

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

**Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied**

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



VLIV ABIOTICKÝCH A  
**BIOTICKÝCH STRESORŮ NA VLASTNOSTI**  
ROSTLIN 2016

(Sborník recenzovaných vědeckých prací)

INFLUENCE OF ABIOTIC AND BIOTIC STRESSES  
ON PROPERTIES OF PLANTS 2016  
*(Proceedings of scientific articles)*



**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied**

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

**Pořadatelé:**

Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů ČZU v Praze

**VLIV ABIOTICKÝCH A BIOTICKÝCH  
STRESORŮ NA VLASTNOSTI ROSTLIN 2016**

(Sborník recenzovaných vědeckých prací)

Tato publikace neprošla jazykovou úpravou

**Czech University of Life Science Prague**

**Institute of Forest Ecology SAS**

**Slovak Society for the agricultural, forestry, food and  
veterinary science in SAV in Bratislava**

**Organizers:**

Institute of Forest Ecology SAS

Faculty of Agrobiological, Food and Natural Resources

**INFLUENCE OF ABIOTIC AND BIOTIC  
STRESSES ON PROPERTIES OF PLANTS 2016**

(Proceedings of scientific articles)

**This publication has not undergone language editing**

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

**Jazyková korektura:** Texty příspěvků neprošly jazykovou úpravou

**Foto na titulní straně:** Rašeliniště v SOOS.

foto doc. Ing. František Hnilička, Ph.D.

**Odborný garant konference:** Margita Kuklová (ÚEL SAV)

František Hnilička (ČZU v Praze)

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

*Mgr. Jana Šlégrová*

**Organizační výbor konference:**

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

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

Ing. Ján Kukla, CSc. (ÚEL SAV)

Ing. Margita Kuklová, CSc. (ÚEL SAV)

© Česká zemědělská univerzita v Praze, 2016

ISBN: 978-80-813-2681-1

© Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied, 2016

ISBN: 978-80-89408-25-2

## OBSAH

|   |  |    |
|---|--|----|
|   | Úvodní slovo   | 1  |
| <i>J. Mind'aš, J. Škvarenina, J. Škvareninová</i>   | Voda – klíčový stresový faktor lesných ekosystémov temperátnej klimatickej zóny  | 3  |
| <i>M. O. Urban, I. T. Prášil</i>  | Jsou stávající deskriptory v databázi vhodné pro určení adaptability vůči suchu u ozimé pšenice?   | 13 |
| <i>G. Juhásová, D. Juhás, M. Magušinová, M. Menyhartová, M. Kobza, R. Ostrovský, P. Čadek</i>                 | Starostlivosť o dreviny pri budovaní hrádzí  | 22 |
| <i>V. Krpeš, K. Michna, K. Feber</i>  | Působení nadměrné koncentrace ozónu na rostliny – hromadění reaktivních forem kyslíku, narušení redoxní rovnováhy a oxidační poškození buněčných komponent | 28 |
| <i>M. Molnárová</i>   | Ťažké kovy jako stresové faktory pro rostliny  | 33 |
| <i>M. Drešlová, A. Hanč, Z. Holečková</i>   | Vliv vybraných faktorů na vlastnosti výluhů z vermikompostu  | 40 |
| <i>A. Filová, M. Molnárová, A. Fargašová</i>  | Vplyv podzemných vôd z okolia skládky bývalej niklovej huty Sered' na riasy  | 44 |
| <i>K. Gašová, M. Kuklová, J. Kukla</i>  | Obsah vybraných živín v opade bukových ekosystémov s rozdielnou imisnou záťažou  | 49 |
| <i>M. Golian, E. Kóňová, A. Hegedúsová</i>  | Vplyv mulčovania na pestovanie papriky ročnej ( <i>Capsicum annuum</i> )   | 53 |
| <i>A. Kormuťák, M. Galgóci, D. Súkeníková, P. Boleček, D. Gómóry</i>  | Niektoré aspekty reprodukčného procesu borovice lesnej, borovice horskej a ich hybridného roja   | 58 |
| <i>B. Kramná; S. Přerostová; V. Knirsch; E. Kobzová; R. Vaňková</i>   | Vliv syntetického strigolaktonu GR24 na anti-oxidační systém při reakci na nedostatek fosfátu  | 62 |
| <i>M. Kuklová, F. Hnilička, J. Kukla, H. Hniličková, I. Pivková</i>   | Vplyv znečistenia ovzduší z cestnej dopravy na obsah energie listov <i>Quercus rubra</i> a <i>Fraxinus excelsior</i>                                       | 67 |
| <i>A. Majdák, M. Blaženec, P. Mezei, R. Jakuš</i>   | Porovnanie priebehu teplôt kmeňa a koruny smreka obyčajného v reakcii na sucho v podmíňkách riadeného experimentu  | 71 |
| <i>B. Šerá</i>  | Disturbance jako příčina polní vzházivosti u některých plevelů. Příklad na merlíku bílém   | 75 |
| <i>I. T. Prášil, J. Musilová, E. Vlasáková, K. Kosová, P. Vítámvás, M. O. Urban, J. Švehlová, P. Horčíčka</i> | Růst, vývoj, suchovzdornost a výnos pšenice  | 79 |
| <i>K. Kosová, L. Maršálová, P. Vítámvás, R. Hynek, I. T. Prášil</i>   | Proteomická odezva kulturního ječmene <i>Hordeum vulgare</i> a halofytního ječmene <i>Hordeum marinum</i> na zasolení – porovnání glykofytu a halofytu     | 83 |

|   |  |     |
|---|--|-----|
| <i>J. Majerová, E. Pšidová, G. Jamnická, D. Kurjak, E. Dittmarová, K. Slugeňová</i>                 | Sledovanie obnovy fyziologických reakcií u 6-mesačných semenáčikov smreka a buka vystavených simulovanej dehydrátácii a opätovnému zavlaženiu    | 89  |
| <i>P. Ferus</i>   | Antioxidačná odezva kultivarov dyne červenej ( <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai) s odlišnou intenzitou rastu na pôdne zasolenie | 95  |
| <i>F. Hnilička, M. Nosálková, H. Hniličková, K. Kraus</i>   | Vliv aplikace atoniku A nízké teploty na obsah prolinu a Rel% u papriky roční  | 99  |
| <i>Z. Holečková, M. Drešlová, M. Kulhánek</i>   | Vliv aplikace biofaktorů na růst, odběr živin, výnos a procento sušiny u kukuřice v nádobových a polních podmínkách                              | 104 |
| <i>A. Klimaj, V. Bárek, J. Fуска, J. Pokrývková</i>   | Vplyv sucha na rast <i>Malus domestica</i>   | 110 |
| <i>M. Kofroňová, J. Tremlová, D. Kolihová, H. Lipavská</i>  | Vliv arsenu na vybrané fyziologické a strukturální parametry kořenové kultury křene selského   | 115 |
| <i>Z. Dučaiová, M. Benáková, Š. Moravcová, J. Tůma</i>  | The role of methyl jasmonate during the biotic stress in <i>Matricaria Chamomilla</i> L.   | 121 |
| <i>Š. Moravcová, Z. Dučaiová, M. Benáková, J. Tůma</i>  | Salicylic acid affects the copper toxicity in chamomile plants   | 125 |
| <i>A. Konôpková, P. Petřík, J. Kmeť, D. Kurjak</i>  | Prieduchové charakteristiky kontrastných proveniencií buka lesného   | 129 |
| <i>M. Lošák, M. Ševčíková</i>   | Vliv formy a dávky dusíku na botanické složení extenzivního trávníku   | 133 |
| <i>I. Fialová, M. Vaculíková, L. Šimková, B. Sedláková, M. Luxová</i>                               | Vplyv kremíka na rastové parametre a peroxidáciu lipidov v mladých rastlinách kukurice stresovaných antimónom                                    | 137 |
| <i>P. Mészáros, Z. Gregorová</i>  | Stanovenie aktivity stresových proteínov (PR-3) chitináz – porovnanie metodík  | 141 |
| <i>O. Kryštofová, B. Ruttkay-Nedecký, D. Hůska, A. Strejcková, V. Adam, J. Zehnálek, B. Klejdus</i> | Stanovení stresových markerů <i>Scenedesmus quadricauda</i>  | 145 |
| <i>H. Štuříková, T. Vaněčková, V. Milosavljevic, O. Kryštofová, V. Adam</i>                         | Transport QDs u <i>Helianthus annuus</i>   | 149 |
| <i>T. Salaj, R. Matusova, K. Klubicová, J. Salaj</i>  | Analysis of growth and structural characterisation of <i>Pinus nigra</i> embryogenic tissues after cryopreservation                              | 153 |
| <i>M. Ježík, M. Blaženec, L. Dittmarová</i>   | Vzťah medzi sezónnou dynamikou nárastu obvodu kmeňov mladých jedincov jedle bielej a variabilitou počasia v r. 2015                              | 157 |
| <i>G. Kurešová, A. Neumannová, M. Mészáros, P. Svoboda</i>  | Listové hnojivo jako doplněk výživy ovocných dřevin v období sucha   | 161 |
| <i>Š. Zezulka, M. Kummerová, M. Hájková, P. Babula</i>  | Biomarkery oxidativního stresu u <i>Lemna minor</i> v přítomnosti diklofenaku a paracetamolu   | 164 |

|   |   |       |     |
|---|---|-------|-----|
| <i>M. Pástor, V. Murgaš</i>                               | Vplyv teploty a zrážok na rast gaššana jedlého ( <i>Castanea sativa</i> Mill.) v oblasti Modrého Kameňa         | ..... | 168 |
| <i>H. Ivanová</i>   | Endofytické huby ako biotické stresory rodu <i>Pinus</i>  | ..... | 172 |
| <i>J. Lang, J. Procházka</i>                              | Vytrvalost a konkurenceschopnosť jetelovino-travných smesí na orné pôde se zařazením nové odrůdy srhy laločnaté | ..... | 176 |
| <i>J. Frydrieh, P. Volková</i>                            | Vliv rostlinných stimulatorů na výnos a výnosotvorné prvky u trav pěstovaných na semeno a obilovin              | ..... | 181 |
| <i>P. Svoboda, G. Kurešová, A. Neumannová, J. Haberle</i> | Efektivnost využití vody ozimou pšenicí při diferencované dostupnosti vody                                      | ..... | 187 |
| <i>J. Klimešová, P. Procházková, T. Středa</i>            | Vitalita semen a velikost kořenového systému pro únik a toleranci k suchu                                       | ..... | 192 |
| <i>K. Kobetičová, J. Hudský</i>                           | Efekty pracích prostředků obsahujících stříbro na řasy  | ..... | 196 |
| <i>M. Kubov, B. Schieber, R. Janík</i>                    | Dynamika koncentracie fosforu v nadzemnej biomase druhu <i>Carex pilosa</i> Scop. v submontánnej bučine         | ..... | 200 |
| <i>B. Piršelová, V. Kližanová, L. Lengyelová</i>          | Vplyv vodného extraktu láskala na rast a obsah fotosyntetických pigmentov repy cukrovej                         | ..... | 204 |
| <i>E. Stehnová, A. Svejkovská, H. Středová</i>            | Růstové a vývojové projevy polních plodin v dlouhodobém měřítku   | ..... | 209 |
| <i>A. Diviaková, H. Ollerová, A. Zacharová, A. Kunca</i>  | Vplyv ťažby stavebného kameňa na chemizmus asimilačných orgánov lesných drevín a zdravotný stav lesa            | ..... | 213 |
|   | Nabídka firmy Ekotechnika   | ..... | 220 |

**JMENNÝ REJSTŘÍK**

|            |          |          |            |          |          |
|------------|----------|----------|------------|----------|----------|
|            | <b>A</b> |          | Holečková  | .....    | 40, 104  |
| Adam       | .....    | 145, 149 | Horčička   | .....    | 79       |
|            |          |          | Hudský     | .....    | 196      |
|            | <b>B</b> |          | Húska      | .....    | 145      |
| Babula     | .....    | 164      | Hynek      | .....    | 83       |
| Bárek      | .....    | 110      |            |          |          |
| Benáková   | .....    | 121, 125 |            | <b>I</b> |          |
| Blaženec   | .....    | 71, 157  | Ivanová    | .....    | 172      |
| Boleček    | .....    | 58       |            |          |          |
|            | <b>Č</b> |          |            | <b>J</b> |          |
| Čadek      | .....    | 22       | Jakuš      | .....    | 71       |
|            |          |          | Jamnická   | .....    | 89       |
|            | <b>D</b> |          | Janík      | .....    | 200      |
| Ditmarová  | .....    | 89, 157  | Ježík      | .....    | 157      |
| Diviaková  | .....    | 213      | Juhás      | .....    | 22       |
| Drešlová   | .....    | 40, 104  | Juhášová   | .....    | 22       |
| Dučaiová   | .....    | 121,125  |            | <b>K</b> |          |
|            | <b>F</b> |          | Klejdus    | .....    | 145      |
| Fargašová  | .....    | 44       | Klimaj     | .....    | 110      |
| Feber      | .....    | 28       | Klimešová  | .....    | 192      |
| Ferus      | .....    | 95       | Kližanová  | .....    | 204      |
| Fialová    | .....    | 137      | Klubicová  | .....    | 153      |
| Filová     | .....    | 44       | Kmet'      | .....    | 129      |
| Frydrich   | .....    | 181      | Knirsch    | .....    | 62       |
| Fuska      | .....    | 110      | Kobetičová | .....    | 196      |
|            | <b>G</b> |          | Kobza      | .....    | 22       |
| Golgóci    | .....    | 58       | Kobzová    | .....    | 62       |
| Gašová     | .....    | 49       | Kofroňová  | .....    | 115      |
| Golian     | .....    | 53       | Kolihová   | .....    | 115      |
| Gómóry     | .....    | 58       | Konôpková  | .....    | 129      |
| Gregorová  | .....    | 141      | Kóňová     | .....    | 53       |
|            | <b>H</b> |          | Kormuťák   | .....    | 58       |
| Haberle    | .....    | 187      | Kosová     | .....    | 79, 83   |
| Hájková    | .....    | 164      | Kramná     | .....    | 62       |
| Hanč       | .....    | 40       | Kraus      | .....    | 99       |
| Hegedúsová | .....    | 23       | Krpeš      | .....    | 28       |
| Hnilička   | .....    | 67, 99   | Kryštofová | .....    | 145, 149 |
| Hniličková | .....    | 67, 99   | Kubov      | .....    | 200      |
|            |          |          | Kukla      | .....    | 49, 67   |
|            |          |          | Kuklová    | .....    | 49, 67   |
|            |          |          | Kulhánek   | .....    | 104      |
|            |          |          | Kummerová  | .....    | 164      |
|            |          |          | Kunca      | .....    | 213      |





Zezulka ..... 164

## ÚVODNÍ SLOVO

Po roce se opět scházíme v rámci multidisciplinární mezinárodní konference o vlivu stresorů na rostliny. Jedná se již o šestnáctý ročník této akce. Váš zájem o tuto konferenci svědčí o tom, že se stále jedná o velmi aktuální problematiku, která zasahuje téměř do všech biologických vědních disciplín.

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

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

Závěrem je možné konstatovat, že o uvedenou konferenci je zájem, o čemž svědčí účasti na minulých ročnících, i přestože konferencí s obdobnou tematikou se pořádá nejenom v ČR velké množství. Naším přáním je, aby o uvedenou konferenci byl stále zájem a účastníci se na ní těšili, nejenom kvůli novým vědeckým poznatkům, ale také pro přátelská posezení a rozebírání jednotlivých vědeckých problémů navázání spolupráce.

Zároveň bychom chtěli poděkovat pracovníkům Ústavu ekologie lesa SAV ve Zvolenu za možnost uspořádat naše setkání u nich na pracovišti.

Organizační výbor konference

## Vyzvané přednášky

# VODA – KLÍČOVÝ STRESOVÝ FAKTOR LESNÝCH EKOSYSTÉMOV TEMPERÁTNEJ KLIMATICKEJ ZÓNY

## *WATER - A KEY STRESS FACTOR OF FOREST ECOSYSTEMS IN TEMPERATE CLIMATE ZONE*

Jozef Mindáš<sup>1</sup>, Jaroslav Škvarenina<sup>2</sup>, Jana Škvareninová<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Stredoeurópska vysoká škola v Skalici, Kráľovská 386/11, 909 01 Skalica, j.mindas@sevs.sk

<sup>2</sup> Lesnícka fakulta, TU vo Zvolene, T.G. Masaryka 24, 96053 Zvolen, skvarenina@tuzvo.sk

<sup>3</sup> Fakulta ekológie a environmentalistiky, TU vo Zvolene, T.G. Masaryka 24, 96053 Zvolen, skvareninova@tuzvo.sk

### *Summary*

The Water, especially if it is limited, is one of the key abiotic stress factors for forests and landscape. The article analyzes the water balance, drought and flood conditions in temperate climate zone based on the scientific studies in Slovakia, the Czech Republic, Germany and Central Europe.

*Key words: water, stress, water balance, forest, drought, temperate climate zone*

### *Súhrn*

Voda, hlavne v prípade že je limitovaná, predstavuje jeden z rozhodujúcich stresových abiotických faktorov pre lesy a krajinu. Článok analyzuje vodnú bilanciu, sucho a povodne v podmienkach temperátnej klimatickej zóny, na príkladoch vedeckých štúdií uskutočnených na Slovensku, v Českej republike, Nemecku a strednej Európe.

*Kľúčové slová: voda, stres, vodná bilancia, lesy, sucho, temperátna klimatická zóna*

## **ÚVOD**

Voda je esenciálnym fenoménom, bez ktorého nie je možný život na planéte Zem. Flóra a fauna ako aj celá ľudská spoločnosť sú bytostne závislé na vode, ktorá zabezpečuje ich rast, rozvoj a prežívanie. Voda a lesy spolu pokrývajú dominantnú časť našej planéty a obidvoje sú kľúčové pre život a ľudskú spoločnosť. Voda a lesy nie sú dva nezávislé prírodné zdroje, existuje medzi nimi množstvo väzieb. Výskyt lesa a vodných zdrojov nie je náhodný, lesy spravidla rastú v oblastiach so zrážkovým úhrnom nad 500 mm a pokrývajú okolo 30 % plochy kontinentov a týchto 30% generuje až 60% celkového odtoku na Zemi /2/.

Les predstavuje v krajine temperátnej klimatickej zóny dominantný ekosystém. Vzťah lesa a vody môžeme hodnotiť z viacerých aspektov ako je vodná bilancia a jej zložky, voda ako transportné médium elementov alebo les ako modifikátor odtoku vody v povodiach. Les ako ekosystém ovplyvňuje kolobeh vody cez svoje biotické aj abiotické zložky, kde najmä biotická zložka lesného ekosystému (hlavne stromy) aktívne modifikuje tok vody prostredníctvom svojich asimilačných orgánov (listy, ihlice) a koreňového systému. Týmto si lesný ekosystém zabezpečuje výživu (prísun živín z pôdy), optimalizuje fyziologické procesy (výparom zabraňuje prehriatiu asimilačných orgánov) a špecifickou mikroklímou udržiava priaznivé vlhkostné pomery.

Tento článok chce poskytnúť spektrum informácií o vzájomných vzťahoch a interakciách medzi lesom a vodou. Nemáme ambíciu komplexne hodnotiť tieto vzťahy, ani zaujímať kategorické závery, ale máme snahu poskytnúť čitateľovi obraz doterajších poznatkov z tejto oblasti najmä na Slovensku, ale aj v širšom celoeurópskom kontexte. Výskyt extrémnych povodňových stavov, ale aj periód horúčav a sucha, nás nútia pozeráť sa na tento problém cez prizmu očakávaných klimatických zmien, aby sme boli pripravení prijímať také opatrenia v oblasti

obhospodarovania lesov, aby sme hydrický režim krajiny minimálne nezhoršovali. Lebo práve v spojitosti s klimatickými zmenami bude platiť mnohonásobne viac, že „voda je život“, a to platí tak pre les ako aj pre človeka /3/.

## VODNÁ BILANCIA KRAJINY

Atmosférické zrážky sú hlavnou hybnou silou hydrologického cyklu a na zem sa dostávajú vo forme dažďa, snehu, krúp, námrazy, hmly alebo rosy. Okolo 40 % zrážok, ktoré padnú na zem pochádza z oceánskeho výparu, zvyšných 60 % prichádza z evapotranspirácie z kontinentov. Rozloženie zrážok na Zemi je veľmi rozdielne a pohybuje sa v jednotlivých krajinách zhruba od 100 mm za rok v suchých púštnych oblastiach až po približne 3 400 mm za rok v trópoch a vysokých pohoriach. Diferencie medzi jednotlivými oblasťami dokumentuje nasledovný prehľad:

|                        | Temperátna klíma |            | Semi-arídna klíma |           | Arídna klíma |         |
|------------------------|------------------|------------|-------------------|-----------|--------------|---------|
|                        | %                | mm         | %                 | mm        | %            | mm      |
| Zrážky                 | 100              | 500 – 1500 | 100               | 200 – 500 | 100          | 0 – 200 |
| Evapotranspirácia      | ~ 33             | 160 – 500  | ~ 50              | 100 – 250 | ~ 70         | 0 – 140 |
| Podzemná voda – výmena | ~ 33             | 160 – 500  | ~ 20              | 40 – 100  | ~ 1          | 0 – 2   |
| Povrchový odtok        | ~ 33             | 160 - 500  | ~ 30              | 60 - 150  | ~ 29         | 0 - 60  |

*Hydrogeology Center, University Neuchatel (ex Unesco 2006)*

Už z tohto prehľadu je zrejmé, že regionálne disparity v dostupnosti vodných zdrojov sú priam obrovské a majú kľúčový význam pre kvalitu života a rozvoj spoločnosti najmä v aridných a semiaridných oblastiach. Podobná situácia však nastáva aj v našej klimatickej zóne, napríklad v rokoch s výskytom dlhotrvajúceho sucha.

Tvar rovnice pre hydrologickú bilanciu je:

$$\text{zrážky} = \text{výpar} + \text{odtok}$$

Atmosférické zrážky sú primárnou zložkou vodnej bilancie. Ich množstvo a časové rozloženie počas roka určujú vlhkosť a odtokové pomery územia, ktoré spolu s teplotnými pomermi vplyvajú aj na vegetáciu. Slovensko, ležiace v miernom klimatickom pásme, má pomerne rovnomerné rozloženie zrážok počas roka, s minimom v zimných a jarných mesiacoch a maximom v letných. Pre celé územie Slovenska za obdobie 1961 - 2000 je rovnica vodnej bilancie:

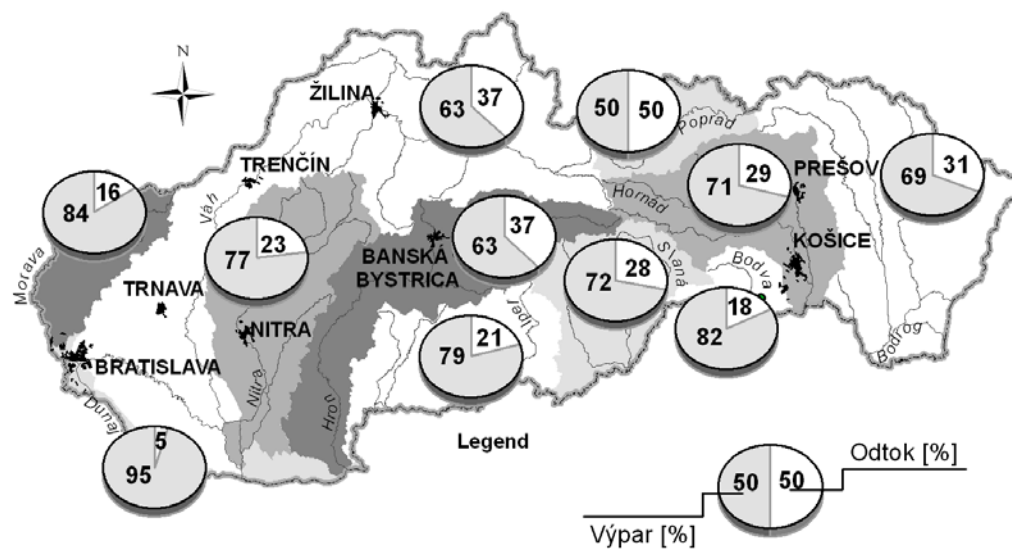
$$\text{Zrážky 753 mm} = \text{výpar 492 mm} + \text{odtok 261 mm}$$

Tieto číselné údaje hovoria to, že v priemere 2/3 zrážok spadnutých na plochu Slovenska sa vyparí a 1/3 odtečie. Percentuálny podiel výparu a odtoku zo zrážok je pre každé povodie charakteristický. Na obr. 1 je mapa, kde sú znázornené percentuálne zastúpenia výparu a odtoku pre hlavné povodia Slovenska (Mikulová 2010). Pre povodie Dunaja sa až 95% zrážok vyparí a na odtok zostane 5%. Naopak v povodí Popradu je množstvo vyparenej a odtečenej vody rovnaké /3/.

## VODNÁ BILANCIA LESA

Voda do lesných ekosystémov vstupuje predovšetkým vo forme dažďa, snehu, ale aj hmly, rosy a námrazy. V priemere sa do lesných ekosystémov Slovenska za rok dostáva 500 – 2000 mm (1 mm = 1 liter na 1 m<sup>2</sup>) vody, pričom najmenej vody sa dostáva do lesov v oblasti nížin a pahorkatín, najviac vody dostávajú horské lesné ekosystémy.

Vplyv lesných ekosystémov na kolobeh vody v krajine nie je všade a vždy rovnaký a jednoznačný. V korunách lesného porastu a na povrchu krovín a bylín dochádza k záchytu určitého množstva zrážkovej vody, ktorá sa postupne vyparí a nedostane sa do lesnej pôdy. Množstvo takto zachytenej vody je rozdielne: najviac vody sa zachytí v korunách smrekov v nižších polohách (500-600 m n. m.) a predstavuje to hodnotu až 50% z celkového množstva zrážok. Táto voda je pre les nenávratne stratená, a preto je veľmi dôležité, aby človek cieľavedomým pestovaním lesa znižoval tieto straty najmä vo vodohospodársky dôležitých územiach. Iná je situácia v horských oblastiach, kde sa častejšie vyskytujú hmla a námraza sa pod koruny dostane takmer všetka voda z dažďa a snehu a navyše voda z hmla a námrazy nadlepšuje množstvo vody, takže straty sú zanedbateľné. Dokonca v niektorých prípadoch vyčesávanie kvapôčok hmla najmä vetvami ihličnatých stromov je také veľké, že lesné pôdy v horských oblastiach dostávajú niekedy o 10 až 20 % viac zrážok ako iba pri výskyte dažďových a snehových zrážok. Niektoré dreviny, v našich podmienkach najmä buk, dokážu znížiť záchyt zrážok aj tým, že voda tečie po ich hladkej kôre až dole ku koreňom, pričom takto po kmene počas dažďa stečie niekoľko desiatok ba až stoviek litrov vody /4/.



Obrázok 1: Percentuálne zastúpenia výparu a odtoku zo spadnutých zrážok pre hlavné povodia Slovenska za obdobie 1961 - 2000 /3/

Po prechode jednotlivými vrstvami nadzemnej časti lesného porastu sa zrážková voda dostáva do kontaktu s pôdou, kde dochádza k výraznej zmene jej ďalšieho pohybu. Zrážková voda po dopade na pôdu tečie po jej povrchu alebo vsakuje do pôdy, kde sa mení na pôdnu vodu. Z hľadiska vodnej bilancie má najväčší význam voda kapilárna (rastliny ju prijímajú prostredníctvom koreňovej sústavy) a gravitačná voda, ktorá odteká do podzemia a vytvára zásoby podzemnej vody.

Pôda zohráva najvýznamnejšiu funkciu z hľadiska kolobehu vody v lesnom ekosystéme. Pre lesný ekosystém má totiž význam iba tá časť vody, ktorá sa nachádza v pôde. Väčšina vyšších

rastlín (vrátane stromov) je schopná prijímať vodu iba z pôdy prostredníctvom koreňového systému. Zároveň pôda zabezpečuje dlhodobú prístupnosť vody pre stromy a rastliny. O našich lesných pôdach môžeme vo všeobecnosti povedať, že najviac vody obsahujú začiatkom jari, pretože sa v nich kumuluje voda z roztápajúceho sa snehu a výpar je v tomto období nízky. Lesné pôdy teda vstupujú do vegetačného obdobia s dostatočnými zásobami vody, a to ako v oblasti nížin a pahorkatín tak aj v horských oblastiach. V priebehu vegetačného obdobia sa postupne začína prejavovať rozdiel medzi jednotlivými oblasťami. Čím väčšia je nadmorská výška, tým je vegetačné obdobie kratšie, zrážok je viac a menší je aj výpar.

Na základe viacročných pozorovaní môžeme z hľadiska pôdno-hydrologickej bilancie lesné ekosystémy v strednej Európe rozdeliť na 3 oblasti /3/:

**1. Nížiny, kotliny a pahorkatiny s nadmorskou výškou do 500 m n.m.** Na jar sú pôdy tejto oblasti dostatočne vlhké, avšak v priebehu letných mesiacov veľmi rýchle strácajú vodu v dôsledku intenzívneho výparu (vysoké teploty, nižšie úhrny zrážok) a stávajú sa fyziologicky suchými. Vlhkosť pôdy sa znižuje až pod bod vädnutia, prízemná bylinná vegetácia uschýna, často sa objavuje aj predčasný opad listov. Lesné dreviny prežívajú iba vďaka intenzívnemu a hlbokému prekoreneniu a čerpaniu vody z hlbších horizontov.

**2. Stredohorské polohy (nadmorská výška 500- 1000 m n.m.).** Pôdy tejto oblasti nepresychajú tak intenzívne a aj v najkritickejšom období (august-september) majú aspoň malú zásobu fyziologicky využiteľnej vody. Iba v mimoriadne suchých rokoch klesne zásoba vody v pôde pod bod vädnutia.

**3. Vyššie horské polohy (nad 1000 m n.m.).** Pôdy tejto oblasti predstavujú rezervoáre vody. Príjem vody zrážkami je dostatočný, výpar je, vďaka nižším teplotám, malý, a tak značná časť pôdnej vody preniká do nižších vrstiev a vytvára zásoby podzemnej vody.

Výpar z korún stromov lesných porastov predstavuje vo vegetačnom období podstatnú časť z celkového výparu z lesa. Množstvo vyparenej vody z lesa závisí prevažne od meteorologických podmienok, zásoby vody v pôde a od zloženia vegetácie (listnaté, ihličnaté stromy a pod.). Ročné hodnoty výparu sa v bukových porastoch pohybujú v rozpätí 290–500 mm a v smrekových porastoch 100–520 mm. Napríklad výpar z bukového porastu v Staročeskej pahorkatine je v priemere 223 mm za rok a v oblasti horského lesa Poľany je to 258 mm za vegetačné obdobie.

Konkrétny prípad rozloženia zrážok a kolobehu vody v lesných porastoch na príklade smrekového a bukového porastu na Poľane (850 m n. m.) ilustruje obrázok 2. Najväčšia časť vody z ročného úhrnu zrážok sa spotrebuje na výpar (záchyt v vody v korunách, výpar z listov a ihličia, výpar z pôdy). Menšia časť vody vsakuje do pôdneho prostredia resp. odteká po povrchu pôdy. Len zanedbateľné množstvo vody sa nazhromaždí v pôde a vegetácii vo forme zásob. Z predloženého obrázku vidíme aj zreteľné odlišnosti kolobehu vody v smrekovom a bukovom lesnom ekosystéme.

Rozdiely vo vodnom režime lesných porastov v závislosti na nadmorskej výške môžeme dokumentovať prostredníctvom klimateckej vodnej bilancie ako rozdielu zrážok a výparu. Klimatická vodná bilancia je totiž podstatne vhodnejší ukazovateľ než iba samotný úhrn zrážok. Napríklad: zrážkový úhrn 60 mm v novembri, kedy sa môže vypariť 20 mm vody predstavuje nadbytok vlhky. Avšak to isté množstvo zrážok v júli, kedy sa môže vypariť až 120 mm vody vedie k vzniku sucha /2/.

Ak teda chceme zhodnotiť aridnosť (suchosť), resp. humidnosť (vlhkosť) klímy vo vegetačných stupňoch (vs) môžeme vo všeobecnosti konštatovať že nižšie vegetačné stupne 1.–3. vs (dubový, dubovo – bukový) plne spĺňajú podmienky aridnosti vo vegetačnom období. Zlom vo vodnej bilancii vegetačných stupňov Západných Karpát predstavuje práve 4. vs (bukový). 5. vs (jedľobučiny) spĺňa kategorizáciu humidity v hlavných vegetačných mesiacoch. Od 6. vs (smrekovo-jedľovo-bukový) humidita klímy narastá a logicky najvyšších hodnôt dosahuje v 8. a 9. vs. (kosodrevinový a alpínsky). Pôvodné drevinové zloženie sa počas holocénu (doba poľadová) prispôbilo daným bioklimatickým podmienkam vytvorením jedinečných Karpatských lesných a vegetačných spoločenstiev /3/.



Vzájomný vzťah medzi lesom a odtokom vody z povodia, predovšetkým výskytom povodňových prietokov, bol už začiatkom 20. storočia potvrdený experimentálnym výskytom. V roku 1900 začal prof. Burgeois systematicky merať odtok z dvoch malých, rôzne zalesnených povodií (Spelbergraben, Rappengraben), doc. Válek v roku 1927 podľa nich zriadil experimentálny hydrologický výskum v dvoch malých povodiach v moravských Javorníkoch (Kýchová, Zdechov). Neskôr sa zakladali experimentálne povodia v iných štátoch a v rozličných prírodných podmienkach, pričom sa uplatnili rôzne metódy skúmania /5/.

Už prvé výsledky výskumu potvrdili priaznivý vplyv lesa na odtok vody, prejavujúci sa vo vyrovnávaní odtokových extrémov, predovšetkým v znižovaní extrémne veľkých, povodňových prietokov. Rozdielnosť stanovištných podmienok i samotných lesných porastov a rôzne metódy skúmania však podmienili rozdielnosť názorov na niektoré výsledky lesnícko-hydrologického výskumu i rozdielne názory na ovplyvňovanie jednotlivých zložiek kolobehu vody lesom.

V súčasnosti prevláda názor, že lesné hospodárstvo môže vhodným obhospodarovaním lesov, teda cieľavedomou činnosťou zameranou na plnenie vodohospodárskej a vodoochranej funkcie lesa, priaznivo ovplyvniť proces odtoku zo zalesneného povodia, i akosť vody v tokoch a vodných nádržiach. Ale môže zapríčiniť aj opačný efekt, ak sa pri obhospodarovaní lesných porastov, najmä pri ťažbe a približovaní dreva neberú do úvahy vodohospodárske záujmy. Veľkoplošné holoruby, budovanie nespevnených lesných ciest vo veľkých sklonoch a na pôdach náchylných na vodnú eróziu, nevhodné používanie ťažkých mechanizmov v mokrom teréne a pod. môže zapríčiniť akcelerovanú eróziu pôdy a zhoršenie odtokových pomerov /6/.

Vplyv lesa na hydrologický režim vodných tokov je predmetom skúmania už od konca 19. storočia, kedy sa začalo s takýmto výskumom v alpskej oblasti. Odvtedy evidujeme už značné množstvo výskumov z experimentálnych povodií s rôznym stupňom lesnatosti, drevinovým zložením, spôsobom obhospodarovania lesov a pod., čo umožnilo určitý stupeň generalizácie poznatkov vzťahu lesa a odtoku. Všeobecne bolo potvrdené, že lesy majú /5/:

- *mimoriadnu schopnosť zadržiavať zrážkovú vodu v odtoku (retenčná schopnosť)*
- *hromadiť zrážkovú vodu na rozsiahlom povrchu drevín, v pôdnej pokrývke a v samotnej pôde (akumulačná schopnosť)*
- *spomaľovať odtok vody premenou povrchového odtoku v odtok podzemný (retardačná funkcia)*

Konkrétny účinok lesných porastov v určitom povodí môže byť veľmi špecifický nakoľko odtok je determinovaný komplexom faktorov, z ktorých viaceré môžu pôsobiť protichodne a komplikujú tak správanie sa celého zrážkovo-odtokového systému v danom povodí. Určujúcimi faktormi výslednice odtokového množstva a jeho časových zmien sú najmä /4/:

- geomorfologická charakteristika reliéfu (sklonitosť, reliéfova členitosť a pod.),
- hydrogeologická stavba povodia (charakter priepustnosti hornín, prítomnosť zvodnených vrstiev a pod.),
- meteorologické podmienky (dĺžka trvania a intenzita zrážok, spolupôsobenie horizontálnych zrážok a pod.),
- vodná bilancia lesných porastov (intercepcia, zásoby pôdnej vody, stav lesnej cestnej siete vo vzťahu k povrchovému odtoku a pod.),
- celková lesnatosť povodia a štruktúra nelesnej krajiny povodia.

Z hľadiska účinku vegetácie a osobitne lesov v hydrologickom režime krajiny je určujúci predovšetkým ich transformačný účinok na atmosférické zrážky a celkovú vodnú bilanciu lesných porastov a lesných pôd.

## LESY A POVODNE

Zrážkovo – odtokový režim v malých povodiach úzko súvisí s širokou škálou prírodných a miestnych podmienok. Väčšina podieľajúcich sa prvkov má veľkú variabilitu hodnôt. V malých

horských povodiach, ktoré majú pomerne veľkú lesnatosť, bývajú príčinou povodní podľa /7/ dažde trojakého druhu:

- *Búrkové prietrže mračien, zasahujúce pomerne malú plochu a trvajúce krátky čas – 1 až 2 hodiny, ktorých intenzita je často väčšia ako  $2 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ .*
- *Búrkové dažde spojené so studeným frontom postupujúcim do Európy z Atlantického oceánu; tie môžu mať spočiatku podobnú intenzitu ako krátkodobé búrkové dažde, neskôr môžu zasiahnuť väčšie územie, kde sa vyskytne menej intenzívny dážď trvajúci i niekoľko dní. Vyskytujú sa prevažne v lete, len výnimočne začiatkom jari alebo v neskoršej jeseni.*
- *Regionálne dažde, nadväzujúce na cyklóny postupujúce do strednej Európy spravidla z juhu na sever (po tzv. van Bebbrovej dráhe) súčasne s nimi prúdi od severu chladný vzduch. To podmieňuje v oblasti stretu síce menej intenzívne, ale dlhotrvajúce dažde zasahujúce často územie väčšie ako 10 tisíc  $\text{km}^2$ . Také dažde sa vyskytli koncom júna a začiatkom júla 1997 na viacerých miestach Slovenska a na území sev.-východnej Moravy, kde zapríčinili rozsiahle povodne na riekach Odra a Morava. Hoci tam intenzita dažďa dosahovala len  $0,1$  až  $0,25 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ , hodnoty špecifických odtokov z čiastkových povodí, v čase kulminácie boli 3 až  $4 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{km}^{-2}$ .*

Ako uvádzajú spomínaní autori, najnebezpečnejšie povodne sú takmer vždy vyvolávané mimoriadne silnými dažďami, ktoré sa väčšinou vyskytujú v teplom ročnom období. Len ojedinele môžu byť povodne vyvolané náhlym topením snehu počas dažďa, čo je však pravdepodobnejšie v pahorkatinách a na nížinách. Rozlišujú sa dva typy povodňových odtokov /8, 9/ :

- *Sú to predovšetkým miestne, prevažne krátkodobé povodne, ktoré vznikajú z povrchových odtokov vtedy, keď zrážky vysokej intenzity lokálne prevýšia infiltračné schopnosti pôdy.*
- *Rozsiahlejšie a dlhšie trvajúce povodne, ktoré sú spôsobené výdatnými dažďami zasahujúcimi väčšiu plochu, alebo náhlym a intenzívnym topením snehu (vpád teplého vzduchu – dážď na sneh). V takomto prípade dochádza v celej oblasti k prekročeniu infiltračnej schopnosti a zadržiavaniu vody.*

Oba typy povodňových odtokov môžu byť redukované komplexnými úpravami povodí, ale v rôznej miere. Kým v prvom prípade je možné zlepšiť situáciu aj na poľnohospodársky využívaných pôdach opatreniami zvyšujúcimi zásak, v druhom prípade môže tlmiť povodňové maximum iba les /9/.

Extrémne dažde a nimi vyvolané odtoky majú pomerne malú početnosť opakovania, avšak v nadväznosti na predpokladané globálne otepľovanie klímy, viacerí autori predpokladajú ich častejší výskyt v budúcnosti.

Zovšeobecňujúce poznatky o vplyve celkovej lesnatosti povodia, ktoré uvádza Valtýni /6/ hovoria, že najvýraznejšie je ovplyvnený maximálny špecifický odtok vo flyšových oblastiach (čo sa potvrdilo aj v lete r.1997 - oblasť Kysúc, Torysy atď.), kde aj malý pokles v lesnatosti sa odrazí vo výraznom zvýšení maximálnych odtokových množstiev a ich rozkolísanosti. Najmenej je odtok ovplyvnený zmenou lesnatosti v povodiach na karbonátových podlažiach, kde rozhodujúcu úlohu zohráva horninové prostredie a transformácia zrážok do podzemných vôd. Tam je účinok zmeny lesnatosti na odtok približne polovičný ako vo flyšovej oblasti.

Napriek mnohým často rozporným výsledkom štúdia vplyvu lesa na odtok vody je nesporné, že lesy síce nemôžu celkom zabrániť povodňovým vlnám, môžu však výrazným spôsobom zmierniť ich priebeh. Na základe Válkových meraní z Čiech z dvoch porovnávacích povodí možno extrémny vodný stav na bystrine s lesnatým povodím, aký je tam pravdepodobný raz za 100 rokov ("storočná voda"), v zrovnávacom bezlesom povodí očakávať každých 16 rokov /5/.

Kľúčovým faktorom, ktorý zohráva rozhodujúcu úlohu pri modifikovaní odtoku z lesných porastov aj pri vysokých úhrnoch zrážok, je retenčná kapacita a infiltrácia lesných pôd. K prekročeniu retenčnej kapacity lesných pôd a v konečnom dôsledku aj lesných porastov môže

dôjst' v zásade dvomi spôsobmi. Predstavme si, že máme fľašu, ktorá má určitý objem (retenčná kapacita) a určitý rozmer hrdla fľaše, ktorý limituje množstvo vody, ktoré môžeme do fľaše naliat' (infiltračný koeficient). Ak do fľaše lejeme vodu, ktorá je schopná prejsť cez hrdlo fľaše tak naplníme celý obsah fľaše a ďalšie dodávané množstvo vyteká von. Tento prípad nastal v lete minulého roku, keď menej intenzívne zrážky dokázali postupne nasycovať pôdu bez výraznejšej zmeny odtoku, ale nakoľko tento dážď trval niekoľko dní došlo k úplnému naplneniu retenčnej kapacity lesa a prebytková zrážková voda v celom objeme priamo prechádzala do odtoku a výrazne dynamizovala povodňovú vlnu až po určitom čase (rádovo desiatky hodín). V druhom prípade ak do fľaše lejeme naraz veľký objem vody, ktorý nestačí prejsť hrdlom fľaše časť z tejto vody sa dostáva mimo, aj keď je vo fľaši ešte voľný priestor. Tento druhý prípad nastal práve v júli tohto roku, keď intenzita zrážok pri lokálnych búrkach bola taká vysoká, že retenčná kapacita lesnej pôdy a porastov sa nestačila naplniť a prebytok zrážkovej vody prechádzal priamo povrchovým odtokom s minimálnym časovým posunom do riečnej siete.

Urobme si ešte predstavu aká je vlastne veľkosť retenčnej kapacity lesných ekosystémov. Kapacita nasýtenia korún lesných drevín zrážkovou vodou predstavuje hodnotu rádovo 10 mm, čo pri úhrnoch zrážok pri povodňových situáciách zväčša nepredstavuje ani 10 % z celkového množstva spadnutých zrážok. Kapacita nasýtenia krovinatej, bylinnej vrstvy a vrstvy opadanky môže byť veľmi rozdielna a zväčša sa pohybuje na úrovni 5-20 mm. Pre najrozšírenejšie lesné pôdy na Slovensku môžeme podľa výsledkov výskumu uvažovať s retenčnou kapacitou 30-40 mm. Ak to zosumarizujeme tak celkovú retenčnú kapacitu lesných porastov môžeme odhadovať v rozsahu 45 - 70 mm. Táto hodnota platí pre stav 100 %-nej lesnatosti v krajine a pre zakmenenie 1,0 (resp. zápoj 100%). Súčasťou lesných komplexov sú však aj bezlesé plochy (lesné cesty, odvozné miesta, lúky, rúbaniská), ktorých retenčná kapacita je oveľa nižšia, prípadne až nulová (penetrované lesné cesty), čím sa celková retenčná kapacita lesnej krajiny znižuje. Pokles retenčnej kapacity krajiny pochopiteľne s klesajúcim percentom lesnatosti klesá, spočiatku pomalšie, do hodnoty 50-60 %-nej lesnatosti, pod touto hranicou je pokles s lesnatosťou oveľa výraznejší.

Problematika infiltrácie zrážkovej vody v pôde úzko súvisí so stavom vrstvy nadložného humusu. Ak v procese hospodárenia v lese dôjde k narušeniu tejto vrstvy okamžite dochádza k rapídному zvýšeniu povrchového odtoku a zvýšeniu erózneho odnosu, a tým aj k rozkolísanosti prietokov.

Aj Valtýni /5/ uvádza, že povodne sa vyskytli v povodiach rôznej lesnatosti. Hoci neboli publikované výsledky špecifických analýz vplyvu lesnatosti povodí na povodňové prietoky, také analýzy neboli pravdepodobne ani uskutočnené, vo viacerých publikovaných prácach sa autori vyjadrili k spomenutému problému. Zhodli sa v tom, že sa kritické dažde vyskytli spravidla v čase úplného alebo aspoň veľkého nasýtenia povodí vodou z predchádzajúcich zrážok. Potom lesné ekosystémy, predovšetkým lesné pôdy, ktoré majú v normálnom (nenasýtenom) stave veľkú retenčnú kapacitu, nedokázali úplne zadržať vodu z extrémnych zrážok, ani spomaliť odtok z povodia a rozdiel medzi odtokom zo zalesnených a bezlesných častí povodia v čase kulminácie povodne, bol relatívne malý. Lesné porasty bez ohľadu na zastúpenie drevín, vek, zakmenenie, spôsob obhospodarovania a iné charakteristiky, sa údajne výrazne nepodieľali na retencii a retardácii odtoku z povodia.

Valtýni v ďalšej štúdii /10/ uvádza, že v našich prírodných podmienkach zachytí nadzemná časť dospelého lesa približne 3 mm dažďovej vody, nerovnosti pôdneho povrchu asi 17 mm a lesná pôda podľa jej fyzikálnych vlastností a stavu nasýtenosti vodou 40 mm. Spolu približne 60 mm. Ak sa teda vyskytne extrémny dážď v krátkom časovom intervale s výdatnosťou napr. 100 mm, po povrchu odtečie zo zalesnenej časti povodia len rozdiel medzi výškou dažďa a momentálnou retenčnou (zadržiavacou) kapacitou lesného ekosystému, čiže približne 40 % vody. Pri podobných zrážkach v povodí Malá Svinka v roku 1998 zadržali lesné porasty v hornej lesnatej časti Braniska 68 mm vody, kým lúky a pasienky v nižšie položenej agrárnej krajine len

46 mm vody, teda približne 67 % z množstva vody zadržaného lesom. Výrazne horšiu schopnosť zadržavania vody má však najmä orná pôda v období bez vegetačného krytu.

Pôda ako rezervoár vody má úžasný potenciál a môže zadržiavať až 400 mm vody (hlboké, dobre štruktúrované pôdy). V našich prírodných podmienkach je však pôda stále čiastočne nasýtená vodou. Ak sa pôda úplne nasýti vodou resp. ak previehajúca zrážka nestačí vsakovať do pôdy, dažďová voda odteká po jej povrchu a vzniká nebezpečný povrchový odtok, ktorý významne dynamizuje odtok vody z povodia a spravidla vedie k vybreženiu povrchového toku s následným vznikom povodňovej situácie rôznej intenzity.

Ako sme už spomenuli, lesný ekosystém je najefektívnejší regulátor maximálnych prietokov na vodných tokoch, avšak za predpokladu, že celkový úhrn zrážok výrazne neprekročí retenčnú kapacitu lesného ekosystému a intenzita zrážky neprekročí infiltračný koeficient lesnej pôdy. V opačnom prípade (naplnená retenčná kapacita, vysoká intenzita zrážky) lesný ekosystém stráca schopnosť regulovať odtokový proces. Tento efekt dramaticky narastá s rastúcim celkovým úhrnom a rastúcou intenzitou zrážok nad hodnoty „kritických“ hydrických parametrov lesných ekosystémov. Preto je zrejme, že vysoký stupeň ochrany pred nepriaznivými účinkami povodňových katastrofických situácií je možné dosiahnuť len prostredníctvom optimálneho stavu využitia krajiny (land use) s vysokým podielom lesných ekosystémov a doplnkových biotechnických opatrení (prírodné a poloprírodné poldre, zasakovacie prvky v krajine, či správne naprojektovaný systém zahrádzania bystrín s adekvátnou regulačnou a akumulácnou kapacitou v danom povodí) /1/.

