy v roku 1995 bolo zistené prekročenie horných hladín dusíka a síry, v tzv. „Čiernom trojuholníku“, t.j. na území blízko hraníc Poľska, Českej republiky a Nemecka /10/. Údaje o síre v Geochemickom atlase Slovenska, Lesná biomasa /7/, nasvedčujú o vysokom zaťažení územia sírou v rokoch 1993 a 1994. Priemerná koncentrácia síry z 584 vzoriek z buka bola 2,24 g/kg a z 1192 vzoriek smreka bola 1,96 g/kg. Tieto hodnoty prekračovali horný limit optimálneho rozsahu pri buku i smreku. Najvyššia zistená hodnota v tomto výskume bola 7,07 g/kg u buka a 11,4 g/kg u smreka.

V posledných rokoch už je možné pozorovať zníženie obsahu síry. U buka od roku 2019 a u smreka od roku 2021 na všetkých hodnotených TMP boli všetky zistené obsahy síry v rozsahu optimálneho obsahu (obr.1). Rovnaké trendy boli pozorované aj vo vzorkách ihličia smreka na rôznych miestach v celej Európe /3/.





Obr. 1 Zmeny obsahu S v g/kg v listoch buka lesného a v ihliciach smreka obyčajného na TMP II. úrovne

Lineárna regresná analýza potvrdila na smrekových plochách signifikantný pokles ( $R^2 = 0,56$ ,  $P \leq 0,01$ ) v obsahu síry. Na bukových plochách neboli zistené signifikantné zmeny v obsahu síry. Redukcia depozícií síry má priaznivý efekt na rast jedle bielej /1/ ako aj smreka obyčajného /4,5/.

Tab. 3 Výsledky lineárnej regresnej analýzy

Prvok	Fagus sylvatica n = 25				Picea abies n = 30			
	b0	b1	R2	P-hodnota	b0	b1	R2	P-hodnota
S	49,99	-0,024	0,228	0,016	47,51	-0,023	0,56*	$1,6 \cdot 10^{-6}$

Poznámka \* označuje štatistickú významnosť  $P \leq 0,01$

## ZÁVER

Obsahy síry v asimilačních orgánech smreka aj buka sú v posledných rokoch nižšie. Znižujú sa nielen na Slovensku, ale v celej Európe. Klesajúci trend obsahu síry v asimilačných orgánoch je zrejme spôsobený výrazným poklesom emisií síry po zavedení legislatívy za účelom zníženia znečisťovania životného prostredia.

Zavedenie ekologických opatrení, znižovanie ťažby čierneho i hnedého uhlia, znižovanie emisií pri získavaní energie, inštaláciou výkonnejších filtrov pri spaľovaní biomasy a získanie energie z obnoviteľných zdrojov má priaznivý vplyv na trendy zlepšovania životného prostredia. V určitej miere k tomu prispel údajmi a poznatkami i program ICP Forests, najmä v zbere údajov a hodnotení stavu lesov v Európe počas 35 rokov. Zmeny v obsahu síry sú na Slovensku miernejšie ako v ostatných krajinách, avšak pri nastupujúcom trende je možné, že za pár rokov budeme pozorovať jej deficit.