## VODOHOSPODÁRSKA FUNKCIA LESOV

Teória hodnotenia kvantifikácie vodohospodárskej funkcie lesov bola rozpracovaná v sedemdesiatych a osemdesiatych rokoch minulého storočia a to najmä v prácach Papánka /11/ a Midriaka /12/ ako aj v celom rade ďalších prác /7, 13, 14/. Bohužiaľ ani v priebehu ďalšieho obdobia sa nedospelo k jednoznačnému zadefinovaniu vodohospodárskej funkcie lesov, ktorá by bola východiskom aj pre harmonizáciu rôznych metodických prístupov pre ich hodnotenie. Najväčším nedostatkom doterajšieho teoretického rozpracovania tejto metodiky je slabá prepojenosť otázok vplyvu lesov a spôsobu ich obhospodarovania vo vzťahu k charakteristikám hydrologického odtoku. Táto skutočnosť je dôležitá najmä z pohľadu skutočnej využiteľnosti aktívnej či pasívnej vodohospodárskej funkcie v oblasti vodného hospodárstva, ktoré je *de facto* koncovým užívateľom tejto funkcie. Preto by v budúcnosti bolo žiadúce ďalej rozpracovať a terminologicky zjednotiť vodohospodársku funkciu lesov, ktorú treba chápať ako výsledok hydrických účinkov lesa a cieľavedomej aktivity v oblasti obhospodarovania lesov v danom povodí tak, aby ich výslednicou boli nami požadované, presne špecifikované parametre v hydrologickom povrchovom odtoku, a to z hľadiska kvantity vody (celkové množstvo odtečenej vody), kulminačných prietokov (variabilita odtoku  $Q_{max}$ ) a kvality vody (napr. kvalitatívne parametre pre pitnú vodu).

## SUCHO A VODNÝ STRES

Meteorologický a bioklimatologický slovník definujú sucho z viacerých hľadísk. V princípe však charakterizuje stav, znamenajúci v zásade nedostatok vody v pôde, rastlinách a atmosfére. Sucho tak predstavuje zložitý komplex činiteľov, ktorých pôsobením vzniká nedostatok vlhky. V krajine inak s dostatkom vody, sa chápe ako mimoriadny jav, prípadne sa považuje až za živelnú pohromu. Sucho sa v lesníctve chápe ako významný poveternostný stresový faktor lesných ekosystémov. Možno povedať, že až najvýznamnejší, nakoľko okrem priamych škôd prísuškami rastlín vyvoláva celý rad ďalších synergicky podmienených efektov (nadmerná transpirácia, úpal kôry, úhyn zmladenia a obnovy, predčasný opad asimilačných orgánov, predčasný nástup jesenných fenofáz rastlín, nedostatočný vývoj budúcoročných vegetatívnych a generatívnych púčikov, poškodzovanie a narušovanie jemných koreňových systémov, blokovanie mykorízy,

obmedzenie mikrobiálnej činnosti pôdy a jej zakysľovanie, nadmerná eutrofizácia vôd, premnoženie biotických škodcov a pod.)

Meteorologická a hydrologická literatúra obsahuje veľký počet rôznych postupov ako rajonizovať vlhkosť pomery pôdy v regionálnom i globálnom meradle (E. M. Oldekop, A. Meyer, J. Prescott, N.N. Ivanov, R. Lang, C.W. Thornthwaite, G.T. Seljaninov, W. Köppen, M. Konček a ďalší). Spoločným nedostatkom týchto návrhov je nezohľadnenie všetkých činiteľov, ktoré určujú vlhkosť charakteristiku pôdy. Prednosťou používania relatívnej evapotranspirácie a evapotranspiračného deficitu je skutočnosť, že tieto vyjadrujú funkcionálnu mediu všetkými zložkami rovnice energetickej a vodnej bilancie danej lokality (celkovú bilanciu žiarenia, teplotu a vlhkosť vzduchu, turbulentný stav atmosféry, schopnosť atmosféry prijať určité množstvo vodnej pary, teplotu vyparujúceho povrchu, atmosférické zrážky, zmenu kritickej vlhkosti pôdy počas roka a tok tepla v pôde) /15, 19/. Realizácia priamych meraní úhrnov evapotranspirácie v konkrétnych poľných podmienkach umožní tieto modelové výsledky ďalej spresňovať /17/.

Ako dokazuje práca Škvareninovej /18/ dôležitá je aj bioindikácia a konkrétna odozva sucha a vodného stresu, napríklad na fenologické prejavy lesných drevín. Na skupine 10 drevín (*Quercus robur* L., *Fagus sylvatica* L., *Tilia cordata* Mill., *Prunus spinosa* L.) sme určili fenologickú fázu 10% výskyt žltnutia a opadu listov. Z meteorologických prvkov sme zaznamenali údaje zrážok, počet tropických dní a ich periódy v mesiacoch jún až august. Medzi rokmi 2014 a 2015 vidieť výrazné rozdiely zrážkových a teplotných pomerov. Aj na základe výpočtu indexu sucha z klimateckej vodnej bilancie (zrážky – výpar) sme potvrdili stav, že rok 2014 (s výnimkou júna) bol výrazne vlhkejší ako sledované letné mesiace suchého roku 2015. V roku 2015 sa prejavili dlhé periódy tropických dní. Tieto extrémny posunuli skôr nástup žltnutia lipy a trnky o 24–31 dní a opad listov o 15–36 dní oproti roku 2014. Dub sa ukázal ako druh s vyrovnaným priebehom nástupu jesenných fenofáz v obidvoch rokoch /18/.

## ZÁVER

Voda a lesy predstavujú dôležité zložky pre život na našej planéte. Ich vzťahy sa v meniacich klimatických podmienkach čoraz častejšie dostávajú do pozornosti odbornej verejnosti. V poslednom období sa vyskytujú výrazné fluktuácie hlavne v teplotnom a zrážkovom režime krajiny počas roka. V jednom roku pozorujeme výskyt extrémnych javov, ktoré charakterizuje dlhotrvajúce obdobie sucha s vysokými teplotami, alebo vlny prudkých a výdatných dažďov. Sucho pri dlhodobom pôsobení ohrozuje biodiverzitu, mení vlastnosti stanovišť a v konečnom dôsledku aj areály drevín. Vplýva na viaceré fyziologické procesy a spôsobuje predčasné žltnutie listov už koncom leta /18/. Schopnosť jednotlivých drevín odolávať stresu z nedostatku či nadbytku vody je do určitej miery podmienená geneticky, ale aj vnútrodrohovou variabilitou. Odozvou na dlhodobé pôsobenie vonkajších stresových faktorov sú zmenené ekosystémy vegetačných stupňov a klimatické areály drevín.

## LITERATÚRA

- /1/ Calder, I., R., Aylward, B., 2006: Forest and Floods: Moving to an Evidence-based Approach to Watershed and Integrated Flood Management. IWRA, Water International, Volume 31, Number 1, March 2006.
- /2/ Chang, M.: Forest Hydrology: an introduction to water and Forests. Second edition. Published in CRC Press, Taylor & Francis Group, 2006: 499 p.
- /3/ Mind'áš, J., Škvarenina, J., 2010: Lesy Slovenska a voda. Vydavateľ: Technická univerzita, EFRA Zvolen, SEVŠ Skalica, 2010: 129 s.
- /4/ Mind'áš, J., Škvarenina, J., Střelcová, K. 2001: Význam lesa v hydrologickom režime krajiny. Životné prostredie, 35, 2007: 146-151.
- /5/ Mráček, Z., Krečmer, V.: Význam lesa pro lidskou společnost. Státní zemědělské nakladatelství, Praha 1975: 225 s.
- /6/ Valtýni, J.: Vodohospodársky a vodoochranný význam lesa. Lesnícke štúdie VÚLH vo Zvolene, 38, 1986: 68 s.
- /7/ Jařabáč, M., Chlebek, A.: More effective downstream flood protection in afforested watersheds. Zprávy Lesnického Výzkumu, 45, 2000: 23-28.

- /8/ Hrbík, M., Majlingová, A., Škvarenina, J., Kyselová, D. 2009: Winter snow supply in small mountain watershed as a potential hazard of spring flood formation. In: Bioclimatology and natural hazards., (Střelcová, K. et al (eds.)) Dordrecht, Springer Science+Business Media B.V., 2009: 119-128
- /9/ Brechtel, H. M.: Die Wasserwirtschaftliche Bedeutung des Waldes. Allgemeine Forstzeitschrift, 15, 1970: 78-80.
- /10/ Valtýni J.: Lesy a povodne. Vedecké štúdie 5/2001/A., Technická univerzita vo Zvolene, 2002: 46 s.
- /11/ Papánek, F.: Rajonizácia lesov podľa ich vodohospodárskej a pôdoochranej funkcie. ČZS P 16-531-115, Výskumný ústav lesného hospodárstva vo Zvolene, 1973: 170 s.
- /12/ Midriak, R.: Výskum užitočných funkcií ochranných lesov v horských oblastiach. ZS VI-5-6-05, Výskumný ústav lesného hospodárstva Zvolene, 1975: 176 s.
- /13/ Krečmer, V., Peřina, V.: Hospodárska opatření v lesích imisních oblastí s důležitými vodohospodárskými funkcemi, Evropská rada – Zprávy: Příroda 84, 10/1984: 169—176.
- /14/ Krečmer, V., Křeček, J.: Lesnatost jako hydrologická charakteristika povodí. Lesnictví, 1981, 27: 461-470.
- /15/ Tomlain, J.: Posudzovanie sucha a vlhka na území slovenska. In: Bioklimatologické pracovné dni: Extrémny prostredia (počasie) – limitujúce faktory bioklimatologických procesov, 2001.
- /16/ Škvarenina, J. – Tomlain, J. – Hrvol', J. – Škvareninová, J. 2009: Occurrence of Dry and Wet Periods in Altitudinal Vegetation Stages of West Carpathians in Slovakia: Time-Series Analysis 1951–2005. In: Střelcová, K. et al. (eds.) Bioclimatology and Natural Hazards, Springer Verlag, 978-1-4020-8875-9 (Print) 978-1-4020-8876-6 (Online) pp. 97-106
- /17/ Škvarenina, J., Tomlain, J., Hrvol' J., Škvareninová, J., Nejedlík, P., 2009: Progress in dryness and wetness parameters in altitudinal vegetation stages of West Carpathians: Time-series analysis 1951-2007. IDOJARAS - Quarterly Journal of the Hungarian Meteorological Service, 113, 2009: 47–54
- /18/ Škvareninová, J., Koristeková, K., Hlavatá, H., Váľková, M., Škvarenina, J.: Vplyv suchého a vlhkého vegetačného obdobia na nástup vybraných fenofáz lesných drevín. In: Rožnovský, J., Vopravil, J. (eds): Půdní a zemědělské sucho, Kutná Hora 28.–29. duben 2016: 420-427
- /19/ Strědová, H., Rožnovský, J., Středa, T., 2013: Predisposition of drought occurrence in selected arid areas of the Czech Republic. Contributions to Geophysics and Geodesy. 43, 2013: 237–252.

### Pod'akovanie

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory projektov VEGA: 1/0589/15, 1/0463/14 a APVV: APVV-0423-10, APVV-0303-11, APVV-15-0425 a APVV-15-0497.

## **JSOU STÁVAJÍCÍ DESKRIPTORY V DATABÁZÍCH VHODNÉ PRO URČENÍ ADAPTABILITY VŮČI SUCHU U OZIMÉ PŠENICE?**

### ***WHAT ARE THE APPROPRIATE DESCRIPTORS FOR THE DETERMINATION OF DRY ADAPTABILITY TO WINTER WHEAT?***

Milan Oldřich Urban, Ilja Tom Prášil

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.- Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně; olinekvcelar@vurv.cz

#### ***Summary***

Drought resistance of plant is a complex character that can be monitored by a number of sub descriptive descriptors. These data are currently available only in limited quantities and comprehensively in the Czech Republic nobody does not study or is not published. We face a difficult task for the evaluation of genetic resources to enrich the information on genetic resources efficiently monitored in the Czech Republic, applicable and conceptually in terms of probable climate change.

*Key words: wheat; descriptors, breeding, drought resistance*

#### ***Souhrn***

Suchovzdornost rostlin je komplexní znak, který může být sledován řadou dílčích popisných deskriptorů. Popisné deskriptory by měly plnit zásadní popisnou a informační funkci, sumarizovat data z různých geografických oblastí, z různých vědeckých disciplín (fyziologie rostlin, geologie, pedologie, výpočetní technika, modelování, dálkový průzkum apod.) a také integrovat zkušenosti agronomů, pěstitelů a přání konečných spotřebitelů či výrobců potravin. Tato data jsou v současné době k dispozici jen v omezeném množství a komplexně je v ČR nikdo nestuduje anebo nejsou publikována. Je nezbytně nutné podpořit důvěru šlechtitelů ve stávající systém popisu genetických zdrojů, aby práce a informace v databázích obsažené plnily svůj účel a aby se genetické zdroje nestaly „muzejními položkami“. Při hodnocení genetických zdrojů stojíme před nelehkým úkolem, jak obohatit informace o genetických zdrojích sledovaných v ČR účelně, aplikovatelně a koncepčně z pohledu pravděpodobných změn klimatu.

*Klíčová slova: pšenice; šlechtění, suchovzdornost, deskriptory*

## **ÚVOD**

V kontextu klimatických změn je kromě extrémních výkyvů počasí nejčastěji zmiňován problém spojený s nedostatkem vody. Mezi oblastmi, které byly v minulosti nebo stále jsou velmi zemědělsky produktivní, a kde v současné době hrozí nedostatek závlahové, spodní či povrchové vody, patří zejména Kalifornie a východ státu Washington, Argentina, JAR, Mali, Čad, Libye, severní Írán, sv Turecko, sz Španělska, Portugalsko, jih Francie a západní pobřeží Itálie, Slovinsko, balkánské země, Austrálie apod. (informace jsou dostupné na stránkách <http://www.drought.gov/gdm/content/welcome>; pro české podmínky [www.intersucho.cz](http://www.intersucho.cz)). Nepravidelně, ale s větší frekvencí, se očekává výskyt sucha ve střední a východní Evropě. Aktuálně v roce 2015 nastalo v ČR podle hydrologů nejhorší sucho za posledních 12 let a mělo podobný průběh jako v roce 2003.

Genetické zdroje pšenice (krajové odrůdy, staré materiály ale i plané příbuzné druhy) jistě hrají velmi důležitou roli ve šlechtění jako donory vlastností, mezi které již pragmaticky musíme počítat schopnost rostlin adaptovat se na sucho či mu uniknout raností. Do budoucna mohou hrát roli při genových manipulacích či jako zdroj pro minoritní plodiny či ekologické zemědělství – jsou totiž geneticky značně heterogenní a morfologicky shodné. Problém je, jak tyto zdroje najít a

účelně šlechtitelsky využít pro tvorbu vhodných odrůd pro změněné klimatické podmínky. Dokumentace o genetických zdrojích obecně byla nejdříve využívána jen pro výměnu informací mezi specialisty, popř. zahraničím. Až později byly databáze sofistikovaně zpracovány pro veřejné využití a teprve dnes je jejich význam řádně oceňován. Pasportní deskriptory (informace o názvu, původu, roku registrace či popsání apod. genetických zdrojů) byly poprvé v ČSSR použity v roce 1974 a řídí se přesnými pravidly. Dnes je GRIN Czech databáze (nahradila EVIGEZ) plně funkční a veřejně dostupná na <https://grinczech.vurv.cz/gringlobal/search.aspx>.

### **Věčný konflikt „úředník vs uživatel“ aneb jsou stávající deskriptory vhodné pro určení suchovzdornosti?**

Šlechtitelský proces začíná výběrem vhodných genotypů v „kontrolních“ (téměř optimálních) podmínkách, protože reprodukovatelnost selekce suchovzdorných šlechtitelských materiálů v méně příznivých podmínkách není vzhledem např. k střídajícím se formám sucha, ročníku, půdnímu profilu apod. snadná. Přesto, např. ve Francii šlechtitelé záměrně vybírají materiály v silných selekčních (např. pravidelně prosýchavých substrátů) podmínkách a jejich genotypy jsou vyhledávány. Odolnost genotypu proti abiotickému stresu (míra jeho adaptability) je poté určena na základě procenta přežití rostlin (přežití závisí na intenzitě a trvání stresu) a na základě míry snížení produktivity genotypu (můžeme sledovat např. stabilitu výnosu v různých ročníchích).

V současné době systém registrace nových odrůd upřednostňuje spíše fenotypovou (morfologickou) homogenitu porostů než fenotypovou plasticitu odrůd, přestože zemědělci dnes vyžadují právě plastické odrůdy (i když jich na trhu moc není). Široce adaptabilní plastické genotypy by měly být schopny rychle (reverzibilně), dostatečně a s minimálními výnosovými depresi reagovat na sucha a být výnosné i mezi-ročníkově. Současné odrůdy představují obvykle geneticky zcela shodné jedince a společenský požadavek na uniformitu (jež je přírodě vlastně cizí) bude nutno přehodnotit. Perspektivní může být i využití planých druhů, jejichž výhodou může být mono- či oligogenní založení (znak je řízen jedním či několika geny) přenášených znaků tolerance či kvality. Šlechtitelské využití planých druhů klasickými metodami hybridizace je však zdlouhavé.

Kurátoři genových bank data reakce odrůd na sucha nesledují (anebo nesdělují). Je to dáno tím, že získat informace o adaptabilitě odrůd k suchu je velmi náročné a/nebo naráží na nedostatek informací o tom, které deskriptory jsou v konkrétním agro-ekologicko-klimatickém rámci relevantní. Adaptabilitou v tomto kontextu rozumíme schopnost genotypu efektivně se přizpůsobit prostředí. Ani Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (ÚKZÚZ) mezi sledované znaky a vlastnosti nezařazuje informace o suchovzdornosti nově registrovaných nebo doporučených genotypů. Vyplývá to ze zaměření této instituce, jejímž prvořadým cílem je zabezpečit vhodný sortiment odrůd pro praxi na základě výsledků z pokusné polní sítě. Jiným důvodem, proč tato data nejsou k dispozici je potřeba metodologicky tento problém zpracovat (standardizovat pro odrůdy, průběh počasí, vliv ročníku a korigovat výnosovou depresi) a také ověřit výsledky standardizace v praxi. Kurátoři kolekcí genetických zdrojů si v této souvislosti mohou klást otázku, jak hodnotit schopnost odrůdy reagovat na stres a jak tuto schopnost vyčíslit a vložit do popisných údajů tak, aby údaj snesl srovnání s jinými údaji naměřenými na odrůdách pěstovaných v jiných prostředích, státech apod. Je tedy nutné dobře specifikovat rozdíly znaků mezi kontrolními a stresovanými (nebo pěstovanými v nepříznivých podmínkách) rostlinami jednotlivých genotypů. Rostlinní a produkční fyziologové zde mohou být velmi užiteční, pokud rozpoznají genotypově specifické či aklimační fyziologické parametry, skutečně ovlivňující vhodnost daného genotypu pro blíže specifikovanou produkční oblast (např. každoročně vysýchavé půdy jižní Moravy anebo rychle nastupující sucha v Polabí a na Rakovnicku či méně úrodné a chladné oblasti Vysočiny apod.). Mezi tyto parametry namátkou může patřit pokryvnost listoví, ojínění listů, postavení listů, reakce průduchů na závan horkého suchého vzduchu, mohutnost kořenové soustavy a vodivost kořenů, výše redukce výnosotvorných prvků atp. Tento



přístup (tedy vyhledat znak spojený se „suchovzdorností“) sice vypadá jednoduše, ve skutečnosti ovšem zahrnuje komplexní charakterizaci daného genotypu, zjištění dědivosti (heritability, dědivost daná genetickými faktory) konkrétních znaků spojených s adaptabilitou k suchu a popis chování odrůdy před, během či po- působení abiotického faktoru navíc v průběhu alespoň dvou makrofenologických fází (u obilnin např. doba prodlužovacího růstu a nalévání zrna). Další důležitou podmínkou je také testování genotypů přímo v místě budoucí kultivace, protože hledaný znak by se měl projevit dostatečně ve všech možných „scénářích“.

Některé popisné deskriptory (publikace: Klasifikátor genus *Triticum* L., VÚRV, Praha, 1985), které mají vztah k reakci plodin na suché podmínky (pozitivní +, negativní -, či diskutabilní reakce závislá na plodině, ročníku či vývoji sucha  $\pm$ ) jsou uvedeny v Tab. 1.

Tab. 1: Deskriptory, které mají vztah k suchovzdornosti

| Morfologický (1-19), biologický (44-69) či hospodářský (74-84) deskriptor | Vztah znaku k suchovzdornosti | Popis znaku a jeho vliv na suchovzdornost genotypů  |
|---|-------------------------------|---|
| <b>1 – Rostlina – tvar trsu</b>   | $\pm$                         | Záleží na typů půd, hloubce spodní vody; souvisí s deskriptorem č. 14.  |
| <b>2 – Rostlina – kořenová soustava</b>                                   | $\pm$                         | Záleží na hloubce spodní vody, úživnosti půd, poměr root:shoot + RAI a energetické náročnosti tvorby kořenů pro jednotlivé odrůdy; vyšším podílem kořenů vynikají odrůdy s vyšší produktivní hustotou a odrůdy staršího sortimentu (vysokého vzrůstu); dubnové přísušky zvyšují RAI u ozimých pšenic. V současné době se ovšem více než o hloubce kořenů hovoří o architektuře kořenové soustavy, schopnosti kořenů rychle vést vodu (činnost aquaporínů) a překonat např. suchou vrstvu podloží. Přesto genotypy, které ještě před začátkem sucha dokáží dosáhnout na spodní vodu, lépe metaají a mají i vyšší fotosyntetickou účinnost. Kořeny by se měly „měřit“ v době největšího nárůstu biomasy (odnožování, prodlužování stonku, metání apod.) |
| <b>3+4 – Rostlina – délka, délka horního internodia</b>                   | $\pm$                         | Má vztah k HI a LAI; délka stébla je odrůdový znak a není vázána se znaky horního patra stébla a nespojuje ani s vegetační periodou; podíl délky horního internodia na délce stébla je ovlivněn počasím v době jeho tvorby. Krátkostébelné odrůdy tvořící výnos hustotou a počtem odnoží mohou na stres suchem reagovat snížením výnosu, zatímco dlouhostébelné odrůdy kompenzačního typu reagují lépe (hlavně při zvýšené intenzitě pěstování).  |
| <b>14 – List – porost pokryvnost (LAI)</b>                                | $\pm$                         | LAI je ovlivněno výživou (kvantitativní dusík) a průběhem počasí; vyšší LAI snižuje výpar z povrchu půdy, ale může u méně citlivých odrůd k suchu rychle snižovat zásobu půdní vody vyšší transpirací a rostliny se navíc zastíňují, tudíž se snižuje pronikání PAR do porostu a tedy výnos. Zajímavá modifikace je sledování zonální LAI (z čepelí horních dvou listů na produktivním stéble); do našich vlhkých oblastí je vhodný vyšší LAI a nižší pro sušší oblasti. Lepšího hospodaření s vodou u pšenice spíše dosáhneme nižšími dávkami dusíku.  |

Tab. 1 pokračování: Deskriptory, které mají vztah k suchovzdornosti

|  |   |  |
|--|---|--|
| <b>15 – List – ojínění</b><br><b>19 – Klas – ojínění</b> | + | Vodivost kutikuly a epikutikulárních povlaků (vosky, kutin) se výrazně podílí na rychlosti transpirace (5-20 % z celkové transpirace) a tedy i výpar vody z listů. Albedo (odražené = neabsorbované záření) je ovlivněno postavením listů a vertikální strukturou porostu (vliv sponu a výsevu).   |
| <b>44 – Vegetace – charakter</b>                         | ± | Ozimy lépe snáší sucho hlavně díky vytvořené kořenové soustavě a akumulaci asimilátů v kořeni, stonku či listech. Proti tomu jařiny mají kratší vegetační dobu a mohou být sety v příznivých částech roku. Za posledních cca 50 let šlechtění vidíme zkracování  |
| <b>45 – Růst počáteční rychlost</b>                      | ± | Vliv rychlosti počátečního růstu není zcela jasný a vyžaduje zevrubný výzkum; rostliny pomalu rostoucí mohou v nepříznivých podmínkách uschnout a naopak. Rostliny rychle rostoucí zase mohou vyčerpat veškerou půdní vodu příliš rychle a špatně přezimovat či vytvořit nekvalitní výnos. U jařin je ovšem rychlý růst výhodou.   |
| <b>46 – Vegetační doba – odrůda</b>                      | ± | Ranost je považována za vhodnou strategii pro podmínky klimatu ČR, ovšem vzhledem k očekávaným změnám klimatu (nerovnoměrné srážkové úhny, vyšší srážky v pozdním létě, chladnější klima během dozrávání) budou vhodnější pozdní odrůdy.   |
| <b>47 – Vegetační doba – metání-zrání</b>                | - | Pouze krátká vegetační doba mezi metáním a zráním zvyšuje schopnost plastické odrůdy uniknout období sucha. I v této oblasti je nutný další výzkum.  |
| <b>48 – Vyzimování – odolnost (polní-přežívá)</b>        | + | Jde o komplexní znak odolnosti odrůdy na daném stanovišti; tzv. „zimní sucho“ vzniká vlivem neustálého odpařování vody způsobeného sublimací, větrem a slunečním zářením. Při zamrznutí půdy trpí rostliny nedostatkem vláhy, při slunných dnech bez sněhové pokrývky transpirují a dříve usychají.  |
| <b>49 – Mráz – odolnost (testy-přežívá)</b>              | + | Osmotické přizpůsobení odrůd (akumulací kompatibilních solutů) jako reakce na otužení a zakládání záložních pupenů zvyšuje adaptabilitu i k nedostatku vody.   |
| <b>50 – Poléhání – odolnost</b>                          | + | Jedná se spíše o nepřímý ukazatel, vztahující se ke schopnosti „unést“ klas v podmínkách sucha (podobně jako 54 – Výdrol-odolnost); rostliny produkující méně gibberelinů jsou odolnější k poléhání (GB) – jejich internodia a listy rostou tudíž pomaleji, GB také zkracují juvenilní období rostlin a indukují kvetení u dlouhodobých rostlin. Vztah odolnosti k poléhání a suchovzdornosti není zcela jasný.  |
| <b>51 – Sucho – odolnost</b>                             | ? | Není zřetelné, na základě kterých parametrů, znaků či výsledků byla data při hodnocení genových zdrojů generována, zda se dají nekriticky přijímat a co znamenají. Je ovšem jasné, že je nutno genotypy sledovat po více ročníků na několika lokalitách a sledovat „ideotyp“ suchovzdornosti.  |
| <b>58-69 – Choroby a škůdci</b>                          | + | Náchylnost k chorobám a škůdcům může ale nemusí být v přímé souvislosti s plasticitou odrůd (viz. tab. 2); přirozenou ochranu rostlině zajišťují pletiva a specifické látky (sekundární metabolity – terpeny, fenolické látky, glukosinoláty, alkaloidy a další), které hrají také svoji roli v adaptabilitě k suchu. Metabolické dráhy abiotických a biotických stresů spolu v mnohém komunikují (signálními molekulami – např. ABA, oxid dusný, systemin) skrze tzv. „crosstalk“. Předpokládá se, že chorobami napadený porost více transpiruje než porost zdravý. |

Tab. 1 pokračování: Deskriptory, které mají vztah k suchovzdornosti

|  |   |  |
|--|---|--|
| 74-77 – Porost – počet rostlin; počet klasů; počet zrn; výnos zrna | - | Jedná se o základní výnosotvorné prvky pšenice, které vychází z výše zmíněných znaků a jsou výsledkem spolupůsobení mnoha faktorů, mj. nedostatku vody. Měřením výnosové deprese můžeme vyčíslit tzv. CWSI. Jednostranné požadavky šlechtitelů na tyto deskriptory pravděpodobně snižují schopnost odrůdy plasticky reagovat na prostředí. Při stresu suchem se u pšenice ozimé zvyšuje tvorba bílkovin v zrně a snižuje se HTZ. |
|--|---|--|

V pěstitelské praxi (příručka ÚKZÚZ, obilniny a luskoviny, 2015) se rozlišují **čtyři základní typy odrůd** podle tvorby výnosu: 1) výnos je tvořen produktivitou klasu, nebo 2) počtem klasů na m<sup>2</sup>, nebo 3) počtem zrn na m<sup>2</sup>, anebo 4) tzv. kompenzací (rovnoměrně všemi výnosovými prvky). Rozdíly mezi těmito kategoriemi odrůd (1-4) jsou však na úrovni deskriptorů tak malé, že převedení některých znaků do devítibodové stupnice (jak je běžné pro deskriptory) tyto rozdíly není schopno podchytit. Tyto typy by se mohly lišit i v reakci na sucho (reakce závisí především na časovém hledisku – kdy sucho přijde, jak dlouho bude trvat a jaký další faktor se k němu přidruží). Jde o „hozenou rukavici“ vědcům a mezi-oborovým výzkumným týmům, kteří by měli najít nejvhodnější deskriptory, vztahující se k adaptabilitě k suchu na stanovištích s různým průběhem počasí.

Navrhujeme tedy, aby genetické zdroje hodnocené převážně podle deskriptorů uvedených v Tab. 1 či Tab. 3 byly sledovány nejen v podmínkách dočasného ale i trvalejšího nedostatku vody, a aby tato data byla standardizována min. pro celou oblast ČR. U každého genotypu může vystupovat do popředí jiný znak nebo jiná kombinace znaků, charakterizující jeho produktivitu a adaptaci. Snahou by mělo být revidovat všechny deskriptory, vytvořit skupiny deskriptorů ovlivňujících určitou část adaptability k suchu a tím ověřit jejich přínos k odolnosti genotypů vzhledem ke klimatickým změnám. Tyto revidované deskriptory je poté možno využít při prohledávání různých genetických databází za účelem nalezení odolnějších genotypů. Kupříkladu v Tab 2. je uveden výstup databázového programu GRIN Czech při vyhledávání znaku 51 – Sucho – odolnost (9 – velmi vysoká). Za využití tohoto filtru GRIN Czech nalezne pouze tři zdroje pšenice ozimé (nízká odolnost proti suchu v databázi pšenice ozimé obsažena není). Vzhledem k výše uvedeným skutečnostem (např. i definice suchovzdornosti chybí) není divu, že nevíme, proč jsou genotypy označeny jako suchovzdorné (na základě čeho byly takto označeny) ani pro jakou oblast je tento deskriptor relevantní.

### **Které nové popisné deskriptory mohou být užitečné při hledání plodin adaptovaných k sušším podmínkám?**

Tolerance (rezistence) je komplexem znaků, který kombinuje různé mechanismy adaptace. Komplexními znaky, které vypovídají nejen o vlivu sucha na jednotlivé genotypy, jsou samozřejmě výnos zrna, množství biomasy a kvalita produktu v podmínkách omezeného množství vody. Výnos jako znak má ovšem nižší heritabilitu a je závislý na podmínkách prostředí. Fenotypové projevy rostlin adaptovaných na stres sucha jsou ale (dle dosavadního výzkumu) v rozporu s očekáváním zemědělců: tolerantní genotypy mají pomalejší růst, nižší produkci biomasy a výborně fungující regulační mechanismy adaptace (např. fotosyntetická aklimace, akumulace dehydrinů apod.). Genetické zdroje se dnes také mohou hodnotit na základě dat získaných díky sofistikovaným přístrojům (např. gazometrická měření, transport asimilátů, tedy vztahy source-sink, aktivita enzymů a stabilita proteinů apod.). Tato data je časově náročné získat a jsou zatížena určitou chybou měření, obsluhy apod. (spíše změříme jednotky genotypů/den) a při jednorázovém užití mají omezení (často měříme jen změny počasí), nehledě k výše zmíněné heterogenitě vstupů i výstupů (mikroklimatická specifika porostů). Tento přístup tedy není vhodný pro selekci a

obecnou charakterizaci genotypů, ale pro získání detailních informací o několika vybraných „slibných“ genotypech.

Tab. 2: Charakterizace „suchovzdorných“ odrůd pšenice ozimé, vyhledaných databázovým programem GRIN Czech 1. 9. 1

| Identifikátor     | Název<br>(původ, rok)                | Znaky, přispívající k suchovzdornosti/citlivosti odrůdy   |
|-------------------|--------------------------------------|---|
| <b>01C0104143</b> | Genial<br>(Francie, 1990)            | Polovzpřímený trs, ojínění listu vysoké, počáteční růst rychlý, vegetační doba pozdní, odolnost k vyzimování vysoká, mrazuvzdornost vysoká, poléhání - odolná, velmi citlivá reakce na giberelin (neobsahuje geny zakrslosti), padlí travní vysoce odolná, rez plevová imunní, nízký počet rostlin na m <sup>2</sup> , střední počet klasů, střední počet zrn, HTZ střední-vysoká, HI – vysoký. Pravděpodobně se jedná o typ 4. |
| <b>01C0101875</b> | Mexique 50 x B 21<br>(Francie, 1969) | Informace chybí.  |
| <b>01C0105665</b> | Mv Szigma<br>(Maďarsko, 1995)        | Rozprostřený trs, vegetační doba metání-zrání velmi krátká, odolnost k vyzimování vysoká, mrazuvzdornost vysoká, rez plevová a travní - rezistentní, HTZ vysoká, HI vysoký, klas – počet zrn vysoký, necitlivá ke giberelinu (obsahuje geny zakrslosti). Pravděpodobně se jedná o typ 1.  |

Pokud bychom chtěli výnos, biomasu či kvalitu produkce prohlásit za popisné deskriptory označující odolné genotypy napříč genetickými databázemi, potom by ovšem tyto musely být založeny na výsledcích získaných ve standardizovaných podmínkách (jak nařizují Standardy 4.6 a 5.7 v *Genebank Standards for Plant Genetic Resources for Food and Agriculture*, FAO 2013), při určitém průběhu počasí a při nedostatku vody v přesně definovaných fázích vývoje tak, aby sucho ještě nesetřelo odrůdové rozdíly, ale jeho vliv byl již markantní. Nebo by tato data musela být korelována k jinému znaku (a tak částečně standardizována, jak o tom pojednáváme výše). Otázkou standardizace vyhodnocení popisného deskriptoru č 51 – Sucho - odolnost by bylo vhodné se zabývat v součinnosti s rostlinnými a produkčními fyziology, ekology, agronomy a dalšími odborníky.

Na základě studia odborné literatury jsme se pokusili o stručný výčet nových „klasifikátorů“, na které by se mohli kurátoři genetických sbírek pšenice soustředit. Navrhujeme znaky, které se prozatím v kolekcích nehodnotí, ale u pšenice ozimé mohou šlechtitelům a dokonce pěstitelům poskytnout zajímavá orientační data o fenotypu (vzhled jedince, který odráží reakci genotypu na prostředí) a nejsou přitom časově ani finančně příliš náročné na získání a zpracování. Nejnáročnější je stanovení diskriminace izotopů uhlíku. Uvedený výčet ovšem zdaleka není konečný a bude se dále vyvíjet např. s rozvojem nedestruktivních fenotypovacích metod studia suchovzdornosti, ověřováním funkčních markérů odolnosti či adaptabilních znaků. Protože jde o znaky s různou dědivostí a různým projevem, není možno do tabulky uvést sloupec, který by jednoznačně hovořil o vlivu daného deskriptoru k suchovzdornosti genotypu. V tomto ohledu je nutný další výzkum, který identifikuje nejvhodnější metodu (či kombinace metod) selekce vhodných kandidátních genotypů.

Tab. 3: Návrh popisných deskriptorů, sloužících k popisu genetických zdrojů pšenice ozimé

| Název   | Co se měří/<br>Čím/Heritabilita znaku   | Vztah k suchovzdornosti   | Měření  |
|---|---|---|---|
| <b>Diskriminace <math>^{13}\text{C}</math><br/>(<math>\delta^{13}\text{C}</math>)</b> | Difúzní limitace průduchů ve vztahu k dostupnosti vody/AMS/ vysoká heritabilita   | Vyšší hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ značí nižší průduchovou vodivost než rychlost fotosyntézy (nižší využití vody - WUE). Čistá selekce na vyšší WUE ovšem vybírá genotypy s nižší akumulací biomasy a výnosem a genotypy pomalé ve vývoji.   | listy,<br>stonky,<br>obilky<br>(destruktivní)   |
| <b>Teplota porostu/listů</b>  | Měří se povrchová teplota pletiv/bezdotykovým infra-teploměrem nebo kamerou/střední heritabilita  | Korelována ke schopnosti genotypu extrahovat vodu z půdního profilu (vyšší zásobení vodou $\Rightarrow$ vyšší transpirace $\Rightarrow$ nižší teplota listů)  | jednotlivé listy,<br>porost<br>(nedestruktivní) |
| <b>Integrální listová pokrývnost (LAD)</b>  | LAD je vyjádření změny LAI v čase/skenerem na listy/heritabilita neznámá  | Vyjádření indexu listové plochy v časovém měřítku v souvislosti s délkou vegetace (raností) odrůd je důležitým ukazatelem tolerance k nedostatku vody.  | listová plocha<br>(destruktivní)                |
| <b>(Hyper-) Spektrální reflektance</b>  | Odráživost rozdílných vlnových délek světla od porostu (listů). Existuje min. 15 používaných indexů/ručním přístrojem nebo spektrální kamerou/heritabilita závisí na sledovaném parametru | Jde o nepřímé vyhodnocení obsahu různých látek (proteiny, lignin, celulóza, cukry, škrob apod.), které mají vztah k adaptaci genotypu na prostředí. Tyto hodnoty mohou korelovat např. k množství chlorofylu, fotosyntetické kapacitě, obsahu karotenoidů, senescenci, obsahu vody, dusíku apod.                  | porost,<br>list<br>(nedestruktivní)             |
| <b>Fluorescence chlorofylu (světelný nebo temnostní)</b>                              | Fluorescenční signál z PSII/ručními přístroji/heritabilita střední  | Měřením fluorescence chlorofylu lze rychle a přesně stanovit rychlost toku energie v membráně tylakoidů během fixace $\text{CO}_2$ . Důsledky sucha ovlivňují stabilitu proteinů a přenašečů elektronů v membráně. Proto je na základě fluorescence možno selektovat genotypy s lepší odpovědí k nedostatku vody. | list<br>(nedestruktivní)                        |

Tab. 3 pokračování: Návrh popisných deskriptorů, sloužících k popisu genetických zdrojů pšenice ozimé

|  |  |   |  |
|--|--|---|--|
| <b>Relativní růst ve stresu suchem (RGR, NAR, LAR)</b> | Váží se změny čerstvé či suché biomasy jako genotypová reakce na sucho/analytickými váhami, skenerem na listy/heritabilita střední až vysoká | Stres sucha snižuje růst a vývoj jedince tím, že negativně působí na příjem živin, vznik asimilátů apod. Selektce genotypů, které jsou schopny neredukovat růst a výnos ve stresu (jsou méně citlivé ke snížení obsahu vody v půdě) a max. využít dostupných zdrojů je žádoucí. | celistvá rostlina = listy (listová plocha), stonky, klasy, kořeny (destruktivní) |
| <b>Rozpustné karbohydráty (WSC)</b>                    | Rezervy energie ve stonku i listech/HPLC nebo kolorimetrickou metodou s anthronem/heritabilita střední                                       | WCS působí jako zásoba asimilátů během stresu, kdy je fotosyntetická aktivita snížena (source) ale poptávka po fotosyntátech (sink) stále je.   | list, stonk (destruktivní)   |

## ZÁVĚR

Suchovzdornost rostlin je komplexní znak, který může být sledován řadou dílčích popisných deskriptorů. Popisné deskriptory by měly plnit zásadní popisnou a informační funkci, sumarizovat data z různých geografických oblastí, z různých vědeckých disciplín (fyziologie rostlin, geologie, pedologie, výpočetní technika, modelování, dálkový průzkum apod.) a také integrovat zkušenosti agronomů, pěstitelů a přání konečných spotřebitelů či výrobců potravin. Tato data jsou v současné době k dispozici jen v omezeném množství a komplexně je v ČR nikdo nestuduje anebo nejsou publikována. Je nezbytně nutné podpořit důvěru šlechtitelů ve stávající systém popisu genetických zdrojů, aby práce a informace v databázích obsažené plnily svůj účel a aby se genetické zdroje nestaly „muzejními položkami“. Při hodnocení genetických zdrojů stojíme před nelehkým úkolem, jak obohatit informace o genetických zdrojích sledovaných v ČR účelně, aplikovatelně a koncepčně z pohledu pravděpodobných změn klimatu.

## LITERATURA

- /1/ Pavlová L. Fyziologie rostlin, Karolinum, 2005
- /2/ Bareš I. et al. Klasifikátor genus TRITICUM L., Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha, 1985
- /3/ Petr Jiří ed., Weather and Yield, Developments in Crop Science 20, Elsevier, 1991
- /4/ Obilniny a luskoviny, Seznam doporučených odrůd pšenice ozimá, ječmen jarní, ječmen ozimý, tritikale ozimé, oves setý, hrách polní. ÚZKUZ Národní odrůdový úřad, 2015
- /5/ Foltýn J. Pšenice – systém. Ministerstvo zemědělství a výživy ČSR, 1989
- /6/ Pask A. et al. Physiological breeding II: A field guided to wheat phenotyping, CIMMYT, 2011
- /7/ Rybka K et Zygmunt N. Physiological requirements for wheat ideotypes in response to drought threat. Acta Physiol Plant, 37:97, 2015

## ZKRATKY

- ABA – kyselina abscisová  
AMS – Accelerator Mass Spectrometry  
CWSI – crop water stress index – index vodního stresu u plodin  
LAI – leaf area index – index listové plochy  
LAD – leaf area duration – integrální listová plocha  
RAI – root area index – index kořenové biomasy (objemu)  
HI – harvest index – sklizňový index  
WSC – water soluble carbohydrates – ve vodě rozpustné karbohydráty (cukry)  
WUE – water use efficiency – efektivita využití vody

PRI – photochemical reflectance index – fotochemický index reflektance  
PAR – photosynthetically active radiation – fotosynteticky aktivní radiace  
PSII – fotosystém II v thylakoidní membráně chloroplastu  
NDVI – normalized difference vegetation index – normalizovaný index vegetace  
NAR – net assimilation rate – čistý výkon fotosyntézy  
LAR – leaf area ratio – index listové plochy  
RGR – relative growth rate – relativní rychlost růstu  
HTZ – hmotnost tisíce zrn

# STAROSTLIVOSŤ O DREVINY PRI BUDOVANÍ HRÁDZÍ

## TREE CARE IN DAMS CONSTRUCTION

Gabriela Juhásová<sup>1</sup>, Dušan Juhás<sup>2</sup>, Milada Magušinová<sup>3</sup>, Monika Menyhartová<sup>3</sup>, Marek Kobza<sup>1</sup>, Radovan Ostrovský<sup>1</sup>, Peter Čadek<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Ústav ekológie lesa SAV Zvolen, Pobočka biológie drevín Nitra, Akademická 2, 949 01 Nitra, gabriela.juhasova@savzv.sk; radovan.ostrovsky@savzv.sk; marek.kobza@savzv.sk

<sup>2</sup> Podnikateľ, Beethovenova 9, 949 01 Nitra, dusan.juhas@gmail.com

<sup>3</sup> GREENERY s.r.o. Novomeského 507/59, 94912 Nitra, milada.archi@gmail.com; monika.meny@gmail.com

<sup>4</sup> Slovenský vodohospodársky podnik, Radničné námestie 8, 969 55 Banská Štiavnica, Peter.Cadek@svp.sk

### Summary

The subject of this research were woody plants on the left side of the dam near the Nitra river, in the section from the R1 motorway to the Výčapy-Opatovce bridge. All the trees were rated in terms of their damage degree. In total, 734 trees were rated. The most frequently encountered species were *Juglans regia* (50pcs), *Fraxinus pennsylvanica* (90pcs), *Prunus avium* (71pcs), *Prunus sp.* (36pcs), *Populus nigra Italica* (68pcs), *Populus x canescens* (94pcs), *Populus nigra* (178pcs). The rating was done because the trees are located in an environment with a high flood risk. In case of breakage of the protective dam of the town of Nitra in the section of rkm 62,000 – 77,000, the dam was recategorized into the I. category in accordance with the decree No. 458/2005 Z.z. The need for the reevaluation of the root system of the trees growing near the dam arose from the aforementioned fact, as well as its influence on the creation of preferred seeping paths through the dam or its subsurface

*Key words: woody plants, dam, degree of damage*

### Súhrn

Predmetom skúmania boli dreviny na ľavej strane hrádze pri rieke Nitra v úseku od cesty R1 po most Výčapy Opatovce. Všetky stromy sa hodnotili z hľadiska ich stupňa poškodenia. Celkove sa hodnotilo 734 stromov. Najviac boli zastúpené druhy *Juglans regia* (50ks), *Fraxinus pennsylvanica* (90ks), *Prunus avium* (71ks), *Prunus sp.* (36ks), *Populus nigra Italica* (68ks), *Populus x canescens* (94ks), *Populus nigra* (178ks). Hodnotenie drevín sa robilo z toho dôvodu že boli na území potencionálne zaplavované vodou. v prípade pretrhnutia ochrannej hrádze Nitry v úseku rkm 62,000 – 77,000 bola táto homogénna ochranná hrádza na ochranu pred povodňami prekategORIZOVANÁ do I. kategórie podľa vyhlášky č. 458/2005 Z.z. Z uvedeného faktu vyplynula potreba prehodnotenia vplyvu koreňového systému drevín rastúcich v blízkosti telesa hrádze a ich vplyvu na vytváranie preferovaných priesakových ciest telesom hrádze alebo jeho podloží.

*Kľúčové slová: dreviny, hrádza, stupeň poškodenia*

### ÚVOD

V predložennom príspevku chceme odpovedať na otázku, prečo sa musí robiť rekonštrukcia hrádze pri rieke Nitra. Vzhľadom na hodnotu územia potenciálne zaplaveného vodou v prípade pretrhnutia ochrannej hrádze rieky Nitra v úseku rkm 62,000 – 77,000 bola táto homogénna ochranná hrádza na ochranu pred povodňami prekategORIZOVANÁ do I. kategórie podľa vyhlášky č. 458/2005 Z.z. Z uvedeného faktu vyplynula potreba prehodnotenia vplyvu koreňového systému drevín rastúcich v blízkosti telesa hrádze a ich vplyvu na vytváranie preferovaných priesakových ciest telesom hrádze alebo jeho podloží. Na základe kategorizačného posudku boli



identifikované dreviny rastúce v blízkosti ochrannej hrádze, ktoré môžu mať negatívny vplyv na stabilitu telesa ochrannej hrádze. V súlade so zákonom č. 543/2002 Z.z. o ochrane prírody bol orgánom verejnej správy odsúhlasený výrub drevín spolu s určenou náhradnou výsadbou. V zmysle projektovej dokumentácie budú vysadené dreviny v druhovom zložení, ktoré zodpovedá pôvodnej druhovej skladbe a to odrastenými sadenicami, ktoré nevytvárajú prekážku prúdenia vôd a ich kmeň je jednoducho obtekaný.

Predmetom skúmania boli aj korene stromov, ktoré rastú pri hrádzi a posúdenie vplyvu koreňov po ich asanácii. V dostupnej literatúre sme zistili, údaje o koreňoch a ich význame v prácach viacerých autorov, ktorí sa zaoberajú touto problematikou.. V lesníckej dendrológii /1/ sú podrobne charakterizované korene stromov. Uvádza sa, že vývoj koreňovej sústavy sa odlišuje v závislosti od druhu stromu, podmienok prostredia ako napr. kvalita a hĺbka pôdy, výška hladiny podzemnej vody. Trvale si svoj ráz zachovávajú len niektoré druhy drevín. Koreňová sústava siaha často do značnej hĺbky (5 až 6 m). O koreňoch sa zmieňujú aj /7, 3/. Uvádzajú, že vplyv koreňov na deštrukciu a poškodzovanie okolitých stavieb sa prejavuje predovšetkým v ílovitých zeminách. Tieto zeminu v čase sucha vysychajú, čiže zvrášťujú sa a tým menia aj svoj objem. Korene z hľadiska ich poškodenia biotickými a abiotickými škodlivými činiteľmi si všímajú /5, 6/. V čase veľkých dažďov dochádza u nich k opačnému javu - nabotnávaniu a tým k zväčšovaniu objemu /3/. Ďalej je potrebné rozlišovať koreňový systém jednotlivých stromov. Riedky koreňový systém (do 100 m/m<sup>2</sup>) má napr. breza, javor a borovica. Stredne hustý koreňový systém jednotlivých stromov (do 300m/ m<sup>2</sup>) má napr. lipa, topoľ. Hustý koreňový systém (do 600 m/ m<sup>2</sup>) má len jaseň. V zahraničí sa skúmal vplyv vzdialenosti vysadenia jednotlivých stromov na okolité stavby. Bolo dokázané, že napríklad vzrastlý topoľ, ktorého výška je 25 m, na 100 % negatívne vplýva na objekty, ktoré sú od neho vzdialené menej ako 30 metrov /3../ Výskyt hubových a hmyzích škodcov v brehových porastoch stredného Hrona a Slatiny hodnotili /5/. Zhoršujúci sa zdravotný stav brehových porastov je vyvolaný aj tým, že najmä topole sú vekovo prestarlé a tak sa stávajú veľmi disponnými pre škodcov. Veľmi často sa vyskytujú *Dothichiza populea* Sacc. et Briard *Cryptodiaporthe populea* (Sacc.) Butin, j *Phellinus igniarius* (L.) Quél. a *Armillaria* sp. V uvedených publikáciách práci nie sú údaje o zmene rozmerov koreňov, ani údaje o dĺžke a šírke koreňov hodnotených stromov. Pri riešení projektov, ktoré sa týkajú budovania hrádzí (Hydroinvest s.r.o. Bratislava, 05/2007, Zámer EIA, Pedohyg Bratislava, 04/2008, Rekonštrukcia protipovodňovej línie v Štúrove sú údaje o výrube a odstránení humusu, a iné prípravné práce pred budovaním hrádze, bez údajov o hodnotení zdravotného stavu drevín. V projekte OZ Biosféra [www.biosferaklub.info](http://www.biosferaklub.info) /9/, sa uvádza, že po výrube jednotlivých stromov zostávajú živé pne. Väčšina obyčajných pňov hynie po 1 – 2 rokoch po asanácii stromu. Neskôr z pňov vyrastajú pňové a koreňové výmladky. Tieto následne môžu poškodzovať svah.

## MATERIÁL A METÓDY

Do hodnotenia boli zahrnuté gaštanové sady a porasty z juhozápadného Slovenska a južnej Metodika hodnotenia drevín sa realizovala podľa /5/.

### **A/ Inventarizácia stromov bude obsahovať nasledovné údaje:**

- názov stromu (latinský, slovenský),
- obvod kmeňa vo výške 130 cm nad zemou,
- stupeň, poškodenia celého stromu.

### **B/ Inventarizácia pňov bude obsahovať nasledovné údaje:**

- počet pňov po asanovaných stromoch,
- výška a šírka pňov,
- stupeň poškodenia pňov 1 až 4,
  1. stupeň – začiatok rozkladu pňa suchou hnilobou,
  2. stupeň – poškodená je cca ½ plochy kmeňa,

3. stupeň – poškodená je cca 2/3 plochy kmeňa,

4. stupeň poškodený je celý kmeň už sa nedajú zaznamenať ich rozmery (výška a šírka).

### C/ Vyhodnotenie vplyvu koreňov na plánovanú stavbu hrádze

- vplyv spráchnivených pňov na stabilitu svahu,
- vplyv koreňov po asanácii stromov,
- návrh opatrení.

Počet pňov, ich výška a šírka sa využijú pri vypracovaní nákladov na ich asanáciu.

### D/ Grafickú časť inventarizácie drevín vypracujú odborné pracovníčky firmy GEENEERY /8/

Celkový zdravotný stav a stupeň poškodenia drevín sa hodnotilo podľa autorov /4 / 6 bodovou stupnicou.

Spoločenská hodnota drevín sa spracuje podľa Zákona č. 543/2002 Z.z. o ochrane prírody a krajiny a Vyhlášky č. 24/2003 Z.z. prílohy č. 33.

Prirážkové indexy sa použijú podľa Z.z. o ochrane prírody a krajiny a Vyhlášky č. 24/2003 Z.z. Prílohy č. 35.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

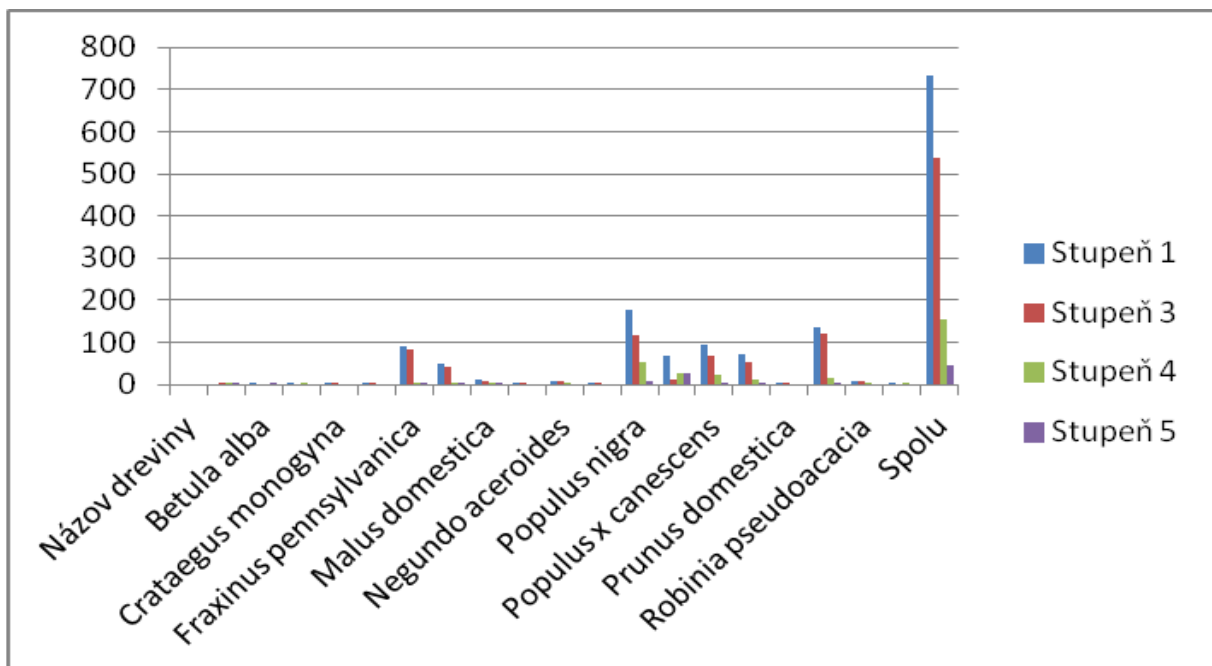
Celkove sa hodnotilo 734 stromov, z nich 45 bolo poškodených stupňom poškodenia 5 (úplne suché) a 153 bolo poškodených stupňom poškodenia 4, ktoré sa navrhli asanovať z dôvodu ich vysokého stupňa poškodenia (Tab. 1).

Dendrologickú štruktúru drevín a ich stupne poškodenia na lokalite Rieka Nitra, pri ľavostrannej hrádzi, č. 1698/2015-PR v roku 2015. uvádzame v tabuľke 1.

Získané poznatky z hodnotenia stupňa poškodenia sa použijú ako podklad pri vypracovaní projektu na výstavbu hrádze pri rieke Nitra na úsekoch I. a II.

I. úsek Nitra – Čakajovce

II úsek Čakajovce – Koniarovce



Graf 1: Dendrologická štruktúra a stupeň poškodenia hodnotených drevín v roku 2015

Tab. 1: Dendrologická štruktúra a stupeň poškodenia hodnotených drevín v roku 2015

| Názov dreviny                  | Stupne poškodenia |            |            |           |
|--------------------------------|-------------------|------------|------------|-----------|
|                                | 0                 | 3          | 4          | 5         |
| <i>Betula alba</i>             | 1                 |            |            | 1         |
| <i>Carpinus betulus</i>        | 1                 |            | 1          |           |
| <i>Crataegus monogyna</i>      | 1                 | 1          |            |           |
| <i>Fraxinus excelsior</i>      | 4                 | 4          |            |           |
| <i>Fraxinus pennsylvanica</i>  | 90                | 83         | 4          | 3         |
| <i>Juglans regia</i>           | 50                | 44         | 5          | 1         |
| <i>Malus domestica</i>         | 14                | 9          | 3          | 2         |
| <i>Pinus nigra</i>             | 1                 | 1          |            |           |
| <i>Negundo aceroides</i>       | 9                 | 7          | 2          |           |
| <i>Populus alba</i>            | 1                 | 1          |            |           |
| <i>Populus nigra</i>           | 178               | 118        | 53         | 7         |
| <i>Populus nigra 'Italica'</i> | 68                | 13         | 29         | 26        |
| <i>Populus x canescens</i>     | 94                | 70         | 22         | 2         |
| <i>Prunus avium</i>            | 71                | 55         | 14         | 2         |
| <i>Prunus domestica</i>        | 2                 | 2          |            |           |
| <i>Prunus sp.</i>              | 136               | 120        | 15         | 1         |
| <i>Robinia pseudoacacia</i>    | 9                 | 8          | 1          |           |
| <i>Salix fragilis</i>          | 4                 |            | 4          |           |
| <b>Spolu</b>                   | <b>734</b>        | <b>536</b> | <b>153</b> | <b>45</b> |

Na hodnotenej ploche 4 a 5 stupňom poškodenia boli znehodnotené *Populus nigra* (53 ks), *Populus nigra 'Italica'* (55 ks) a *Populus x canescens* (24 ks). V súlade s autormi /4, 5/ sme zistili, že na druhoch rodu *Populus* a *Prunus* sa vyskytovali huby rodov *Cytospora*, *Phoma*, *Fusarium*, *Cryptodiaporthe*, *Dothichiza*. V korune stromov bolo veľa suchých a poškodených konárov, ktoré sa samovoľne odlamovali a predstavovali reálne nebezpečenstvo pre obyvateľov, ktorí sa pohybovali v okolí hrádze. Navrhované ochranné opatrenia sa budú realizovať na stromoch, ktoré sú mimo zastaveného územia, a na stromy, ktoré sa vysadia v rámci náhradnej výsadby.

Informácie o umiestnení drevín v teréne, vymedzenie územia, kde sa bude robiť prieskum drevinovej vegetácie nám poskytol Ing. Peter Čadek, PhD.

Hodnotené stromy podľa obvodu kmeňa vo výške 130cm nad zemou sme zadelili do 3 veľkostných kategórií:

|               |        |
|---------------|--------|
| do 40 cm      | 83 ks  |
| od 41 – 79 cm | 272 ks |
| nad 80 cm     | 379 ks |
| Spolu         | 734 ks |

V roku 2015 sme urobili inventarizáciu pňov zo stromov, ktoré sa asanovali v predchádzajúcich 3 – 4 rokoch. Zároveň sme ich zadelili podľa stupňa rozkladu. Zistili sme, že z celkového počtu 265 hodnotených pňov je poškodených stupňami I. – V.

26 je poškodených I. stupňom,

39 je poškodených II. stupňom,

147 je poškodených III. stupňom,

53 je poškodených stupňom IV. a V. namiesto pňov sú len zvyšky zhnitého dreva a kôry – nedali sa zmerať ich rozmery.

Hodnotením stupňa rozkladu pňov sa potvrdili naše výsledky a poznatky autorov /1, 2, 7, 9, 10/, že zvyšky koreňov a pňov môžu poškodzovať svah na hrádzi. Z toho dôvodu sa odporúča odporúčajú pred vypracovaním projektu hrádze urobiť nedeštruktívny georadarový a geofyzikálny prieskum, zistiť stav podložia hrádze rieky Nitra, kde sa bude rekonštruovať hrádza proti storočnej či tisícročnej vode. Uvádza, že hrádza môže byť nerovnakého zloženia s problematickými miestami difundácie, alebo priečných prietokov vody vo zvodnencoch, môže byť hrádza narušená koreňovým systémom, alebo dlhodobo sú vymývané mikročastice podložia, čo však pri storočnej, alebo tisícročnej vode znamená rýchle rozvetranie hrádze a jej roztrhnutie /10/.

Spoločenskú hodnotu stromov uvádzame v tabuľke 2.

Tab. 2 Výsledná spoločenská hodnota všetkých stromov

| Spoločenská hodnota a Indexy I. až III. v € |                   |            |            |                              |
|---|-------------------|------------|------------|------------------------------|
| Základná                                    | Stupeň poškodenia | Vek        | Stanovište | Výsledná spoločenská hodnota |
| 1 026 891                                   | 592 721,60        | 574 715,28 | 781 612,78 | 781 612,28                   |

Výsledky vyčíslenej spoločenskej hodnoty sa použijú pri výpočte náhradnej výsadby.

## ZÁVER

Stromy poškodené vysokým stupňom poškodenia sa asanovali, zároveň sa odstránili aj stromy, ktoré sa nachádzali za stavebnou čiarou. Stromy sa odstránili aj s koreňmi, aby sa zamedzilo ich vyhnitiu, po ktorých sa môžu v hrádzi a jej podloží vytvoriť priesakové cesty. korene sa vytrhali a pne odfrézovali. Zároveň vzhľadom na navyšovanie ochrannej hrádze a tým rozšírenie jej základne, do uvoľnených priestorov sa vložil hlinitý materiál, ktorý sa primerane zhutnil.

Výsledky hodnotenia stupňa poškodenia drevín sa využili ako podklad pri výrubovom konaní a návrhu náhradnej výsadby.

Po asanácii stromov odporúčame odstrániť všetky pne aj so zvyškami koreňov, pretože ak sa vybuduje hrádza, pne sa budú rozkladať a v hrádzi utvoria vzdušné bubliny a narušia ich stabilitu.

## LITERATÚRA

/1/ Anonymus : Lesnická dendrologie - pohoda.joste.cz, 145 s

/2/ Branderburger, W.: Parasitische Pilze an gefässpflanzen in Európa. New York: Gustav Fischer Verlag Studgart :1985: 1248 p.

/3/ Hvezdárek, J.: Vplyv koreňovej sústavy stromov na okolité stavby. Elektronická verzia časopisu Život v Hlohovci ▶ apríl, 2006

- /4/ Juhásová, G. a kol. Význam vizuálneho hodnotenia a prístrojového hodnotenia drevín vo verejnej zeleni. In: Zborník z konferencie: Význam starostlivosti o dreviny vo verejnej zeleni v Nitre, 2015: 8 –13.
- /5/ Kodrík, J., Kodrík, M. Hlaváč, P.: The occurrence of fungal and insect pest in riparian stands of central Hron and Slatina rivers, 52, 1, 2006: 22 –29
- /6/ Kodrík, J.: Výskum koreňových sústav hlavných lesných drevín, vzhľadom na statickú stabilitu voči vetru. Zprávy lesnického výzkumu, 47, 4, 2002: 208 – 213
- /7/ Kyzlík, I., Mihálek, J.: SZN, Praha, 1963, 1. vydání, 6 příloh, 465 s.
- /8/ Magušinová, M., Menyhartová, M. Grafické spracovanie výsledkov inventarizácie drevín a pňov: Znalecký posudok 46/2015/ III. Nitra p.
- /9/ Šalamov, V.: OZ Biosféra [www.biosferaklub.info](http://www.biosferaklub.info)
- /10/ Bartko, M.: Záverečná správa geologickej úlohy Nitra – obytný súbor Parkové nábřežie, inžiniersko geologický prieskum, INTERGEO, a.s. Bojnice, 2011:48 s.

### **Pod'akovanie**

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

# **PŮSOBENÍ NADMĚRNÉ KONCENTRACE OZONU NA ROSTLINY - HROMADĚNÍ REAKTIVNÍCH FOREM KYSLÍKU, NARUŠENÍ REDOXNÍ ROVNOVÁHY A OXIDAČNÍ POŠKOZENÍ BUNĚČNÝCH KOMPONENT**

## ***INFLUENCE OF OZONE POLLUTION ON PLANTS - ACCUMULATION OF REACTIVE OXYGEN, REDOX IMBALANCE AND OXIDATIVE DAMAGE TO CELLULAR COMPONENTS***

Václav Krpeš, Karel Michna, Kamil Feber

Ostravská univerzita v Ostravě, Přírodovědecká fakulta, Katedra biologie a ekologie, Chittussiho 10,  
701 00 Ostrava, vaclav.krpes@osu.cz

### ***Summary***

The paper deals with the effects of oxidative stress on lipids in plants. We analysed 34 fatty acids by method of gas chromatography. It was found a difference in concentration between six selected fatty acids. These acids could serve as potential markers of oxidative damage to the leaf tissue.

*Key words: oxidative stress, fatty acids, Arabidopsis thaliana, Nicotiana tabacum*

### ***Souhrn***

Článek se zabývá působením oxidačního stresu na lipidy v rostlinách. Celkem bylo analyzováno 34 mastných kyselin za použití metody plynové chromatografie. Byl zjištěn rozdíl v koncentraci u šesti vybraných mastných kyselin. Tyto kyseliny by mohly sloužit jako potenciální markery oxidačního poškození v listových pletivech.

*Klíčová slova: oxidační stres, mastné kyseliny, huseníček rolní, Arabidopsis thaliana, tabák virginský, Nicotiana tabacum*

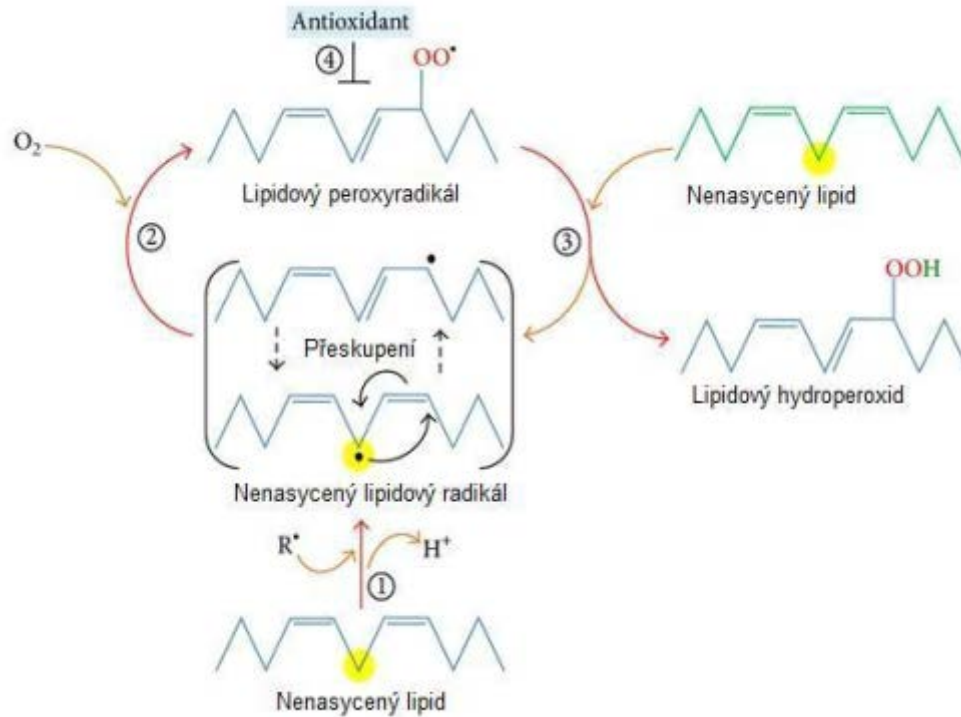
## **ÚVOD**

Působením dlouhodobé nadměrné koncentrace ozonu dochází k hromadění reaktivních forem kyslíku, narušení redoxní rovnováhy a oxidačnímu poškození buněčných komponent rostlin. Na obranu proti oxidačnímu poškození si rostliny vyvinuly detoxikační mechanismy, které umožňují přežití mezofylových buněk a jejich adaptaci na změněné životní podmínky. Součástí těchto mechanismů jsou specifické enzymy především superoxiddismutáza, kataláza a nízkomolekulární lapače (scavengers) a zhášče (quenchers) volných radikálů. Aktivní zapojení do ochranného procesu se děje přirozenou biosentézou těchto látek.

Náš výzkum se zabývá negativním působením oxidačního stresu na lipidy, který vede ke vzniku degradačních produktů v rostlinných buňkách. Oxidační stres iniciuje poškození lipidů, které se může projevit změnou v zastoupení mastných kyselin (MK) /1/. Buňky ve snaze zachovat svůj metabolismus, se mohou bránit změnou nasycenosti MK v membránách pomocí desaturáz mastných kyselin a tak modifikovat fluiditu membrán. Úprava fluidity zachová vhodné podmínky pro funkci důležitých integrálních proteinů během stresu /2/.

Peroxidace lipidů (LP) je iniciována odtržením atomu vodíku z molekuly lipidu hydroxylem, alkoxykem, peroxylovým radikálem nebo peroxyinitrem. Peroxid vodíku nebo superoxid tuto schopnost nemají. Vodík je odtržen z methylenové skupiny nejčastěji polynenasycených MK za vzniku lipidového radikálu (L•). Ten aktivuje O<sub>2</sub> za vzniku lipidperoxylového radikálu (LOO•), který je dále schopný odtrhnout atom vodíku ze sousedních MK za vzniku hydroperoxidu (LOOH) a druhého lipidového radikálu (L•). LOOH může podstoupit „redukční štěpení“ redukovanými přechodnými kovy a vzniká tak alkoxylový radikál (LO•), který je rovněž reaktivní a odštěpuje další vodíky z okolních MK. Schéma tohoto procesu peroxidace lipidů je znázorněno na obrázku

(obr. 1). Dalším mechanismem peroxidace je přímá reakce dvojných vazeb se singletním kyslíkem z reakčního centra PS II, který dává vzniknout LOOH. Singletní kyslík rovněž vzniká při reakci dvou molekul  $\text{LOO}\cdot$  /3/. Superoxid může lipidy poškodit také atakou karbonylové skupiny esterové vazby spojující MK s glycerolovou páteří. Dochází k akumulaci volných MK (VMK) nebo neutrálních lipidů, jako jsou triacylglyceroly (TAG), a tím ke změně složení polárních membránových lipidů a destabilizaci dvojvrstvy /1/.



*Obr. 1: Proces peroxidace lipidů. Inicace – prvně prooxidant odtrhne allylický vodík z molekuly lipidů; vzniklý radikál má tendenci se stabilizovat pomocí molekulárního přeskupení za vzniku konjugovaného dienu (krok 1). V propagační fázi lipidový radikál rychle reaguje s kyslíkem za vzniku lipidového peroxyradikálu (krok 2), který odtrhne vodík z další molekuly lipidů za vzniku nového lipidového radikálu a lipidového hydroxyperoxidu (krok 3). V terminační fázi, dodá antioxidant vodíkový atom do lipidového peroxyradikálu za vzniku neradikálního produktu (krok 4). Upraveno a převzato z /9/.*

Tento proces může mít za následek ovlivnění iontových kanálů, membránových transportních proteinů a způsobit inaktivaci některých proteinů, čímž může být lipidová dvouvrstva více propustná a dochází k narušení homeostázy. Kromě toho hydroperoxid a některé peroxidované druhy MK (např. isoprostany), mohou mít vliv na signální dráhy, včetně účinku na efektoři zodpovědné za apoptózu buňky /4, 5/. Degradacním produktem LP jsou agresivní látky, jako např. malondyaldehyd (MDA), 4-hydroxy-2-nonenal (HNE), 4-hydroxy-2-hexenal (HHE) nebo akrolein, které slouží jako markery oxidačního stresu /3, 6/. Jen při peroxidaci kyseliny linolové vzniká přes 20 různých degradačních produktů. Jedním z nich je fytosteran F1 využívaný také jako marker poškození /7/.

Nejznámější marker MDA se váže přes aminovou a thiolovou skupinu na proteiny a nukleové kyseliny a tím je poškozuje. V pletivech se MDA vyskytuje v keto- a enol-formě a stanovuje se jeho celkové množství /8/. Stanovení hladiny MDA se provádí tzv. TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) testem zahrnující reakci s kyselinou thiobarbiturovou (TBA). Při této reakci vznikají barevné adukty produktů lipidní peroxidace s kyselinou thiobarbiturovou. Jedna molekula MDA reaguje s dvěma molekulami TBA. Vzniklý barevný komplex má absorpční maximum kolem 532 nm. Tato metoda je však nespecifická, jelikož TBA

reaguje i s jinými látkami. Dále je možné MDA stanovit pomocí HPLC (mnohem specifitější metoda) nebo fluorimetricky (měření fluoreskujících Schiffových bází, které MDA tvoří s proteiny) /8/.

## MATERIÁL A METODA

Vzorky pro analýzu mastných kyselin byly připraveny z listů čtyř-týdenních sazenic huseníčku rolního (*Arabidopsis thaliana*) a osmi-týdenních sazenic tabáku virginského (*Nicotiana tabacum* var. *Samsun*). Stanovení koncentrace mastných kyselin probíhalo na plynovém chromatografu Pegasus 4D GCxGC-TOFMS a plynovém chromatografu Agilent Technologies 7890A-FID.

### Extrakce lipidů pro plynovou chromatografii

Extrakce lipidů s přímou transmethylací pro plynovou chromatografii probíhala dle metodiky /10/. Každý vzorek byl připraven z plně vyvinutých listů ze stejné vrstvy. Vzorky byly uchovávány ve zkumavkách s teflonovým závitem, aby se předešlo výparu. Do každé zkumavky byl přidán 1 ml čerstvě připraveného roztoku 2,5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> v metanolu, poté byly zkumavky uzavřeny a zahřívány ve vodní lázni po dobu jedné hodiny. Po vytažení z lázně byly zvolna chlazeny na pokojovou teplotu a do každé bylo přidáno 500 µl n-hexanu a poté ještě 1,5 ml 0,9% NaCl. Vzorky byly intenzivně protřepány a po dobu jedné minuty centrifugovány při 3000 g, aby došlo k oddělení fází. Následně byly z každého vzorku odebrány horní frakce, které obsahovaly methylestery MK a přeneseny do čistých vialek. Vzorky byly uchovávány v suchém ledu při -80 °C až do doby samotné analýzy na plynových chromatografech.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

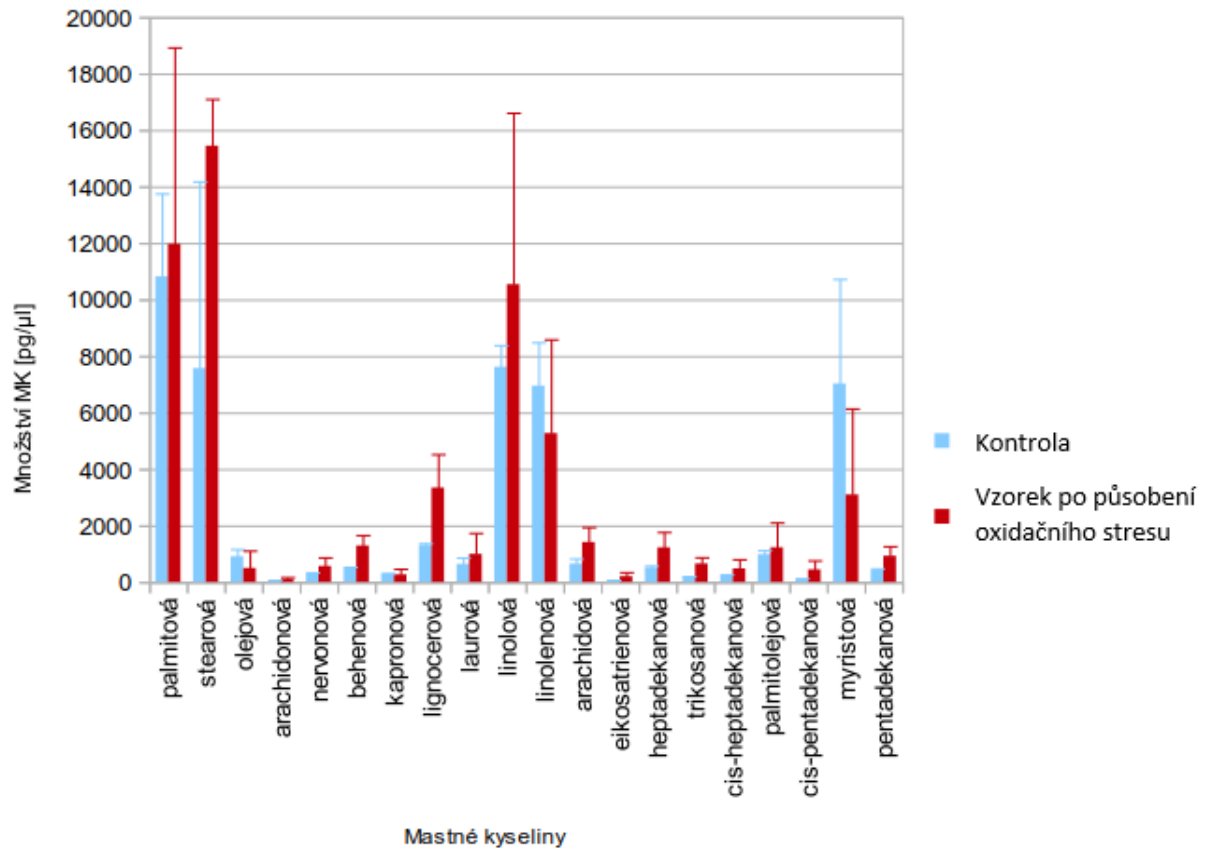
Velikost kořenového systému byla hodnocena ve třech termínech vegetace hořčice. Celkem bylo v našich vzorcích huseníčku a tabáku kvalitativně detekováno 34 různých MK, z tohoto počtu bylo vybráno 20 MK, které vykazovaly největší rozdíly při srovnání kontroly a vzorku vystaveném oxidačnímu stresu.

Pro ilustraci byl vybrán graf (Obr. 2), kde je vyobrazeno vybraných 20 MK z analýzy huseníčku rolního se srovnáním průměrů kontrolních vzorků se vzorky vystavených působení oxidačního stresu v jednotkách pg/µl.

Zvolený způsob transmethylace lipidů esterifikací katalyzovanou 2,5 % kyselinou chlorovodíkovou v methanolu je velmi jednoduchý, a proto je hojně autory využíván. Nevýhodou postupu je možný rozklad polynenasycených MK. Podle /11/ by použití tohoto postupu nemělo mít výrazný vliv na celkový výnos MK.

Z celkových výsledků u obou rostlinných druhů lze pozorovat trend nasycení MK, tedy zvýšení množství nasycených MK k množství nenasycených MK. Obecně nejvýznamnějším markerem změny kompozice MK je kyselina linolenová, jejíž koncentrace kolísá při reakci rostliny na různé stresové faktory okolí. K jejímu úbytku v membránách buněk dochází například při vystavení rostlin vysoké salinitě /12/, suchu /13/ nebo těžkým kovům /2/. K poklesu koncentrace kyseliny linolenové v rozmezí 16,5 - 24,2 % došlo u našich zkoumaných rostlin ve všech vzorcích vystavených oxidačnímu stresu proti kontrole, lze ji tedy považovat za marker stresu vyvolaného také oxidací. Z naměřených hodnot vyplývá, že opakovaně dochází ke zvýšení koncentrace pěti MK z našeho výběru, jedná se o kyselinu palmitovou (zvýšení v rozmezí 3,8 - 10,6 %), kyselinu arachidonovou (zvýšení v rozmezí 16,5 - 58,2 %), kyselinu palmitolejovou (zvýšení v rozmezí 25 - 45,2 %), kyselinu behenovou (zvýšení v rozmezí 79,1 - 165 %) a kyselinu heptadekanovou (zvýšení v rozmezí 137,4 - 151,1 %). Potencionálně by se mohlo jednat o další markery oxidačního poškození u rostlin.





Obr. 2: Srovnání průměrných hodnot množství mastných kyselin v [pg/μl] v kontrolních a exponovaných vzorcích huseníčku rolního. Úsečky označují směrodatnou odchylku.

## LITERATURA

- /1/ Ahmadi, A., Siosemardeh, A.: Investigation on the physiological basis of grain yield and drought resistance in wheat: leaf photosynthetic rate, stomatal conductance, and non-stomatal limitations. *International Journal of Agriculture and Biology*, 7, 2005: 807–811
- /2/ Bodi, Z., Pepo, P.: Trends of pollen production and tassel area index in yellow lines- hybrids and blue corn landraces. *Cereal Research Communication*, 35, 2007: 277 – 280.
- /1/ Navari-Izzo, F., Rascio, N.: Plant response to Water-deficit conditions. Mohamad Pessaraki. *Handbook of Plant and Crops Stress*, 1999.
- /2/ Upchurch, R. G.: Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response of plants to stress. *Biotechnology Letters*, 30, 2008.
- /3/ Demidchik, V.: Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. *Environmental and Experimental Botany*, 2014.
- /4/ Kehrer, J. P.: The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology*, 149, 2000.
- /5/ Hogg, N., Kalyanaraman B.: Nitric oxide and lipid peroxidation. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1411, 1999.
- /6/ Markesbery, W. R., Lovell, M. A.: Four-Hydroxynonenal, a Product of Lipid Peroxidation, is Increased in the Brain in Alzheimer's Disease, *Neurobiology of Aging*, 19, 1998.
- /7/ Imbusch, R., Mueller M. J.: Analysis of Oxidative Stress and Wound-Inducible Dinor Isoprostanes F1 (Phytprostanes F1) in Plants. *Plant Physiology*, 124, 2000.
- /8/ Draper, H.H., Squires, E.J., Mahmoodi, H., Wu, J., Agarwal, S., Hadley, M.: a comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. *Free Radical Biology and Medicine*. 15, 1993.
- /9/ Ayala, A., Muñoz, M. F., Argüelles, S.: Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 2014.
- /10/ Miquel, M.: Determination of total fatty acid profiles. *The Arabidopsis Book*, 2013.
- /11/ Murrieta C.M., Hess B.W., Rule D.C.: Comparison of acidic and alkaline catalysts for preparation of fatty acid methyl esters from ovine muscle with emphasis on conjugated linoleic acid. *Meat Science*, 65, 2003.

- /12/ Zhang, M., Barg, R., Yin, M., Gueta-Dahan, Y., Leikin-Frenkel, A., Salts, Y., Shabtai, S., Ben-Hayyim, G.: Modulated fatty acid desaturation via overexpression of two distinct omega3 desaturases differentially alters tolerance to various abiotic stresses in transgenic tobacco cells and plants. *The Plant Journal*, 44, 2005.
- /13/ Hajlaoui, H., Denden, M., El Ayeb, N.: Changes in fatty acids composition, hydrogen peroxide generation and lipid peroxidation of salt-stressed corn (*Zea mays* L.) roots. *Acta Physiologica Plant*, 31, 2009.

**Poděkování**

Uvedená práce vznikla za finanční podpory výzkumného záměru SGS16/PřF/2016 OU.

# ŤAŽKÉ KOVY AKO STRESOVÉ FAKTORY PRE RASTLINY

## HEAVY METALS AS STRESS FACTORS FOR PLANTS

Marianna Molnárová

Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra environmentálnej ekológie, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, Slovenská republika, molnarova@fns.uniba.sk

### Summary

Heavy metals level has been increased through anthropogenic activities in the environment. Due its acidification the mobility of toxic elements is elevated that causes their easier entry into the plants where these elements make different damages. It is important to mention that potential toxic elements have a role in increasing of oxidative stress level through *i.e.* Fenton and/or Haber-Weiss reaction following with damaging of important biomolecules (proteins, lipids and DNA). Plants have defense mechanisms against higher oxidative stress level by antioxidative enzymes or molecules with abundant cysteines as amino acid (*i.e.* glutathione or phytochelatins).

*Key words: heavy metals, oxidative stress, antioxidants, plants*

### Souhrn

Úroveň ťažkých kovov sa antropogénnou činnosťou neustále zvyšuje v životnom prostredí. Vplyvom aj jeho okyslenia dochádza k vyššej mobilite predovšetkým toxických prvkov, ktoré sa ľahšie dostávajú do rastlín a vyvolávajú v nich rôzne poškodenia. Z pohľadu potenciálne toxických prvkov je dôležité brať do úvahy aj ich úlohu v zvyšovaní úrovne oxidačného stresu prostredníctvom napr. Fentonovej a/alebo Haber-Weissovej reakcie a následne poškodenia dôležitých biomolekúl (proteínov, lipidov a DNA). Rastliny majú vybudované obranné mechanizmy voči zvýšenému oxidačnému stresu, či už na úrovni antioxidantných enzýmov, alebo látok bohatých na aminokyselinu cysteín (napr. glutatión, či fytochelatíny).

*Klíčová slova: ťažké kovy, oxidačný stres, antioxidanty, rastliny*

## ÚVOD

V minulosti Kovové prvky sa v ekosystémoch môžu pohybovať špecifickými cestami, či už v geochemických alebo biologických cykloch. Záleží od momentálnych podmienok, ako sú kovy rozpustné a mobilné, môžu sa tiež vyzrážať (imobilizovať) alebo kumulovať, či už v pôde alebo v živých organizmoch. Človek svojou činnosťou zvyšuje mobilitu niektorých prvkov, z ktorých mnohé sú v kyslejšom prostredí rozpustnejšie a ľahšie vstupujú do rastlín. Okrem toho antropogénnou činnosťou dochádza aj k zvyšovaniu koncentrácie niektorých kovových prvkov v životnom prostredí v nadlimitných množstvách. Ku kovom zaradujeme asi 80 prvkov periodickej sústavy a z nich asi 30 sa považuje za toxické alebo ťažké kovy. Definícia ťažkých kovových prvkov je vnímaná rôznorodo, ale snád' najvýstižnejšia z hľadiska ich rizika pre biotu je tá, ktorá používa tri termíny /1/: a) *stopové prvky* („trace metals“) – kovy prítomné v organizme alebo v životnom prostredí vo veľmi nízkych koncentráciách (rádovo  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ), napr. u človeka Zn, Cr a Fe; b) *ťažké kovy* („heavy metals“) – kovy so špecifickou hmotnosťou vyššou ako  $4,5\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ , ako napr. Cd, Hg, Pb; a c) *toxické kovy* („toxic metals“) – kovy, ktoré pri určitých koncentráciách pôsobia škodlivo na človeka a na ostatné biotické zložky ekosystémov. Niektoré kovy sú pre rastliny esenciálne (napr. Cu, Fe, Ni, Zn), ale aj tieto prvky môžu byť vo vyšších koncentráciách pre rastliny toxické podobne ako tie, ktoré sa považujú za neesenciálne (napr. As, Cd, Sb). Toxicita ťažkých kovov sa môže preukázať na viacerých úrovniach: na úrovni bunky (zmeny

v permeabilite bunkovej membrány – Cd, Cu, Hg, Pb), alebo na molekulovej úrovni (napr. reakciou katiónov s tiolovými skupinami – Ag, Hg, Pb; interakciou s esenciálnymi prvkami – As, Cd, Se; afinitou k fosfátovým skupinám ADP alebo ATP – všetky ťažké kovy; náhradou esenciálnych prvkov, najmä katiónov – Se; prípadne naviazanie sa na miesta pre esenciálne skupiny ako sú fosfáty a dusičnany – arzeničnan, selénan) /2/. Tolerancia rastliny ku kovom sa pri niektorých cievnatých rastlinách môže v rámci genotypu vyvinúť v priebehu pár rokov a môže byť nielen genotypového, ale aj fenotypového pôvodu /3/. Takúto toleranciu preukazujú najčastejšie čeľade klinčekovité (*Caryophyllaceae*), kapustovité (krížokveté) (*Cruciferae*), šachorovité (*Cyperaceae*), lipnicovité (*Gramineae*), bôbovité (motýľokveté) (*Leguminosae*) a mrlíkovité (*Chenopodiaceae*). Niektoré rastliny znesú aj vysoké koncentrácie toxických prvkov a označujú sa ako hyperakumulátory. Okrem schopnosti kovov akumulovať sa v rastlinách je však zaujímavá aj ich schopnosť interagovať v prítomnosti iných kovov navzájom, čím sa môžu ich účinky navzájom ovplyvňovať, a to buď sa toxický účinok daného kovu zosilňuje (synergizmus), alebo zoslabuje (antagonizmus). Účinkom kovov samostatne nielen na molekulovej úrovni, ale aj na fyziologické parametre, vrátane inhibície rastu koreňa, výhonku, zmenám hladín fotosyntetických pigmentov, akumulácii kovov, chloróze, obsahu vody a ďalších ukazovateľom toxického pôsobenia kovov sa venujú viaceré práce /4-10/. Zároveň sa veľká pozornosť venuje aj účinkom kovov vo forme nanočastíc, o čom hovorí napr. prehľadná práca /11/.

Toxicita ťažkých kovov môže pochádzať z rovnakého oxidačného čísla – napr. neesenciálne  $\text{Cd}^{2+}$  môže nahrádzať v molekulách esenciálne dvojmocné katióny Fe, Ca a Zn /11/. Prítomnosť toxických kovov môže zvyšovať úroveň oxidačného stresu znížením niektorých ukazovateľov (napr. redukovaného glutatiónu, ktorý dokáže vychytávať kovy väzbou na síru aminokyseliny cysteínu, čím im znemožní ďalšiu oxidáciu dôležitých biomolekúl, akými sú proteíny, lipidy a DNA), alebo zvýšením syntézy enzýmových a neenzýmových molekúl zahrnutých v skupine antioxidantov a látok, ktoré znižujú hladinu oxidačného stresu. Tieto ukazovatele sú v poslednej dobe dosť študované a preto je dôležité pozeráť sa na kovy ako na potenciálne nebezpečné prvky v tzv. zvyšovaní úrovne oxidačného stresu.

## Oxidačný stres v rastlinách

V živých organizmoch je za normálnych okolností tvorba radikálov a ich zneškodňovanie organizmom v rovnováhe. Ak dôjde k porušeniu tejto rovnováhy, dochádza k tzv. *oxidačnému stresu*, dôsledkom čoho je poškodenie životne dôležitých molekúl, akými sú DNA, proteíny a lipidy. Zvýšený oxidačný stres môžu vyvolávať rôzne faktory, medzi inými aj ióny ťažkých kovov. Rastliny môžu premieňať importované kovy na fyziologicky tolerovateľné formy /4, 12/. V prípade prekročenia tolerovateľnej hladiny iónov kovov dochádza k tvorbe voľných radikálov a reaktívnych foriem kyslíka a následne k zvýšenému oxidačnému stresu /13/. V každom organizme dochádza neustále k tvorbe viacerých radikálových i neradikálových foriem kyslíka (ROS – „*reactive oxygen species*“) a dusíka (RNS – „*reactive nitrogen species*“). Spúšťačom ich vzniku môže byť prítomnosť iónov železa, prípadne medi, ktoré môžu spolu s peroxidom vodíka reagovať za vzniku vysoko reaktívneho hydroxylového radikálu ( $\cdot\text{OH}$ ) v tzv. *Fentonovej reakcii* /14/:

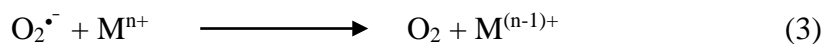


kde M môže byť napr.  $\text{Fe}^{3+}$ , či  $\text{Cu}^{2+}$ . Počas oxidačného stresu dochádza k tvorbe rôznych kyslíkových radikálov (ROS), medzi ktoré patria popri hydroxylovom ešte superoxidový aniónový ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), peroxylový ( $\text{ROO}^{\cdot}$ ), alkoxylový ( $\text{RO}^{\cdot}$ ) radikál, ako aj radikál oxidu dusíka ( $\text{NO}^{\cdot}$ ) a peroxyinitritový radikál ( $\text{ONOO}^{\cdot}$ ). Okrem radikálových foriem sa medzi reaktívne formy kyslíka a dusíka zaraďujú aj neradikálové molekuly ako  $\text{H}_2\text{O}_2$ , singletový kyslík ( $^1\text{O}_2$ ), kyselina chlórna ( $\text{HOCl}$ ), ozón  $\text{O}_3$  a nitrózoperoxylový radikál ( $\text{ONOO}^{\cdot}$ ). Počas oxidačného stresu sa vytvára

superoxid, ktorý môže pôsobiť ako reduktant alebo ako oxidant. Z hľadiska jeho redukčných účinkov je dôležitá jeho reakcia s peroxidom vodíka ako oxidanta v tzv. *Haber-Weissovej reakcii* /15/:



Haber-Weissova reakcia môže prebiehať aj za katalýzy iónov prechodných prvkov v nasledovných krokoch:



Reaktivita **superoxidového radikálu** závisí od prostredia, v ktorom reakcia prebieha. V organických rozpúšťadlách je tento radikál veľmi stabilný, ale z vodných roztokov sa veľmi rýchlo stráca v dôsledku samovoľného alebo katalytického rozkladu pomocou enzýmu superoxiddizmutázy (SOD), či iónov prechodných kovov v dizmutačnej reakcii:



**Peroxid vodíka** je najstabilnejší intermetabolit, ktorý môže difundovať z miesta vzniku do vzdialenejších oblastí a prechádzať bunkovou membránou (superoxid na to potrebuje osobitné aniónové kanály). Redoxný potenciál  $\text{H}_2\text{O}_2$  je vyšší ako pri  $\text{O}_2^{\cdot-}$ , a preto je silnejším oxidantom ako superoxid /16/. Každý biologický systém, ktorý produkuje superoxid, súčasne v dizmutačnej reakcii produkuje aj peroxid vodíka za predpokladu, že superoxid nie je medzitým zachytený inými molekulami.

**Hydroxylový radikál** je jednou z najreaktívnejších látok, ktorá poškodzuje väčšinu molekúl v bunkách. Pre svoju nestabilitu však nedifunduje do okolia, ale zúčastňuje sa radikálovej reakcie priamo v mieste svojej tvorby. Má najvyšší redoxný potenciál zo všetkých látok vznikajúcich v biologických systémoch, jeho hodnota je 2,31 V /16, 17/. Hoci má veľmi krátky polčas existencie ( $10^{-9}$  s pri 37 °C), je schopný spôsobiť veľké poškodenie biomolekúl – hydroxyluje purínové a pyrimidínové zásady a reaguje so sacharidmi v DNA za vzniku rôznych DNA radikálov, čo vedie k poškodeniu nukleových kyselín, k prípadným mutáciám alebo smrti bunky. Reaguje veľkou rýchlosťou so všetkými typmi molekúl, ktoré sú prítomné v živých bunkách – so sacharidmi, aminokyselinami, fosfolipidmi, nukleotidmi i organickými kyselinami.

**Singletový kyslík** nie je veľmi reaktívny, ale je nositeľom veľkej energie, ktorú môže odovzdávať ďalej a udržiavať tak radikálovú reakciu. Vzniká najmä pri fotodynamických reakciách, no mohol by sa tvoriť aj bez účasti svetla v niektorých biochemických reakciách /18/.

**Radikál oxidu dusíka** je vysoko reaktívny a má krátku životnosť, ktorá závisí od podmienok, v ktorých sa tento radikál vyskytne. Polčas existencie v prostredí bohatom na kyslík je menej ako 0,86 s /19/. Po rýchlej reakcii so superoxidom vznikajú nitrózoperoxylový anión alebo jeho konjugovaná kyselina peroxidodusitá, ktoré sú silnými oxidantmi a môžu iniciovať peroxidáciu lipidov, oxidovať tiolové skupiny nízkomolekulových látok a proteínov, prípadne oxidačne poškodzovať DNA.

**Organické radikálové zlúčeniny** spája voľný nespárený elektrón, pričom existuje veľmi rôznorodá paleta týchto radikálov. Z pohľadu rastlín je zaujímavé spomenúť askorbátový radikál pri detoxikačných reakciách kyseliny askorbovej.

Okrem Fe a Cu sa predpokladá, že v rastlinách môže zvýšenie oxidačného stresu vyvolať aj prítomnosť ďalších kovov. V posledných rokoch sa štúdiám zameraným na tento výskum začína venovať značná pozornosť. Tieto štúdie poukazujú na schopnosť niektorých kovov zvyšovať v rastlinách stres. Rastliny sa dokážu brániť pred toxickými účinkami kovov aj v oblasti oxidačného stresu, a týmito mechanizmami sa zaoberá nasledujúca kapitola.

## Obranné mechanizmy rastlín

Rastliny vo všeobecnosti reagujú veľmi podobne na stres, ktorý je vyvolaný účinkom ťažkých kovov. V prvom rade je to stratégia, pomocou ktorej sa snažia ťažké kovy imobilizovať, aby zabránili ich fyziologickým účinkom v protoplaste koreňových buniek. Zabudovanie iónov  $\text{Cu}^{2+}$  do komplexov koreňových exudátov v pôde, či ich naviazanie na bunkovú stenu ale vyžaduje neustále predlžovanie koreňov. V závislosti od zloženia bunkovej steny, či typov a množstva exudátov, je táto stratégia pri rôznych druhoch rastlín a rôznych kovoch odlišná. Druhou stratégiou, ktorá je menej známa, je súťaživosť kovov pri vstupe do rastliny. Predpokladá sa, že ióny  $\text{Cu}^{2+}$  môžu čiastočne nahradiť  $\text{Ca}^{2+}$  v biomembránach a meniť tak transport cez membránu. Je známe, že pri nadbytku  $\text{Cu}^{2+}$  dochádza k zníženiu výdaja  $\text{K}^+$  z buniek. V cytosole sú ióny  $\text{Cu}^{2+}$  zabudované do cieľových enzýmov alebo sa viažu na polypeptidy, oligopeptidy alebo aminokyseliny, ktoré sú transportované do vakuol alebo do xylému.

Vo vakuolách sa nachádzajú dva typy polypeptidov, ktoré sú bohaté na cysteíny (aminokyseliny s  $-\text{SH}$  skupinou): väčšie peptidy *metalotioneíny* a menšie *fytochelatíny*. Oba typy sú syntetizované v prevažnej väčšine rastlín, ale ich úloha v bunke ešte stále nie je dobre známa. **Metalotioneíny** (MT) sú polypeptidy s približne 60 aminokyselinami, kde N- a C-konce peptidu sú obzvlášť bohaté na cysteíny. Je pozoruhodné, že neobsahujú aromatické aminokyseliny a že cysteíny sa vždy objavujú v sekvencii Cys-Xaa-Cys. Predpokladá sa, že tento aminokyselinový motív vytvára s kovom sulfidové klastre. Metalotioneíny I. triedy sa potvrdili v génoch hrachu, kukurice, jačmeňa, pšenice a kaukliarky (*Mimulus* sp.). Metalotioneíny II. triedy obsahujú okrem motívu Cys-Xaa-Cys aj motívy -Cys-Cys- a =Cys-Xaa-Xaa-Cys-. Našli sa v sóji (*Glycine* sp.), ricíne (*Ricinus* sp.) a arábovke (*Arabidopsis* sp.) /20/.