## LITERATÚRA

- /1/ Bošeľa, M., Petráš, R., Sitková, Z., Priwitzer, T., Pajčík, J., Hlavatá, H., Sedmák, R., Tobin, B. 2014. Possible causes of the recent rapid increase in the radial increment of silver fir in the Western Carpathians. *Environmental pollution* 184: 211–221.
- /2/ ISO 15178. 2000. Soil quality - determination of total sulphur by dry combustion. Geneva, Switzerland. pp. 5..
- /3/ Jonard, M.F., Verstraeten, A., Thimonier, A., Timmermann, V., Potočić, N., Waldner, P., Benham, S., Hansen, K., Merilä, P., Ponette, Q. et al. 2014. Tree mineral nutrition is deteriorating in Europe. *Global Change Biology*. 21:418–430.
- /4/ Kolář, T., Čermák, P., Oulehle, F., Trnka, M., Štěpánek, P., Cudlín, P. et al., 2015. Pollution control enhanced spruce growth in the “Black Triangle” near the Czech-Polish border. *Science of the Total Environment*, 538:703–711.
- /5/ Kroupova, M. 2002. Dendroecological study of spruce growth in regions under long-term air pollution load. *Journal Forest Science*, 48:536–548.
- /6/ Maňkiovská, B. 1988. The accumulation of atmospheric pollutants by *Picea abies* L. Karst, *Ekológia ČSSR* 7: 95–108.
- /7/ Maňkiovská, B. 1996. Geochemický atlas slovenska. Vrana K, editor. Bratislava: Geologická služba Slovenskej republiky.
- /8/ Pavlenda, P., Pajčík, J., Priwitzer, T., Capuliak, J., Konôpka, M., Pavlendová, H., Sitková, Z., Tóthová, S. 2012. Monitoring lesov Slovenska. Správa za projekt FutMon a ČMS Lesy za rok 2011. Zvolen, NLC-LVÚ Zvolen: 132 s.
- /9/ Rautio, P., Fürst, A., Stefan, K., Raitio, H., Bartels, U. 2020-3. Manual on methods and criteria for harmonized sampling, assessment, monitoring and analysis of the effects of air pollution on forests. Part XII Sampling and analysis of needles and leaves In: UNECE ICP Forests Programme Co-ordinating Centre. p. 16 + annex <http://www.icp-forests.org/manual.htm>.
- /10/ Stefan, K., Fürst, A., Hacker, R., Bartels, U. 1997. Forest foliar condition in Europe. Results of large-scale foliar chemistry surveys. European Commission United Nations /Economic Commission for Europe, Brussels: 83.s.+ prílohy.

## Pod'akovanie

Táto práca vznikla vďaka podpore OP Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Centrum excelentnosti lesnícko-drevárskeho komplexu LignoSilva; (kód ITMS: 313011S735), spolufinancovaný zo zdrojov EFRR a projektu TreeAdapt, financovaného z rozpočtovej kapitoly MPRV SR (prvok 08V0301). Táto práca bola podporená aj Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-18-0223.

## 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](http://www.ekotechnika.cz)**

**Mgr. Tomáš Havel / [havel@ekotechnika.cz](mailto: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/folia-oecologica/>

**Folia Oecologica**

**Q2** Agricultural and Biological Sciences (miscellaneous) best quartile

**SJR 2022**  
0.41

powered by scimagojr.com

Volume 49, Number 1, 2022



**FOLIA**

**OECOLOGICA**

**Arctic**



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

**CAAS** CZECH ACADEMY OF  
AGRICULTURAL SCIENCES

# PLANT, SOIL AND ENVIRONMENT



Prague

(On-line) ISSN 1805-9368  
(Print) ISSN 1214-1178

# CALL FOR PAPERS

Publish your article in

## PLANT, SOIL AND ENVIRONMENT

### TOPICS OF INTEREST

Soil Care, Conservation and Productivity	Agriculture and Environment Interactions from the Perspective of Sustainable Development	Experimental Biology, Agronomy, Natural Resources	
Growing of Crops and their Quality	Growth and Productivity	Seed Production	Plant Development

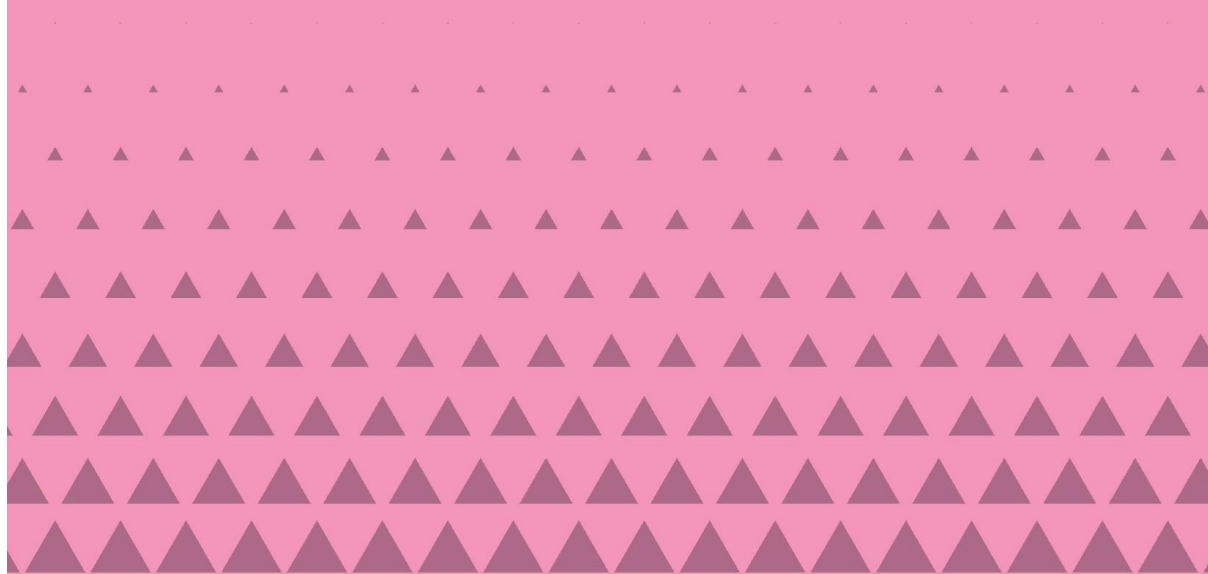
### WHY PSE?