**Fytochelatíny** (niekedy označované ako MT III. triedy) sa líšia od vyššie spomínaných MT tým, že nie sú primárne vytvárané génmi, ale vznikajú z tripeptidov prostredníctvom enzymatického preskupenia. Sú to deriváty tripeptidu  $\gamma\text{-Glu-Cys-Gly}$ . Tento tripeptid nie je pravým proteínom, pretože peptidová väzba nie je medzi karboxylovou skupinou  $\alpha$ -aminoskupiny glutámovej kyseliny (Glu) a aminoskupiny cysteínu (Cys), ale medzi  $\gamma$ -karboxylovou skupinou Glu a Cys, teda na „zlom“ konci Glu. Podľa súčasných poznatkov je C-koniec peptidu bohatý na Cys senzorom, na ktorý sa ťažké kovy naviažu a potom sa koncentrujú na katalyticky aktívnom N-konci peptidu /21/. Fytochelatíny sú syntetizované enzýmom *fytochelatínsyntáza* (dipeptidyltrasferáza), ktorý je konštitučne exprimovaný, ale aktivuje sa až väzbou ťažkých kovov na tiolové skupiny enzýmu. Tento účinok bol popísaný pri Hg, Cd, Cu a Pb, ale prítomnosť Fe, Mn, Mo, Cr, U a V nemala žiadny vplyv na aktiváciu tohto enzýmu. Pri kovmi vyvolanom strese dochádza k výraznejšej syntéze oboch typov cysteínových polypeptidov. Metalofyty však produkujú preukazne menej fytochelatínov, ako rastliny, ktoré sú citlivé na prítomnosť ťažkých kovov. Fytochelatíny teda pravdepodobne hrajú dôležitú úlohu pri vychytávaní ťažkých kovov a ich transporte do vakuol. Prvý polypeptid, ktorý viaže Cd, bol objavený v *Schizosaccharomyces* („cadystins“), a bol identifikovaný ako fytochelatín.

Kovy sa môžu zapájať aj do reakcií oxidačného stresu. Na jeho potlačenie majú organizmy vyvinuté rôzne mechanizmy enzýmového aj neenzýmového charakteru. **K enzýmom**, ktoré rozkladajú reaktívne formy kyslíka a dusíka, patria najmä *superoxiddizmutáza* (dizmutuje superoxid na peroxid vodíka a kyslík), *kataláza* (rozkladá peroxid vodíka na vodu a kyslík), či *glutatiónpoxidáza* (za prítomnosti redukovaného glutatiónu GSH rozkladá peroxid vodíka na vodu a oxidovaný glutatión GSSG). **K neenzýmovým** antioxidantom sa zaraďujú glutatión, tokoferol (vitamín E), ako aj rastlinami vytváraná kyselina askorbová, či veľká skupina polyfenolov, ktoré sa nachádzajú hlavne v ovocí a zelenine.

Peroxid vodíka patrí k reaktívnym formám kyslíka s pomerne dlhou existenciou a schopnosťou prechádzať membránami bunky do vzdialenejších miest. Jeho hlavným miestom tvorby v rastlinách sú pravdepodobne peroxizómy /22/. Podobne ako mitochondrie a chloroplasty,

aj peroxizómy vytvárajú superoxidové radikály. V rastlinách sú  $\text{NO}^*$ , superoxid a  $\text{H}_2\text{O}_2$  signálnymi molekulami. V peroxizódoch sú prítomné aj antioxidačné systémy – kataláza (enzým, ktorý rozkladá peroxid vodíka na vodu a kyslík), *superoxiddizmutáza* (Mn-SOD a Cu,Zn-SOD), askorbátový-glutatiónový cyklus spolu s askorbátom a glutatiónom, dehydrogenáza závislá od prítomnosti NADP, ako aj *NO-syntáza* (NOS). Ťažké kovy, xenobiotiká a starnutie listov vytvárajú podmienky pre oxidačný stres /23/. Počas starnutia sa katalázová aktivita stráca a dochádza k nadprodukcii superoxidu a  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Kým hladina askorbátu je zvýšená len mierne, obsah celkového glutatiónu vzrastie 20-násobne. Tieto zmeny poukazujú na to, že glutatión a časť askorbátovo-glutatiónového cyklu môžu mať ochrannú funkciu pre elimináciu peroxidu vodíka v peroxizódoch, keď rastlina zostarne a vymizne v nej katalázová aktivita. Rastliny, ktoré boli voči vyšším koncentráciám Cu tolerantné, mali vyššie aktivity antioxidačných enzýmov (Mn-SOD a katalázy) v porovnaní s rastlinami, ktoré boli na prítomnosť medi citlivé /24/.

Jedným z ukazovateľov miery oxidačného stresu v organizme je aj hladina redukovaného (GSH) a oxidovaného (GSSG) glutatiónu a tiolová skupina proteínov (-SH). V rastlinách, ktoré rastú v prostredí s nadbytkom iónov kovov, dochádza k výraznému zvýšeniu hladiny cysteínu (aminokyseliny s tiolovou skupinou), obsahu neproteínových tiolov /25/,  $\text{H}_2\text{O}_2$  /26/, malondialdehydu vo forme TBA-reaktívnych produktov /5, 25/, či zníženiu obsahu redukovaného glutatiónu /5/. Zvýšením obsahu spomínaných tiolových skupín sa rastliny bránia toxickému účinku iónov ťažkých kovov v prostredí. Zvýšená hladina malondialdehydu poukazuje na prítomnosť oxidácie lipidov, ktoré sú dôležité hlavne z hľadiska udržania celistvosti cytoplazmatickej membrány a transportu látok medzi bunkou a okolím. Tieto ukazovatele sa vyjadrujú buď na sušinu, alebo na koncentráciu proteínov.

## LITERATURA

- /1/ Kafka, Z., Punčochářová, J.: Těžké kovy v přírodě a jejich toxicita. *Chemistry Letters*, 96, 2002: 611 – 617.
- /2/ Kabata-Pendias, A., Pendias, H.: Trace Elements in Soils and Plants. Boca Raton: CRC Press, 2001, 432 p.
- /3/ Tyler, G., Balsberg Pahlsson, A.M., Bengtsson, G., Baath, E., Tranvik, L.: Heavy metal ecology of terrestrial plants, microorganisms and invertebrates. *Water, Air, & Soil Pollution*, 47, 1989: 189 – 215.
- /4/ Cobett, C.S.: Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. *Plant Physiology*, 123, 2000: 825 – 832.
- /5/ Gallego, S.M., Benavides, M.P., Tomaro, M.L.: Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of oxidative stress. *Plant Science*, 121, 1996: 151 – 159.
- /6/ Fargašová, A.: Root growth inhibition, photosynthetic pigments production, and metal accumulation in *Sinapis alba* as the parameters for trace metals effect determination. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 61, 1998: 762 – 769.
- /7/ Fargašová, A.: Determination of metal interactions on root growth of *Sinapis alba* seedlings. *Biologia Plantarum*, 42, 1999: 637 – 640.
- /8/ Fargašová, A.: Toxicity comparison of some possible toxic metals (Cd, Cu, Pb, Se, Zn) on young seedlings of *Sinapis alba* L. *Plant, Soil and Environment*, 50, 2004: 33 – 38.
- /9/ Fargašová, A., Pastierová, J., Svetková, K.: Effect of Se-metal pair combinations (Cd, Zn, Cu, Pb) on photosynthetic pigments production and metal accumulation in *Sinapis alba* L. seedlings. *Plant, Soil and Environment*, 52, 2006: 8 – 15.
- /10/ Molnářová, M., Fargašová, A.: Reciprocal effect of Se and Cd on *Sinapis alba* seedlings. *Chemické Listy*, 102, 2008: 722 – 723.
- /11/ Mustafa, G., Komatsu, S.: Toxicity of heavy metals and metal-containing nanoparticles on plants. *Biochimica et Biophysica Acta*, In press, 2016: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbapap.2016.02.020>.
- /12/ Hall, J.L.: Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 53, 2002: 1 – 11.
- /13/ Dietz, K.J., Baier, M., Kramer, U.: Free radical and reactive oxygen species as mediators of heavy metal toxicity in plants. In: *Plants: From Molecules to Ecosystems*. Springer-Verlag, Berlin, Germany, 1999: 73 – 97.
- /14/ Fenton, H.J.H.: Oxidation of tartaric acid in the presence of iron. *Journal of the Chemical Society*, 65, 1894: 899 – 910.
- /15/ Haber, F., Weiss, J.: The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. *Proceedings of the Royal Society of London A*, 147, 1934: 332 – 351.
- /16/ Halliwell, B.B., Gutteridge, J.M.C.: *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3<sup>rd</sup> edition. Oxford University Press, Oxford, U.K. 1999.

- /17/ Naskalski, J.W., Bartosz, G.: Oxidative modifications of protein structures. *Advances in Clinical Chemistry*, 35, 2001: 161 – 253.
- /18/ Sies, H.: Intact organ spectrophotometry and single-photon counting. *Archives of Toxicology*, 60, 1987: 138 – 143.
- /19/ Czapski, G., Goldstein, S.: The role of the reactions of \*NO with superoxide and oxygen in biological systems: a kinetic approach. *Free Radical Biology & Medicine*, 19, 1995: 785 – 794.
- /20/ Cobbett, C., Goldsbrough, P.: Phytochelatins and metallothioneins: role in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annual Review of Plant Biology*, 53, 2002: 159 – 182.
- /21/ Cobett, C.S.: A family of phytochelatin synthase genes from plant, fungal and animal species. *Trends in Plant Science*, 4, 1999: 335 – 337.
- /22/ del Rio, L.A., Corpas, F.J., Sandalio, L.M., Palma, J.M., Barroso, J.B.: Plant peroxisomes, reactive oxygen metabolism and nitric oxide. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life*, 55, 2003: 71 – 81.
- /23/ del Rio, L.A., Pastori, G.M., Palma, J.M., Sandalio, L.M., Sevilla, F., Corpas, F.J., Jiménez, A., López-Huertas, E., Hernández, J.A.: The activated oxygen role of peroxisomes in senescence. *Plant Physiology*, 116, 1998: 1195 – 1200.
- /24/ del Rio, L.A., Palma, J.M., Sandalio, L.M., Corpas, F.J., Pastori, G.M., Bueno, P., López-Huertas, E.: Peroxisomes as a source of superoxide and hydrogen peroxide in stressed plants. *Biochemical Society Transactions*, 24, 1996: 434 – 438.
- /25/ Singh, S., Sinha, S., Saxena, R., Pandey, K., Bhatt, K.: Translocation of metals and its effects in the tomato plants grown on various amendments of tannery waste: evidence for involvement of antioxidants. *Chemosphere*, 57, 2004: 91 – 99.
- /26/ Maksymiec, W., Krupa, Z.: The effects of short-term exposition to Cd, excess Cu ions and jasmonate on oxidative stress appearing in *Arabidopsis thaliana*. *Environmental and Experimental Botany*, 57, 2006: 187 – 194.

### Pod'akovanie

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory Vedeckej grantovej agentúry MŠVVaŠ SR grantom Vega 1/0098/14 a Kega 029UK-4/2016.



## Přednášky

## VLIV VYBRANÝCH FAKTORŮ NA VLASTNOSTI VÝLUHŮ Z VERMIKOMPOSTU

### *EFFECT OF SELECTED FACTORS ON PROPERTIES OF EXTRACTS FROM VERMICOMPOST*

Markéta Drešlová, Aleš Hanč, Zlata Holečková

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

#### *Summary*

The aim of this experiment was to evaluate an influence of mixing and aeration during preparation of aqueous extracts from vermicomposts of various compositions on the content and extractability of phosphorus and potassium. The experiment compared extracts from five various vermicomposts (of digestate, horse manure, kitchen waste, apple pomace and marc). Samples of extracts were taken during extraction process after 1, 6, 12, 24 and 48 hours. The work also compares two different ways of extract preparation – an extraction by mechanical mixing without and with aeration. All selected nutrients were investigated by inductively coupled plasma optical emission spectrometry and extractability was calculated. It was found that the aeration has positive impact on higher concentration and extractability of elements in vermicompost extracts. It was also confirmed that a longer extraction time has direct influence on extractability of elements.

*Key words: vermicompost, aqueous extract, aeration, macroelements, microelements*

#### *Souhrn*

Cílem pokusu bylo posoudit vliv míchání a aerace při přípravě vodných výluhů z verмикompostů o různém surovinovém složení na obsah a vyluhovatelnost fosforu a draslíku. Byly porovnány výluhy z pěti různých verмикompostů (z digestátu, hnoje, kuchyňského bioodpadu, jablečných výliskům a matoliny). Vzorčky výluhů byly odebírány během vyluhování po 1, 6, 12, 24 a 48 hodinách. Také byly porovnávány dva různé způsoby přípravy - vyluhování s mechanickým mícháním bez aerace a s aerací. Pomocí optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem byly stanoveny obsahy prvků, a následně byla vypočtena jejich vyluhovatelnost. Bylo zjištěno, že aerace má přímý vliv na zvýšení koncentrace a vyluhovatelnost prvků. Avšak i delší doba vyluhování má přímý vliv na množství vyluhovatelných prvků.

*Klíčová slova: vermicompost, vodný výluh, aerace, makroprvky, mikroprvky.*

## ÚVOD

S rostoucí lidkou populací na celé Zemi roste i objem odpadu. Z celkového objemu odpadu více než 50 % tvoří odpad organický, který většinou končí na skládkách, navzdory tomu, že se může dále využít. Výbornou alternativou je tzv. vermicompostování, které slouží k rozkladu biologicky rozložitelných organických materiálů a pro získání kvalitního hnojiva /4/. Jedná se o proces rozkladu využívající spolupráci žížal a mikroorganismů, kdy žížaly zpracovávají organické zbytky a zvyšují tím obsah N, P, K, Ca, Mg, mnoha stopových prvků, enzymů a vitaminů, které jsou potřebné pro růst rostlin /1/. Tato technologie je levná, lehce dostupná a především nemá nepříznivý vliv na životní prostředí, ani na život člověka /5/.

## MATERIÁL A METODA

Pokus byl uskutečněn na výzkumné stanici FAPPZ v Červeném Újezdu a bylo použito pět druhů biologicky rozložitelného dopadu (digestát, koňský hnůj, jablečné výlisky, kuchyňský bioodpad a matolina). K samotnému vermikompostování byly použity plastové vermikompostovací nádoby s perforovaným dnem. Biologicky rozložitelný odpad byl vložen do vermikompostérů spolu se substrátem obsahující žížaly rodu *Eisenia*. Na 1 litr substrátu připadalo kolem 200 jedinců. Nádoby byly plněny 10 litry substrátu. Z každého vermikompostu se odebraly vzorky, ze kterých se zjistilo chemické složení a stanovilo pH, měrná vodivost a obsah spalitelných látek. Pomocí rentgen-fluorescenční spektrometrie se stanovily celkové obsahy vybraných živin. Navážka jednotlivých vermikompostů byla pokaždé 1 kg. Pro tvorbu vodných výluhů bylo postupně použito všech pět druhů vermikompostů. Navážka jednotlivých vermikompostů byla vždy 1 kilogram. Vermikompost byl následně vložen do sítka, které bylo umístěno do demineralizované vody o objemu 9 litrů. Přístrojové sondy následně zaznamenávaly hodnoty pH, teplotu, měrnou vodivost a obsah rozpuštěného kyslíku, přičemž průtok vzduchu a teplota byla regulovatelná. Celý systém byl konstantně ohříván na 25 °C. Při přípravě výluhů se testovaly dva faktory – vyluhování s mechanickým mícháním bez aerace a míchání s aerací, přičemž magnetické míchadlo bylo nastaveno na 750 otáček/min. Vzorky výluhů byly odebírány během vyluhování po 1, 6, 12, 24 a 48 hodinách. Ve vzorcích byly stanoveny obsahy fosforu a draslíku pomocí optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem a následně byla vypočítána vyluhovatelnost.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Nejvyšší koncentraci fosforu měl výluh vermikompostu z hnoje (83 mg/l ve 48. hodinách), přičemž obsah byl v tomto výluhu značně výraznější než u ostatních druhů výluhů. Aerace měla mírný vliv na hodnoty koncentrace fosforu ve výluhu vermikompostu z hnoje – odpovídala 8 % navýšení, než ve variantě bez aerace. Nejméně fosforu obsahoval výluh z vermikompostu z digestátu, což bylo to méně než ve variantě bez aerace.

Tab 1: Koncentrace fosforu (mg/l) ve výluzích stanovena pomocí ICP - OES (míchání a aerace)

|                  |           | Digestát           | Koňský hnůj        | Kuchyňský bioodpad | Jablečné výlisky   | Matolina            |
|------------------|-----------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|
| Míchání          | 1. hodina | 6,77 <sup>b</sup>  | 26,54 <sup>a</sup> | 7,22 <sup>a</sup>  | 14,41 <sup>a</sup> | 23,54 <sup>c</sup>  |
|                  | 6. hodin  | 10,96 <sup>c</sup> | 53,36 <sup>b</sup> | 15,25 <sup>b</sup> | 22,89 <sup>b</sup> | 33,19 <sup>a</sup>  |
|                  | 12. hodin | 12,62 <sup>a</sup> | 66,03 <sup>c</sup> | 19,11 <sup>c</sup> | 25,35 <sup>c</sup> | 37,84 <sup>ab</sup> |
|                  | 24. hodin | 13,75 <sup>a</sup> | 76,42 <sup>d</sup> | 24,43 <sup>d</sup> | 27,27 <sup>d</sup> | 40,95 <sup>ab</sup> |
|                  | 48. hodin | 19,10 <sup>d</sup> | 82,11 <sup>e</sup> | 28,62 <sup>e</sup> | 29,30 <sup>e</sup> | 46,75 <sup>b</sup>  |
|                  | F-test    | 301                | 131E2              | 4503               | 682                | 24                  |
| Aerace           | 1. hodina | 8,24 <sup>a</sup>  | 45,82 <sup>a</sup> | 10,06 <sup>a</sup> | 19,56 <sup>a</sup> | 24,04 <sup>c</sup>  |
|                  | 6. hodin  | 11,21 <sup>b</sup> | 65,17 <sup>b</sup> | 16,34 <sup>b</sup> | 23,81 <sup>b</sup> | 34,36 <sup>a</sup>  |
|                  | 12. hodin | 12,18 <sup>c</sup> | 74,54 <sup>c</sup> | 18,85 <sup>c</sup> | 26,69 <sup>c</sup> | 39,42 <sup>ab</sup> |
|                  | 24. hodin | 14,4 <sup>d</sup>  | 82,34 <sup>d</sup> | 20,43 <sup>d</sup> | 28,81 <sup>d</sup> | 39,43 <sup>ab</sup> |
|                  | 48. hodin | 16,4 <sup>e</sup>  | 89,69 <sup>e</sup> | 24,64 <sup>e</sup> | 34,91 <sup>e</sup> | 42,99 <sup>b</sup>  |
|                  | F-test    | 700,5              | 9312               | 563                | 737                | 57                  |
| p <sub>≤</sub> * |           | 0,05               | 0,05               | 0,05               | 0,05               | 0,05                |

\* p – hladina významnosti

Autor /3/ se uvádí, že obsah fosforu ve výluzích je téměř neovlivněn způsobem extrakce. Ať už se vyluhování provádí s aerací nebo bez aerace, výsledky jsou téměř stejné. Avšak autor /2/ publikuje ve výluhu vermikompostu z kuřecího hnoje zaznamenal nárůst koncentrace fosforu o

31 % vlivem aerace. Podobných výsledků se dosáhlo i v tomto pokusu- odlišnost od výluhů bez aerací a s aerací je minimální.

Ve výluzích z digestátu a z matoliny byla ve variantě s aerací koncentrace fosforu nižší o 3 mg/l, ve výluhu z kuchyňského bioodpadu o 4 mg/l oproti variantě bez aerace. Vyluhovatelnost fosforu ve variantě bez aerace, stoupala v závislosti na čase. Nejvyšší vyluhovatelnost byla ve výluhu vermikompostu z hnoje. Od prvního odběru až po poslední stoupla vyluhovatelnost o 18 %, po 48 hodinách vyluhování byla tedy vyluhovatelnost fosforu 27 %. Nejnižší vyluhovatelnost byla ve výluhu vermikompostu z digestátu, 14 %. Největší množství fosforu se uvolnilo během prvních 24 hodin vyluhování, za dalších 24 hodin se vyluhovatelnost ze všech vermikompostů zvýšila pouze o 2 až 4 %. Na vyluhovatelnost fosforu měla v některých případech mírný vliv aerace. Ve výluhu vermikompostu z hnoje stoupla vyluhovatelnost fosforu na 30 % (o 3 % více oproti variantě bez aerace). Aerace měla pozitivní vliv na vyluhovatelnost fosforu pouze ve výluzích z vermikompostů z hnoje a z jablečných výlisků. Za posledních 24 hodin vyluhování se zvýšila vyluhovatelnost fosforu o 2 % až 4 %, nebylo proto nutné provádět extrakci 48 hodin.

Koncentrace draslíku byla v každé hodině odběru nejvyšší ve výluhu vermikompostu z kuchyňského bioodpadu. Výluhy vermikompostu z digestátu obsahovaly v 1. hodině odběru 279 mg/l draslíku a dále se obsah zvýšil pouze nepatrně. Zatímco obsah ve výluhu vermikompostu z matoliny byl při prvním odběru jen 229 mg/l, tak při posledním odběru, po 48 hodinách od založení pokusu, byl více než dvojnásobný. Během celého vyluhování, koncentrace stoupaly, avšak mezi odběry po 24. a 48. hodinách už nebyl výrazný rozdíl.

Tab 2: Koncentrace draslíku (mg/l) ve výluzích stanovena pomocí ICP - OES (míchání a aerace)

|                       |           | Digestát             | Koňský hnůj         | Kuchyňský bioodpad  | Jablečné výlisky    | Matolina            |
|-----------------------|-----------|----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| <b>Míchání</b>        | 1. hodina | 278,64 <sup>d</sup>  | 113,07 <sup>a</sup> | 288,43 <sup>a</sup> | 63,35 <sup>a</sup>  | 228,90 <sup>a</sup> |
|                       | 6. hodin  | 302,65 <sup>ab</sup> | 194,63 <sup>b</sup> | 430,18 <sup>b</sup> | 90,40 <sup>b</sup>  | 328,47 <sup>b</sup> |
|                       | 12. hodin | 300,45 <sup>a</sup>  | 221,70 <sup>c</sup> | 455,14 <sup>c</sup> | 99,18 <sup>c</sup>  | 367,56 <sup>c</sup> |
|                       | 24. hodin | 307,43 <sup>bc</sup> | 238,54 <sup>d</sup> | 486,85 <sup>d</sup> | 105,80 <sup>d</sup> | 426,76 <sup>d</sup> |
|                       | 48. hodin | 308,61 <sup>c</sup>  | 248,84 <sup>e</sup> | 511,39 <sup>d</sup> | 112,18 <sup>c</sup> | 476,87 <sup>e</sup> |
|                       | F-test    | 132,5                | 4339                | 1521                | 1003                | 589                 |
| <b>Aerace</b>         | 1. hodina | 282,67 <sup>b</sup>  | 180,52 <sup>a</sup> | 301,83 <sup>b</sup> | 83,52 <sup>a</sup>  | 229,61 <sup>a</sup> |
|                       | 6. hodin  | 304,86 <sup>a</sup>  | 248,91 <sup>b</sup> | 514,17 <sup>c</sup> | 96,20 <sup>b</sup>  | 322,82 <sup>b</sup> |
|                       | 12. hodin | 306,02 <sup>a</sup>  | 263,73 <sup>c</sup> | 549,31 <sup>a</sup> | 102,67 <sup>c</sup> | 375,65 <sup>c</sup> |
|                       | 24. hodin | 310,35 <sup>a</sup>  | 275,94 <sup>d</sup> | 558,14 <sup>a</sup> | 109,33 <sup>d</sup> | 438,45 <sup>d</sup> |
|                       | 48. hodin | 314,59 <sup>a</sup>  | 280,56 <sup>e</sup> | 630,35 <sup>d</sup> | 118,72 <sup>e</sup> | 497,33 <sup>e</sup> |
|                       | F-test    | 21                   | 112E2               | 1009                | 1125                | 306                 |
| <b>p<sub>≤</sub>*</b> |           | 0,05                 | 0,05                | 0,05                | 0,05                | 0,05                |

\* p – hladina významnosti

Nejvyšší obsah draslíku opět vykázal výluh vermikompostu z kuchyňského bioodpadu stejně jako u varianty bez aerace. Při provzdušňování výluhu byl obsah draslíku vyšší o 23 %. Po 48 hodinách vyluhování obsahoval výluh vermikompostu z kuchyňského bioodpadu 630 mg/l draslíku. Nejnižší obsah draslíku byl opět ve výluhu vermikompostu z jablečných výlisků. Při aeraci se zvýšila jeho koncentrace pouze na 118 mg/l. Aerace měla vliv na obsah draslíku ve všech výluzích z vermikompostů. Největší vliv ovšem měla ve výluzích z vermikompostů z kuchyňského bioodpadu a matoliny. Při ukončení vyluhování byl v obou případech obsah draslíku téměř o 100 mg/l vyšší než ve variantě bez aerace.

Podobnou situaci nastiňuje publikace /3/, kdy koncentrace draslíku byla také vyšší ve variantě s aerací. Vermikompost z kuřecího hnoje byl vyluhován s aerací a bez aerace a vyšší koncentraci draslíku měl právě provzdušňovaný výluh. Největší nárůst vyluhovatelnosti draslíku byl zaznamenán mezi 1. až 6. hodinou odběru u výluhu vermikompostu z kuchyňského bioodpadu, kdy vyluhovatelnost vzrostla o 18 %. Po 48 hodinách vyluhování byla vyluhovatelnost u výluhu vermikompostu z kuchyňského bioodpadu 65 %. Největší vyluhovatelnost, až 71 %, měl draslík ve výluhu vermikompostu z digestátu. U výluhů vermikompostů z hnoje a z jablečných výlisků nepřesáhla vyluhovatelnost draslíku 30 % a u matoliny 33 %. Od prvního odběru po odběr, který probíhal 24 hodin od začátku vyluhování, stoupla vyluhovatelnost draslíku ve všech výluzích. Nejvíce se zvýšila vyluhovatelnost u výluhu vermikompostu z kuchyňského bioodpadu, o 25 %, a nejméně u výluhu vermikompostu z digestátu, o 7 %. Mezi 24. až 48. hodinou stoupla vyluhovatelnost již nepatrně, nejvíce u výluhu vermikompostu z matoliny, a to o 4 %.

#### LITERATURA

- /1/ Pandit, N. P., Maheshwari, S. K.: Optimization of vermicomposting technique for sugarcane waste management by using *Eisenia fetida*. International Journal of Biosciences, 2, 2012: 143 – 155
- /2/ Pant, A., Radovich, T. J. K., Hue, N. V., Arancon, N. Q.: Effects of vermicompost tea (aqueous extract) on pak choi yield, quality, and on soil biological properties. Compost science & Utilization, 19, 2011: 279-292
- /3/ Pant, A. P., Radovich, T. J. K., Hue, N. V., Talcott, S. T., Krenek, K. A.: Vermicompost extracts influence growth, mineral nutrients, phytonutrients and antioxidant activity in pak choi (*Brassica rapa* cv. Bonsai, Chinensis group) grown under vermicompost and chemical fertiliser. Journal of the Science of Food and Agriculture, 89, 2009: 2383 – 2392
- /4/ Rostami, R.: Vermicomposting. In: Kumar, S. (ed.). Integrated Waste Management – Volume II, 2011: 131 - 142. ISBN: 978-953-307-447-4.
- /5/ Sinha, R. K., Agarwal, S., Chauhan, K., Chandrav, V., Soni, B. K.: Vermiculture Technology: Reviving the Dreams of Sir Charles Darwin for Scientific Use of Earthworms in Sustainable Development Programs. Technology and Investment, 1, 2010:155 – 172

#### Poděkování

Autoři děkují za finanční podporu získanou v rámci 7. Rámcového projektu č. 312117 „Biofactor“.

## VPLYV PODZEMNÝCH VÔD Z OKOLIA SKLÁDKY BÝVALEJ NIKLOVEJ HUTY SEREĎ NA RIASY

### *INFLUENCE OF GROUNDWATER FROM THE AREA OF THE FORMER NICKEL SMELTER LANDFILL IN SEREĎ TOWN ON ALGAE*

Alexandra Filová, Marianna Molnárová, Agáta Fargašová

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

#### *Summary*

Groundwater obtained from the area of the former nickel smelter landfill in Sereď town contained nickel in two sites: Šintava ( $5.2 \mu\text{g.l}^{-1}$ ) and Nový Majer ( $4.6 \mu\text{g.l}^{-1}$ ). As available data indicate, nickel concentration in the samples were not toxic for algae. However, decreasing of the algal growth rate as well as chlorophyll *a* and increasing of the oxidative stress level were statistically significant in all cases after 96-h exposition. The followed parameters were not influenced by nickel toxicity, but rather through deficiency of some nutrients (P, Co and Mo).

*Key words: smelter landfill, groundwater, Pseudokirchneriella subcapitata (Korshikov) Hindák 1990, stress, nickel biosorption*

#### *Súhrn*

Podzemné vody odoberané z okolia skládky bývalej niklovej huty Sereď obsahovali nikel v dvoch vzorkách: Šintava ( $5,2 \mu\text{g.l}^{-1}$ ) a Nový Majer ( $4,6 \mu\text{g.l}^{-1}$ ), jeho koncentráciu však v porovnaní s dostupnými údajmi nemožno považovať vo vzťahu k riasam za toxickú. Zníženie rastovej rýchlosti rias, ako aj obsahu chlorofylu *a* a zvýšenie úrovne oxidačného stresu bolo po expozičnom čase 96 h vo všetkých testovaných prípadoch štatisticky významné, čo však nebolo spôsobené toxicitou niklu, ale skôr nedostatkom niektorých živín (P, Co a Mo).

*Kľúčové slová: halda, podzemná voda, Pseudokirchneriella subcapitata (Korshikov) Hindák 1990, stres, biosorpcia niklu*

## ÚVOD

Lúženec bývalej Niklovej huty Sereď (okres Galanta, Slovensko) ležiaci na nive rieky Váh je jedným z príkladov povrchového odpadu zo spracovania rúd. V tejto halde sú obsiahnuté mnohé ťažké kovy, vrátane niklu /1/. V súčasnosti predstavuje chýbajúca tesniaca podzemná stena závažný nedostatok lúženca. Dažďová voda prestupujúca cez lúženec sa obohacuje o potenciálne toxické látky, ktoré tak potom vstupujú do okolitej pôdy a podzemnej vody /1/. Potenciálnu toxicitu vzoriek podzemných vôd sme sledovali na riase *Pseudokirchneriella subcapitata* cez rastovú rýchlosť, chlorofyl *a*, úroveň oxidačného stresu (proteínové tiolové skupiny) a biosorpciu niklu.

## MATERIÁL A METÓDY

Odber vzoriek, ich konzervácia a analýza boli uskutočnené podľa medzinárodných noriem, ktoré sú podrobne uvádzané v diplomovej práci /2/. Pripravili sa série Erlenmayerových baniek (50 ml) po šiestich paralelách. Kultivačné médium kontroly sa zostavilo podľa normy STN EN ISO 8692 (2012) /3/ a ďalšie 4 série obsahovali odobratú podzemnú vodu z lokalít Šintava, Šúrovce, Dolná Streda a Nový Majer. Iničiálna koncentrácia rias druhu *Pseudokirchneriella subcapitata* (Korshikov) Hindák 1990 (CCALA 433) bola  $13.10^4 \pm 6728$  buniek.ml<sup>-1</sup> a každých 24

hodín sa v priebehu 96 h testu sledovala ich rastová rýchlosť /3/. Na konci testu sa stanovila koncentrácia chlorofylu *a* /4/, obsah tiolových (-SH) skupín /5/ a schopnosť rias biosorbovať nikel obsiahnutý vo vzorkách podzemných vôd /2/. Štatistická významnosť (Studentov *t*-test) bola hodnotená vzhľadom ku kontrole, kde \**p* < 0,05; \*\**p* < 0,01 a \*\*\**p* < 0,001.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

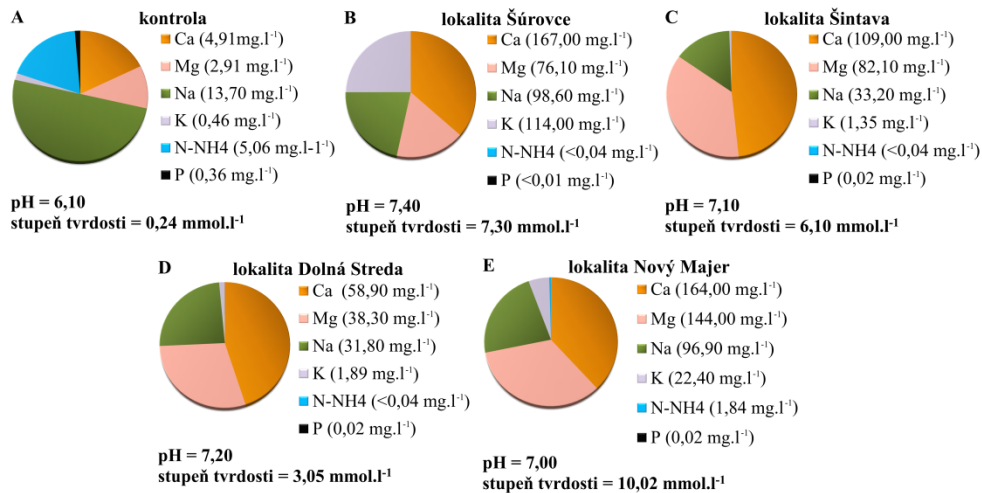
Vzorky podzemných vôd v porovnaní s kontrolou majú zvýšený obsah Ca a Mg, ale sú relatívne chudobné na dusík a fosfor (Graf 1). Na základe práce /6/ možno deklarovať, že podzemné vody vzhľadom na vyššiu tvrdosť môžu znižovať potenciálnu toxicitu ťažkých kovov obsiahnutých v týchto vzorkách.

Tab.1: Koncentrácie ťažkých kovov v kontrole a vo vzorkách podzemných vôd. *nd* – pod detekčným limitom, kde **Pb, Ni** <1,00 µg.l<sup>-1</sup>, **Co** < 5,00 µg.l<sup>-1</sup>, **Al, Mo** < 10,00 µg.l<sup>-1</sup>, spojovník „-“ v bunke tabuľky pre kontrolu znamená, že dané kovy nie sú zložkou kultivačného média. NOEC – No-Observed-Effect-Concentration, MATC – The maximum acceptable toxicant concentration, EC<sub>10</sub> – Effective Concentration 10 % (rast), PNEC – Predicted No Effect Concentration. \* koncentrácia Fe sa uvádza ako stimulačná pre rast *Chlorella vulgaris*.

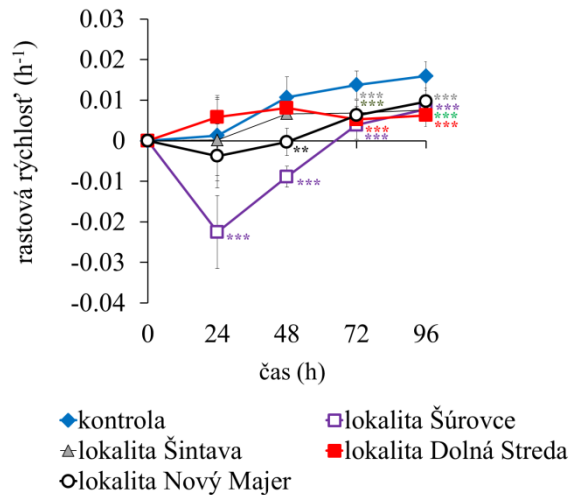
| kov (µg.l <sup>-1</sup> )                       | Al                    | B                                 | Ba                               | Cd                    | Co                    | Cu                    |
|---|-----------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| <i>kontrola</i>                                 | -                     | 32,35                             | -                                | -                     | 0,37                  | 0,04.10<br>-1         |
| <i>lokality Šúrovce</i>                         | 10,40                 | 338,00                            | 52,30                            | 0,12                  | <i>nd</i>             | 7,22                  |
| <i>lokality Šintava</i>                         | 10,90                 | 83,60                             | 25,40                            | 0,12                  | <i>nd</i>             | 6,03                  |
| <i>lokality Dolná Streda</i>                    | <i>nd</i>             | 41,60                             | 140,00                           | 0,22                  | <i>nd</i>             | 5,4                   |
| <i>lokality Nový Majer</i>                      | <i>nd</i>             | 227,00                            | 42,60                            | 0,26                  | <i>nd</i>             | 8,9                   |
| <i>údaje pre porovnanie<br/>možnej toxicity</i> | NOEC<br>230,00<br>/7/ | EC <sub>10</sub><br>24 000<br>/8/ | MATC<br>1100/9/                  | NOEC<br>50,00<br>/10/ | NOEC<br>5,3 /11/      | NOEC<br>10,00<br>/10/ |
| kov (µg.l <sup>-1</sup> )                       | Fe                    | Mo                                | Mn                               | Ni                    | Pb                    | Zn                    |
| <i>kontrola</i>                                 | 10,00                 | 2,78<br><i>nd</i>                 | 120,00<br>1040,0<br>0            | -<br><i>nd</i>        | -<br>1,78             | 1,44<br>35,00         |
| <i>lokality Šúrovce</i>                         | 20,00                 | <i>nd</i>                         | <i>nd</i>                        | 5,20                  | <i>nd</i>             | 96,40                 |
| <i>lokality Šintava</i>                         | 40,00                 | <i>nd</i>                         | 170,00                           | <i>nd</i>             | <i>nd</i>             | 14,80                 |
| <i>lokality Dolná Streda</i>                    | 260,00                | <i>nd</i>                         | 480,00                           | 4,60                  | <i>nd</i>             | 29,40                 |
| <i>údaje pre porovnanie<br/>možnej toxicity</i> | *5590<br>/12/         | PNEC<br>1800<br>/13/              | EC <sub>10</sub><br>2270<br>/14/ | NOEC<br>30,00<br>/10/ | NOEC<br>60,00<br>/10/ | NOEC<br>20,00<br>/10/ |

Nikel bol zaznamenaný len vo vzorkách podzemných vôd odoberaných z lokalít Šintava a Nový Majer (Tab. 1), avšak jeho koncentrácia nepredstavuje riziko toxicity, keďže je približne 6-násobne nižšia ako NOEC (No-Observed-Effect-Concentration) pozorovaná v inej práci (Tab. 1). Podobne možno hodnotiť aj koncentrácie ostatných kovov s výnimkou Zn (Tab. 1), avšak iné zdroje uvádzajú, že koncentrácia zinku 36 µg.l<sup>-1</sup> ešte stimulovala rast riasy *P. subcapitata* /15/. Na grafe 2 vidieť, že bunky rias vystavené podzemnej vode z lokality Šúrovce a Nový Majer v prvej polovici testu náhle odumierali, neskôr však svoj rast obnovili. V čase 96 h po expozícii bola

rastová rýchlosť rias najviac obmedzená ich kultiváciou v podzemnej vode z lokality Dolná Streda (Graf 2). Najnižší obsah riasového chlorofylu *a* sa stanovil v teste s podzemnou vodou z lokality Šúrovce a výrazne sa tu zvýšila hladina -SH skupín (Graf 3). Takmer 2-násobné zvýšenie úrovne oxidačného stresu (-SH skupín) v riasach sa dostavil po ich expozícii vzorky z Dolnej Stredy a štatisticky významne bol inhibovaný aj obsah chlorofylu *a* (Graf 3).



Graf 1: Základné zloženie vôd, pH a stupeň tvrdosti. Ku každej látke uvedenej v legende je priradená nameraná koncentrácia.  $P < 0,01 \text{ mg.l}^{-1}$  – koncentrácia fosforu je pod detekčným limitom,  $N-NH_4 < 0,04 \text{ mg.l}^{-1}$  – koncentrácia amoniakálneho dusíka je pod detekčným limitom.



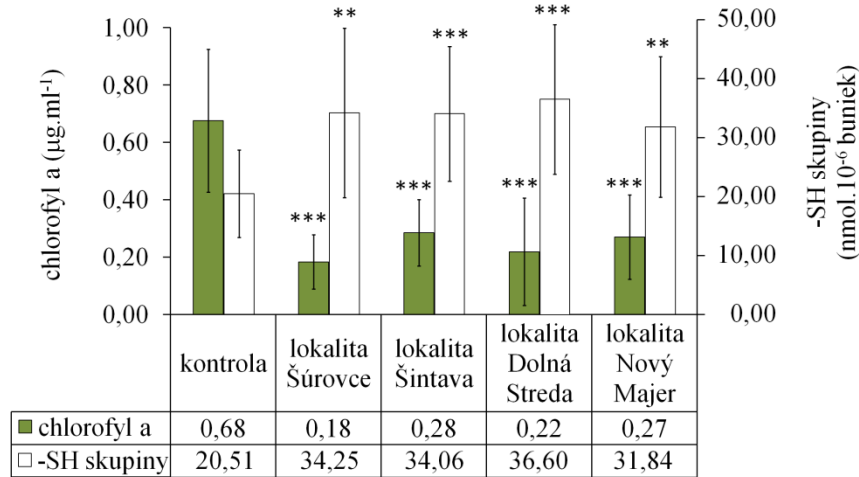
Graf 2: Rastová rýchlosť populácie rias *P. subcapitata* vystavená 96 h kontrole a vzorkám podzemných vôd. Úsečky vyjadrujú štandardnú odchýlku merania (SD).  $**p < 0,01$ ;  $***p < 0,001$ .

Tab.2: Biosorpcia niklu obsiahnutého v podzemných vodách živou biomasou *P. subcapitata* v čase 96 h po expozícii. nd – pod detekčným limitom, SD – štandardná odchýlka.

|   | kontrola | lokalita Šúrovce | lokalita Šintava | lokalita Dolná Streda | lokalita Nový Majer |
|---|----------|------------------|------------------|-----------------------|---------------------|
| Ni v biomase rias (mg.kg <sup>-1</sup> sušiny) ± SD | nd       | nd               | 5,80 ± 0,72      | nd                    | nd                  |



Riasy sorbovali nikel iba pri raste v podzemnej vode z lokality Šintava (Tab. 2), v ktorej sa rast rias približoval rastu kontroly, ale na konci testu došlo k zníženiu rastovej rýchlosti až o polovicu (Graf 2). Obsah chlorofylu *a* (Graf 3, Šintava) sa zo všetkých testovaných lokalít najmenej znížil. Štatisticky významné zvýšenie úrovne oxidačného stresu sa pozorovalo vo všetkých vzorkách podzemných vôd v porovnaní s kontrolou (Graf 3).



Graf 3: Koncentrácia chlorofylu *a* (ľavá y-ová os) a -SH skupín (pravá y-ová os) rias v čase po 96 h expozícii vzorkám podzemných vôd. Úsečky sú štandardná odchýlka (SD). \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .

## LITERATÚRA

- 1/ Michaeli, E., Boltžiar, M., Solár, V., Ivanová, M.: Skládka priemyselného odpadu lúžienca ako príklad environmentálnej záťaže pri bývalej Niklovej hute v Seredi. *Životné prostredie*, 46(2), 2012: 63–68.
- 2/ Filová, A.: Recipročný účinok niklu a zinku na sladkovodnú riasu *Pseudokirchneriella subcapitata*. [Mgr. Thesis]. Bratislava: Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, 2015, 108 s.
- 3/ STN EN ISO 8692 (2012): Kvalita vody. Skúška inhibície rastu sladkovodných rias s jednobunkovými zelenými riasami (ISO 8692: 2012). SÚTN, Bratislava.
- 4/ Fargašová, A. (2001): Interactive effect of manganese, molybdenum, nickel, copper I and II, and vanadium on the freshwater alga *Scenedesmus quadricauda*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 67, 2001: 688–695.
- 5/ Viner, R.I., Krainev, A.G., Williams, T.D., et al.: Identification of oxidation-sensitive peptides within the cytoplasmic domain of the sarcoplasmic reticulum of the  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase. *Biochemistry*, 36, 1997: 7706–7716.
- 6/ Deleebeeck, N.M.E., De Schampelaere, K.A.C., Janssen, C.R.: Effects of  $\text{Mg}^{2+}$  and  $\text{H}^{+}$  on the toxicity of  $\text{Ni}^{2+}$  to the unicellular green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*: Model development and validation with surface waters. *Science of the Total Environment*, 407(6), 2009: 1901–1914.
- 7/ Claesson, A., Törnqvist, L.: The toxicity of aluminium to two acido-tolerant green algae. *Water Research*, 22 (8), 1988: 977–983.
- 8/ MDSM Boron, 2000. dostupné na: <http://norganics.com/MSDS/Solubor-m.pdf>, 28.5.2016.
- 9/ Appendix 8 IV. Derivation of Chronic Effects Benchmarks (Aquatic Health). Gahcho Kué Project, Environmental Impact Statement, 2011. dostupné na: [http://reviewboard.ca/upload/project\\_document/EIR0607-001\\_Appendix\\_8\\_IV\\_CEB\\_2011\\_Conformity\\_Respsns\\_15Jul11.PDF](http://reviewboard.ca/upload/project_document/EIR0607-001_Appendix_8_IV_CEB_2011_Conformity_Respsns_15Jul11.PDF), 28.5.2016.
- 10/ Chao, M.R., Chen, C.Y.: No-Observed-Effect Concentration in Batch and Continuous algal toxicity tests. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(6), 2000: 1589–1596.
- 11/ MDSM Cobalt 2016. Dostupne na : <http://ecx.images-amazon.com/images/I/51vRtKKs6JL.pdf>, 28.5.2016
- 12/ Estevez, M.S., Malanga, G., Puntarulo, S. (2001): Iron-dependent oxidative stress in *Chlorella vulgaris*. *Plant Science*, 161, 9–17.
- 13/ MDSM Molybdenum and its compounds, 2009. dostupné na: [https://www.env.go.jp/en/chemi/chemicals/profile\\_erac/profile10/pf1-17.pdf](https://www.env.go.jp/en/chemi/chemicals/profile_erac/profile10/pf1-17.pdf), 28.5.2016
- 14/ Peters, A., Crane, M., Maycock, D., et al.: Proposed EQS for Water Framework Directive Annex VIII substances: manganese (bioavailable) (For Consultation). Water Framework Directive - United Kingdom Technical Advisory Group (WFD-UKTAG), Edinburgh, Scotland, 2010, 77 pp.

/15/ Filová, A., Molnárová, M. (2015): Vplyv zinku na rast, fotosyntetické pigmenty a tiolové skupiny sladkovodnej riasy *Pseudokirchneriella subcapitata* (Korshikov) Hindák. Študentská vedecká konferencia PriF UK 2015. Zborník recenzovaných príspevkov [elektronický zdroj] Bratislava: Univerzita Komenského, 1599–1604 [CD-ROM].

### **Pod'akovanie**

Výskum bol finančne podporený grantom VEGA 1/0098/14.

## OBSAH VYBRANÝCH ŽIVÍN V OPADE BUKOVÝCH EKOSYSTÉMOV S ROZDIELNOU IMISNOU ZÁŤAŽOU

### CONTENT OF SELECTED NUTRIENTS IN LITTERFALL OF BEECH ECOSYSTEMS WITH DIFFERENT IMMISSION LOAD

Katarína Gašová, Margita Kuklová, Ján Kukla

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

#### Summary

The paper presents results of selected nutrients in a leaf fall of beech (*Fagus sylvatica* L.). The research was conducted in 3. oak-beech forest vegetation grade in Kremnické and Štiavnické vrchy Mts. The nutrient content in beech leaves was higher on the stress plot Žiar nad Hronom, in case of Mg 1.1-fold, Na 1.3-fold and K 1-fold. However, samples taken from control plot Kremnické vrchy Mts had nearly 1.5-fold higher Ca concentration compared with those on MP Žiar nad Hronom. Within investigated nutrients, Na values on EES Kremnické vrchy Mts (cv = 38.3%) considerably more fluctuated and K values fluctuated on both plots (cv = 26.7– 35.8% for EES Kremnické vrchy, respectively MP Žiar nad Hronom).

*Key words: leaf fall, Fagus sylvatica L., Ca, Mg, K, Na concentrations*

#### Súhrn

V práci sú uvedené výsledky obsahov živín v opade listov buka (*Fagus sylvatica* L.). Výskum bol vedený v geobiocenózach 3. lesného vegetačného stupňa v oblasti Kremnických a Štiavnických vrchov. Výsledky ukázali, že obsah živín v listoch buka bol vyšší na imisne zaťaženej MP Žiar nad Hronom, v prípade Mg 1,1-násobne, Na 1,3-násobne a K 1-násobne. Predsa s takmer 1,5-krát vyššou koncentráciou Ca sa vyznačovali vzorky listov odobrané z kontrolnej plochy EES Kremnické vrchy v porovnaní s MP Žiar nad Hronom. V rámci skúmaných nutrientov podstatne viac kolísali hodnoty Na z EES Kremnické vrchy (vk = 38,3%) a K na oboch plochách (vk = 26,7– 35,8% pre EES Kremnické vrchy, resp. MP Žiar nad Hronom).

*Kľúčová slova: opad, listy, Fagus sylvatica L., Ca, Mg, K, Na*

## ÚVOD

Opad drevín predstavuje dôležitú súčasť kolobehu živín v lesných ekosystémoch /1/. Táto organická hmota pôsobí ako prírodné hnojivo a je významná pre existenciu lesov a lesných pôd /2/. Dekompozíciou opadu sú živiny mineralizované a následné navracané vegetácii. Chemické zloženie opadu a každoročný prísun prvkov do pôdy závisia od viacerých faktorov, ako je druhové zloženie, vek porastu, hustota, stanovište a klimatické podmienky /3–6/. Pravidelný prísun organickej hmoty spolu so zrážkami môže spôsobiť zmeny v chemickom a mikrobiologickom zložení pôdy a iniciovať alebo zintenzívniť niektoré ďalšie procesy /3/. Živiny akumulované v listoch sú nahradzované vodíkovými a amónnymi kationmi, následkom čoho dochádza k ich vyplavovaniu, či predčasnému opadu listov zo stromov. Dôkazom sú 2 – 3 násobne vyššie koncentrácie Ca, Mg a Cu (v prípade K až 10 násobne) v zrážkach prepúšťaných korunovým zápojom bukoveho porastu v porovnaní s koncentráciou uvedených prvkov v zrážkach otvorenej krajiny v južnom Švédsku /7/.

V lesných ekosystémoch sa prejavujú v stúpajúcej miere poruchy výživy, ktoré môžu byť jednou z príčin zhoršovania zdravotného stavu lesov. Preto je dôležité venovať pozornosť obsahu živín ako aj stopových prvkov v opade lesných drevín. V príspevku prezentujeme výsledky štúdií

o koncentraciách živín (Ca, Mg, Na, K) v opade listov buka nudálnych lesných ekosystémov (*Fagetum pauper*) s rozdielnou imisnou záťažou.

## MATERIÁL A METÓDA

Výskum sme uskutočňovali v rokoch 2014–2015 v geobiocenózach 3. lesného vegetačného stupňa v orografickom celku Kremnických a Štiavnických vrchov. Geobiocenologické plochy boli vybrané v štandardne obhospodarovaných bukových porastoch zo sít *Fagetum pauper*. MP sa nachádzajú v mierne teplom klimatickom regióne, s priemernou ročnou teplotou na EES Kremnické vrchy 6–7°C, na MP Žiar nad Hronom 7–8°C a priemernými ročnými zrážkami na obidvoch plochách 700–800 mm /8/. MP Žiar nad Hronom v Štiavnických vrchoch bola v minulosti najviac zasiahnutá imisiami z neďalekej hlinikárne v Žiari nad Hronom, od emisného zdroja je vzdialená 1,5 km. Menej imisne postihnutou plochou je Ekologický experimentálny stacionár (EES) v Kremnických vrchoch vzdialený 18,0 km od emisného zdroja.

Na každej MP bolo rovnomerne po diagonále rozmiestnených 5 opadomerov. Záchytná plocha opadomeru bola 0,5 m<sup>2</sup>. Umiestnené boli v stojane vo výške cca 1,5 m nad zemou. Vzorky opadu drevín sa odoberali v roku 2014 v čase intenzívneho opadu lístia, najmä na jeseň (1.IX., 15.IX., 24.IX., 16.X., 31.X., 12.XI., 1.XII., 15.XII.). Hmotnosť čerstvého opadu sa stanovila gravimetricky, po vysušení pri 80 °C počas 48 hodín, s presnosťou na 0,002 g /9/. Obsah živín (Ca, Mg, K, Na) v opade listov buka sa stanovil mineralizáciou v koncentrácii HNO<sub>3</sub> na prístroji LECO ICP-3000.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Počas obdobia pozorovania priemerný obsah živín v listoch buka bol vyšší v prípade Mg (1,1 násobne), Na (1,3 násobne) a K (1 násobne) vo vzorkách odobraných z MP Žiar nad Hronom v porovnaní s EES Kremnické vrchy. Naopak, priemerná koncentrácia Ca bola vyššia vo vzorkách listov z EES Kremnické vrchy a to až 1,4 násobne. Obsah **vápnika** sa pohyboval v rozmedzí 9,07 – 11,78 g.kg<sup>-1</sup> (MP Žiar nad Hronom) a 10,21 – 16,95 g.kg<sup>-1</sup> (EES Kremnické vrchy) (Tab.1). Akumulácia vápnika v listoch skúmaných bukových porastov bola pomerne vyrovnaná, variačný koeficient (vk) dosiahol hodnoty 9,68% a 14,73% na MP Žiar nad Hronom a EES Kremnické vrchy, v uvedenom poradí. Rozdiel medzi priemernými koncentraciami vápnika vo vzorkách listov porovnávaných plôch činil približne 30%. Časový vývoj obsahov rastlinám prístupného vápnika (Graf 1) vykazuje mierny nárast od letných mesiacov smerom k neskorým jesenným. Počas celého obdobia pozorovania zistené koncentrácie Ca boli vyššie vo vzorkách listov odobraných z EES Kremnické vrchy. Z výsledkov je zrejmé, že príjem vápnika drevinami bol značne ovplyvnený hodnotami pôdnej reakcie. V hĺbke pôdy 0 – 10 cm na MP Žiar nad Hronom je hodnota aktuálnej pôdnej reakcie (4,6–4,7) o viac než jednu jednotku nižšia v porovnaní s pH<sub>H2O</sub> na ploche v Kremnických vrchoch (5,8–6,3) /10/.

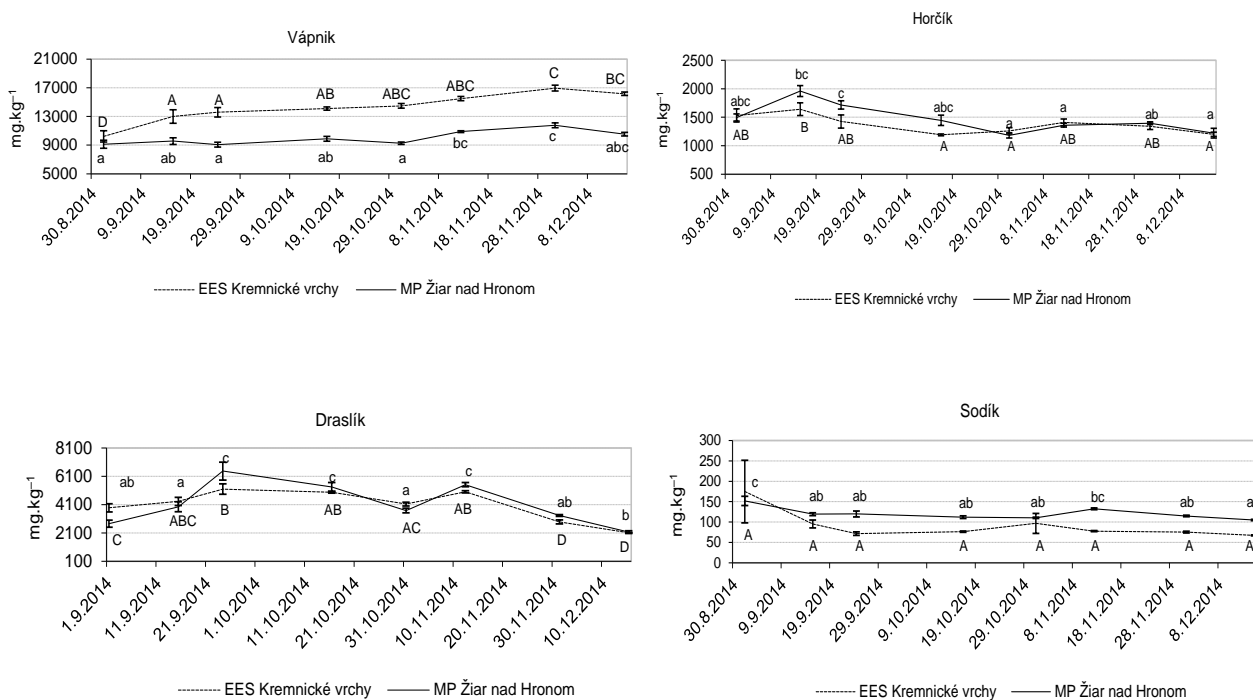
Obsah **horčíka** v sledovanom období naznačil nepravidelne klesajúci trend (Graf 1). Minimálne koncentrácie predstavovali 1,18 g.kg<sup>-1</sup> a 1,19 g.kg<sup>-1</sup> a maximálne hodnoty činili 1,96 g.kg<sup>-1</sup> a 1,64 g.kg<sup>-1</sup> pre MP Žiar nad Hronom a EES Kremnické vrchy v uvedenom poradí. Koncentrácia Mg v bukových listoch bola pomerne vyrovnaná, vk dosiahol 17,53% pre MP Žiar nad Hronom a 11,59% pre EES Kremnické vrchy. Vyššia priemerná hodnota Mg sa zistila na MP Žiar nad Hronom (1471 ± 64 mg.kg<sup>-1</sup>) v porovnaní s EES Kremnické vrchy (1374 ± 70 mg.kg<sup>-1</sup>) (Tab.1). Podľa práce /11/ zistený obsah horčíka (1,88 g.kg<sup>-1</sup>) v čerstvom bukovom listí spadá do rozmedzia nami zistených hodnôt.

Dynamika koncentrácie **draslíka** v listoch buka bola značne nevyrovnaná, variačný koeficient (vk) činil 26,75% pre EES Kremnické vrchy a 35,78% pre monitorovaciu plochu v Štiavnických vrchoch. V priebehu časovej periódy môžeme pozorovať dve výrazné maximá (24.9.2014; 12.11.2014). Avšak vzhľadom na vyššiu variabilitu porovnávaných súborov,

priemerné hodnoty K v listoch buka z MP Žiar nad Hronom ( $4,15 \pm 0,25 \text{ g.kg}^{-1}$ ) a EES Kremnické vrchy ( $4,07 \pm 0,17 \text{ g.kg}^{-1}$ ) sa líšili len minimálne.

Tab.1: Obsah živín v opade bukových listov v oblasti Štiavnických a Kremnických vrchov

| Plocha                 | Element                 | Ca         | Mg         | K          | Na       |
|------------------------|-------------------------|------------|------------|------------|----------|
|                        | mg.kg <sup>-1</sup>     |            |            |            |          |
| MP<br>Žiar nad Hronom  | priemer±stredná chyba   | 10010± 323 | 1471 ± 64  | 4151± 251  | 120 ± 4  |
|                        | minimum                 | 9070 ± 336 | 1180 ± 46  | 2165 ± 99  | 104 ± 2  |
|                        | maximum                 | 11775± 341 | 1960 ± 95  | 6465± 624  | 151± 11  |
|                        | variálny koeficient (%) | 9,68       | 17,53      | 35,78      | 12,43    |
| EES<br>Kremnické vrchy | priemer±stredná chyba   | 14245 ± 87 | 1374 ± 70  | 4066 ± 73  | 91 ± 15  |
|                        | minimum                 | 10216 ± 85 | 1190 ± 15  | 2120 ± 29  | 67 ± 1   |
|                        | maximum                 | 16945 ± 09 | 1640 ± 111 | 5195 ± 366 | 174 ± 76 |
|                        | variálny koeficient (%) | 14,73      | 11,59      | 26,75      | 38,33    |



Graf 1: Dynamika živín ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) v opade bukových listov. Legenda: významné rozdiely ( $p < 0.05$ ) pre MP Žiar nad Hronom (porovnanie malými písmenami); EES Kremnické vrchy (porovnanie veľkými písmenami).

Podľa práce /11/ množstvo draslíka akumulovaného v čerstvom bukovom listí ( $10,4 \text{ g.kg}^{-1}$ ) je až 2,5-násobne vyššie v porovnaní s materiálom zachyteným v opadomeri na EES Kremnické vrchy ( $4,1 \text{ g.kg}^{-1}$ ). V dôsledku vysokej mobility a ľahkému vyplavovaniu K z organického materiálu môžeme pozorovať tiež pokles koncentrácie K z nekrotického ( $1,7 \text{ g.kg}^{-1}$ ) do fermentačného subhorizontu ( $1,5 \text{ g.kg}^{-1}$ ) na EES Kremnické vrchy. Na imisiách ovplyvnenej plochy v Žiari nad Hronom bol tento pokles ešte výraznejší (z  $1,6 \text{ g.kg}^{-1}$  – Oon na  $1,0 \text{ g.kg}^{-1}$  – Oof) (Gašová, nepublikované výsledky).

Koncentrácia **sodíka** v bukových listoch bola vyrovnannejšia vo vzorkách z MP Žiar nad Hronom ( $\text{vk} = 12,43\%$ ) oproti hodnotám zisteným v listoch z Kremnických vrchov ( $\text{vk} = 38,33\%$ ).

Z výsledkov je zrejmé, že priemerné hodnoty Na v listoch z Kremnických vrchov ( $67 \pm 1 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) a z MP Žiar nad Hronom ( $120 \pm 4 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) sa výrazne odlišovali. Rozdiel medzi porovnávanými plochami tvoril až 44%. Vyššie koncentrácie sodíka obsahovali vzorky listov z monitorovacej plochy v Štiavnických vrchoch s výnimkou úplne prvého odberu uskutočneného 1.9. 2014. Obsah sodíka v živej hmote bol nižší ako obsah vápnika a draslíka. Hoci koncentrácie Na v rastlinách sú nízke, v prírodných podmienkach sa jeho nedostatok nezistil /12/. Naopak, prítomnosť solí a iónov Na v pôde v nadlimitných hodnotách negatívne vplýva na pôdne vlastnosti a škodí rastu väčšine rastlín.

#### LITERATÚRA

- /1/ Novák, J., Dušek, D., Slodičák, M.: Quantity and quality of litterfall in young oak stands. *Journal of Forest Science*, 60, 2014: 219–225.
- /2/ Šály, R.: *Pedológia a mikrobiológia*. Zvolen: VŠLD, 1988, 378 p.
- /3/ Augusto, L., Ranger, J., Binkley, D., Rothe, A.: Impact of several common tree species of European temperate forests on soil fertility. *Annales of Forest Science*, 59, 2002: 233–253.
- /4/ Albrektson, A.: Needle litterfall in stands of *Pinus sylvestris* L. in Sweden, in relation to site quality-stand age and latitude. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 3, 1988: 333–342.
- /5/ Hennessey, T.C., Dougherty, P.M., Cregg, B.M., Wittwer, R.F.: Annual variation in needle fall of a loblolly pine stand in relation to climate and stand density. *Forest Ecology and Management*, 51, 1992: 329–338.
- /6/ Bray, J.R., Gorham, E.: Litter production in forests of the world. *Advances in Ecological Research*, 2, 1964: 100–157.
- /7/ Pählson, A. M. B.: Mineral nutrients, carbohydrates and phenolic compounds in leaves of beech (*Fagus sylvatica* L.) in southern Sweden as related to environmental factors. *Tree Physiology*, 5, 1989: 485 – 495.
- /8/ Miklós, L., Hrnčiarová, T.: *Atlas krajiny Slovenskej republiky*. 1. vydanie, MŽP SR Bratislava, SAŽP Banská Bystrica, 2002.
- /9/ Dykyjová, D. et al.: *Metody studia ekosystémů*. Academia, Praha, 1989, 690 p.
- /10/ Kuklová, M., Hniličková, H., Kukla, J., Hnilička, F.: Environmental impact of the Al smelter on physiology and macronutrient contents in plants and Cambisols. *Plant, Soil and Environment*, 61, 2015: 72–78.
- /11/ Bublínec, E.: Koncentrácia, akumulácia a kolobeh prvkov v bukovom a smrekovom ekosystéme. *Acta Dendrobiologica*, Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied Zvolen, 1994, 85 p.
- /12/ Čurlík, J., Šefčík, P.: *Geochemický atlas Slovenskej republiky, Časť V: Pôdy*. MŽP SR, VÚPOP, Bratislava, 1999, 99 p.

#### Pod'akovanie

Táto práca bola podporovaná Vedeckou grantovou agentúrou MŠ SR a SAV (projekt č. 2/0027/13).

## VPLYV MULČOVANIA NA PESTOVANIE PAPRIKY ROČNEJ (*CAPSICUM ANNUM*)

### *THE IMPACT IF MULCHING ON GROWING OF PEPPER (*CAPSICUM ANNUM*)*

Marcel Golian<sup>1</sup>, Elka Kóňová<sup>2</sup>, Alžbeta Hegedúsová<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Botanická záhrada pri SPU v Nitre, Tr. Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika

#### *Summary*

The work was oriented to the impact of mulching of pepper (*Capsicum annum*) crops in an experimental field trial in southern Slovakia. Mulching was observed on the variety Nesvadská. There was used yellow, green, red, brown and black polyethylene foil. Pepper is significantly thermophilic crop. In the frame of achieving of better cultivation conditions (temperature regime, water regime etc.) there is need of pepper mulching according to results from agricultural practices in the field conditions. Comparing the results it was found that the mulching by dark mulch foils affected the pepper more favorable than bright mulch foils.

*Key words: Pepper, Capsicum annum, cultivation, production, mulching*

#### *Súhrn*

Práca rieši vplyv mulčovania porastov papriky ročnej (*Capsicum annum*) v experimentálnom pokusnom poraste na južnom Slovensku. Mulčovanie bolo sledované na odrode Nesvadská. Použitá bola žltá, zelená, červená, hnedá a čierna polyetylénová fólia. Paprika ročná je významne teplomilná plodina. Z dôvodu dosiahnutia lepších pestovateľských podmienok (teplotný režim, vodný režim atď.) vyplývajú z agrotechnickej praxe poznatky o potrebe jej mulčovania pri poľnom pestovaní. Porovnaním výsledkov bolo zistené, že mulčovanie tmavými mulčovacími fóliami vplýva na porasty papriky priaznivejšie ako mulčovanie svetlými fóliami.

*Kľúčová slova: paprika ročná, Capsicum annum, pestovanie, produkcia, mulčovanie*

## ÚVOD

### **Botanická charakteristika**

Paprika ročná (*Capsicum annum*) patrí do čeľade ľuľkovité (*Solanaceae*). Stonka papriky je na priereze hranatá až okrúhla, bylinná, neskôr drevnatejúca s hrúbkou od 7 do 12mm /10/. Výška rastliny sa pohybuje v priemere od 30cm do 80cm v závislosti od konkrétnej odrody. Listy vajcovité, široko vajcovité až kopijovité svetlozelenej, tmavozelenej až fialovej farby /4/. Kvety sú obojpohlavné. Plodom papriky ročnej je puzdrovitá bobuľa rôznych tvarov a veľkostí, najčastejšie prevrátené kužeľovitého tvaru /10/.

### **Agrotechnika pestovania**

Paprika ročná je v našich podmienkach plytko zakoreňujúca jednoročná rastlina so zväzkovitou koreňovou sústavou. Podľa dĺžky vegetačného obdobia odrody papriky sa delia na veľmi skoré, skoré, stredne skoré, neskoré a veľmi neskoré /9/.

Hybridné odrody papriky patria medzi najnáročnejšie plodiny pre poľné pestovanie. Sú náročné na svetlo, ale vysoká intenzita slnečného žiarenia počas letných mesiacov zhoršuje opeľovacie pomery /2/. Z hľadiska nároku na teplo patrí táto plodina medzi najnáročnejšie. Pri

teplote pod 10°C sa jej rast a vývoj zastavuje, pričom až pri teplotách nad 35°C sa stáva jej peľ sterilným /11/. Počas samotnej vegetácie je pre rast papriky najvhodnejšia teplota 22°C. Už slabé mrazy spôsobujú nezvratné poškodenie /9/. Pre optimálne úrody na úrovni 50 000 t.ha<sup>-1</sup> je nutné rátať s potrebou 500 mm vody na 1m<sup>2</sup> počas jedného vegetačného obdobia.

### Význam mulčovania

Lasák /5/ uvádza, že mulčovanie porastov znižuje potrebu ochrany pestovanej plodiny proti burinám, zabraňuje tvorbe pôdneho prísušku, presychaniu a erózii pôdy, napomáha premene odumretých častí rastlín na humus a zvyšuje mikrobiálnu aktivitu v pôde. Môže priaznivo pôsobiť na tepelnú stabilitu pôdy pri zmene denných a nočných teplôt ovzdušia a napomáha udržať dobrú čistotu plodov.

## MATERIÁL A METÓDY

Experiment bol riešený v rámci výskumnej činnosti Katedry zeleninárstva SPU v Nitre na parcele v lokalite Horný Piritov, v katastri obce Nové Zámky. Skúmané bolo mulčovanie maloplošných pokusných porastov papriky ročnej, odrody Nesvadská. Celkovo bolo založených 6 pokusných variantov. Založeniu pokusu predchádzali kompletne rozborý pôd, pričom bolo zistené, že pôda je živinami dobre zásobená a vhodná na pestovanie zvolenej plodiny. Na jeseň v rokoch 2009 a 2010 bol na pokusných plochách hlbokou orbou zapracovaný maštalný hnoj v dávke 30 t.ha<sup>-1</sup>. Jarná príprava pôdy bola zabezpečená kultivátorovaním. Pokus prebiehal v dvoch po sebe nasledujúcich vegetačných obdobiach, pričom každý rok bol pokus založený na novej parcele s posunom o 25 m od parcely kde sa pokus realizoval predchádzajúci rok. Tento postup zabránil novej únave pôdy. Dopestovaný rastlinný materiál určený na výsadbu bol obstaraný od externého dodávateľa, pričom bol dobre prekorenený s 8-10 pravými listami. Pestovateľský výskum prebiehal v 3 opakovaníach. Spon výsadby bol 0,40 x 0,40 m. Každý variant obsahoval 12 rastlín po 3 opakovaníach, pričom bolo použité mulčovanie zelenou, žltou, červenou, hnedou, modrou a čiernou polyetylénovou fóliou. Rozmery jednotlivých opakovaní boli 1,2 x 2,0m. Meranie teplôt pôdy v rizómovej vrstve bolo vykonávané lomenými pôdnymi ortuťovými teplomerami v hĺbke 0,1m pod pôdnym povrchom trikrát počas dňa vždy jedným vpichom v každom opakovaní. Ranné meranie bolo uskutočnené o 7:30 h, popoludňajšie o 12:30 h a popoludňajšie o 16:30 h. Získané údaje boli zaznamenané a spracované pre každý variant individuálne. Súčet nameraných hodnôt z jednotlivých meraní určuje sumu teplôt pre konkrétny variant. Výsledky sú uvedené prostredníctvom štatistických tabuliek a grafov.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Locher a Ombodi /6/ uvádzajú, že plastové fólie významne vplývajú na zvyšovanie teploty nimi nakrývanej pôdy. Amjad a Rafique /1/ vo svojom výskume uvádzajú, že teplota mulčovanej pôdy bola v priemere o 1,2°C vyššia v porovnaní s nemulčovaným variantom. Súčasne však uvádzajú, že najvyššia teplota pôdy bola dosiahnutá pod svetlými mulčovacími fóliami. Podľa nášho predpokladu, že čierna mulčovacia textília dokáže absorbovať najviac tepla počas slnečného svitu bolo potvrdené, nakoľko suma aktívnych teplôt počas oboch rokov sledovania experimentu bola vo variante mulčovanom čiernou textíliou najvyššia. Hodnoty boli merané pôdnymi teplomerami pod pôdnym povrchom v hĺbke 10 cm. Celkovú sumu aktívnych teplôt uvádzame v tabuľke č.1 a sumy aktívnych teplôt počas jednotlivých rokov v tabuľke č.2.

Autorka Gajc-Wolska /3/ publikuje, že pri mulčovaní čiernou fóliou sa zvýšil pomer predajných plodov. Z našich výsledkov však vyplýva, že napriek tomu, že čierna mulčovacia fólia pôsobila na ohrev sledovaného pôdneho profilu najlepšie, najvyššia úroda v t.ha<sup>-1</sup> bola počas dvoch sledovaných rokov zaznamenaná pri variante mulčovanom červenou mulčovacou fóliou (55,38 t.ha<sup>-1</sup>), ďalej hnedou mulčovacou fóliou (52,35 t.ha<sup>-1</sup>), žltou mulčovacou fóliou (47,66 t.ha<sup>-1</sup>), zelenou mulčovacou fóliou (46,61 t.ha<sup>-1</sup>), v predposlednom rade čiernou mulčovacou fóliou (46,24 t.ha<sup>-1</sup>) a následne modrou mulčovacou fóliou (45,84 t.ha<sup>-1</sup>).



Tabuľka číslo 1: Sumy aktívnych teplôt počas jednotlivých rokov v °C

| Sumy aktívnych teplôt za rok 2010 v °C |        |         |         |         |           |         |
|--|--------|---------|---------|---------|-----------|---------|
| variant                                | máj    | jún     | júl     | august  | september | október |
| žltá                                   |        | 1725,46 | 2199,79 | 2049,14 | 1466,39   | 391,85  |
| zelená                                 |        | 1761,98 | 2226,77 | 2092,97 | 1495,05   | 399,16  |
| červená                                |        | 1668,81 | 2246,72 | 2030,12 | 1432,75   | 390,99  |
| hnedá                                  |        | 1676,81 | 2208,84 | 2049    | 1427,38   | 375,84  |
| modrá                                  |        | 1702,07 | 2255,23 | 2103,35 | 1485,09   | 390,12  |
| čierna                                 |        | 1646,67 | 2349,26 | 2121,14 | 1439,03   | 390,02  |
| Sumy aktívnych teplôt za rok 2011 v °C |        |         |         |         |           |         |
| variant                                | máj    | jún     | júl     | august  | september | október |
| žltá                                   | 478,47 | 1999,57 | 1961,1  | 2036,5  | 1674,72   | 353,71  |
| zelená                                 | 479,65 | 2068,08 | 2011,78 | 2025,66 | 1650,59   | 351,05  |
| červená                                | 448,03 | 2018,92 | 2022    | 2024,17 | 1657,76   | 350,9   |
| hnedá                                  | 461,37 | 2024,74 | 1953,57 | 2022,64 | 1643,35   | 342,62  |
| modrá                                  | 477,25 | 2009,11 | 1962,47 | 2076,73 | 1678,79   | 347,68  |
| čierna                                 | 458,31 | 2088,7  | 2047,88 | 2024,75 | 1654,33   | 345,66  |

zdroj: Tarics, Kóňa /8/

Tabuľka číslo 2: Sumy aktívnych teplôt spolu za sledované obdobie 2010 a 2011 v °C

| Sumy aktívnych teplôt spolu v °C            |          |         |         |         |           |         |
|---|----------|---------|---------|---------|-----------|---------|
| variant                                     | máj      | jún     | júl     | august  | september | október |
| žltá  | 478,47   | 3725,03 | 4160,89 | 4085,64 | 3141,11   | 745,56  |
| zelená                                      | 479,65   | 3830,06 | 4238,55 | 4118,63 | 3145,64   | 750,21  |
| červená                                     | 448,03   | 3687,73 | 4268,72 | 4054,29 | 3090,51   | 741,89  |
| hnedá                                       | 461,37   | 3701,55 | 4162,41 | 4071,64 | 3070,73   | 718,46  |
| modrá                                       | 477,25   | 3711,18 | 4217,7  | 4180,08 | 3163,88   | 737,8   |
| čierna                                      | 458,31   | 3735,37 | 4397,14 | 4145,89 | 3093,36   | 735,68  |
| Sumy aktívnych teplôt za variant spolu v °C |          |         |         |         |           |         |
| žltá  | 16336,7  |         |         |         |           |         |
| zelená                                      | 16562,74 |         |         |         |           |         |
| červená                                     | 16291,17 |         |         |         |           |         |
| hnedá                                       | 16186,16 |         |         |         |           |         |
| modrá                                       | 16487,89 |         |         |         |           |         |
| čierna                                      | 16565,75 |         |         |         |           |         |

zdroj: vlastná práca, 2016

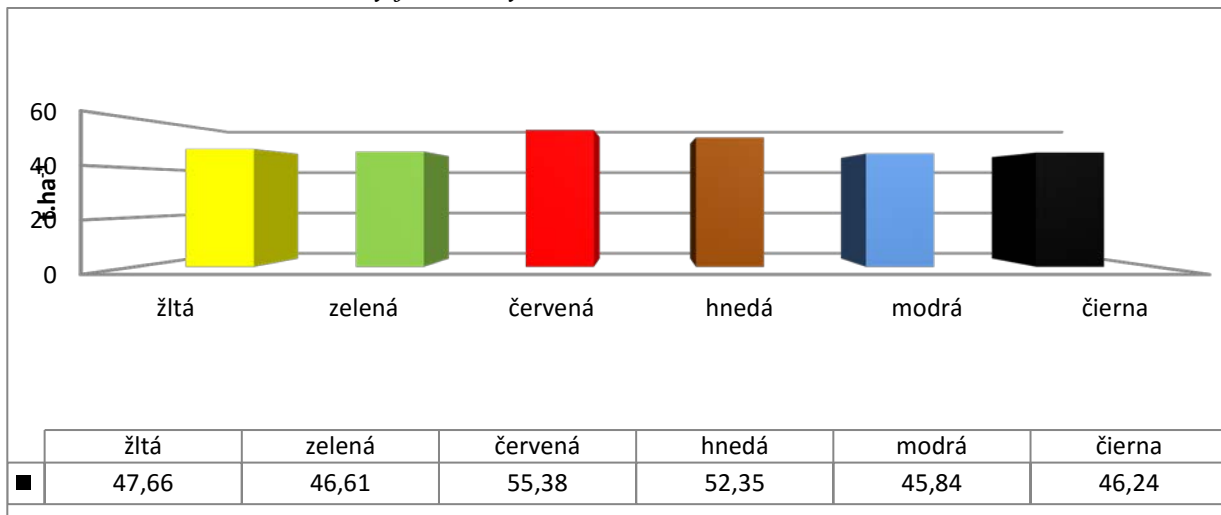
Na základe predpokladu, že čierna fólia, ktorá sa v praxi využíva najbežnejšie pôsobí na rast plodín stimulačne, bola označená ako kontrola. V percentuálnom vyjadrení tvorila 100 % očakávanej úrody. Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že v porovnaní s kontrolným variantom boli celkové úrody variantu mulčovaného červenou mulčovací fóliou o 19,77 % vyššie ako úrody v kontrolnom variante, hnedou fóliou o 13,21 % vyššie, žltou o 3,07 % a zelenou mulčovací fóliou vyššie o 0,08 %. Nižšie úrody boli zistené len pri variante mulčovanom modrou mulčovací fóliou a to o 0,87%. Celkové úrody variantov sú znázornené na obrázku číslo 1.

Orzolek /7/ uvádza, že počas trojročného pestovateľského experimentu boli najvyššie úrody zaznamenané pri variante mulčovanom striebornou fóliou a najnižšie pri bielej a svetlomodrej

polyetylénovej (PE) fólii. Tvrdí, že jednotlivé odozvy mulčovania rôznymi fóliami sú úzko späté s podnebním pestovateľského regiónu a aktuálnym priebehom počasia počas vegetácie.

Mulčovanie farebnými PE fóliami výrazne vplývalo aj na zaburinenosť experimentálnych porastov. Zatiaľ čo pri žltej a zelenej fólii bolo opticky pozorované značné zaburinenie, pri fólii hnedej, červenej a modrej bol výskyt nežiaducej vegetácie len ojedinelý. Nulová zaburinenosť bola pozorovaná pri mulčovaní čiernou PE fóliou. Orzolek /7/ píše, že strieborná PE fólia odpudzuje vošky zatiaľ čo modrá fólia vábi strapky.

Obrázok číslo 1: Celkové úrody jednotlivých variantov



Zdroj: vlastná práca, 2016

V záveroch možno konštatovať, že mulčovanie porastov plodovej zeleniny vplýva na rast a následné úrody porastov pozitívne. Mulčovacia fólia pomáha zlepšiť vlhové pomery pôd počas vegetácie, pri správnom technologickom postupe zabraňuje rastu burín a následnému zhutňovaniu pôd vznikajúcemu prejazdmi ťažkej mechanizácie. Do veľkej miery chráni porasty pred infekciami hubovými patogénmi prezimujúcimi v pôdach, urýchľuje vegetáciu a napomáhajú uniformite porastov a v neposlednom rade priaznivo vplývajú na čistotu plodov.

Pre pestovateľskú prax odporúčame používať mulčovanie vybraných plodín, avšak konkrétne druh fólie a farba fólie s prihliadnutím na lokalizáciu pestovateľskej parcely a druhu a odrody plodiny ostáva otázkou ďalšieho cieleného výskumu.

## LITERATÚRA

- /1/ Amjad, M., Rafique Asi, M. et al: Vegetative and reproductive evaluation of hot peppers under different plastic mulches in polyplastic tunnel. Institute of Horticultural Sciences, University of agriculture Faisalabad Nuclear Institute for Agriculture and Biology, Faisalabad, Department of agronomy, 2009.
- /2/ Balázs, S., Ackerl, I., Bittsánsky, J. et al: Zoldsegtemesztok kézikönyve. 2, Győr, Szechenyi Nyomda Kft, 1994, ISBN 9638439378.
- /3/ Gajc-Wolska, J. et al: Yield of sweet pepper depending on cultivars and growing conditions. Warsaw, Warsaw Agricultural University, Department of Vegetables and Medicinal Plants, 2002.
- /4/ Komlódy, M.: Kultúrovenyek. 1, Budapest, Kossuth Nyomda, 62 s., 1978, ISBN: 963111050.
- /5/ Lasák, O.: Lesnícka práca – spôsoby mulčování ve výsadbách dřevin na zemědělské půdě. 2009.
- /6/ Locher, J., Ombodi, A. et al: Intensive production technology of field grown Kopia-type sweet pepper with special reference to the use of plastic mulch and raised bed. Hajtatás, korai termesztés Hungary, 2012.
- /7/ Orzolek, M. D., Lamont, W. J.: Mulch Film Technology. 32nd National Agricultural Plastic Congress, The Pennsylvania State University Department of Horticulture – Center for Plasticulture, 2005.
- /8/ Tarics, T.: Vplyv mulčovania na zmenu pôdných teplôt pri zeleninovej paprike. SPU Nitra, 2012.
- /9/ Uher, A., Kóňa, J., Valšíková, M., Andrejiová, A.: Zeleninárstvo – poľné pestovanie. 1, Nitra, Garmond, 2004, ISBN 8089148166.

- /10/ Valšíková, M.: Pestovanie poľnej zeleninovej papriky z priesad. Sieť poradenských služieb v poľnohospodárstve, 2005.
- /11/ Zatykó, L.: Paprika. 1, Budapest, Mezőgazda Kiadó, 174 s., 1993.

### **PodĎakovanie**

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory výskumného projektu VEGA 1/0105/14.

## NIEKTORÉ ASPEKTY REPRODUKČNÉHO PROCESU BOROVICE LESNEJ, BOROVICE HORSKEJ A ICH HYBRIDNÉHO ROJA

### *SOME ASPECTS OF REPRODUCTIVE BEHAVIOUR OF SCOTS PINE, MOUNTAIN DWARF PINE AND THEIR HYBRID SWARM*

Andrej Kormuťák<sup>1,2</sup>, Martin Galgóci<sup>1</sup>, Denisa Súkeníková<sup>2</sup>, Peter Boleček<sup>2</sup>, Dušan Gömöry<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Ústav genetiky a biotechnológií rastlín SAV, Akademická 2, 950 05 Nitra, nrgrkorm@savba.sk;

<sup>2</sup> Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre, Fakulta prírodných vied, A. Hlinku 1, 949 74 Nitra;

<sup>3</sup> Technická univerzita vo Zvolene, Lesnícka fakulta, T. G. Masaryka 24, 960 53 Zvolen

#### *Summary*

Quality of conelets was compared in *P. mugo*, *P. sylvestris* and in their hybrid swarm. The lowest number of the ovules in conelets was found in *P. mugo* individuals, the highest in *P. sylvestris* individuals. Hybrid swarm individuals occupied intermediate position in this respect.

*Key words:* *Pinus sylvestris*, *P. mugo*, ovules, macrostrobili, survival

#### *Souhrn*

Porovnávala sa kvalita makrostrobilov u druhov *P. mugo*, *P. sylvestris* a ich hybridného roja. Najvyššiu kvalitu vykazovali jedince *P. sylvestris*, najnižšiu jedince *P. mugo*. Hybridný roj zaujímal z hľadiska počtu vajčiek v makrostrobiloch intermediárne postavenie.

*Klíčovú slova:* *Pinus sylvestris*, *P. mugo*, vajička, makrostrobily, prežívanie

## ÚVOD

Borovica lesná (*Pinus sylvestris* L.) a borovica horská - kosodrevina (*P. mugo* Turra) patria medzi najrozšírenejšie druhy borovic na území Slovenska. Prvý z uvedených druhov je charakteristickou drevinou nížinných oblastí a pahorkatín s vertikálnym rozšírením 230-700 m n.m. /1/. Druh *P. mugo* je dominantnou súčasťou subalpínskych ekosystémov stredného a severného Slovenska, kde tvorí hornú hranicu lesa v nadmorskej výške 1800 m. Spodná hranica prirodzeného rozšírenia kosodreviny u nás leží v nadmorskej výške 1550 m /7/. Na viacerých miestach Slovenska je známy aj extrazonálny výskyt týchto druhov, kde v rámci vzájomného kontaktu dochádza sporadicky k ich spontánnemu kríženiu za tvorby hybridných rojov. Jedným z týchto miest je aj lokalita "Medzi Bormi" v Habovke-Zuberci, ktorá sa nachádza v nadmorskej výške 815 m. Taxonomicky patria borovica lesná a borovica horská do sekcie *Pinus*, subsekcie *Sylvestres* podrodu *Diploxylon* /3/, pre ktorý je charakteristická reprodukčná izolácia jednotlivých druhov v dôsledku vzájomnej inkompatibility /4, 2/. Cytologický mechanizmus inkompatibility sa zakladá na neschopnosti peľových zŕn jedného druhu vyklíčiť na nucelárnom pletive vajička materského druhu, čo vedie k abortii vajička v priebehu 2-3 mesiacov po opelení makrostrobilov. Uvedený fenomén je determinovaný genetický, avšak k vývinovým poruchám dochádza aj pod vplyvom nepriaznivých klimatických a ekologických podmienok. V závislosti na počte prežívajúcich vajčiek môže dôjsť v nasledujúcom období k degenerácii alebo k normálnemu vývinu makrostrobilov, ktoré sa v druhom vegetačnom období vyvinú v zrelé šišky. Posledne uvedený aspekt inkompatibility sme v predloženej práci analyzovali na úrovni rodičovských druhov *P. sylvestris* a *P. mugo*, resp. u jedného z ich hybridných rojov.

## MATERIÁL A METÓDY

Porovnávacie štúdium zahrňovalo 10 jedincov borovice horskej-kosodreviny (*Pinus mugo* Turra) na lokalite Roháče v západných Tatrách, 7 jedincov borovice lesnej (*P. sylvestris* L.) na lokalite Oravský Biely Potok a 9 jedincov hybridného roja oboch vyššie uvedených druhov na lokalite "Medzi Bormi" v Habovke-Zuberci. Z každého jedinca sa v máji druhého vývinového obdobia odobrali po 3 makrostrobily, v rámci ktorých sa vizuálne hodnotila prítomnosť vajíčok na jednotlivých semenných šupinách. Cytologicky sa interakcia peľových zŕn s nucelárnym pletivom vajíčok dokumentovala pomocou trvalých cytologických preparátov /5/. Údaje týkajúce sa počtu prítomných vajíčok sa vyhodnotili štatisticky pomocou analýzy variancie, zatiaľ čo rozdiely medzi jednotlivými taxónmi pomocou Duncanovho testu.

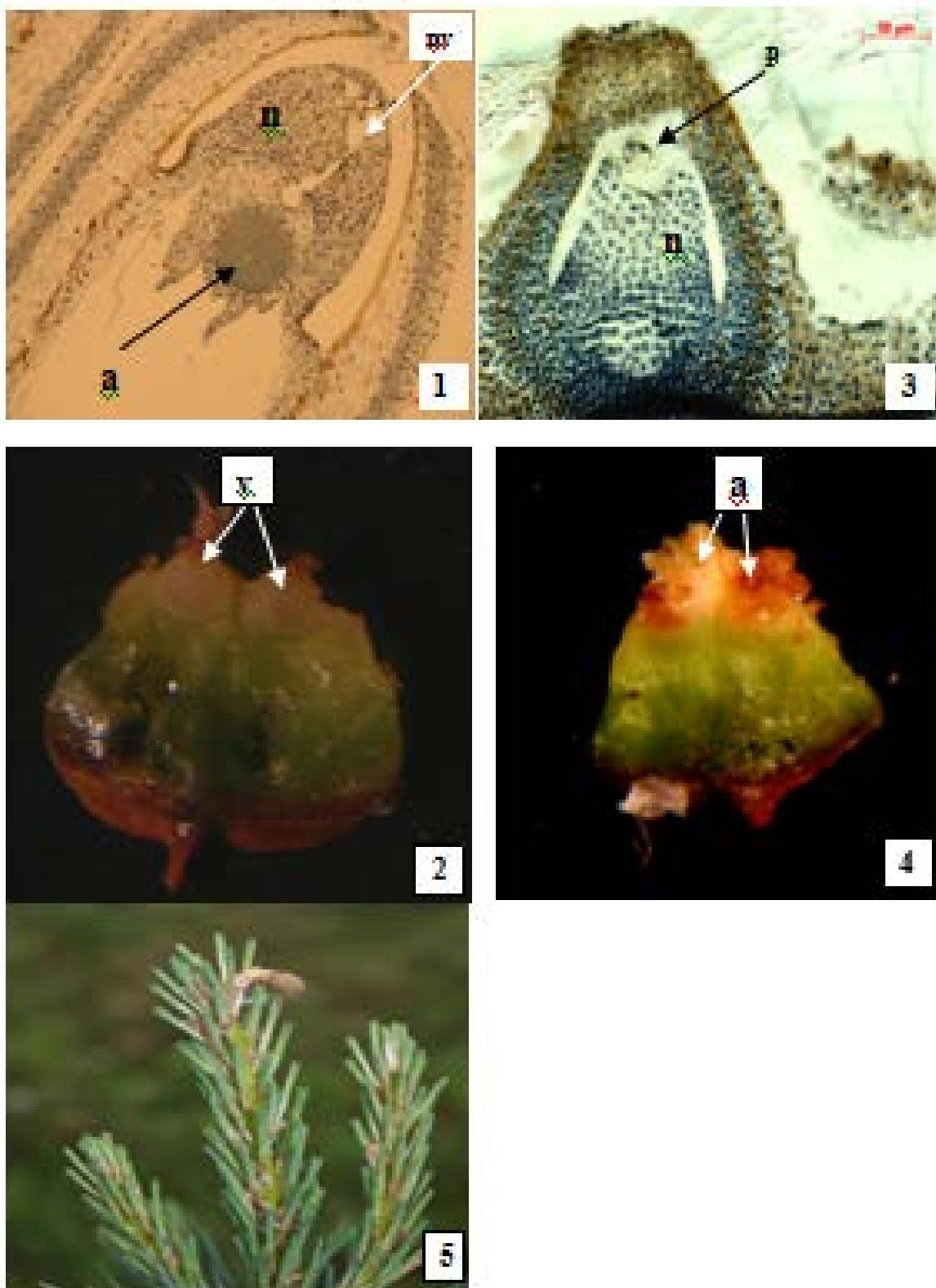
## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Charakter interakcie peľových zŕn s nucelárnym pletivom vajíčok a jeho dopad na jednotlivé vajíčka i celé makrostrobily ilustrujú obr. 1-5. V prípade vysokej afinity peľu k vajíčku dochádza v priebehu prvých 2-3 mesiacov po opelení k vyklíčeniu peľu na nuceluse a následnej penetrácii peľového vrecúška nucelárnym pletivom. Tým je zabezpečený fyziologický stimul potrebný k normálnemu vývinu vajíčka (obr. 1-2). V prípade inkompatibility je klíčivosť peľu potlačená, čo vedie k postupnej aborcii vajíčka (obr. 3-4). Vývin jednotlivých makrostrobilov určuje pomer normálne sa vyvíjajúcich a abortovaných vajíčok daného makrostrobilu. Podľa autora /6/ prežívanie makrostrobilov je podmienené maximálnym počtom 18-18 abortovaných vajíčok v strobiloch malých rozmerov, 18-21 abortovaných vajíčok v stredne veľkých strobiloch, resp. 21-22 abortovanými vajíčkami v strobiloch väčších rozmerov. Naše výsledky zohľadňujú predovšetkým normálne sa vyvíjajúce vajíčka v makrostrobiloch. Zistilo sa, že už prítomnosť už 3 vajíčok zabezpečuje prežívanie makrostrobilu. Najvyšší počet vajíčok na makrostrobil činil 50 vajíčok. Čo sa týka priemerného počtu vajíčok na jednu semennú šupinu/plodolist makrostrobilu, tento sa pohyboval v rozpätí 0,12 - 1,85.

V ojedinelých prípadoch sme zistili absenciu oboch vajíčok na plodolistoch daného makrostrobilu. Rodičovské druhy *P. mugo* v Roháčoch a *P. sylvestris* v Oravskom Bielom Potoku, ako aj hybridný roj v Zuberci sú pomerne diferencované z hľadiska kvality ich makrostrobilov. Najnižšie ukazovatele počtu vajíčok boli zistené v populácii druhu *P. mugo*, čo zrejme súvisí s mrazivým charakterom kotliny Roháče (Tab.1). Najvyššie ukazovatele tohto druhu sú charakteristické pre druh *P. sylvestris* v Oravskom Bielom Potoku. Hybridný roj v Zuberci vykazuje intermediárne hodnoty kvality jeho makrostrobilov, čo pripisujeme jeho hybridnej povahe.

Tab. 1: Kvalita makrostrobilov troch analyzovaných populácií borovíc s ohľadom na počet ich vajíčok

| Populácia      | Poč. analyzovaných makrostrobilov | Priemerný poč. vajíčok na strobil | Duncanov test | Priemerný poč. vajíčok na plodolist | Duncanov test |
|----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------|-------------------------------------|---------------|
| Roháče         | 30                                | 10,6                              | B             | 0,43                                | B             |
| Orav. B. Potok | 21                                | 19,42                             | A             | 0,77                                | A             |
| Zuberec        | 27                                | 16,63                             | A             | 0,62                                | A             |



Obr. 1-5: Klíčiaci peľ na nuceluse vajíčka (1), ktoré sa vyvíja normálne (2). Dormantný peľ na vrchole nucelusu (3) v dôsledku čoho vajíčka abortujú (4). Makrospobil na začiatku druhého vývinového obdobia (5);

n – nucelus, pv – peľové vrecúško, a – archegónium, p – peľové zrno, v – vajíčka.

**LITERATÚRA**

- /1/ Blatný, T., Šťastný, T.: Prirodzené rozšírenie lesných drevín na Slovensku. Slovenské vydavateľstvo poľnohospodárskej literatúry, Bratislava 1959.
- /2/ Kriebel, H. B.: Interspecific incompatibility and inviability problems in forest trees. Proc. 14<sup>th</sup> Meeting Canadian Tree Improvement Association, August 28-30, 1973, Fredericton, New Brunswick, Canada, Part 2, 1975: 67-84.
- /3/ Little, E. L., Critchfield, W. B.: Subdivision of the genus *Pinus* (Pines). US Dept. of Agriculture, Washington, D. C. Forest Service, Miscellaneous publication No. 1144, 1969, 51 pp.
- /4/ McWilliam, J. R.: Interspecific incompatibility in *Pinus*. American Journal of Botany 46, 1959: 425-433.
- /5/ Němec, B. a kol.: Botanická mikrotechnika. Nakladatelství ČSAV, Praha 1962.
- /6/ Sarvas, R.: Investigations on the flowering and seed crop of *Pinus sylvestris*. Communicationes Instituti Forestalis Fenniae 53, 1962: 51-198.
- /7/ Somora, J.: Kosodrevina (*Pinus mugo* Turra) v Tatranskom národnom parku (Rozšírenie, vzrastové formy). Zborník prác o Tatranskom národnom parku 22, 1981: 31-76.

**Pod'akovanie**

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory projektu COST FP 1403.