▶ International peer-reviewed journal	▶ Web of Science - Q2 Agronomy (IF 2022: 2.4, 5-year IF: 2.2)
▶ Open access	SCOPUS
▶ Double-blind reviewing	(SJR 2022: 0.5)
▶ Published monthly since 1955	

212

**CAAS** CZECH ACADEMY OF  
AGRICULTURAL SCIENCES

# HORTICULTURAL SCIENCE



Prague

(On-line) ISSN 1805-9333  
(Print) ISSN 0862-867X



**CALL FOR PAPERS**

Publish your article in  
**HORTICULTURAL SCIENCE**

**TOPICS OF INTEREST**

Fruit and Vegetable Growing    Viniculture    Floriculture and Medicinal Plants    Ornamental Gardening    Landscape Architecture

**WHY HORTSCI?**

- ▶ International peer-reviewed journal
- ▶ Open access
- ▶ Double-blind reviewing
- ▶ Published quarterly since 1976
- ▶ Web of Science (IF 2022: 1.2, 5-Year IF: 1.3)
- ▶ SCOPUS (SJR 2022: 0.29)

Visit: <https://hortsci.agriculturejournals.cz/>  
Contact: [hortsci@cazv.cz](mailto:hortsci@cazv.cz)

**CAAS** CZECH ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES

**CAAS** CZECH ACADEMY OF  
AGRICULTURAL SCIENCES

# PLANT PROTECTION SCIENCE



Prague

(On-line) ISSN 1805-9341  
(Print) ISSN 1212-2580

**CALL FOR PAPERS**

Publish your article in  
**PLANT PROTECTION SCIENCE**

**TOPICS OF INTEREST**

Plant Protection    Infectious Diseases and Pests    Plant Pathology    Environmental Ecology    Crop Sciences

**WHY PPS?**

- ▶ International peer-reviewed journal
- ▶ Open access
- ▶ Double-blind reviewing
- ▶ Published quarterly since 1921
- ▶ Web of Science (IF 2022: 1.3, 5-Year IF: 1.5)
- ▶ SCOPUS (SJR 2022: 0.29)

Visit: <https://pps.agriculturejournals.cz/>  
Contact: [pps@cazv.cz](mailto:pps@cazv.cz)

**CAZS** CZECH ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES

**CZAS** CZECH ACADEMY OF  
AGRICULTURAL SCIENCES

# CZECH JOURNAL OF GENETICS AND PLANT BREEDING

Journal of Genetics and Plant Breeding, Volume 15, No. 1, 2022



Prague

(On-line) ISSN 1805-9325  
(Print) ISSN 1212-1975

**CALL FOR PAPERS**

Publish your article in  
**CZECH JOURNAL OF GENETICS  
AND PLANT BREEDING**

**TOPICS OF INTEREST**

Theoretical and Applied Plant Genetics      Plant Biotechnology      Plant Breeding

**WHY CJGPB?**

- ▶ International peer-reviewed journal
- ▶ Open access
- ▶ Double-blind reviewing
- ▶ Published quarterly since 1965
- ▶ Web of Science (IF 2022: 0.9, 5-year IF: 1.2)
- ▶ SCOPUS (SJR 2022: 0.3)

Visit: <https://cjgpb.agriculturejournals.cz/>  
Contact: [cjgpb@cazv.cz](mailto:cjgpb@cazv.cz)

**CAAS** CZECH ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES

Název: Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti  
rostlin 2023

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: on-line

Počet stran: 230

Vydání: první

Rok vydání: 2023

ISBN: 978-80-89408-37-5 Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied,  
v.v.i.

Texty příspěvků neprošly jazykovou úpravou