## VLIV SYNTETICKÉHO STRIGOLAKTONU GR24 NA ANTIOXIDAČNÍ SYSTÉM PŘI REAKCI NA NEDOSTATEK FOSFÁTU

### *THE INFLUENCE OF SYNTHETIC STRIGOLACTONE GR24 ON THE ANTIOXIDANT SYSTEM DURING PLANT RESPONSE TO PHOSPHATE DEFICIENCY*

Barbara Kramná<sup>1,2</sup>; Sylva Přerostová<sup>1,2</sup>; Vojtěch Knirsch<sup>1</sup>; Eva Kobzová<sup>1</sup>; Radomíra Vaňková<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ústav experimentální botaniky AV ČR, Rozvojová 263, 165 02; Praha 6 - Lysolaje,

<sup>2</sup> Univerzita Karlova v Praze, PřF, Katedra experimentální biologie rostlin, Viničná 5, 128 44; Praha 2

#### *Summary*

The influence of phosphate (Pi) deficiency together with application of synthetic strigolactone GR24 on the antioxidant system was analyzed at *Arabidopsis thaliana*. Phosphate deficiency had a negative effect on the gene expression of *CAT1*, *CAT2* and *CAT3*. A combination of Pi deficiency and GR24 had a strong positive effect on the expression of *CAT1* and *CAT3* in both leaves and roots. An analysis of proteins showed that Pi deficiency with GR24 stimulated active CAT isozymes production in leaves. The opposite effect was observed in roots. The biggest difference between an expression and active protein production was observed for *CAT2*, especially in roots. Changes in the expression and active isozyme formation in response to a lack of Pi and GR24 were not significant for MnSOD, sAPX or cAPX. However the highest expression for MnSOD was in medium without Pi plus GR24. The lack of Pi led to a slight overall stimulation of the antioxidant system on a protein level. GR24 had an additive effect through a stimulation of the expression and the activity of CAT both in leaves and roots.

*Key words: Arabidopsis thaliana, phosphate deficiency, antioxidant enzymes, strigolactone*

#### *Souhrn*

Vliv nedostatku fosfátu (Pi) a současná aplikace syntetického strigolaktonu GR24 na antioxidační systém byl sledován u rostliny *Arabidopsis thaliana*. Nedostatek Pi měl negativní účinek na expresi *CAT1*, *CAT2* i *CAT3*. Kombinace nedostatku Pi a GR24 měla silný pozitivní vliv na expresi *CAT1* a *CAT3* v listech i kořenech. Analýza proteinů ukázala, že v listech měl nedostatek Pi spolu s GR24 pozitivní vliv na tvorbu aktivních isozymů CAT. GR24 v kořenech naopak způsobil útlum tvorby aktivních forem CAT. Největší rozdíly mezi hladinou exprese a tvorbou aktivního proteinu byly u *CAT2*, především v kořenech. Změny exprese a tvorby aktivních isozymů při odpovědi na nedostatek Pi i GR24 byly u MnSOD, sAPX a cAPX slabé. Nejvyšší genová exprese pro MnSOD byla v kořenech u varianty média bez Pi plus GR24. Deficit Pi vedl k celkové mírné stimulaci antioxidačního systému na úrovni proteinů. Přidání GR24 mělo aditivní účinek skrze navýšení exprese i aktivity CAT, jak v listech, tak v kořenech.

*Klíčová slova: Arabidopsis thaliana, nedostatek fosfátu, antioxidační enzymy, strigolakton*

## ÚVOD

Fosfát (Pi) patří mezi esenciální živiny pro rostlinný růst a vývoj. Koncentrace anorganického Pi v půdách je ale velmi často nízká a rostliny trpí jeho nedostatkem. Nedostatek Pi vede k zastavení růstu nadzemní části a ke stimulaci růstu kořenů. Podle nejnovějších studií hrají roli v regulaci růstu kořenů rostlinné hormony strigolaktony (SL), které se uplatňují zejména při stimulaci růstu kořenového vlášení během odezvy na nedostatek fosfátu. Působení strigolaktonů může souviset s regulací antioxidačního systému vnímajícího stresové podněty /3, 7/.



Mezi nejdůležitější antioxidační enzymy se řadí kataláza (CAT), která je v *Arabidopsis* kódována 3 geny. *CAT1*, *CAT2*, *CAT3* kódují individuální podjednotky, které tvoří nejméně 6 izozymů, které prokazují orgánově-specifickou expresi. V květech spolu s listy bylo detekováno 6 izozymů, v kořenech se vyskytly dva /2/. Další antioxidační enzymy jsou mj. superoxid dismutáza (SOD) a askorbát peroxidáza (APX). Jejich regulace je komplexní a je ovlivněna environmentálními i vývojovými signály.

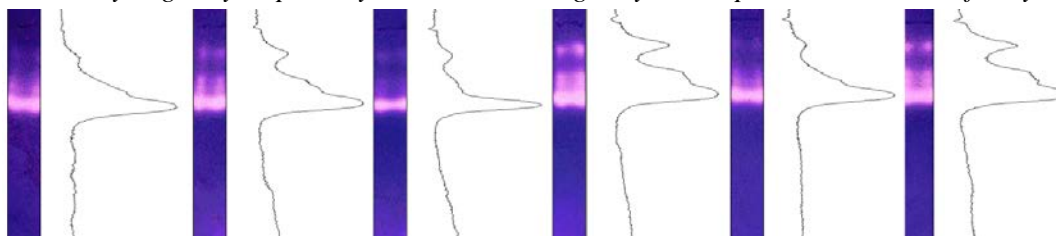
## MATERIÁL A METODIKA

Rostliny *Arabidopsis thaliana* (Columbia 0) byly pěstovány v hydroponii (Hoaglandovo medium 1:7, s obsahem 100  $\mu\text{M}$  fosfátu sodného;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) v kultivačních boxech (SANYO MLR 350H) při krátkém dni (8/16h), světelné intenzitě 130  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , při teplotě 20 °C a relativní vlhkosti cca 75%. Po 28 dnech byla polovina rostlin přenesena do media bez Pi. Dále byl k části rostlin přidán do kultivačního media, jak plně zásobeného Pi tak bez Pi, syntetický strigolakton GR24 (5  $\mu\text{M}$ ) na dobu 7 dnů. U dalších variant byl GR24 přidán po dobu 1 dne, buď k rostlinám plně zásobeným Pi, případně po 6 dnech hladovění. Vzorky listů a kořenů 35-ti denních rostlin byly odebrány a okamžitě zamrazeny v kapalném  $\text{N}_2$ . Expresie vybraných antioxidačních enzymů byla určena pomocí RT-qPCR. Aktivita jednotlivých isoform byla sledována pomocí nativní PAGE /5, 6/.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

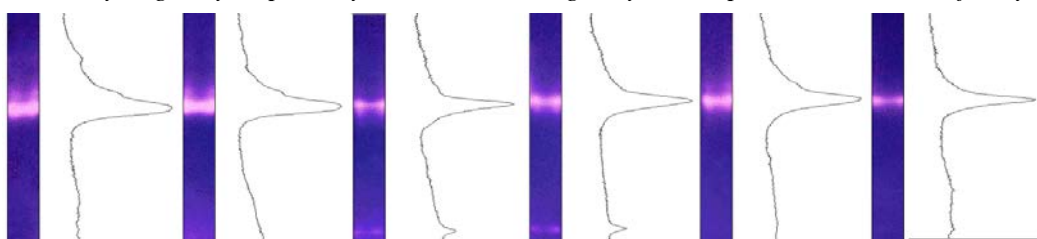
Vliv nedostatku Pi a/nebo GR24 byl sledován v listech a kořenech. Jednotlivé aktivní izozymy CAT byly detekovány pomocí zymogramů (Obr. 1, 2). U listů docházelo k tvorbě více isoform s jasně odlišitelnou CAT3 a CAT2 (Obr. 1). Samotný nedostatek Pi měl na tvorbu izozymů pozitivní vliv a přidání GR24 (zejména jeho 7-denní působení) tento účinek ještě zesílilo. Naopak aplikace GR24 v kombinaci s dostatkem Pi vedla k omezení tvorby aktivních izozymů CAT (Obr. 1). V kořenech byla silná aktivita CAT2 (Obr. 2). Výsledky RT-qPCR ukázaly, že samotný nedostatek Pi vedl k poklesu exprese *CAT1*, *CAT2* i *CAT3* (Obr. 3). Přidání GR24 po dobu 7 dnů v kombinaci s nedostatkem Pi vedlo oproti kontrole k navýšení exprese *CAT1* a *CAT3*. Tyto výsledky jsou v souladu se studií /4/, kteří sledovali vliv nedostatku Pi na antioxidační systém v listech *Arabidopsis* a našli zvýšení aktivity CAT i exprese všech jejích isoformů.

Obr. 1. Zymogramy s upravenými barvami a diagramy aktivit pro individuální isoformy CAT v listech.

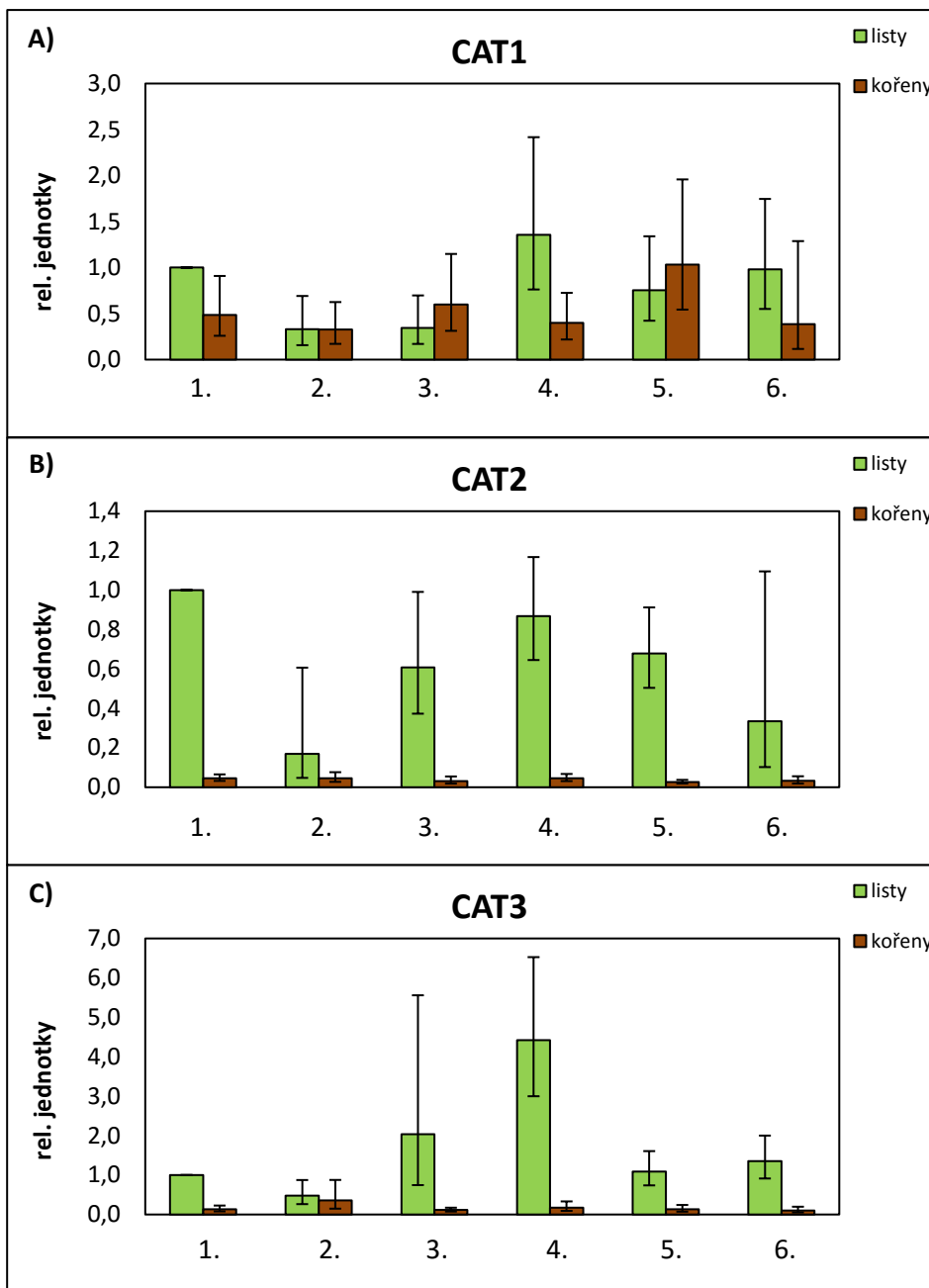


A. +P    B. -P    C. +P 7d GR24    D. -P 7d GR24    E. +P 1d GR24    F. -P 1d GR24.

Obr. 2. Zymogramy s upravenými barvami a diagramy aktivit pro individuální isoformy CAT v kořenech



A. +P    B. -P    C. +P 7d GR24    D. -P 7d GR24    E. +P 1d GR24    F. -P 1d GR24.



Obr. 3. Relativní exprese genů kódujících katalázu, CAT. Data normována na variantu +P list.

A. CAT1, B. CAT2, C. CAT3.

1. +P, 2. -P,

3. +P 7dní GR24,

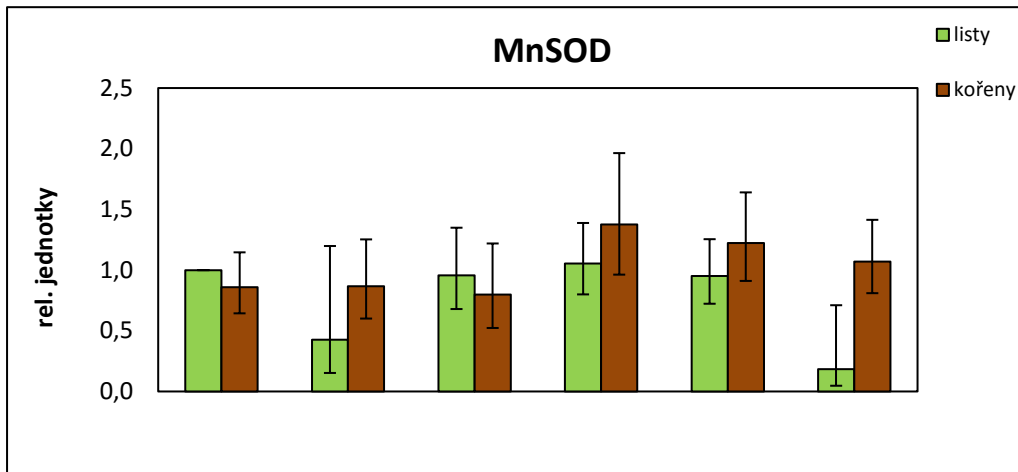
4. -P 7dní GR24,

5. +P 1 den GR24,

6. -P 1den GR24.

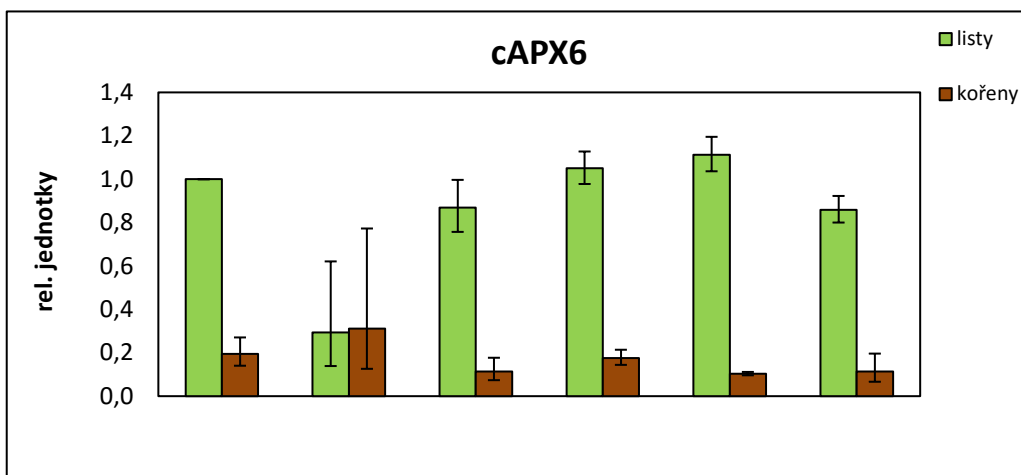
Změny v expresi genu pro MnSOD, která funguje v mitochondriích, byly velice nízké (Obr. 4). Pouze přidání GR24 do média bez Pi po dobu 1 dne způsobilo v listu silný pokles exprese. Na úrovni proteinů byla MnSOD pozorována velice slabě jen u některých variant kořene (data nezařazena). Další sledovaná isoforma, FeSOD, fungující v chloroplastech, nevykazovala výrazné změny exprese při odezvě na nedostatek Pi ani na přidání GR24. Pomocí nativní PAGE navíc

nebyla prokazatelně detekována. Tato reakce může být druhově specifická, vzhledem k tomu, že u kukuřice /9/ nebo morušovníku /8/ byla deficiencie Pi spojena s nárůstem aktivity SOD. Expres cytosolické formy APX (cAPX6) byla negativně regulována samotným nedostatkem Pi. Aplikace GR24 měla naopak silně stimulační účinek na expresi jak v médiu zásobeném Pi, tak i bez něj (Obr. 5). Pokles exprese cytosolické formy APX při nedostatku Pi je v souladu s výsledky /4/, kteří ovšem v listech našli mírné zvýšení stromatální a thylakoidní formy.



Obr. 4. Relativní exprese genu kódujícího mitochondriální formu superoxid dismutázy, MnSOD. Data normována na variantu +P list.

1. +P, 2. -P, 3. +P 7dní GR24, 4. -P 7dní GR24, 5. +P 1 den GR24, 6. -P 1 den GR24.



Obr. 5. Relativní exprese genu kódujícího cytosolickou formu askorbát peroxidázy, cAPX. Data normována na variantu +P list.

1. +P, 2. -P, 3. +P 7dní GR24, 4. -P 7dní GR24, 5. +P 1 den GR24, 6. -P 1 den GR24.

Syntetický strigolakton GR24 měl tedy stimulační účinek na některé enzymy antioxidačního systému. Na hladině exprese nejsilněji u *CAT1* a *CAT3*. Tento efekt byl u cAPX6 navíc silnější v kombinaci s nedostatkem Pi. Na úrovni proteinů GR24 stimuloval nejvíce tvorbu aktivních izozymů CAT. Působení GR24 může být skrze stimulaci produkce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Pro potvrzení vedoucí role H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> při modulaci aktivity antioxidačních enzymů lze provést např. barvení pomocí diaminobenzidinu (DAB).

Získané výsledky odpovídají předchozím studiím věnovaným odezvě na nedostatek Pi. Stanovení vlivu strigolaktonů, hormonů, které jsou stimulovány nedostatkem Pi a hrají klíčovou roli při odezvě rostlin na tento stres, významně rozšiřují tuto problematiku.

#### LITERATURA

- /1/ Mittler and Zilinskas. 1993. Detection of ascorbate peroxidase activity in native gels by inhibition of the ascorbate-dependent reduction of nitroblue tetrazolium. *Analytical Biochemistry* 212: 540-546.
- /2/ Frugoli JA, Zhong HH, Nuccio M, Mccourt P, Mcpeek MA, Thomas T, Mcclung CR. 1996. Catalase is encoded by a multigene family in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Plant Physiology* 112: 327–336.
- /3/ Jiang L, Matthys C, Marquez-Garcia B, De Cuyper C, Smet L, De Keyser A, Boyer FD, Beeckman T, Depuydt S. 2015. Strigolactones spatially influence lateral root development through the cytokinin signaling network. *Journal of experimental botany* 67: 1–11
- /4/ Kandlbinder A, Finkemeier I, Wormuth D, Hanitzsch M, Dietz KJ. 2004. The antioxidant status of photosynthesizing leaves under nutrient deficiency: redox regulation, gene expression and antioxidant activity in *Arabidopsis thaliana*. *PHYSIOLOGIA PLANTARUM* 120: 63-73.
- /5/ Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- /6/ Lubovská Z, Dobrá J, Štorchová H, Wilhelmová N, Vanková R. 2014. Cytokinin oxidase/dehydrogenase overexpression modifies antioxidant defense against heat, drought and their combination in *Nicotiana tabacum* plants. *Journal of Plant Physiology* 171: 1625–1633.
- /7/ Rouached H, Arpat AB, Poirier Y. 2010. Regulation of phosphate starvation responses in plants : Signaling players and cross-talks. *Molecular Plant* 3: 288–299.
- /8/ Tewari RK, Kumar P, Sharma PN. 2007. Oxidative stress and antioxidant responses in young leaves of mulberry plants grown under nitrogen, phosphorus or potassium deficiency. *Journal of Integrative plant biology*. 49: 313-322
- /9/ Tewari RK, Kumar P, Tewari N, Srivastava S, Sharma PN. 2004. Macronutrient deficiencies and differential antioxidant responses - influence on the activity and expression of superoxide dismutase in maize. *Plant Science* 166: 687-694
- /10/ Zimmermann P, Heinlein C, Orendi G, Zentgraf U. 2006. Senescence-specific regulation of catalases in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Plant, Cell and Environment* 29: 1049–1060.

#### Poděkování

Tato práce byla vypracována za finanční podpory MŠMT ČR, č. projektu LD14120.

## VPLYV ZNEČISTENIA OVZDUŠIA Z CESTNEJ DOPRAVY NA OBSAH ENERGIE LISTOV *QUERCUS RUBRA* A *FRAXINUS EXCELSIOR*

### IMPACT OF AIR POLLUTION FROM ROAD TRANSPORT ON ENERGY CONTENT OF *QUERCUS RUBRA* A *FRAXINUS EXCELSIOR* LEAVES

Margita Kuklová<sup>1</sup>, František Hnilička<sup>2</sup>, Ján Kukla<sup>1</sup>, Helena Hniličková<sup>2</sup>, Ivica Pivková<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Ústav ekológie lesa SAV, E. Štúra 2, 960 53 Zvolen, Slovenská republika, kuklova@savzv.sk

<sup>2</sup> Česká zemědělská univerzita v Praze, Katedra botaniky a fyziologie rostlin, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6  
– Suchdol, Česká republika

<sup>3</sup> Š. Višňovského 5, 960 01 Zvolen

#### Summary

Data are presented on energy and ash contents of *Q. rubra* and *F. Excelsior* leaves at two woodland sites (MP1, MP2) adjacent to major expressway R4 Košice – Milhošť. Samples of leaves were taken before the construction of expressway, during the construction and in time of highway traffic. Studied species responded differently to worsening imission situation during the construction of expressway. Energy content of oak leaves is characterized by relatively low variability of values and differences between the years on both plots were not significant. On the other hand, ANOVA indicated significant differences in ash content between studied years on both plots ( $p < 0.01$ ). Time period showed a significant increase in ash to year of highway traffic. Closer relationship showed oak leaves taken at MP2 ( $R^2 = 0.90$ ) compared to MP1 ( $R^2 = 0.44$ ). In terms of *F. excelsior* study period showed significant drop of energy during the construction of expressway and in time of highway traffic ( $p < 0.01$ ;  $p < 0.05$ ). Closer relationship of energy content to the time period was revealed by samples of *Fraxinus* taken at MP2 ( $R^2 = 0.81$ ) compared to MP1 ( $R^2 = 0.65$ ). Ash content in study species was increased to the year of highway traffic, which is also confirmed by positive correlation coefficients on both plots ( $R^2 = 0.65$ , respectively  $R^2 = 0.60$ ).

*Key words:* road traffic, plant species, energy, ash

#### Súhrn

V práci sú prezentované výsledky o obsahu energie a popola v listoch *Q. rubra* a *F. excelsior* rastúcich v dvoch lesných porastoch (MP1, MP2) priliehajúcich k rýchlostnej ceste R4 Košice – Milhošť. Vzorky listov boli odoberané pred výstavbou, počas výstavby a po uvedení do prevádzky diaľnice. Študované druhy reagovali odlišným spôsobom na zhoršenie imisnej situácie počas výstavby diaľnice. Obsah energie v listoch dubu sa vyznačoval pomerne nízkou variabilitou hodnôt a rozdiely v sledovaných rokoch na oboch plochách boli nevýznamné. Na druhej strane, ANOVA naznačila významné rozdiely v obsahoch popola na oboch plochách ( $p < 0,01$ ). Priebeh časovej periódy ukázal významný nárast popola k roku prevádzky diaľnice. Tesnejší vzťah ukázali vzorky dubu odoberané na MP2 ( $R^2 = 0,90$ ) v porovnaní s MP1 ( $R^2 = 0,44$ ). Z hľadiska jaseňa ANOVA ukázala významné rozdiely v obsahoch energie medzi porovnávanými rokmi na oboch plochách ( $p < 0,01$ ;  $p < 0,05$ ). Časová perióda naznačila významný pokles energie v rokoch výstavby a plnej prevádzky diaľnice. Tesnejší vzťah akumulácie energie k sledovanej perióde ukázali vzorky jaseňa odoberané na MP2 ( $R^2 = 0,81$ ) v porovnaní s MP1 ( $R^2 = 0,65$ ). Obsah popola v listoch jaseňa narastal smerom k roku plnej prevádzky diaľnice, čo potvrdzujú aj pozitívne hodnoty korelačných koeficientov na oboch plochách ( $R^2 = 0,65$ ; resp.  $R^2 = 0,60$ ).

*Kľúčové slová:* cestná doprava, rastliny, energia, popol

## ÚVOD

V súčasnosti najohrozenejšou zložkou prírodného prostredia je ovzdušie a jeho znečistenie neustále narastá. Spôsobuje to hlavne prudký nárast výroby, energie, ťažba surovín, priemyselná činnosť a automobilová doprava. Tieto látky priamo, alebo po chemických zmenách, prípadne pri spolupôsobení inej látky (synergicky) nepriaznivo ovplyvňujú životné prostredie /1/. Veľmi negatívne pôsobí znečistené ovzdušie na lesné rastliny a ekosystémy. Vystavené sú rozsiahlemu spektru pôsobiacich faktorov, ktoré ovplyvňujú ich vitalitu a zdravotný stav. Mnoho štúdií sa zaoberalo imisnými koncentráciami a špecifickými biomarkermi pri dopravných tepnách /2/. Ekologické účinky znečistenia ovzdušia vyplývajúce z cestnej dopravy na lokálnu vegetáciu študoval /3/. Cieľom tejto štúdie bolo zistiť, či došlo k špecifickým zmenám v akumulácii energie a popola v listoch *Quercus rubra* a *Fraxinus excelsior* rastúcich v lesných geobiocenózach v blízkosti rýchlostnej cesty R4 Košice – Milhosť pred výstavbou, počas výstavby a po uvedení do prevádzky diaľnice.

## MATERIÁL A METÓDA

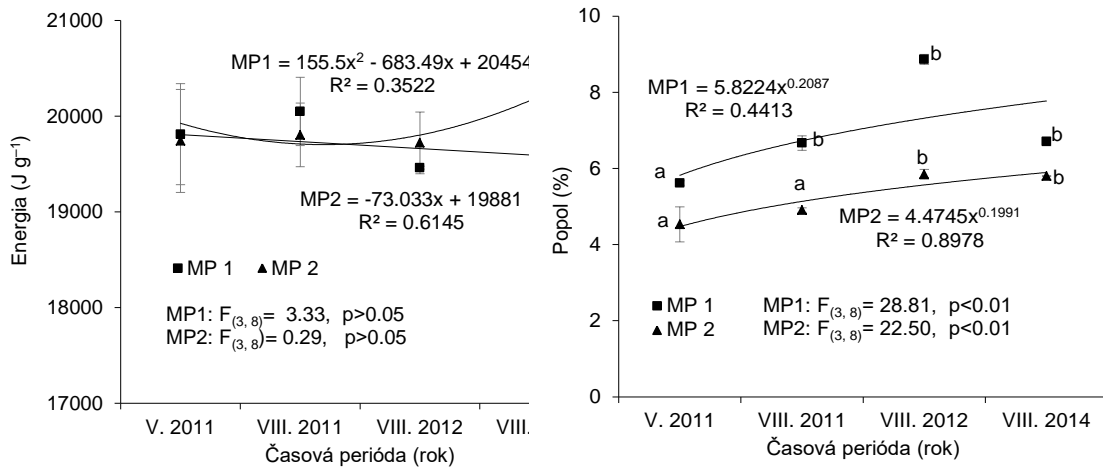
Lesné geobiocenózy sa v blízkosti rýchlostnej cesty R4 v úseku Košice-Milhosť zachovali v podobe väčších, či menších enkláv. Niektoré z nich reprezentujú len fragmenty do značnej miery zmenených lesných geobiocenóz. V drevinovom zložení fytoocenózy na MP1 dominuje *Quercus robur* L. a *Quercus cerris* L. ku ktorým je primiešaný topol kanadský (*Populus x canadensis*) a agát biely (*Robinia pseudoacacia* L.). Druhmi zasahujúcimi do hlavnej vrstvy porastu sú *Negundo aceroides* Moench. a *Quercus rubra* L. V spodnej etáži sa uplatňujú druhy ako *Fraxinus excelsior* L., *N. aceroides* Moench., *R. pseudoacacia* L., *Prunus cerasifera* Ehrh. Z fytoecologického hľadiska ide o veľmi zmenený typ fytoocenózy vyvinutý na ploche pasienkového lesa, ktorý možno zaradiť do mezotrofnej skupiny lesných typov (slt) Fagi-Querceta Typica. V hlavnej úrovni lesného porastu na MP2 dominuje *F. excelsior* L., spoludominantnými druhmi sú vyšľachtený topol kanadský (*Populus x canadensis*) a druhy introdukované zo severoamerického kontinentu – *Q. rubra* L. a *R. pseudoacacia* L.) O niečo nižší je dub cerový (*Q. cerris* L.), ktorý v rastá do hlavnej úrovne porastu. Z fytoecologického hľadiska ide o heminitrofilnú slt QUERCETA ROBORIS-ACERIS SUPERIORA.

Výskum bol vykonávaný v roku 2011 v jarnom a letnom aspekte a v rokoch 2012–2014 v letnom aspekte fytoocenóz. Študovaný rok 2011 predstavuje obdobie pred výstavbou diaľnice, roky 2012 a 2013 znamenajú obdobie výstavby diaľnice. Úsek cesty bol odovzdaný do užívania v prvej polovici novembra 2013 a rok 2014 už charakterizuje plnú prevádzku diaľnice. Názvy rastlín sú uvedené podľa nomenklatúry /4/. Geobiocenózy boli zatriedené na základe prác /5–6/. Obsah energie a popola sa zisťoval v listoch 2 drevín (*Q. rubra*, *F. excelsior*). Vzorky asimilačných orgánov rastlín (vysušené pri 80°C do konštantnej hmotnosti v sušičke HS 62A) sa zhomogenizovali pomocou achátového mlynu firmy Fritsch GmbH pod hodnotu 0,001 mm. Obsah popolovín sa stanovil gravimetricky a hodnota energie pomocou adiabatického kalorimetra IKA C-4000. Pre namerané obsahy energie a popola v asimilačných orgánoch rastlín na jednotlivých plochách boli vypočítané základné štatistické charakteristiky. Významnosť rozdielov v obsahoch energie a popola sa vyhodnotila pomocou ANOVA a Fischer LSD testom (Statistica 9, statsoft).

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

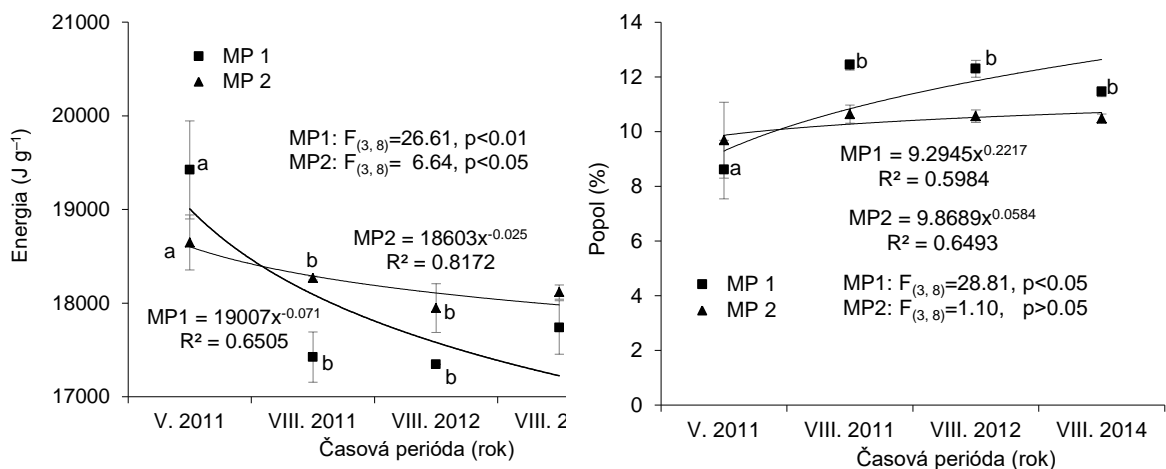
V listoch **dubu červeného** sa najvyššia priemerná hodnota energie ( $20322,7 \pm 268 \text{ J.g}^{-1}$ ) zistila na MP1 v roku 2014, počas plnej prevádzky diaľnice, naopak najnižšiu hodnotu ( $19721,7 \pm 322 \text{ J.g}^{-1}$ ) ukázali listy dubu rastúceho na tej istej ploche počas výstavby diaľnice, v roku 2012 (obr.1). Obsah energie v listoch dubu sa vyznačoval pomerne nízkou variabilitou, keď variačný koeficient ( $v_x$ ) sa pohyboval v rozpätí od 0,1 do 2,7 %. Vzhľadom na nízku

variabilitu hodnôt sa rozdiely v sledovaných rokoch na oboch plochách ukázali ako štatisticky nevýznamné. Porovnávané dáta na MP1 naznačili nárast energie v listoch dubu v sledovanom období rokov, kým na MP2 môžeme pozorovať mierny pokles energie smerom k roku plnej prevádzky diaľnice. Jednoznačne tesnejší vzťah akumulácie energie k sledovanej časovej perióde ukázali vzorky listov odobrané na MP2 (lineárna funkcia  $R^2=0,61$ ) v porovnaní s MP1 (polynómická funkcia,  $R^2=0,35$ ).



Obr. 1: Časový priebeh a ANOVA obsahov energie a popola listov *Quercus rubra* (priemer ± smerodajná odchýlka; nevýznamné rozdiely pre hodnoty s rovnakými písmenami).

Najvyššiu priemernú hodnotu popola v sledovanom druhu ukázali plochy v čase výstavby diaľnice (2012). Počas plnej prevádzky diaľnice (2014) hodnota popola nevýznamne klesla na oboch plochách (obr.1). Hodnoty variačných koeficientov ( $v_x$ ) kolísali od 0,17 do 10,1 % (vyššiu variabilitu ukázal popol akumulovaný na MP2 pred výstavbou diaľnice). Výsledky ANOVA naznačili významné rozdiely na plochách medzi obdobím pred výstavbou v porovnaní s výstavbou a plnou prevádzkou diaľnice ( $p < 0,01$ ). Priebeh časovej periódy ukázal významný nárast popola v listoch dubu červeného na oboch plochách. Tesnejší vzťah akumulácie popola k sledovanej časovej perióde ukázali vzorky listov odobrané na MP2 (mocninová funkcia,  $R^2=0,90$ ) v porovnaní s MP1 (mocninová funkcia,  $R^2=0,44$ ).



Obr. 2: Časový priebeh a ANOVA obsahov energie a popola listov *Fraxinus excelsior* (priemer ± smerodajná odchýlka; nevýznamné rozdiely pre hodnoty s rovnakými písmenami).

Rovnako obsah energie v listoch **jaseňa** na oboch plochách bol pomerne vyrovnaný (vx od 0,1 do 2,7 %). Výsledky ANOVA poukazujú na významné rozdiely medzi rokmi na oboch plochách ( $p < 0,01$ ;  $p < 0,05$ ), (obr.2). Časová perióda naznačila významný pokles energie v listoch jaseňa v rokoch výstavby a plnej prevádzky diaľnice (2012–2014) v porovnaní s obdobím pred výstavbou diaľnice (2011). Tesnejší vzťah akumulácie energie k sledovanej časovej perióde ukázali vzorky jaseňa odobrané na MP2 (mocninová funkcia,  $R^2=0,81$ ) v porovnaní s MP1 (mocninová funkcia,  $R^2=0,65$ ), (obr.2). Obsah popola v listoch jaseňa na študovaných plochách bol pomerne rozkolísaný (vx 1,5–14,4 %). Výsledky ANOVA ukázali významné rozdiely na MP1 medzi obdobím pred výstavbou v porovnaní s výstavbou a plnou prevádzkou diaľnice ( $p < 0,05$ ). Na MP2 zistené rozdiely boli štatisticky nevýznamné. Porovnanie časovej periódy naznačilo významný nárast popola v listoch jaseňa na oboch plochách a to od obdobia výstavby smerom k plnej prevádzke diaľnice. Koeficient determinácie na MP2 ukázal len o málo vyšší stupeň tesnosti korelácie (mocninová funkcia,  $R^2=0,65$ ) v porovnaní s MP1 (mocninová funkcia,  $R^2=0,60$ ), (obr. 2).

#### LITERATÚRA

- /1/ Jandačka D., Ďurčanská D. 2014. Rozptyl znečisťujúcich látok v blízkosti cestnej komunikácie. In Kubelová L. (ed.): Sborník XV. Výročnej konferencie Českej aerosolovej spoločnosti. Česká aerosolová spoločnosť, 90 p.
- /2/ Truscott, A.M., Palmer, S.C.F., McGowan, G.M., Cape, J.N., Smart, S., 2005. Vegetation composition of roadside verges in Scotland: the effects of nitrogen deposition, disturbance and management. *Environ. Poll.* 136, 109–118.
- /3/ Bignal K.L., Ashmore M.R., Headley A.D., Stewart K., Weigert K. 2007. Ecological impacts of air pollution from road transport on local vegetation. *Applied Geochemistry* 22, 1265–1271.
- /4/ Marhold, K., Hindák, F., (EDS.), 1998: Zoznam nižších a vyšších rastlín Slovenska. Veda, Bratislava, 687 p.
- /5/ Zlatník, A. 1976. Lesnická fytoecologie. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 495 p.
- /6/ Zlatník, A., 1976b: Přehled skupin typů geobiocénů původně lesních a křovinových v ČSSR. Zprávy Geografického ústavu ČSAV, 13, (3-4): 55–64.

#### Pod'akovanie

Táto práca bola podporovaná Vedeckou grantovou agentúrou MŠ SR a SAV (projekt č. 2/0027/13) a S projektom MŠMT Českej republiky.



## **POROVNANIE PRIEBEHU TEPLÔT KMEŇA A KORUNY SMREKA OBYČAJNÉHO V REAKCII NA SUCHO V PODMIENKACH RIADENÉHO EXPERIMENTU**

### **COMPARISON OF STEM AND CROWN TEMPERATURE COURSE OF NORWAY SPRUCE IN RESPONSE TO DROUGHT UNDER CONDITIONS OF CONTROLLED ROOF EXPERIMENT**

Andrej Majdák, Miroslav Blaženec, Pavel Mezei, Rastislav Jakuš

Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied, Štúrova 2, 960 53 Zvolen, <http://www.savzv.sk>,  
majdak@savzv.sk

#### *Summary*

An experiment under controlled conditions to assess the suitability of thermal imaging as a new method for identifying physiologically weakened trees was running. The measurements were carried out at three treatments with different rainwater regime - covered, semi-covered and control. Trees were scanned with thermocamera at different heights and from two sides - the shine and the shadow side. There were significant differences in the reactions between physiologically weakened trees in the covered plots and other plots.

*Key words: thermography, drought stress, temperature differences*

#### *Súhrn*

Experiment prebiehal v kontrolovaných podmienkach za účelom posúdenia vhodnosti termovízie ako novej metódy pre potreby efektívnej identifikácie fyziologicky oslabených stromov. Merania prebehli na troch plochách s rôznym režimom odvodu dažďovej vody - zakrytej, polozakrytej a kontrolnej. Stromy boli merané termokamerou v rôznych výškach a z dvoch strán - oslnenej a zatienenej strany. Z nameraných dát bol zistený významný rozdiel v reakciách medzi fyziologicky oslabenými jedincami zo zakrytej plochy a jedincami z ostatných plôch.

*Klíčovú slova: termografia, stres suchom, teplotné rozdiely*

## **ÚVOD**

Stres vyvolaný nedostatkom vody a náhle oslnenie patria medzi kľúčové faktory ovplyvňujúce rozpad smrekových porastov. Vo všeobecnosti platí, že transpiráciou rastlina ochladzuje svoje pletivá /1/. Znížená transpirácia zapríčinená nedostatkom vody a vysokou dávkou slnečného ožiarenia má za následok zvýšenie teploty asimilačného aparátu nad jej optimum pre metabolickú aktivitu alebo môže viesť až k trvalému poškodeniu rastlinných pletív. Poruchy metabolizmu stromov spôsobujú vylučovanie látok, ktoré pôsobia ako primárne atraktanty pre podkôrny hmyz /2/ a podieľajú sa tak na rozpade smrekových lesov.

Identifikácia stromov, ktoré sú vystavené stresovým podmienkam zvyšujúcim predispozíciu na nálet lykožrúta smrekového nie je v prvotných štádiách pôsobenia jednoduchá. V danej oblasti chýba detailnejší opis prejavov drevín identifikovateľných a merateľných dostupnými a širšie aplikovateľnými metódami /3/.

Prehrievanie pletív je hlavným ukazovateľom prvotného pôsobenia stresových faktorov. Z daného vyplýva, že poznanie teplôt rastlín nám dá odpoveď na otázky týkajúce sa ich kondície a zdravotného stavu. Jednou z možností efektívneho zisťovania teplôt je termovízia, ktorá si našla uplatnenie aj v oblasti poľnohospodárstva, parkovníctva a v posledných rokoch aj lesníctva. Skúmal sa napríklad vplyv vodného stresu na viaceré druhy stromov a následné navrhnutie potrebných opatrení ako dôsledok extrémneho sucha v strednej Európe v roku 2003 /4/. Taktiež je

termovíziu možné využit' na určenie zdravotného stavu rastlín /5/, na možnosti využitia zavlažovanie pri poľnohospodárskych plodinách /6, 7/ a na výskumy zamerané na fyziologické a tepelné charakteristiky v rôznom fyziologickom stave /8/.

Hlavným cieľom danej práce je posúdenie vhodnosti použitia termovízie pri identifikácii oslabených stromov. Experiment prebiehal v riadených podmienkach a bol súčasťou komplexného výskumu /9/.

## MATERIÁL A METÓDA

Experiment prebiehal 18.06.2014 v Rosalia Mountains, Rakúsko (47.689676N, 16.294084E, WGS84) na východnom úpätí Álp. Experimentálne plochy sa nachádzajú v 90 ročnom poraste smreka obyčajného (*Picea abies* (L.) Karst.) s prímiesou buka lesného (*Fagus sylvatica* L.) s mierne severozápadnou expozíciou a nadmorskou výškou 700 m n. m. Priemerná ročná teplota je 6,5 °C, s priemernými ročnými zrážkami 796 mm. Kvôli potrebám experimentu bol vybraný bezoblačný deň s maximálnou dennou teplotou približne 30 °C.

Sucho bolo zabezpečené na jar 2012 a 2013 skonštruovaním striešok na odvod dažďovej vody vo výške 1,2 m nad zemou. Skladané polyesterové strechy posilnené skleneným vláknom boli upevňované na drevené konštrukcie s celkovou výmerou 1402 m<sup>2</sup>. Medzery medzi stromami boli vyplnené fóliou. Experiment zahŕňa plochu úplne zakrytú (ZP), polozakrytú (PP) a kontrolnú (KP). Každá je v dvoch opakovaníach. V centre každej plochy boli vybrané tri úrovňové smreký so zdravou korunou. Pri plne zakrytých plochách prebehlo jarné a jesenné zavlažovanie pomocou hasičskej cisterny.

Teploty stromov boli primárne zaznamenávané pomocou termokamery s nechladeným FPA mikrobolometrom s rozlíšením 384 x 288 bodov. Rozsah snímaného spektra 8-14 μm a tepelná citlivosť pri 30 °C je udávaná výrobcom cca 0,08 °C. Teploty sa merali vo výške 1,3 m (tesne nad strieškou), vo výške 4 m a teplota koruny zospodu pohľadom do koruny. Každý strom bol snímaný z dvoch strán - z oslnenej, čo najkolmejšie a opačnej strany, ktorá je v tieni. V rámci denného chodu teplôt sa uskutočnilo 8 meraní v približne 2 hodinových intervaloch so začiatkom o 5:30 a posledné meranie bolo zaznamenané o 20:50.

V programe IR-Analyser sa po nastavení emisivity zaznamenala skutočná teplota. Namerané hodnoty sa porovnali Tukeyho testom zvlášť pre každé meranie počas dňa, pre oslnenú a zatienenú stranu, ako aj pre rôzne výšky meraní.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

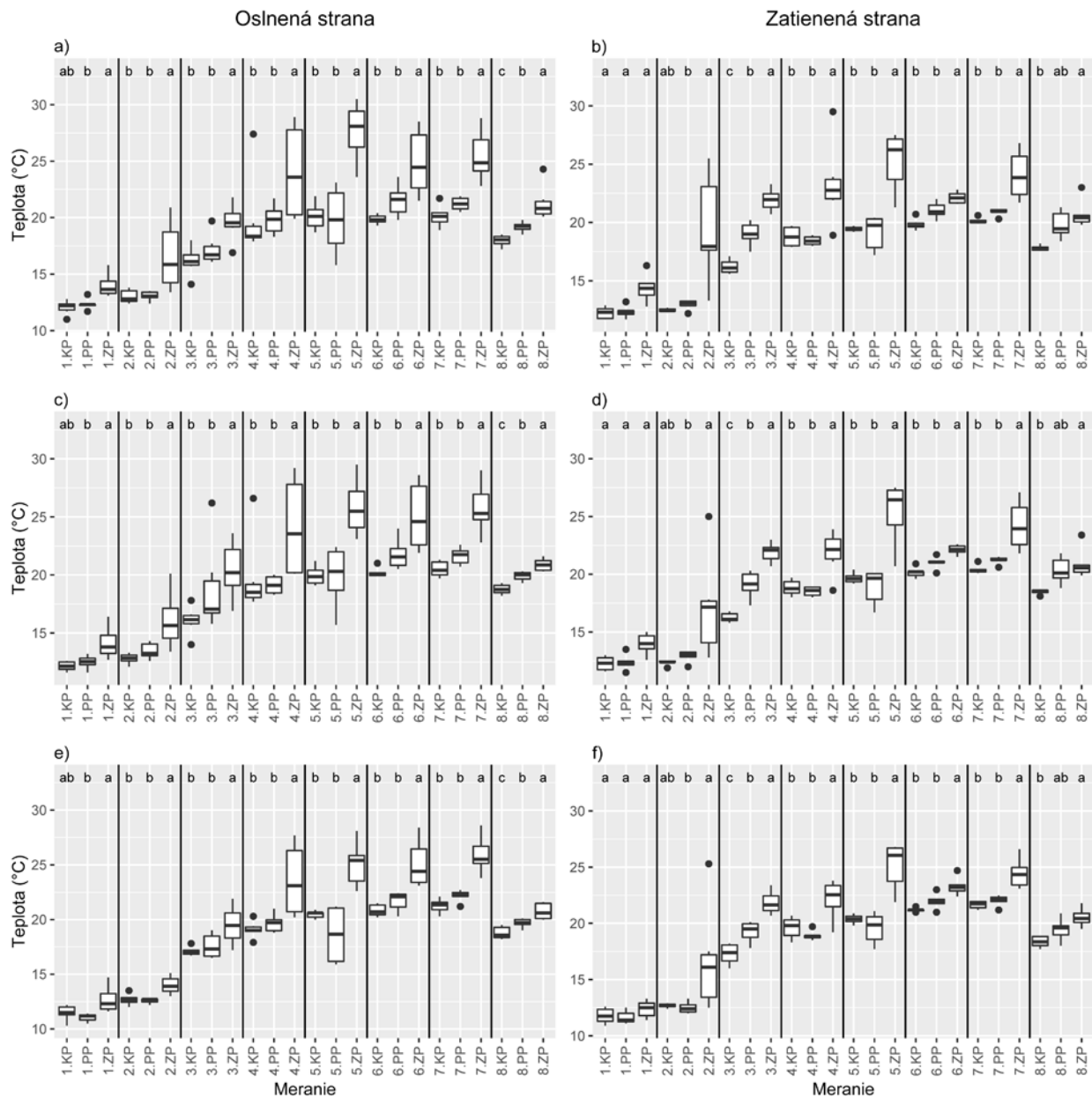
Štatistické porovnanie bolo vykonané pre každé jedno meranie zvlášť a samostatne pre oslnenú a zatienenú stranu stromov a pre rôzne výšky porastu. Hodnoty v rámci jedného merania sú reprezentované 6 hodnotami teplôt pre každú plochu, každú výšku a oslnenú a zatienenú stranu. Štatistická významnosť je znázornená písmenami v hornej časti každého grafu (Graf 1).

Z grafov je možné vidieť, že štatisticky významné rozdiely vyšli takmer v každom jednom meraní. Pre výšku d1,3 a pre merania na oslnenej strane stromov (Graf 1a) nevyšla štatistická významnosť len pri 1 meraní medzi zakrytou (ZP) a kontrolnou plochou (KP). Na zatienenej strane (Graf 1b) okrem 1 a 2 merania vidieť štatisticky významný rozdiel vo všetkých ostatných meraniach. Pre výšku d4 (Graf 1c, d) sú výsledky totožné s výškou d1,3, čo nám potvrdzuje teóriu, že so stúpajúcou výškou teplota na kmeni výrazne neklesá. Na tento jav má však veľký vplyv vietor.

Pre korunu platí štatistická významnosť od 2 merania pre oslnenú stranu (Graf 1e) a od 3 merania pre zatienenú stranu stromov (Graf 1f). Je to dané hlavne tým, že v skorých ranných hodinách (prvé meranie prebehlo o 5:30) je nepatrný vplyv slnka a rozdiely v teplotách pri stresovaných stromoch sa prejavajú hlavne vplyvom radiácie.

Z daného experimentu možno konštatovať, že rozdiel medzi zdravými a stresovanými stromami je možné vidieť v rozdieloch teplôt už od skorých ranných hodín a to na oslnenej ako aj

zatienej strane stromov. Ako uvádza /10/ listová a celkovo rastlinná teplota je závislá na radiácii a atmosférických podmienkach (čas snímania v rámci dňa, jasná alebo oblačná obloha, teplota vzduchu, rýchlosť vetra), pôdných podmienkach (typ pôdy, vlhkosť pôdy a pod.) a morfológii. Na výskum si preto treba voliť bezoblačné a teplé dni.



Graf 1: Denný priebeh teplôt pre každú plochu (KP, PP, ZP), každé meranie (1. až 8.), oslneň (ľavá časť) a zatienenú stranu (pravá časť) a pre výšku merania d1,3 (a, b), d4 (c, d) a korunu (e, f).

Poznanie teplotných reakcií smreka obyčajného vzhľadom na stresové faktory môže byť kľúčovým pri určovaní kondície a zdravotného stavu. V kombinácii s podmienkami prostredia a ďalšími faktormi je možné výslednú metódu použiť na vyhľadávanie oslabených stromov predisponovaných na nálet podkôrneho hmyzu alebo aktívnych chrobačiarov, na ktorých ešte nevidno farebné zmeny ihličia. Daná problematika bude predmetom ďalšieho výskumu.

**LITERATÚRA**

- /1/ Jones, H.G., 1992: *Plants and microclimate*, 2nd edn. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- /2/ Jakuš, R., Blaženec, M., 2008: Možnosti a limitácie použitia feromónov a antiatraktantov v ochrane smrekových porastov pred podkôrnym hmyzom. In: *Ekologické metódy ochrany lesa pred podkorným hmyzem: Sborník z výzkumu na Šumavě - sešit 1*. Šumava, 2008, 4-14.
- /3/ Jakuš, R., et al., 2006: Analýza príčin a návrh opatrení proti hromadnému odumieraniu smrečín v pohraničných oblastiach severného Slovenska: Záverečná správa z riešenia projektu APVT-51-019302. Zvolen, 2006, s. 126-131.
- /4/ Scherrer, D., et al., 2011: Drought-sensitivity ranking of deciduous tree species based on thermal imaging of forest canopies, *Agricultural and Forest Meteorology* 151 (12), 1632–1640.
- /5/ Jones, H.G., et al., 2002: Use of infrared thermography for monitoring stomatal closure in the field: application to grapevine. *Journal of Experimental Botany* 53 (378), 2249–2260.
- /6/ Jones, H.G., 1999a: Use of infrared thermometry for estimation of stomatal conductance as a possible aid to irrigation scheduling. *Journal of Agricultural and Forest Meteorology* 95, 139–149.
- /7/ Jones, H.G., 1999b: Use of thermography for quantitative studies of spatial and temporal variation of stomatal conductance over leaf surfaces. *Journal of Plant Cell and Environment* 22 (9), 1043–1055.
- /8/ Granier, A., et al., 1994: Axial and radial water flow in the trunks of oak trees: a quantitative and qualitative analysis, *Tree Physiology* 14, 1383–1396.
- /9/ Netherer, S., et al., 2015: Do water-limiting conditions predispose Norway spruce to bark beetle attack? *New Phytol*, 205: 1128–1141.
- /10/ Maes, W. H., Steppe, K., 2012, Estimating evapotranspiration and drought stress with ground-based thermal remote sensing in agriculture: a review. *Journal of Experimental Botany* 63, 4671–4712.

**Pod'akovanie**

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory Projekt Akcie Rakúsko-Slovensko č. 2014-10-15-0004 a APVV-0297-12.

## **DISTURBANCE JAKO PŘÍČINA POLNÍ VZCHÁZIVOSTI U NĚKTERÝCH PLEVELŮ. PŘÍKLAD NA MERLÍKU BÍLÉM.**

### ***DISTURBANCE AS A CAUSE OF FIELD WEED EMERGENCE. EXAMPLE TO SPECIES OF CHENOPODIUM ALBUM***

Božena Šerá

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Pedagogická fakulta, katedra biologie, Jeronýmova 10, České Budějovice, bsera@pf.jcu.cz

#### ***Summary***

The relationship between the soil disturbance and germination of seeds of white quinoa (local seeds: the origin of the Czech Republic, foreign seeds: the origin of Denmark) was investigated in small-field experiment. Local seeds had about twice higher seed germination than seeds originated abroad. For both types of seeds were found positive responses to soil disturbance. Soil disturbance in late April had a greater effect on seed germination than the disturbance carried out in March. Only partial results of a series of experiments were presented.

*Key words: Chenopodium album, Lamb's-quarters, soil disturbance, field experiment, emergence of seedlings*

#### ***Souhrn***

V maloploškovém polním experimentu byl zjišťován vztah mezi narušením půdy a vzcházivostí semen merlíku bílého (místní semena: původ ČR, cizí semena: původ Dánsko). Lokální semena měla cca dvojnásobně vyšší vzcházivost než semena cizí. U obou typů semen byla zjištěna pozitivní reakce na narušení půdy. Narušení půdy koncem dubna měla vyšší účinek na vzcházivost, než narušení prováděné během března. Prezentovány jsou pouze parciální výsledky série pokusů.

*Klíčová slova: Chenopodium album, merlík bílý, narušení půdy, polní pokus, vzcházivost semenáčků*

## **ÚVOD**

Merlík bílý (*Chenopodium album* L. s. str.) je jednoletá bylina patřící do čeledi merlíkovitých (*Chenopodiaceae*) /1/. Je to pozdně jarní plevel rostoucí především v okopaninách a zeleninách /2/. Ovšem je také významným ruderálním druhem a dominuje na neudržovaných plochách typu rumišť, skládky, stavební plochy apod. Druh se rozmnožuje výhradně semeny (nažky), jejichž produkce je značná (313 tis. nažek na porost, /3/). Semena jsou heterokarpická, mají různě zbarvené a především různě silné osemení a oplodí. Klíčí postupně, klíčivost si udržují po dlouhou dobu a v půdě vytvářejí banku semen /4-6/.

Merlík bílý patří mezi velmi nebezpečné plevele /7/. Regulace jeho růstu na orné půdě je založena na přímých i nepřímých metodách. Mezi přímé metody patří takové postupy, které řeší aktuální výskyt plevelů v cíleném porostu /8/. Způsob obhospodařování orné půdy ovlivňuje výskyt jednoletých druhů, jejichž životní strategie je investice do banky semen /9/. Tento příspěvek se zabývá predikcí správného načasování mechanických zásahů regulace zaplevelení merlíku bílého.

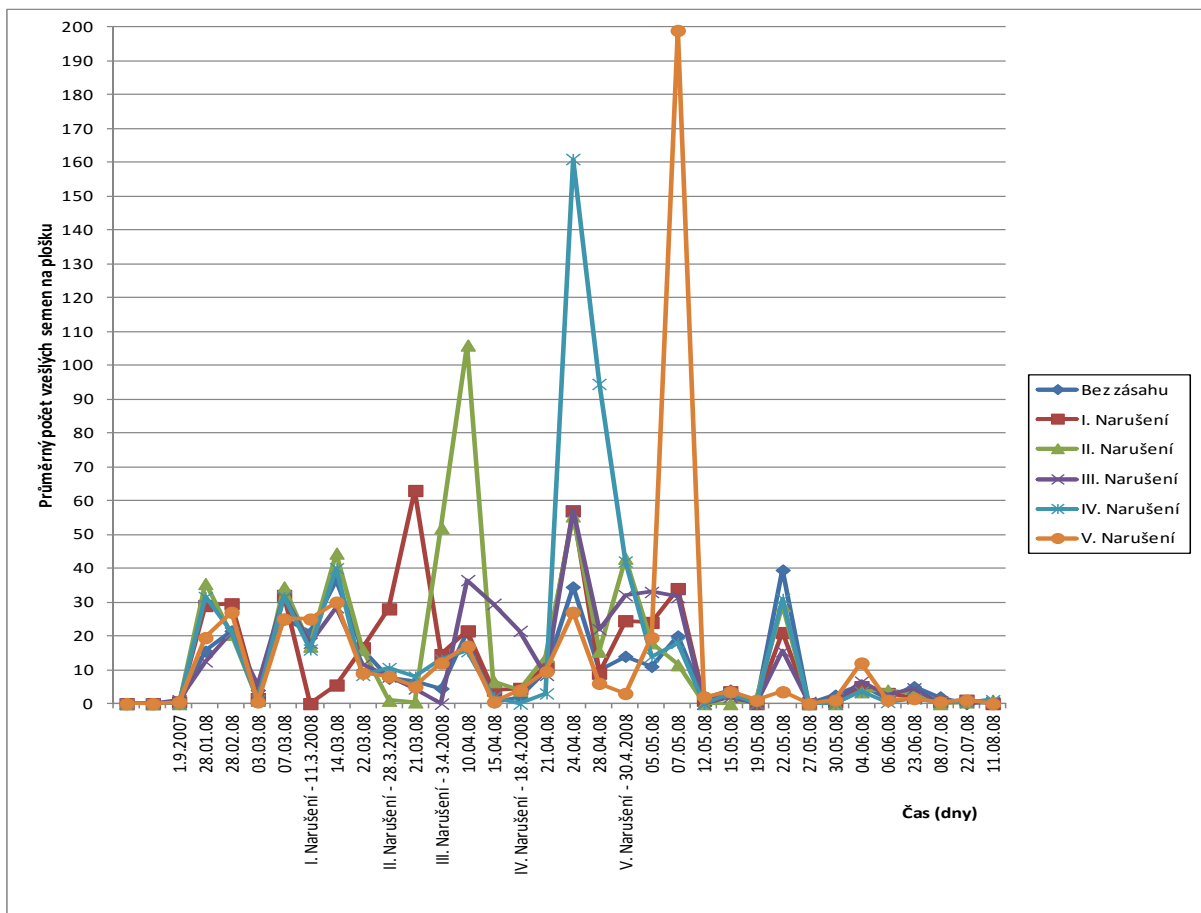
## **MATERIÁL A METODY**

V experimentu byly použity dva typy semen merlíku bílého: místní (Česká republika, 48°58'N, 14°27'E) a cizí (Dánsko, 55°24'N, 11°21'E), které byly sbírány na podzim roku 2007. Semena byla na podzim 2007 vyseta do 12 (místní semena) a 12 (cizí semena) plošek, přičemž 2

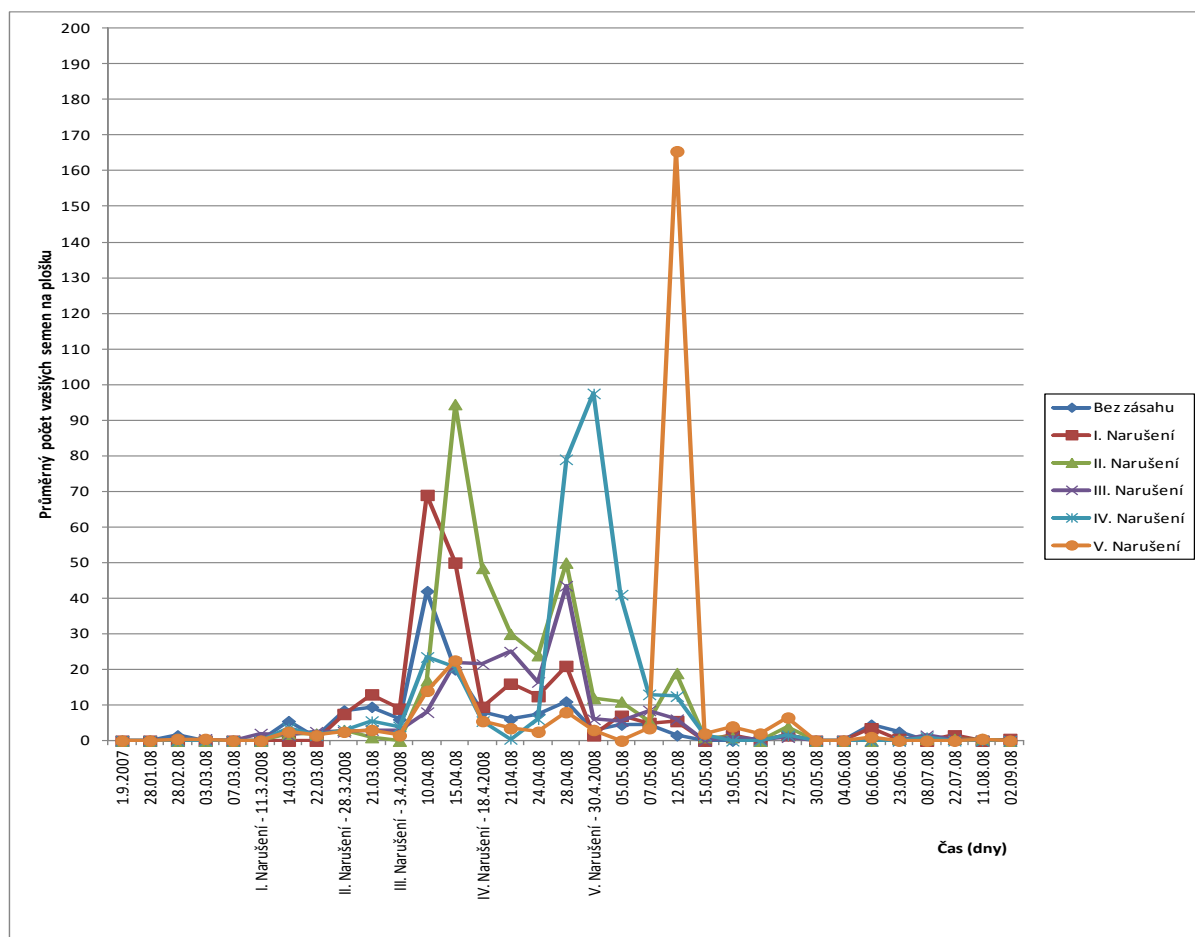
plošky reprezentovaly jeden treatment (kontrola, 5 časových narušení půdy), design znáhodněných plošek, použita standardizovaná půda (blíže viz metodika /10/). Během vegetační sezony 2008 byly všechny plošky 1-3krát týdně monitorovány a byl proveden odečet vzešlých jedinců merlíků bílého, které byly z plochy hned odstraněny. Celkem 5krát byla vždy na dvou ploškách provedena povrchová půdní disturbance /11/, jejichž načasování bylo stanoveno na základě teploty půdy a počtu dnů od objevení prvních semenáčků (blíže viz metodika /10/). Během disturbance byly spočítány a z manipulovaných plošek odstraněny všechny semenáčky (identifikace podle viditelného hypokotylu).

## VÝSLEDKY A DISKUSE

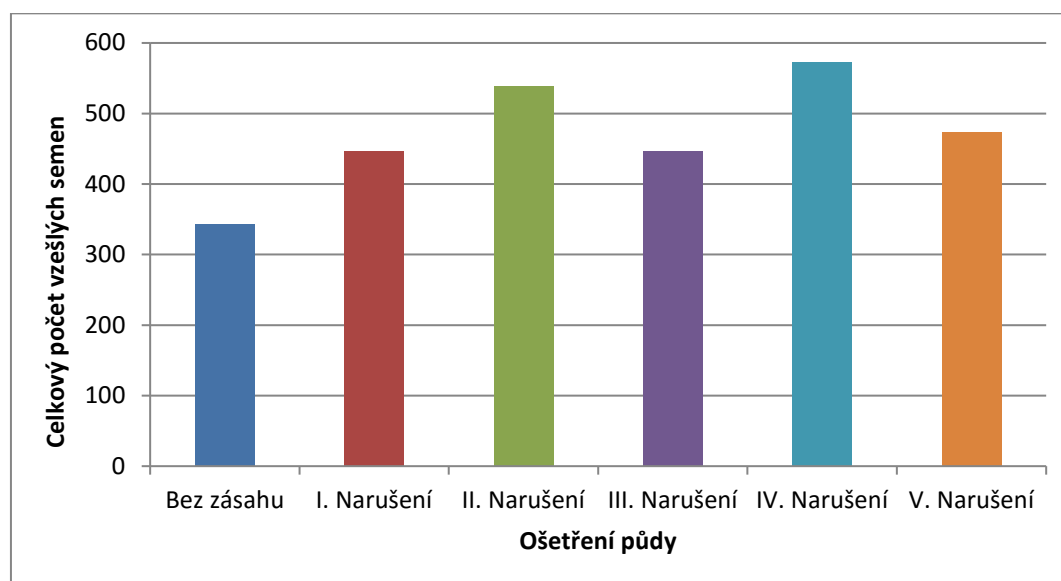
Místní semena začala klíčit 28. 1. 2008 a cizí semena 11. 3. 2008. Navíc místní semena vykazovala téměř dvojnásobnou vzházivost než semena původem z Dánska. Oba tyto rozdíly pravděpodobně souvisí s rozdílným geografickým původem semen. Po narušení půdy došlo na ploškách s cíleným ošetřením k prudkému nárůstu vzházivosti merlíku (po 7 až 30 dnech od disturbance). Tato reakce na disturbance byla sledována po všech narušeních půdy, a to jak u místních semen, tak u semen z Dánska (Obr 1-2). Celkové počty vzešlých semen mezi místními semeny a semeny z Dánska se lišily, přičemž lokální semena vykazovala vyšší vzházivost po celou dobu sezony (Obr 3-4). Navíc, celkový počet vzešlých semen na ploškách s narušením půdy byl vždy větší, než u kontrolních plošek, které nebyly nikdy narušeny.



Obr. 1: Průměrné počty vzešlých semen merlíku bílého pro místní semena (původ ČR) na nenarušených ploškách (Bez zásahu) a na ploškách s mechanickým narušením půdy (I. – V. Narušení).

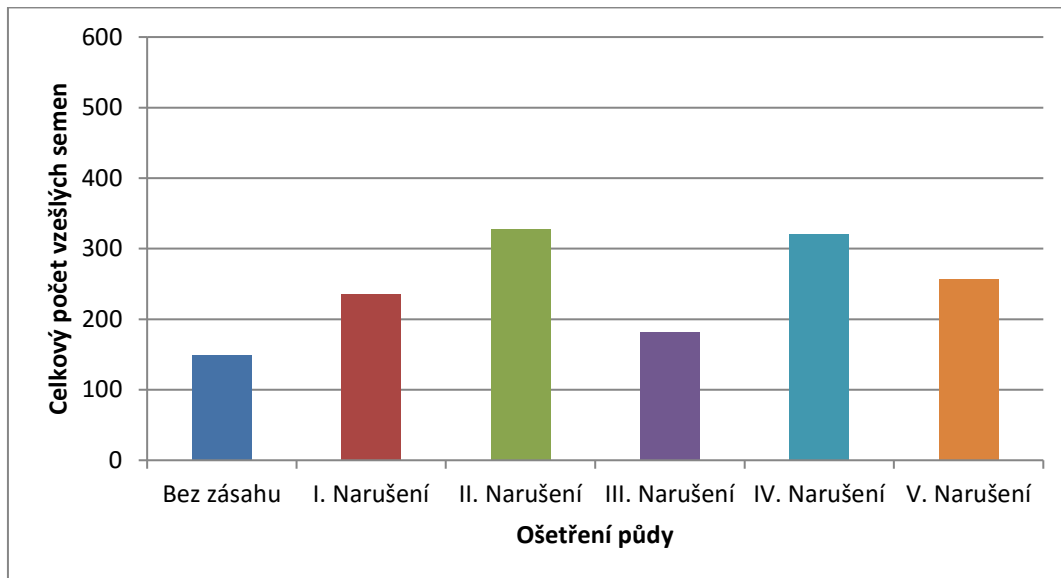


Obr. 2: Průměrné počty vzešlých semen merliku bílého pro cizí semena (původ Dánsko) na nenarušených ploškách (Bez zásahu) a na ploškách s mechanickým narušením půdy (I. – V. Narušení).



Obr 3: Suma všech vzešlých místních semen (původ ČR) na nenarušených ploškách (Bez zásahu) a na ploškách s různým načasováním půdní disturbance (I. – V. Narušení, viz obr. 1).

Merlík bílý se vyznačuje perzistentní bankou semen. Pokusem bylo potvrzeno, že se semena mohou aktivovat ke klíčení pouhým obděláním povrchové vrstvy půdy, aniž by se semena prokazatelně dostala na její povrch. Hromadné vzcházení merlíku nebylo spojeno s ročním obdobím ani s původem semen. Pokud došlo k disturbanci půdy, vždy následovalo významné vzcházení semen. Je zjevné, že narušení půdy u merlíku bílého vede ke stimulaci vzcháživosti semen uložených v půdě. Pravděpodobně záleží ale i na načasování této disturbance a na souběhu dalších faktorů. Omezení obdělávání půdy omezil i výskyt merlíku bílého.



Obr 4: Suma všech vzešlých cizích semen (původ Dánsko) na nenarušených ploškách (Bez zásahu) a na ploškách s různým načasováním půdní disturbance (I. – V. Narušení, viz obr. 2).

## LITERATURA

- /1/ Kubát, K., Hrouda, L., Chrtěk, J. jun., Kaplan, Z., Kirschner, J., Štěpánek, J. (eds.): Klíč ke květeně České republiky. Academia, Praha, 2002.
- /2/ Mikulka, J., Kneifelová, M.: Plevelné rostliny. 2. přeprac. vyd. Praha, Profi Press, 2005.
- /3/ Šerá, B., Šerý, M.: Number and weight of seeds and reproductive strategies of herbaceous plants. Folia Geobot., 2004, 39: 27-40.
- /4/ Baskin, J.M., Baskin, C.C.: Role of temperature in the germination ecology of three summer annual weed. Oecologia, 1977, 40: 377–382.
- /5/ Grime, J.P., Mason, G., Curtis, A.V., Rodman, J., Band, S.R., Mow-forth, M.A.G., Neal, A.M., Shaw, S.: A comparative study of germination characteristics in a local flora. J. Ecol., 1981, 69: 1017–1059.
- /6/ Thompson, K., Bakker, J.P., Bekker, R.M.: The soil seed banks of North West Europe: methodology, density and longevity. Cambridge University Press, Cambridge, 1997.
- /7/ Šarapatka, B., Urban, J.: Ekologické zemědělství v praxi. PRO-BIO, Šumperk, 2006.
- /8/ Jursík, M., Holec, J. et al.: Plevelé. Biologie a regulace. 1 vyd., Kurent,s.r.o., České Budějovice, 2011.
- /9/ Mirsky S.B., Gallandt E.R., Mortensen D.A., Curran W.S., Shumway, D.L.: Reducing the germinable weed seedbank with soil disturbance and cover crops. Weed Research, 2010, 50(4): 341-352.
- /10/ Schutte, B.J., Tomasek, B.J., Davis, A.S., Andersson, L., Benoit, D.L., Cirujeda, A., Dekker, J., Forcella, F., Gonzalez-Andujar, J.L., Graziani, F., Murdoch, A.J., Neve, P., Rasmussen, I.A., Sera, B., Salonen, J., Tei, F., Torresen, K.S., Urbano, J.M.: An investigation to enhance understanding of the stimulation of weed seedling emergence by soil disturbance. Weed Research, 2014, 54(1): 1-12.
- /11/ Egley, G.H.: Stimulation of weed seed germination in soil. Reviews of Weed Science, 1989, 2: 67–89.



## RŮST, VÝVOJ, SUCHOVZDORNOST A VÝNOS PŠENICE

### *GROWTH, DEVELOPMENT, DROUGHT TOLERANCE AND YIELD IN WHEAT*

Ilja Tom Prášil<sup>1</sup>, Jana Musilová<sup>1</sup>, Eva Vlasáková<sup>1</sup>, Klára Kosová<sup>1</sup>, Pavel Vítámvás<sup>1</sup>, Milan Oldřich Urban<sup>1</sup>, Jana Švehlová<sup>2</sup>, Pavel Horčíčka<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i., Genetika a šlechtění, Drnovská 507, 161 06 Praha, Prasil@vurv.cz

<sup>2</sup> Selgen a.s., Šlechtitelská stanice, Stupice 24, 250 84 Sibřina

#### *Summary*

Wheat is sensitive to water shortage, in particular, during fast growth (tillering, stem elongation), differentiation of floral organs, flowering, and in the initial phase of grain filling. In the years 2013 to 2015, plant growth and development of a set of wheat varieties were carried out in Crop Research Institute, Prague-Ruzyne and the station of SELGEN Inc., Stupice. Wheat growth, spike development and the final yield were not adversely affected by a lack of precipitation because winter and spring wheat genotypes developed all key organs without any reduction, and plants used water from different depths of soil. It can be concluded that wheat plants employed in our experiments successfully adapted and acclimatised to the drought.

*Key words: wheat, phenology, growth, development, drought, degree days*

#### *Souhrn*

Pšenice je citlivá na nedostatek vody v době rychlého růstu (odnožování, sloupkování), diferenciaci květních orgánů, kvetení a v první fázi nalévání zrna. V letech 2013 až 2015 ve VÚRV, v.v.i. v Praze- Ružyni a na stanici Selgen a.s. ve Stupicích byl analyzován růst a vývoj souboru odrůd pšenice v polních pokusech. Bylo zjištěno, že i v době, kdy se vyskytovalo teplé období a nedostatek srážek, růst rostlin a vývoj vzrostného vrcholu (diferenciaci klasu) probíhal u pšenice bez známek poškození a negativního dopadu sucha na výnos. Až do fáze kvetení a mléčné zralosti rostliny pšenice čerpaly vodu z různých hloubek půdy a přizpůsobily se dynamikou růstu a vývoje jak předchozímu mírnému suchu, tak vnějším faktorům (jarovizace, fotoperiodická citlivost, suma teplot).

*Klíčová slova: pšenice, fenologie, růst, vývoj, sucho, suma teplot*

## ÚVOD

Sucho je jedním z důležitých faktorů ovlivňujících distribuci druhů a výnos kulturních plodin. Rostlinné druhy se suchu přizpůsobily (adaptovaly) během své evoluce a zároveň si rostliny zachovávají schopnost aklimatizace (aklimace) na nedostatek vody v době svého vývoje (ontogeneze) /5/. To sice něco stojí, ale umožní to rostlinám lépe se vypořádat nejen s existujícím, ale i s případným dalším suchem.

Pšenice, původem z oblastí stepí a polopouští Středního východu, je velmi dobře adaptována na podmínky sucha. Vzhledem k nepravidelnému časovému i prostorovému působení sucha na našem území se může nedostatek sucha projevit v různém období růstu rostlin pšenice. Přitom jsou jednotlivé fáze vývoje pšenice různě citlivé k suchu.

Vývoj pšenice se rozděluje na pět základních fází /7/ :

- fáze vzcházení (doba mezi setím a vzejitím)
- fáze vegetativní (doba mezi vzejitím a začátkem tvorby klasu- květenství)

- fáze rané reprodukce (doba mezi iniciací klasu a založením terminálního klásku)
- fáze pozdní reprodukce (doba mezi založením terminálního klásku a kvetením)
- fáze tvorby zrna (kvetení až plná zralost)

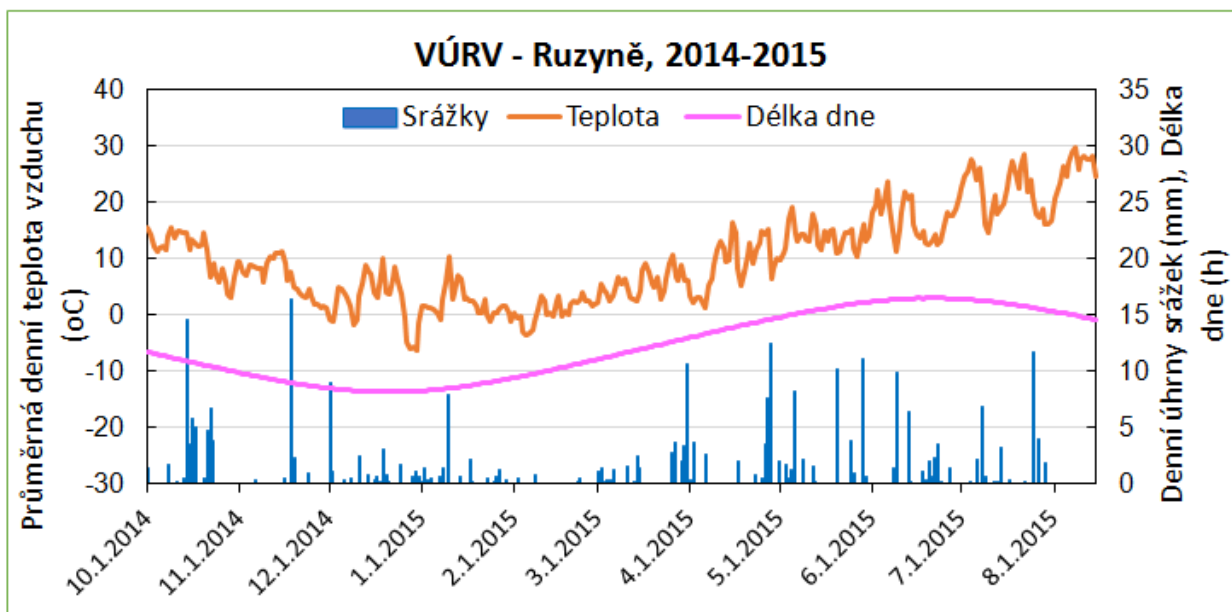
V uvedených fázích se zakládají a tvoří jednotlivé výnosové prvky pšenice (počet odnoží, počet zrn v klasu, hmotnost obilek) a z toho vyplývá i možný dopad sucha na konečný výnos pšenice. Pšenice potřebuje vodu nejprve pro klíčení. Voda je dále nutná ve fázi vegetace pro tvorbu listů a odnoží, v době reprodukce pro zakládání počtu klásků a fertálních kvítků – základů zrn v klasu a po kvetení pro vývoj hmotnosti zrna. Většina studií /1, 2, 6/ o vlivu sucha na výnos pšenice uvádí jako nejcitlivější fázi před kvetením, kdy v důsledku sucha může dojít k redukci počtu fertálních kvítků a krátce po kvetení, kdy může dojít ke snížení hmotnosti zrn v klasu. Podle klimatologických studií (přehledně /3/) je na našem území z hlediska negativního dopadu sucha na výnos pšenice nejdůležitější období od dubna do června, kdy probíhají k suchu nejcitlivější fáze vývoje a tvorby výnosu pšenice.

V posledních letech ne všechny epizody sucha na našem území vedly k depresi výnosu pšenice. Proto jsme se zaměřili na podrobné studium růstu a vývoje pšenice v polních podmínkách a jejich vztahu k nedostatku vody.

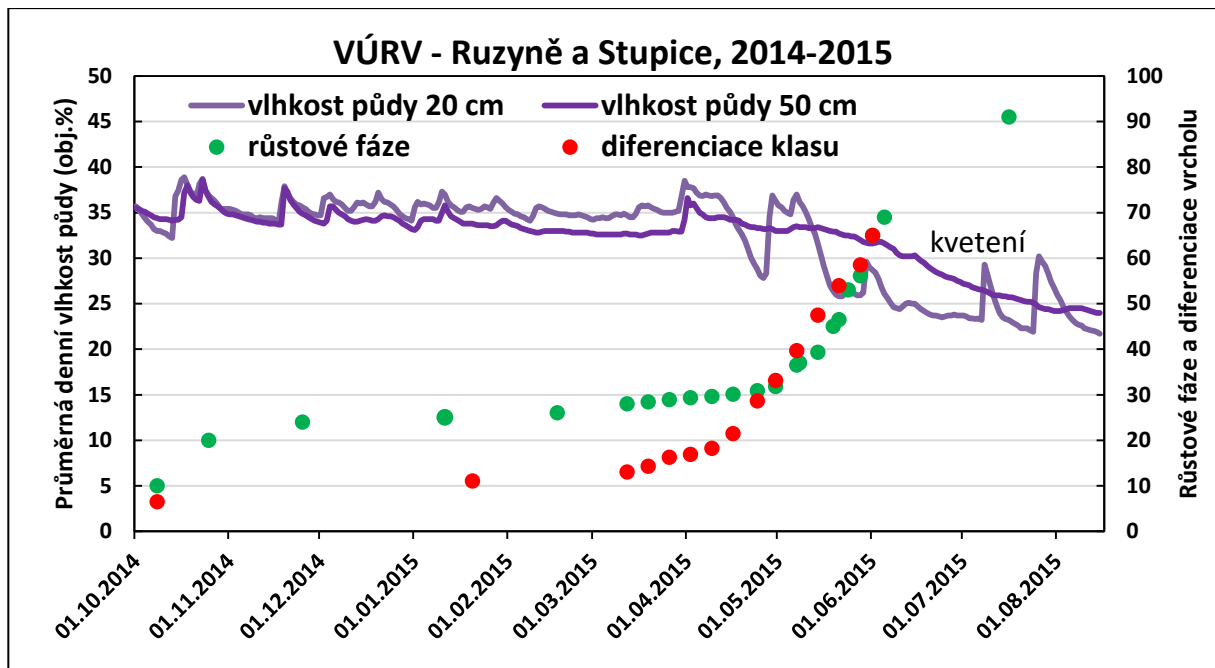
## MATERIÁL A METODY

Polní maloparcelkové pokusy byly založeny se souborem odrůd pšenice ve VÚRV, v.v.i. v Praze - Ruzyni a na stanici Selgenu, a.s. ve Stupicích v letech 2013 až 2015. Jednalo se jak o ozimé pšenice (odrůdy Bohemia, Julie, Turandot, Matylda, Vanessa, Elly, Fermi, Bonanza), tak i jarní pšenice (odrůdy Seance, Siracl, Septima, Anabel, Dafne, Amaretto). Po celou dobu vegetace byly podle potřeby prováděny standardní agrotechnické zásahy (hnojení, postřiky atd.) a při sklizni byla provedena základní analýza výnosu (počet rostlin a odnoží na m<sup>2</sup>, počet zrna v klasu, hmotnost 1000 zrn, objemová hmotnost, výnos).

V průběhu vegetace od vzejití až po sklizeň bylo odebráno z každé parcely 5 až 10 rostlin v týdenních nebo několika týdenních termínech a to podle rychlosti vývoje rostlin. Každá rostlina byla analyzována z hlediska růstové fáze dle Zadokse et al. /9/ a podrobně byl vyšetřen vývoj vzrostného vrcholu (diferenciace klasu) podle stupnice publikované Waddingtonem et al. /8/.



Obrázek 1. Průměrná denní teplota vzduchu ve 2m a denní úhrn srážek ve VÚRV-Ruzyni od října 2014 do 15. srpna 2015; doplněno o délku dne (fotoperiodu).



Obrázek 2. Průměrná denní vlhkost půdy v různé hloubce (20 a 50 cm) a růstové fáze a diferenciaci vrcholu souboru odrůd pšenice ozimé od října 2014 od října 2014.

V některých termínech byly analyzovány i růstové a fyziologické charakteristiky rostlin (např. pokryvnost listoví, biomasa, osmotický potenciál) jednotlivých odrůd. Zároveň od setí až po sklizeň byly sledovány pomocí automatických stanic jednotlivé meteorologické prvky. Ve VÚRV v Ruzyni se jednalo o teplotu vzduchu ve 2 m a v přízemní vrstvě, teplotu půdy v 3, 5, 10, 20 a 50 cm hloubky půdy, podobně i vlhkost půdy pomocí čidel VIRRIB; dále byly sledovány: rychlost a směr větru, globální a fotosynteticky účinné záření, relativní vlhkost vzduchu, tlak a ovlhčení.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Průběh počasí ve sledovaných letech měl podobný trend na obou sledovaných stanovištích, shodně i vývoj rostlin a vrcholů (klasů) jednotlivých odrůd. Pro přehlednost dále uvádíme podrobněji údaje z roku 2014-2015 z VÚRV-Ruzyně s tím, že v případě vývoje vrcholu, jsme využili i hodnoty naměřené na stanici Stupice.

Podrobné rozložení jednotlivých meteorologických faktorů a jejich dopad na růst pšenice ozimé v průběhu října 2014 až 15. srpna 2015 zachycují obrázky 1 a 2. Průměrná denní vlhkost půdy ve dvou hloubkách ukazuje dobrou zásobu vody v půdě od vzejití ozimů až do poloviny května 2015 (cca kolem 60 až 80% VVK). Zejména v povrchové vrstvě půdy do 20 cm se projevují větší výkyvy vlhkosti půdy v případě silných srážek. V druhé polovině května dochází k postupnému poklesu vlhkosti půdy v 50 cm, podobný trend se projevuje v hloubce 20 cm s tím, že v případě dešťů se i zde přechodně zvyšuje vlhkost půdy. Pšenice dosahuje fáze sloupkování a prodlužování stébla v první polovině dubna a fáze kvetení ke konci května. Stanovení vývoje vzrostného vrcholu, diferenciaci klasu, podle Waddingtonovy stupnice (obr. 2) umožňuje přesněji stanovit případný negativní dopad počasí na jednotlivé fáze tvorby klasu, počtu klásků, kvítků a zejména diferenciaci květních orgánů (tyčinek a pestíků), které jsou velmi citlivé na jakýkoliv nepříznivý vnější faktor (sucho, nízká či vysoká teplota) /6/. Podíváme-li se na průběh nástupu jednotlivých fází diferenciaci klasu (obr. 2) vidíme u pšenice pozvolný průběh tvorby klásků v klasu (tj. od dvojitých hrbolků až po terminální klásek). Pak dochází ke zlomu a další fáze nastupují v rychlém sledu až do kvetení. To ukazuje, že vývoj diferenciaci květních orgánů klasu

až do kvetení nebyl v zásadě ničím omezen, tedy ani nedostatkem vody. Uvedený zlom v rychlosti vývoje klasu souvisí s dosažením kritické délky dne (viz obr. 1), kdy končí citlivost rostlin pšenice k fotoperiodě a vývoj pšenice pak probíhá především v závislosti na teplotě. Průměrné výnosy souboru odrůd pšenice ozimé v maloparcelkovém pokusu byly 13,2 t/ha a souboru odrůd jarní pšenice 9,4 t/ha.

K úspěšnému přežití a vysokému výnosu pšenice v roce 2015 je třeba vzít v úvahu i aklimatizace rostlin v sušších obdobích na podzim (listopad) a v zimě, kdy díky tvorbě mohutnějších a hlouběji zasahujících kořenů mohly rostliny čerpat vodu z větší škály hloubek /4/. V neposlední řadě teplé a suché počasí v době sklizně přispělo k vyrovnanému zrání pšenice a snížení ztrát při sklizni v roce 2015.

## LITERATURA

- /1/ Atwell A., Kriedemann P., Turnbull C. (Eds) 1999. Plants in action. Adaptation in nature, performance in cultivation. Macmillan Education Australia PTY LTD.
- /2/ Blum A. 2011. Plant breeding for water-limited environments. Springer, New York Dordrecht Heidelberg London
- /3/ Brázdil, R., Trnka, M. a kol. 2015. Sucho v českých zemích: minulost, současnost, budoucnost. Centrum výzkumu globální změny AV ČR v.v.i., Brno
- /4/ Haberle J., Svoboda P. 2015- Příčiny letošních rozdílných výnosů. Zemědělec 38, Rostlinná výroba 29.
- /5/ Kůdela, V., Ackermann P., Prášil IT., Rod J., Veverka K. 2013. Abiotikózy rostlin: poruchy, poškození a poranění. Academia, Praha.
- /6/ Nátrová Z., Jokeš M. 1993. A proposal for a decimal scale of the inflorescence development of wheat. Rostlinná výroba, 40, 315-328
- /7/ Reynolds, MP., Pask, A.J.D. and Mullan DM. (Eds.) 2012. Physiological Breeding I: Interdisciplinary Approaches to Improve Crop Adaptation. Mexico, D.F.: CIMMYT.
- /8/ Waddington SR, Cartwright PM, Wall PC. 1983. A quantitative scale of spike initial and pistil development in barley and wheat. Annals of Botany 51, 119–130.
- /9/ Zadoks JC, Chang TT, Konzak CF. 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. Weed Research 14, 415–421.

## Poděkování

Práce byla podpořena finančními prostředky z European Union Seventh Framework Programme, Adaptawheat (FP7- KBBE-2011-5) a projektů MZE QJ1310055 a RO0416.

## PROTEOMICKÁ ODEZVA KULTURNÍHO JEČMENE *HORDEUM VULGARE* A HALOFYTNÍHO JEČMENE *HORDEUM MARINUM* NA ZASOLENÍ - POROVNÁNÍ GLYKOFYTU A HALOFYTU

### ***PROTEOMIC RESPONSE TO SALINITY IN CULTIVATED BARLEY *HORDEUM VULGARE* AND WILD BARLEY *HORDEUM MARINUM*: A COMPARISON OF A GLYCOPHYTE AND A HALOPHYTE***

Klára Kosová<sup>1</sup>, Lucie Maršálová<sup>2</sup>, Pavel Vítámvás<sup>1</sup>, Radovan Hynek<sup>2</sup>, Ilja Tom Prášil<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratoř stresové fyziologie a biotechnologie rostlin, Odbor genetiky a šlechtění, Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Drnovská 507, 161 06 Praha 6 - Ruzyně, Česká republika; kosova@vurv.cz

<sup>2</sup> Ústav biochemie a mikrobiologie, Fakulta potravinářská, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika

#### **Summary**

Physiological and biochemical response (water saturation deficit, osmotic potential, maximum quantum yield of photosystem II photochemistry Fv/Fm, proline and dehydrin levels), and proteome composition of cultivated barley *H. vulgare* cv. Tadmor and wild halophytic barley *H. marinum* was studied in plants transferred from control (0.2 mM NaCl) to high salinity (300 mM NaCl). Salinity led to enhanced accumulation of several chaperones and detoxification enzymes in both barley species. However, *H. vulgare* exhibited signs of plant damage as indicated by declined Fv/Fm, decreased photosynthetic OEE proteins, glycolytic enzymes and enzymes involved in ATP metabolism, and, in contrast, enhanced abundance of apoptosis-related proteins. In contrast, *H. marinum* revealed salinity acclimation as indicated by various isoforms of stress-protective proteins and detoxification enzymes, enhanced levels of photosynthetic OEE proteins and proteins involved in ATP metabolism as well as the presence of several regulatory proteins involved in apoptosis inhibition and cell division.

*Key words: Glycophyte; halophyte; proteomics; salinity; stress acclimation; stress damage; Hordeum marinum; Hordeum vulgare*

#### **Souhrn**

Byla studována odezva kulturního ječmene *Hordeum vulgare* cv. Tadmor a planého halofytního ječmene *Hordeum marinum* na zvýšenou koncentraci soli 300 mM NaCl na úrovni fyziologických a biochemických charakteristik (vodní sytostní deficit, osmotický potenciál, maximální kvantový výtěžek fotosystému II Fv/Fm, prolin, dehydriny) a na úrovni složení proteomu izolovaného z odnožovacích uzlů rostlin. Analýza fyziologické i proteomické odezvy ukázala shody, ale i významné rozdíly mezi oběma druhy ječmene. U obou druhů ječmenů zvýšená koncentrace soli vyvolala řadu ochranných reakcí včetně indukce řady ochranných proteinů a detoxifikačních enzymů. Kulturní ječmen *H. vulgare* po jednorázovém přenesení z kontrolních podmínek (0.2 mM NaCl) do 300 mM NaCl vykazoval příznaky poškození pletiv zahrnující pokles fluorescenčního parametru Fv/Fm, disbalance v energetickém metabolismu vedoucí k snížení abundance glykolytických enzymů a enzymů ATP metabolismu, relativní pokles fotosyntetických OEE proteinů z OEC komplexu ve fotosystému II, a naopak detekce a nárůst proteinů spojených s indukci apoptotických procesů. Naopak planý ječmen *H. marinum* vykazoval významně znaky stresové aklimace, které byly spojeny se zvýšenou akumulací chaperonů, zvláště v chloroplastech, a zvýšeným počtem i množstvím detoxifikačních enzymů. S tím souvisí i zvýšení abundance proteinů energetického metabolismu včetně fotosyntetických OEE proteinů a přítomnost proteinů inhibujících apoptosu a naopak podporujících buněčné dělení.

*Klíčová slova:* glykofyt; halofyt; proteomika; zasolení; aklimace; poškození; *H. marinum*; *H. vulgare*

## ÚVOD

Zasolení představuje celosvětově významný stresový faktor limitující zemědělskou produkci, zvláště v aridních a semiaridních oblastech. Naprostá většina zemědělsky využívaných plodin jsou rostliny citlivé k zasolení, glykofyty, i když čeledi *Chenopodiaceae* a *Poaceae*, z nichž pochází řada významných plodin, zahrnují i řadu druhů tolerujících zasolení - halofytů. Existují různé definice halofytů, všeobecně přijímáno je, že halofyty jsou rostlinné druhy, které jsou schopny absolvovat celý životní cyklus v podmínkách s úrovní zasolení vyšší než 250 mM NaCl /1/. Z významných plodin patří mezi halofyty pouze merlík quinoa (*Chenopodium quinoa*), avšak řada významných plodin včetně obilnin z rodiny *Triticeae* má geneticky příbuzné halofytní druhy - např. některé druhy pýru (*Thinopyrum ponticum*) či planý ječmen přímořský (*Hordeum marinum*).

Ječmen přímořský (*Hordeum marinum*) je planý halofytní druh ječmene rostoucí v zasolené půdě přímořských oblastí kolem Středozemního moře, Balkánu a na Blízkém Východě. Předchozí studie zabývající se porovnáním odezvy kulturního ječmene *H. vulgare* a planého halofytního ječmene *H. marinum* ukázaly vyšší hladinu  $\text{Na}^+$  iontů v prýtech *H. vulgare* oproti *H. marinum*, což ukazuje na vyšší schopnost exkluze  $\text{Na}^+$  u *H. marinum*. Zvýšená akumulace  $\text{Na}^+$  v prýtech *H. vulgare*, který se ukládá ve vakuolách, je kompenzována akumulací osmolytů různé biochemické povahy včetně prolinu a LEA proteinů, což vede ke snížení osmotického potenciálu /2,3/.

Cílem naší práce bylo studovat změny základních fyziologických a biochemických charakteristik spojených s reakcí na zasolení (vodní sytostní deficit, osmotický potenciál, maximální fotochemická účinnost fotosystému II Fv/Fm, prolin, dehydriny) a změny ve složení proteomu odnožovacích uzlů ječmenů *H. vulgare* a *H. marinum* vystavených 300 mM NaCl. Cílem studie bylo charakterizovat shody a rozdíly v reakci na zasolení u dvou druhů rodu *Hordeum* s odlišnou odolností vůči zasolení.

## MATERIÁL A METODA

Pro experiment byly použity rostliny ječmene *Hordeum vulgare* cv. Tadmor, což je syrská odrůda odolná k suchu a k dehydrataci, a rostliny *H. marinum* ssp. *gussoneanum*, linie H818, původem z Iránu. Osivo *H. vulgare* cv. Tadmor bylo získáno od dr. L. Holkové z MENDELU, Brno, ČR; osivo *H. marinum* bylo získáno z Nordic Gene Bank, Alnarp, Švédsko. Naklíčené rostliny byly pěstovány hydroponicky ve zředěném roztoku Hydropon (Lovochemie, Lovosice; údaje viz /4/) nejprve 7 dnů při 20 °C, ozáření 350  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  a 12 hodinové fotoperiodě v kontrolních podmínkách (0,2 mM NaCl) a poté byla koncentrace soli zvyšována postupně po 50 mM NaCl až na 300 mM NaCl. další variantou bylo jednorázové přenesení rostlin z kontrolních podmínek přímo do 300 mM NaCl. Vzorky pro další analýzy byly odebrány po 7 dnech působení 300 mM NaCl, tj. po 20 dnech hydroponického pěstování rostlin /5/.

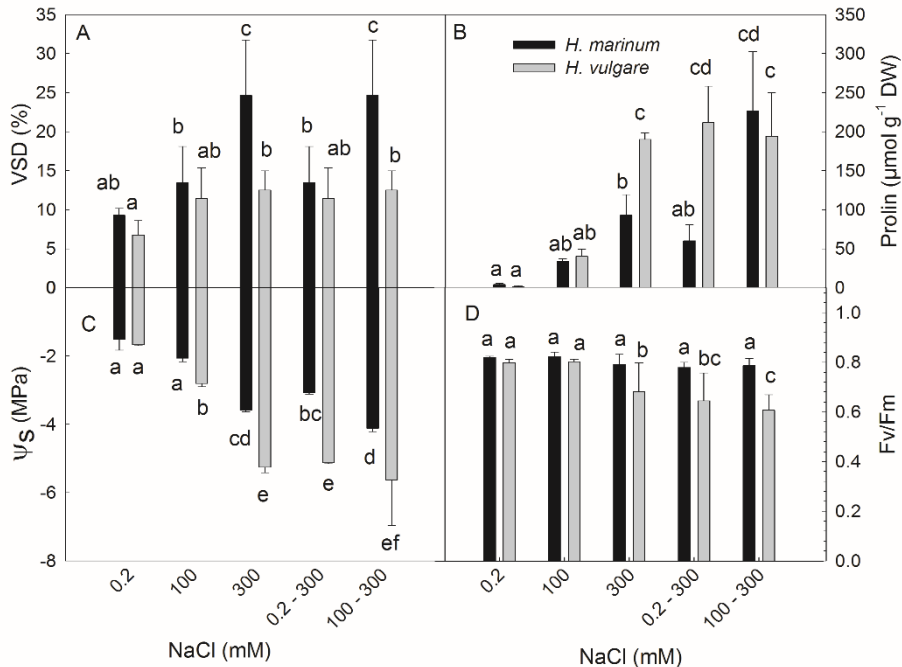
Vodní sytostní deficit (VSD) byl stanoven gravimetricky dle Slavíka /6/. Osmotický potenciál (OP) listové šťávy byl stanoven pomocí osmometru VAPRO (Wescor Inc, Mt Logan, Utah, USA). Fluorescence chlorofylu - parametr maximální kvantový výtěžek fotosystému II Fv/Fm byl stanoven u rostlin vystavených minimálně 30 min. tmě pomocí fluorometru FluorPen FP100 (PhotonSystems Instruments, Drásov, ČR). Prolin byl stanoven spektrofotově při 520 nm jako konjugát s ninhydrinem dle Jiménez-Bremont et al. /7/ za použití L-prolinu (Sigma-Aldrich) jako standardu. Dehydriny byly extrahovány pomocí 0,1 M Tris-HCl pufru, pH 8,8, s přísadkou inhibitoru proteas (Roche, Basilej, Švýcarsko), byly koncentrovány pomocí 10 min. povahení a následně vysráženy acetonem. Dehydriny byly stanoveny pomocí 1D SDS-PAGE a imunoblotu za použití specifické primární protilátky (Enzo Life Sciences, Farmingdale, USA). Denzita dehydrinů byla analyzována pomocí softwaru QuantityOne 4.6.2. (Bio-Rad, Hercules,

CA, USA) a data ze všech analýz byla vyhodnocena pomocí softwaru STATISTICA 11 (StatSoft Inc., Velká Británie), analýza variance (ANOVA), Duncanův test rozpětí (DMRT) na hladině 0,05.

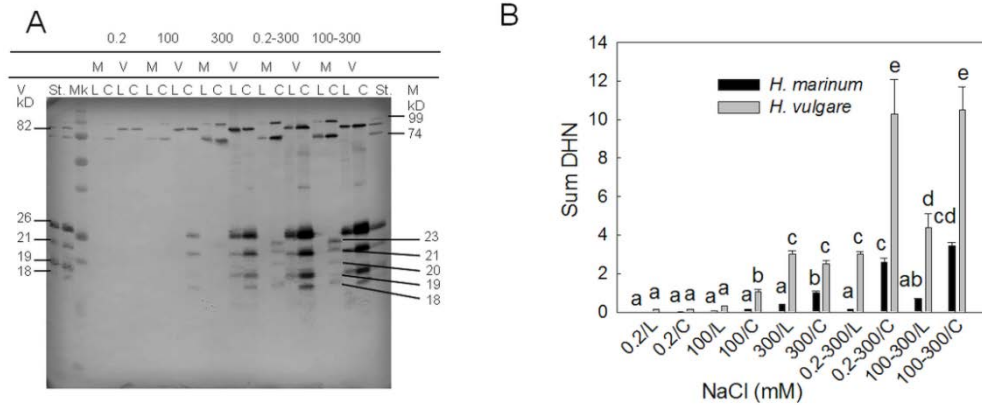
Proteomická analýza byla provedena u vzorků z odnožovacích uzlů čtyř variant (HVC - *H. vulgare*, kontrola; HVN - *H. vulgare*, 300 mM NaCl; HMC - *H. marinum*, kontrola; HMN - *H. marinum*, 300 mM NaCl) použitých pro stanovení dehydrinů, tj. obohacených o proteiny odolné k varu, pomocí nanoLC-ESI-Q-TOF MS (Bruker Daltonics, Bremen, Německo). Proteiny byly identifikovány pomocí software Mascot 2.4.01 (Matrix Science, Londýn, Velká Británie) a prohledávání databáze Uniprot (www.uniprot.org), verze z 30.1.2014, taxonomie *Hordeum vulgare*, povolená karbamidometylace a oxidace jako modifikace proteinů. Kvantitativní změny byly hodnoceny pomocí nepárového Student T-testu na hladině 0,05.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

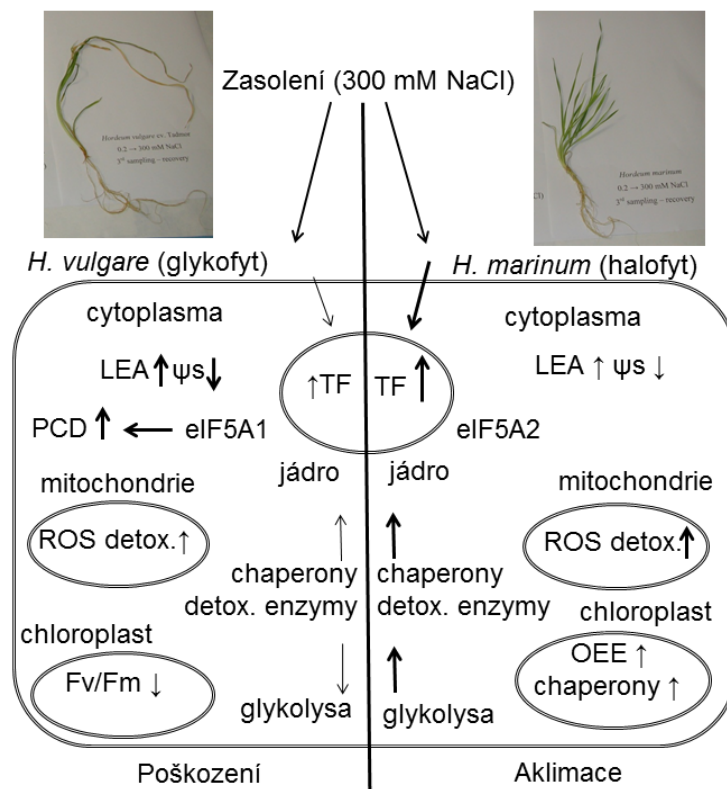
Hodnocení základních fyziologických a biochemických parametrů VSD, OP, Fv/Fm, prolinu a dehydrinů ukázalo významné rozdíly v odezvě *H. vulgare* a *H. marinum* na zvýšenou koncentraci soli (Obr. 1). Konstitutivně vyšší VSD a naopak vyšší OP a nižší hladina prolinu a dehydrinů u *H. marinum* vystaveného 300 mM NaCl odpovídají předchozím studiím [2,3] a ukazují na schopnost *H. marinum* udržet nízkou hladinu Na<sup>+</sup> v prýtu, kterou, na rozdíl od *H. vulgare*, nemusí kompenzovat vysokou akumulací osmolytů. Parametr Fv/Fm, který je v *H. vulgare* vystaveném 300 mM NaCl oproti kontrole snížený, zůstává u *H. marinum* nesnížený, což ukazuje na schopnost fotosyntetického aparátu aktivně se přizpůsobit zvýšené koncentraci soli. Analýza relativní akumulace dehydrinů ukázala významné kvantitativní i kvalitativní rozdíly mezi oběma druhy ječmene - *H. vulgare* akumuloval dehydriny o rel. hmotnosti 18, 19, 21, 26 a 82 kD, zatímco *H. marinum* akumuloval dehydriny o rel. hmotnosti 18, 19, 20, 21, 23, 74 a 99 kD (Obr. 2).



Obr. 1: Vodní sytostní deficit VSD (A), akumulace prolinu (B), osmotický potenciál listové šťávy  $\psi_s$  (C) a maximální kvantová účinnost fotosystému II Fv/Fm (D) stanovené v listech *Hordeum marinum* (černé sloupce) a *Hordeum vulgare* (šedé sloupce) pěstovaných za kontrolních podmínek (0,2 mM NaCl) a po postupném a jednorázovém zvýšení koncentrace soli. Rozdílná písmena indikují statisticky významné rozdíly zjištěné pomocí ANOVA, DMRT,  $p < 0,05$ .



Obr. 2: Detekce dehydrinových proteinů u *H. marinum* (M) a *H. vulgare* (V) pomocí 1D SDS-PAGE a imunoblotu u rostlin pěstovaných za kontrolních podmínek (0,2 mM NaCl) a vystavených různým koncentracím soli (A). Mk - hmotnostní marker All Blue Precision Plus Protein Marker Standard (Bio-Rad, USA). St - směsný vzorek použitý jako interní standard pro relativní kvantifikaci dehydrinů. Výsledky denzitometrické analýzy imunoblotů znázorňující relativní akumulaci sumy všech detekovaných dehydrinů vyjádřenou jako násobek denzity interního standardu (B). *Hordeum marinum* (černé sloupce) a *Hordeum vulgare* (šedé sloupce) pěstovaných za kontrolních podmínek (0,2 mM NaCl) a po postupném a jednorázovém zvýšení koncentrace soli. Rozdílná písmena indikují statisticky významné rozdíly zjištěné pomocí ANOVA, DMRT,  $p < 0,05$ .



Obr. 3: Shrnutí výsledků fyziologických a proteomických analýz zaměřených na odezvu *Hordeum marinum* a *Hordeum vulgare* na zvýšenou koncentraci soli 300 mM NaCl. U *H. vulgare* došlo v důsledku působení 300 mM NaCl k poklesu fotosyntetické aktivity indikované snížením Fv/Fm a k indukci procesů spojených s programovanou buněčnou smrtí (PCD) ukazujících nevratné poškození pletiv. Naopak u *H. marinum* byla zjištěna zvýšená akumulace chloroplastových chaperonů, fotosyntetických proteinů (OEE) a přítomnost proteinových isoformů spojených s buněčným dělením (eIF5A2), což ukazuje na úspěšnou aklimaci.



Proteomická analýza odnožovacích uzlů *H. vulgare* a *H. marinum* vystavených 300 mM NaCl ve srovnání s kontrolou (0,2 mM NaCl) ukázala shodné i rozdílné znaky odezvy na zvýšenou koncentraci soli (Obr. 3).

Oba druhy ječmene v reakci na zvýšenou koncentraci soli indukovaly transkripční faktory spojené s aktivací stresové odezvy (bZIP, NAC) a akumulovaly více chaperonů a detoxifikačních proteinů. *H. marinum* ovšem vykazoval vyšší akumulaci a větší kvalitativní zastoupení různých chaperonů, především chloroplastových, a detoxifikačních enzymů (detoxifikace ROS a jiných nežádoucích metabolitů, např. kyanátu, pomocí kyanát dehydrogenasy), což odpovídá výsledkům jiných studií /8,9/. Významným rysem odezvy *H. marinum* oproti *H. vulgare* je aktivní aklimace energetického metabolismu, která se projevuje rel. zvýšenou akumulací proteinů tzv. kyslík-vyvíjejícího komplexu (OEC) ve fotosystému II, rel. zvýšenou hladinou glykolytických enzymů a enzymů ATP metabolismu. Rozdíly mezi oběma druhy ječmene na úrovni regulačních proteinů ukazují na aktivní stresovou aklimaci u *H. marinum*, zatímco na poškození u *H. vulgare*, což se projevuje indukcí proteinů spojených s apoptosou u *H. vulgare*, a naopak indukcí proteinů spojených s inhibicí programované buněčné smrti (apoptosy) a proteinů indukujících buněčné dělení u *H. marinum*. tyto rozdíly jsou patrné i na detekci různých isoform daného proteinu - detekce isoformy eIF5A1 spojené s indukcí programované buněčné smrti u *H. vulgare*, a naopak detekce isoformy eIF5A2 spojené s indukcí buněčného dělení u *H. marinum* /10/.

## ZÁVĚR

Zvýšená koncentrace soli 300 mM NaCl vyvolala odezvu proteomu u *H. vulgare* i u *H. marinum*; u *H. vulgare* se ale objevily změny indikující poškození rostlin (pokles proteinů energetického metabolismu, indukce proteinů spojených s apoptosou), *H. marinum* si dokázal zachovat nepoškozený energetický metabolismus a proteiny spojené s indukcí buněčného dělení indikující aktivní stresovou aklimaci.

## LITERATURA

- /1/ Flowers, T.J., Colmer, T.D.: Salinity tolerance in halophytes. Tansley review. New Phytologist, 179, 2008: 945–963.
- /2/ Garthwaite, A.J., von Bothmer, R., Colmer, T.D.: Salt tolerance in wild *Hordeum* species is associated with restricted entry of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> into the shoots. Journal of Experimental Botany, 56, 2005: 2365–2378.
- /3/ Islam, S., Malik, A.J., Islam, A.K.M.R., Colmer, T.D.: Salt tolerance in a *Hordeum marinum-Triticum aestivum* amphiploid, and its parents. Journal of Experimental Botany, 58, 2007: 1219–1229.
- /4/ Prášil, I.T., Prášilová, P., Pánková, K.: (2005). The relationship between vernalization requirement and frost tolerance in substitution lines of wheat. Biologia Plantarum, 49, 2005: 195–200.
- /5/ Kosová, K., Vítámvás, P., Hlaváčková, I., Urban, M.O., Vlasáková, E., Prášil, I.T.: Responses of two barley cultivars differing in their salt tolerance to moderate and high salinities and subsequent recovery. Biologia Plantarum, 59, 2015: 106–114.
- /6/ Slavík, B. (1963). Relationship between the osmotic potential of cell sap and the water saturation deficit during the wilting of leaf tissue. Biologia Plantarum, 5, 1963: 258–264.
- /7/ Jiménez-Bremont, J.F., Becerra-Flora, A., Hernández-Lucero, E., Rodríguez-Kessler, M., Acosta-Gallegos, J.A., Ramírez-Pimentel, J.G.: Proline accumulation in two bean cultivars under salt stress and the effect of polyamines and ornithine. Biologia Plantarum 50, 2006: 763–766.
- /8/ Askari, H., Edqvist, J., Hajheidari, M., Kafi, M., Salekdeh, G.H.: Effects of salinity levels on proteome of *Suaeda aegyptiaca* leaves. Proteomics, 6, 2006: 2542–2554.
- /9/ Witzel, K., Weidner, A., Surabhi, G.K., Börner, A., Mock, H.P.: Salt stress-induced alterations in the root proteome of barley genotypes with contrasting response towards salinity. Journal of Experimental Botany, 60, 2009: 3545–3557.
- /10/ Thompson, J. E., Hopkins, M. T., Taylor, C., Wang, T. W.: Regulation of senescence by eukaryotic translation initiation factor 5A: implications for plant growth and development. Trends in Plant Science, 9, 2004: 174–179.

**Poděkování**

Práce byla podpořena institucionálním projektem Ministerstva zemědělství ČR RO0415, a dále projekty LD11069, LD14087 a LD15167 Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy (MŠMT ČR) udělenými v rámci mezinárodních akcí COST FA0901, FA1208 a FA1306.

## **SLEDOVANIE OBNOVY FYZIOLOGICKÝCH REAKCIÍ U 6-MESAČNÝCH SEMENÁČIKOV SMREKA A BUKA VYSTAVENÝCH SIMULOVANEJ DEHYDRATÁCII A OPÄTOVNÉMU ZAVLAŽENIU**

### **OBSERVATION OF REGENERATION PHYSIOLOGICAL REACTIONS OF 6-MONTHS BEECH AND SPRUCE SEEDLINGS EXPOSED TO SIMULATED DEHYDRATION**

Jana Majerová<sup>1</sup>, Eva Pšidová<sup>1</sup>, Gabriela Jamnická<sup>1</sup>, Daniel Kurjak<sup>2</sup>, Ľubica Ditmarová<sup>1</sup>, Kristína Slugeňová<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied vo Zvolene, Štúrova 2, 960 53 Zvolen, SR, majerova@savzv.sk

<sup>2</sup> Technická univerzita vo Zvolene, Lesnícka fakulta, katedra fytoológie, T. G. Masaryka 24, 960 53 Zvolen, SR

#### *Summary*

Pot experiment with 6-month old beech seedlings originated from three Slovak provenances was conducted during summer 2012. We carried out a similar type of experiment with 6-months old spruce seedlings originated from two Slovak provenances next year. Seedlings originated from contrasting Slovak provenances differing mainly in terms of annual rainfall. The experiment was conducted in a climate room with controlled mode of light conditions, temperature and moisture. Seedlings were grown for 8 days without watering and then they were re-irrigated to track the recovery of physiological functions. The provenance originating from beech optimum and the provenance originating from lower limit of spruce extension manifested major changes at the level of photosynthetic parameters and biochemical level under drought stress. Provenances originated from a dryer climate responded to restore of irrigation by higher rate of recovery of physiological functions.

*Key words: provenance, beech, spruce., dehydration, „recovery“ process, photosynthesis rate, abscisic acid*

#### *Súhrn*

V priebehu leta 2012 sme v kontrolovaných laboratórnych podmienkach ÚEL SAV realizovali nádobový experiment so 6-mesačnými semenáčikmi buka lesného (*Fagus sylvatica* [L.]) pôvodom z troch odlišných proveniencií, na ktorý sme nasledujúci rok nadviazali podobným experimentom s rovnako starými semenáčikmi smreka obyčajného (*Picea abies* [L.] Karst.) pochádzajúcimi z dvoch kontrastných proveniencií. Semenáčiky v oboch prípadoch pochádzali z klimaticky kontrastných regiónov Slovenska líšiacich sa z hľadiska zrážkového režimu. V oboch experimentoch boli semenáčiky pestované bez zavlažovania po dobu 8 dní, kedy sme na základe hodnôt vodného potenciálu ( $\Psi_w$ ) a parametrov fotosyntézy ( $A$  – rýchlosť asimilácie  $\text{CO}_2$ ,  $g_s$  – stomatálna vodivosť) zaznamenali silný stres a významný vplyv sucha. Tieto zistenia potvrdil aj štatisticky významný nárast koncentrácie kyseliny abscisovej (ABA) v listoch/ihliciach suchom stresovaných jedincov. Následne boli semenáčiky opätovne zavlažené za účelom sledovania obnovy fyziologických reakcií v procese „recovery“. Pri experimente s bukom proveniencia pochádzajúca z bukoveho optima vykazovala najcitlivejšiu reakciu na stres suchom, pričom u nej bola zaznamenaná najväčšia miera zmien na úrovni fotosyntetických parametrov aj na biochemickej úrovni. Zároveň sa javila ako najvitálnejšia po obnovení priaznivých podmienok. V experimente so smrekom proveniencia pochádzajúca z dolnej hranice rozšírenia smreka reagovala na postupujúcu dehydratáciu citlivejšie. U tejto proveniencie sme však zaznamenali rýchlejšie obnovenie fyziologických funkcií v procese „recovery“.

*Kľúčové slová: proveniencia, Fagus sylvatica [L.], Picea abies [L.] Karst., dehydratácia, „recovery“ proces, fotosyntéza, kyselina abscisová*

## ÚVOD

Štádium semenáčika predstavuje jedno z najcitlivejších období v živote dreviny. Stresové faktory akými sú dehydratácia, vysoká teplota, zasolenie, mrazy a iné môžu spôsobiť značné poškodenie až odumretie stromu v tomto štádiu. Práve preto poznanie reakcií drevín na úrovni semenáčikov môže byť zdrojom cenných informácií využiteľných v škôlkárstve a zakladaní lesa.

Naše najrozšírenejšie dreviny buk lesný a smrek obyčajný sú obzvlášť citlivé na podmienky prostredia, najmä na dostatok vody. Sledovanie reakcie týchto drevín na stres suchom môže byť nápomocné pri determinácii odolnejších ekotypov. V súvislosti s klimatickými zmenami, ktoré pôsobia na posun hornej hranice lesa, môžu byť získané poznatky využité pri opätovnom zalesňovaní.

Rehydratácia rastlín vystavených miernemu stresu zabezpečuje rýchlu obnovu fyziologických reakcií. Táto obnova prebieha v dvoch na seba naväzujúcich krokoch. Prvé dni po zavlažení dochádza k obnoveniu pozitívnej vodnej bilancie spojenej so znižovaním koncentrácie osmotických solútov (prolín, ABA, atď.) a otvaraním prieduchov. Na to naväzuje tvorba proteínov nevyhnutných pre správny priebeh fotosyntetickej reakcie, predovšetkým Rubisca /1/. Spomínané reakcie sme sa snažili zaznamenať a potvrdiť u nami sledovaných proveniencií. Zároveň sme chceli overiť predpoklad, že proveniencie pochádzajúce zo suchšej klímy budú citlivejšie reagovať na vodný deficit a opätovné zavlaženie.

## MATERIÁL A METÓDY

V mesiacoch júl a august 2012 bol zrealizovaný experiment so 6-mesačnými semenáčikmi buka lesného (*Fagus sylvatica* [L.]) pochádzajúcimi z troch kontrastných proveniencií, na ktorý sme nasledujúci rok naviazali rovnakým tipom experimentu realizovanom s 6-mesačnými semenáčikmi smreka obyčajného (*Picea abies* [L.] Karst.) pôvodom z dvoch odlišných proveniencií. Podrobné charakteristiky jednotlivých proveniencií sú znázornené v tabuľke Tab. 1.

Tab 1: Charakteristiky sledovaných proveniencií

|                                  | Proveniencie<br>buka lesného |         |        | Proveniencie<br>smreka obyčajného |            |
|----------------------------------|------------------------------|---------|--------|-----------------------------------|------------|
|                                  | PV1                          | PV2     | PV3    | PV1                               | PV2        |
| Lokalita                         | Divín                        | Dobšiná | Brezno | Dubeň                             | Čierny Váh |
| Nadmorská výška (m n. m.)        | 530                          | 625     | 1250   | 410                               | 931        |
| Priemerný ročný úhrn zrážok (mm) | 908                          | 998     | 1096   | 778                               | 620        |
| Zemepisná šírka                  | 48°33'                       | 48°49'  | 48°54' | 49°12'                            | 49°00'     |
| Zemepisná dĺžka                  | 19°36'                       | 20°18'  | 19°56' | 18°41'                            | 19°58'     |

Semenáčiky boli vysadené a následne pestované v plagoch. Jeden plag predstavoval 35 jedincov, pričom každý jedinec bol zasadený v 2 dcl rašeliny. Pri experimente s bukovými semenáčikmi bola každá proveniencia zastúpená 4 plagmi a pestovaná v kontrolovaných podmienkach (65% vlhkosť, 23 – 23,5°C teplota). Pri experimente so smrekom sme pre každú provenienciu použili 8 plagov, pričom semenáčiky boli v tomto experimente pestované pri 80% vlhkosti a 18°C teplote. Polovica plagov predstavovala v oboch prípadoch variant *sucho* a druhá polovica variant *kontrola*, ktorý bol pravidelne zalievajú. V oboch experimentoch sme pomocou 4 vysokotlakových sodíkových výbojok LU400PSL/T/E40 realizovali svetelný režim 12 hod deň/12 hod noc. Bukové aj smrekové semenáčiky variantu *sucho* sme po dobu 8 dní vystavili simulovanej dehydratácii a následne opätovne zavlažovali počas 8 dní.

Reakcie semenáčikov na dehydratáciu a opätovné zavlaženie boli sledované na začiatku, v strede a na konci fázy simulovanej dehydratácie a následne v závere procesu „recovery“ prostredníctvom vodného potenciálu listov/ihlíc ( $\Psi_w$ ) meraného pomocou prístroja PSYPRO (Wescor USA) hodinu pred spustením režimu „deň“. Parametre fotosyntézy sme determinovali pomocou otvoreného gazometrického systému Li-6400XT (Li-cor, USA). Kyselina abscisová bola stanovená dvojdimenzionálnou kvapalinovou chromatografiou 2D-HPLC podľa /2/. Pri experimente s bukom sme koncentráciu ABA stanovili len v závere fázy bez zavlažovania a v procese „recovery“.

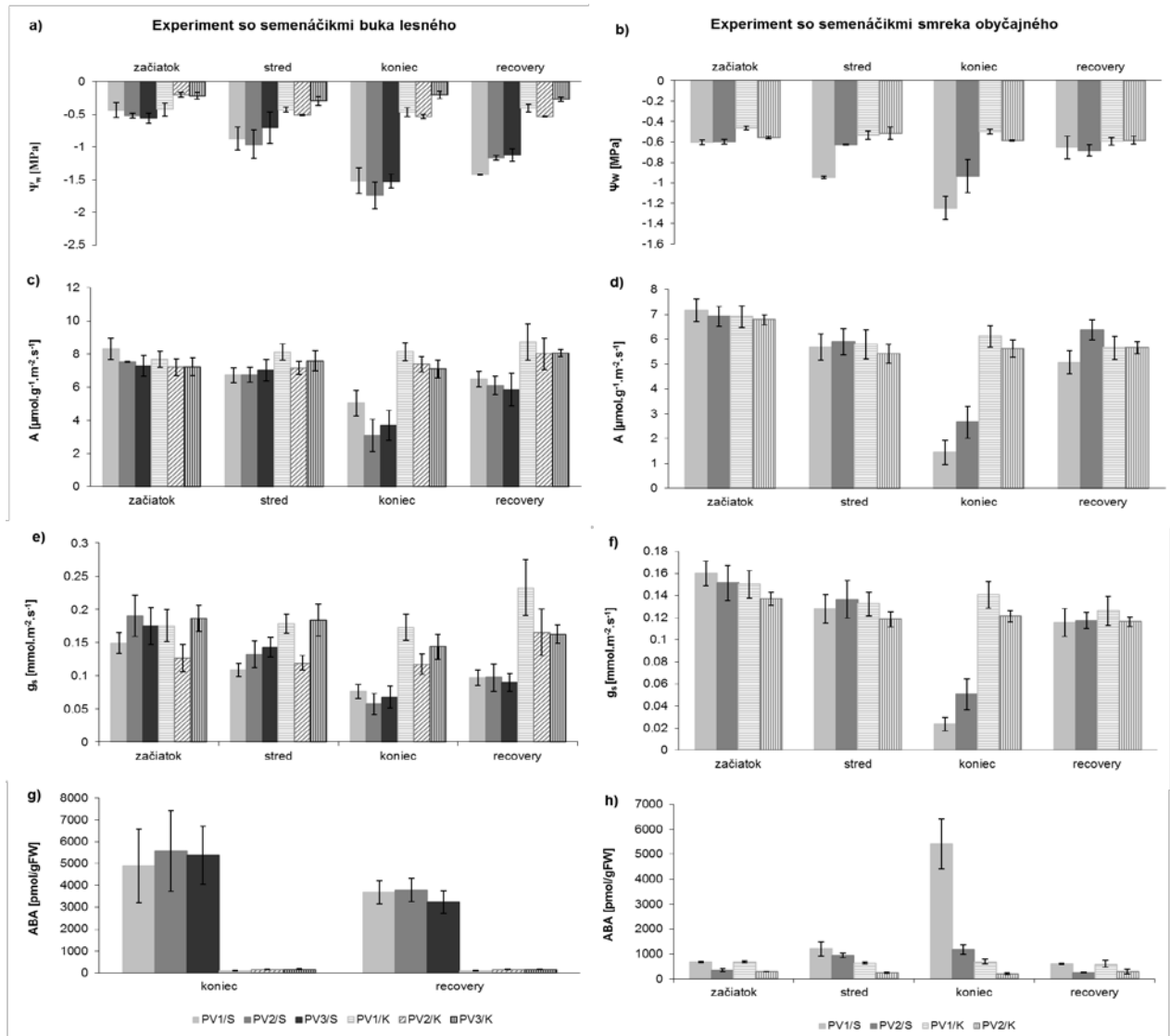
Získané údaje boli vyhodnotené pomocou analýzy variancie ANOVA, posthoc Duncan testom.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vyradenie zálievky realizované v oboch experimentoch spôsobilo pokles hodnôt vodného potenciálu u všetkých sledovaných proveniencií. Signifikantný vplyv sucha bol zaznamenaný už v strede fázy bez zavlažovania a pretrvával až do jej ukončenia, kedy poklesli u semenáčikov buka variantu *sucho* hodnoty  $\Psi_w$  na úroveň -1,52 MPa (PV1), -1,73 MPa (PV2), -1,53 MPa (PV3) (graf a), čo signalizuje stredný až silný stres suchom /2/. U semenáčikov smreka sme sledovali hodnoty na úrovni -1,24 MPa (PV1) a - 0,93 MPa (PV2) (graf b). Uvedené výsledky potvrdzujú práce /3, 4, 5, 6/.

Prehlbujúca sa dehydratácia mala signifikantný vplyv aj na pokles hodnôt asimilácie  $\text{CO}_2$  (A) a stomatálnej vodivosti ( $g_s$ ) u semenáčikov všetkých proveniencií buka aj smreka ako dokumentujú grafy c, d, e, f. Závislosť medzi A a  $g_s$  potvrdzuje, že A bola do značnej miery limitovaná činnosťou prieduchov /1/. Z proveniencií buka najcitlivejšie reagovala PV2 pochádzajúca z bukového optima, pričom v závere fázy bez zavlažovania sme u nej zaznamenali pokles hodnôt A a  $g_s$  v najvyššej miere. Ako najodolnejšia sa nám javila PV1 pochádzajúca z klimaticky suchšej oblasti. Podobný trend sme zaznamenali u proveniencií smreka. Citlivejšie reagovala proveniencia pochádzajúca z vlhšej klimatickej oblasti (PV1) pričom v období najsilnejšej dehydratácie vykazovala hodnoty A na úrovni  $1,45 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  a  $g_s$  na úrovni  $0,02 \text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . V tomto termíne sme zároveň zaznamenali najvyššiu mieru akumulácie ABA v ihliciach oboch proveniencií smreka a signifikantný vplyv sucha na hodnoty koncentrácie ABA v listoch nezavlažovaných semenáčikov buka (graf g, h). Najvyššou koncentráciou ABA v listoch sa vyznačovala PV2, u ktorej v dôsledku dehydratácie stúpili hodnoty ABA na  $5583,61 \text{pmol}\cdot\text{g}^{-1}$ . U semenáčikov smreka sme zaznamenali v dôsledku sucha až 7,8-násobný nárast ABA v ihliciach PV1 a 5,3-násobný nárast u PV2. Podobné výsledky dokumentujú práce /2, 3, 7, 8, 9/.

Opätovné zavlaženie spôsobilo signifikantný návrat hodnôt všetkých meraných parametrov. Najrýchlejšou obnovou fyziologických reakcií sa vyznačovala PV2 pochádzajúca z bukového optima, pričom najpomalšie reagovala PV1 pochádzajúca z oblasti suchej klímy. V experimente so semenáčikmi smreka rýchlejšou obnovou fyziologických funkcií sa vyznačovala PV1 pochádzajúca z dolnej hranice rozšírenia smreka. Nakoľko pochádza z klimaticky vlhkej oblasti, opätovné zavlaženie u nej môže viesť k citlivejšej reakcii.



Graf a), b): Priebieh hodnôt vodného potenciálu asimilačných orgánov buka/smreka; c), d) priebieh hodnôt rýchlosti asimilácie CO<sub>2</sub>; e), f) priebieh hodnôt stomatálnej vodivosti; g), h) priebieh hodnôt koncentrácie ABA v asimilačných orgánov buka lesného/smreka obyčajného počas experimentu. S označuje skupinu suchom stresovaných jedincov, K skupinu kontrolných jedincov. Chybové úsečky predstavujú strednú chybu.

Tab.2: Priemerné hodnoty meraných fyziologických parametrov u variantu sucho(a) a variantu kontrola (b) v priebehu experimentu so semenáčikmi buka lesného (*Fagus sylvatica* [L.]

| Tab.2 a   | PV1                    |                         |                          |                         | PV2                   |                         |                          |                         | PV3                   |                        |                          |                         |
|---|------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-----------------------|------------------------|--------------------------|-------------------------|
| Termín  | Z                      | S                       | K                        | R                       | Z                     | S                       | K                        | R                       | Z                     | S                      | K                        | R                       |
| Ψ <sub>w</sub> [MPa]  | -0,43<br>±0,11<br>gh   | -0,87<br>±0,17<br>def   | -1,51<br>±0,19<br>a      | -1,42<br>±0,01<br>bc    | -0,52<br>±0,03<br>fgh | -0,95<br>±0,22<br>de    | -1,73ab<br>±0,21<br>ab   | -1,16<br>±0,04<br>cd    | -0,55<br>±0,11<br>h   | -0,70<br>±0,02<br>efg  | -1,52<br>±0,10<br>ab     | -1,12<br>±0,09<br>cd    |
| A [μmol.g <sup>-1</sup> .m <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> ] | 8,31<br>±0,64<br>de    | 6,73<br>±0,45<br>bcde   | 5,05<br>±0,77<br>ab      | 6,49<br>±0,48<br>bcde   | 7,54<br>±0,03<br>cde  | 6,74<br>±0,45<br>bcde   | 3,09<br>±0,96<br>a       | 6,10<br>±0,55<br>bcd    | 7,28<br>±0,61<br>bcde | 7,04<br>±0,64<br>bcde  | 3,69<br>±0,91<br>a       | 5,86<br>±0,98<br>bc     |
| g <sub>s</sub> [mmol.m <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> ]     | 0,15<br>±0,02<br>cdefg | 0,12<br>±0,01<br>abcdef | 0,07<br>±0,01<br>abc     | 0,09<br>±0,01<br>abcde  | 0,19<br>±0,03<br>gh   | 0,13<br>±0,02<br>bcdefg | 0,06<br>±0,02<br>a       | 0,10<br>±0,02<br>abcde  | 0,18<br>±0,03<br>fgh  | 0,14<br>±0,01<br>cdefg | 0,07<br>±0,02<br>ab      | 0,09<br>±0,01<br>abcd   |
| ABA [pmol.g <sup>-1</sup> .h.]                              | -                      | -                       | 4883,61<br>±1687,61<br>b | 3689,81<br>±532,68<br>b | -                     | -                       | 5583,61<br>±1837,61<br>b | 3787,61<br>±531,62<br>b | -                     | -                      | 5383,61<br>±1330,26<br>b | 3238,17<br>±527,43<br>b |

Tab.2 pokračovanie: Priemerné hodnoty meraných fyziologických parametrov u variantu sucho(a) a variantu kontrola (b) v priebehu experimentu so semenáčikmi buka lesného (*Fagus sylvatica* [L.]

| Tab.2 b  | PV1                  |                      |                      |                      | PV2                      |                          |                          |                       | PV3                   |                      |                        |                        |
|--|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|------------------------|------------------------|
| Termín   | Z                    | S                    | K                    | R                    | Z                        | S                        | K                        | R                     | Z                     | S                    | K                      | R                      |
| $\Psi_w$ [MPa]   | -0,42<br>±0,09<br>gh | -0,43<br>±0,39<br>gh | -0,46<br>±0,06<br>gh | -0,40<br>±0,06<br>gh | -0,20<br>±0,03<br>fgh    | -0,51<br>±0,01<br>fgh    | -0,53<br>±0,03<br>fgh    | -0,53<br>±0,01<br>fgh | -0,21<br>±0,05<br>h   | -0,29<br>±0,07<br>h  | -0,20<br>±0,06<br>h    | -0,26<br>±0,03<br>h    |
| A [ $\mu\text{mol.g}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ] | 7,68<br>±0,48<br>cde | 8,12<br>±0,49<br>cde | 8,14<br>±0,54<br>cde | 8,73<br>±1,08<br>e   | 7,21<br>±0,51<br>bcde    | 7,16<br>±0,41<br>bcde    | 7,38<br>±0,45<br>bcde    | 8,01<br>±0,91<br>cde  | 7,23<br>±0,53<br>bcde | 7,60<br>±0,61<br>cde | 7,12<br>±0,54<br>bcde  | 8,07<br>±0,22<br>cde   |
| $g_s$ [ $\text{mmol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ]            | 0,18<br>±0,02<br>fgh | 0,18<br>±0,01<br>ggh | 0,17<br>±0,02<br>fgh | 0,23<br>±0,01<br>h   | 0,12<br>±0,02<br>abcdefg | 0,12<br>±0,01<br>abcdefg | 0,12<br>±0,02<br>abcdefg | 0,17<br>±0,03<br>efgh | 0,18<br>±0,02<br>gh   | 0,18<br>±0,02<br>fgh | 0,15<br>±0,01<br>cdefg | 0,16<br>±0,01<br>defgh |
| ABA [ $\text{pmol.g}^{-1}.\text{h.}$ ]                   | -                    | -                    | 95,24<br>±12,92<br>a | 97,69<br>±12,92<br>a | -                        | -                        | 141,07<br>±16,97<br>a    | 140,00<br>±16,52<br>a | -                     | -                    | 152,91<br>±18,12<br>a  | 150,53<br>±17,23<br>a  |

Údaje zodpovedajú priemerným hodnotám ± smerodajná odchýlka. Rozdielne písmená nasledujúce indikujú významnosť rozdielov medzi provenienciami a variantmi sucho kontrola ( $p < 0.05$ ).

Tab.3: Priemerné hodnoty meraných fyziologických parametrov u variantu sucho(a) a variantu kontrola (b) v priebehu experimentu so semenáčikmi smreka obyčajného (*Picea abies* [L.] Karst.)

| Tab. 3a  | PV1                     |                         |                          |                         | PV2                     |                         |                          |                       |
|--|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-----------------------|
| termín   | Z                       | S                       | K                        | R                       | Z                       | S                       | K                        | R                     |
| $\Psi_w$ [MPa]   | -0,60<br>±0,02<br>c     | 0,95<br>±0,01<br>b      | -1,25<br>±0,11<br>a      | -0,65<br>±0,11<br>c     | -0,60<br>±0,02<br>c     | -0,63<br>±0,01<br>b     | -0,94<br>±0,16<br>b      | -0,68<br>±0,06<br>c   |
| A [ $\mu\text{mol.g}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ] | 7,16<br>±0,44<br>e      | 5,68<br>±0,53<br>bcd    | 1,45<br>±0,46<br>a       | 5,07<br>±0,49<br>b      | 6,91<br>±0,40<br>de     | 5,90<br>±0,52<br>bcde   | 2,66<br>±0,64<br>a       | 6,38<br>±0,40<br>bcde |
| $g_s$ [ $\text{mmol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ]            | 0,16<br>±0,01<br>c      | 0,13<br>±0,01<br>bc     | 0,02<br>±0,01<br>a       | 0,11<br>±0,01<br>b      | 0,15<br>±0,02<br>bc     | 0,14<br>±0,02<br>bc     | 0,05<br>±0,01<br>a       | 0,12<br>±0,01<br>b    |
| ABA [ $\text{pmol.g}^{-1}.\text{h.}$ ]                   | 665,00<br>±23,02<br>abc | 1207,17<br>±283,82<br>c | 5416,32<br>±1001,84<br>d | 606,10<br>±22,09<br>abc | 349,72<br>±55,73<br>abc | 946,09<br>±91,54<br>abc | 1177,68<br>±190,39<br>bc | 260,33<br>±13,23<br>a |

| Tab. 3b  | PV1                     |                         |                          |                         | PV2                     |                         |                          |                       |
|--|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-----------------------|
| termín   | Z                       | S                       | K                        | R                       | Z                       | S                       | K                        | R                     |
| $\Psi_w$ [MPa]   | -0,60<br>±0,02<br>c     | 0,95<br>±0,01<br>b      | -1,25<br>±0,11<br>a      | -0,65<br>±0,11<br>c     | -0,60<br>±0,02<br>c     | -0,63<br>±0,01<br>c     | -0,94<br>±0,16<br>b      | -0,68<br>±0,06<br>c   |
| A [ $\mu\text{mol.g}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ] | 7,16<br>±0,44<br>e      | 5,68<br>±0,53<br>bcd    | 1,45<br>±0,46<br>a       | 5,07<br>±0,49<br>b      | 6,91<br>±0,40<br>de     | 5,90<br>±0,52<br>bcde   | 2,66<br>±0,64<br>a       | 6,38<br>±0,40<br>bcde |
| $g_s$ [ $\text{mmol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ]            | 0,16<br>±0,01<br>c      | 0,13<br>±0,01<br>bc     | 0,02<br>±0,01<br>a       | 0,11<br>±0,01<br>b      | 0,15<br>±0,02<br>bc     | 0,14<br>±0,02<br>bc     | 0,05<br>±0,01<br>a       | 0,12<br>±0,01<br>b    |
| ABA [ $\text{pmol.g}^{-1}.\text{h.}$ ]                   | 665,00<br>±23,02<br>abc | 1207,17<br>±283,82<br>c | 5416,32<br>±1001,84<br>d | 606,10<br>±22,09<br>abc | 349,72<br>±55,73<br>abc | 946,09<br>±91,54<br>abc | 1177,68<br>±190,39<br>bc | 260,33<br>±13,23<br>a |

Údaje zodpovedajú priemerným hodnotám ± smerodajná odchýlka. Rozdielne písmená nasledujúce indikujú významnosť rozdielov medzi provenienciami a variantmi sucho kontrola ( $p < 0.05$ ).

## LITERATÚRA

- 1/ Dobrev, P.I., Vankova, P.: Quantification of Abscisic acid, Cytokinin and Auxin Content in Salt-Stressed Plant Tissues. Plant Salt Tolerance: Methods and Protocols. 2012, 432 s. ISBN 978-1-61779-985-3
- 2/ Farquhar, G. D., Sharkey, T. D.: Stomatal conductance and photosynthesis. Annual Reviews in Plant Physiology, 33, 1923: 317-345
- 3/ Fortunati, A., Barta, D.K., Brilli, F., Centritto, M., Zimmer, I., Schnitzler, J.P., Loreto, F.: Isoprene emission is not temperature-dependent during and after severe drought stress: a physiological and biochemical analysis. Plant Journal, 55, 2008: 687-697.

- /4/ Gallé, A., Haldimann, P., Feller, U.: Photosynthetic performance and water relations in young pubescent oak (*Quercus pubescens*) trees during drought stress and recovery. *New Phytologist*, 174, 2007: 799-810
- /5/ Gallé, A., Florez-Sarasa, I., El Aououad, H., Flexas, J.: The Mediterranean evergreen *Quercus ilex* and the semi-deciduous *Cistus albidus* differ in their leaf gas exchange regulation and acclimation to repeated drought and re-watering cycles. *Journal of Experimental Botany*, 62, 2011: 5207-5216.
- /6/ Hsiao, T.C., Xu, L.K.: Sensitivity of growth of roots versus leaves to water stress: biophysical analysis and relation to water transport. *Journal of Experimental Botany*, 51, 2000: 363-381
- /7/ Izanloo, A., Condon, A.G., Langridge, P., Tester, M., Schnurbusch, T.: Different mechanisms of adaptation to cyclic water stress in two South Australian bread wheat cultivars. *Journal of Experimental Botany*, 59, 2008: 3327-3346.
- /8/ Peuke, A.D., Schraml, C., Hartung, W., Rennenberg, H.: Identification of drought-sensitive beech ecotypes by physiological parameters. *New Phytologist*, 154, 2002: 373-387
- /9/ Rose, L., Leuschner, Ch., Köckemann, B., Buschmann, H.: Are marginal beech (*Fagus sylvatica* L.) provenances a source for drought tolerant ecotypes? *European Journal of Forest Research*, 128, 2009: 335-343.
- /10/ Slugeňová, K., Ditmarová, L., Kurjak, D., Váľka, J. : Drought and aluminium as stress factors in Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst) seedlings. *Journal of Forest Science*, 57, 2011: 547-554.

### Pod'akovanie

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory projektov APVV-0436-10, APVV-0135-12, APVV-0480-12 a VEGA-0034-14.



**ANTIOXIDAČNÁ ODOZVA KULTIVAROV DYNE ČERVENEJ  
(*CITRULLUS LANATUS* (THUNB.) MATSUM. & NAKAI) S ODLIŠNOU  
INTENZITOU RASTU NA PÔDNE ZASOLENIE**

***ANTIOXIDANT RESPONSE OF WATERMELON (*CITRULLUS LANATUS* (THUNB.)  
MATSUM. & NAKAI) CULTIVARS DIFFERING IN GROWTH VIGOUR TO SOIL SALINITY***

Peter Ferus

Arborétum Mlyňany, Ústav ekológie lesa SAV, Vieska nad Žitavou 178, 95152 Slepčany,  
tel. +421 37 633 4211, e-mail: peter.ferus@savba.sk

***Summary***

Watermelon cultivation areas in Slovakia as well as worldwide are often affected by soil salinity. Therefore, salinity tolerance of two watermelon cultivars differing in growth vigour was tested in a pot experiment. Plants of less vigorous cultivar Sugar Baby (SB) watered throughout the vegetation period by diluted sea-like water of  $1 \text{ mS.cm}^{-1}$  conductivity produced ca. 550 g fruits and those from very vigorous Crimson Sweet (CS) only ca. 140 g yield. Application of  $8 \text{ mS.cm}^{-1}$  sea-like water caused 65% loss of yield in both genotypes. Enhanced salt stress sensitivity in CS can be associated with lower capacity of the antioxidant defence, expressed by stagnation of total antioxidant activity, slight decrease of reduced ascorbate concentration - as compared 1 and  $8 \text{ mS.cm}^{-1}$  treatment, as well as by overall lower phenols level. Thus, less vigorous cultivar SB can be taken as more suitable for cultivation in saline conditions.

*Key words: watermelon, growth vigour, soil salinity, antioxidant defence, productivity*

***Súhrn***

Pestovateľské plochy dyne červenej na Slovensku ale aj inde vo svete sú často postihnuté pôdnou zasolenosťou. Z tohto dôvodu sme v rámci nádobového pokusu testovali toleranciu voči soľnému stresu u dvoch genotypov líšiacich sa intenzitou rastu. Rastliny málo vzrastného kultivaru Sugar Baby (SB) počas celej vegetácie zalievané zriedenou morskou vodou o vodivosti  $1 \text{ mS.cm}^{-1}$  priniesli úrodu ca. 550 g a rastliny veľmi vzrastného kultivaru Crimson Sweet (CS) len ca. 140 g. Závlaha vodou o vodivosti  $8 \text{ mS.cm}^{-1}$  spôsobila zníženie produkcie o 65%. Zvýšenú citlivosť kultivaru CS voči soľnému stresu je možné spájať s menšou kapacitou antioxidačnej ochrany, ktorá sa prejavila stagnáciou celkovej antioxidačnej aktivity, miernym poklesom koncentrácie redukovanej formy askorbátu u rastlín zavlažovaných vodou s vodivosťou 8 oproti tým, ktoré boli zavlažované vodou o vodivosti  $1 \text{ mS.cm}^{-1}$  ako aj celkovo nižšou hladinou fenolických látok. Použitie menej vzrastného kultivaru SB v podmienkach pôdneho zasolenie sa teda javí ako vhodnejšie.

*Kľúčové slová: dyňa červená, intenzita rastu, pôdna zasolenosť, antioxidačná obrana rastliny, produktivita*

**ÚVOD**

Napriek poklesu pestovateľských plôch v tradičných oblastiach južného Slovenska /1/, je dyňa červená u nás stále veľmi obľúbenou letnou zeleninou s vysokým obsahom nutrične hodnotných látok a fytochemikálií /2/, ktoré človeku pomáhajú vysporiadať sa s množstvom civilizovaných ochorení /3/.

Mnoho lokalít s vhodnými klimatickými pomermi na Slovensku a vo svete je však postihnutých pôdnou zasolenosťou, ktorá je pre pestované kultúry zdrojom osmotického ako aj

sodného stresu /4/. Na druhej strane, v literatúre sa popisuje množstvo príkladov, kedy soľný stres napriek miernemu poklesu úrody, dramaticky zvýšil nutričnú a antioxidačnú hodnotu viacerých druhov ovocia a zeleniny /napr. 5-7/.

Z tohto dôvodu sme sa v našej práci zamerali na testovanie tolerancie kultivarov dyne líšiacich sa intenzitou rastu ku soľnému stresu, s dôrazom na ich antioxidačnú ochranu. Pri voľbe genotypov sme vychádzali s odlišnej fytohormonálnej bilancie regulujúcej rast ale aj odozvu na stres.

## MATERIÁL A METÓDY

### Podmienky kultivácie a pokusný zásah

Priesady dyne červenej (*Citullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai) menej vzrastného kultivaru Sugar Baby a veľmi vzrastného kultivaru Crimson Sweet (Semo, ČR) so 4 pravými listami boli v agrotechnickom termíne presadené do 25 l nádob s pôdnym substrátom (ornica hnedozeme - pH neutrálna, humózna, nezasolená, s nízkym obsahom N a stredným obsahom P) obohateným 15 g NPK hnojiva (15-10-10). Po týždni kultivácie rastlín sme začali so zavlažovaním zriedenou morskou vodou o vodivosti 1 resp. 8 mS.cm<sup>-1</sup> (Hanna Instruments Corp., Nemecko), ktorú sme pripravili zo zásobného roztoku zodpovedajúcemu 20% morskej vode z Tyrhénskeho mora (spolupráca s Univerzitou v Pise, Taliansko; Tabuľka 1). Frekvencia závlahy (1 l na nádobu) sa odvíjala od potreby rastlín zalievaných vodou o vodivosti 1 mS.cm<sup>-1</sup>. Keď plody dosiahli zrelosť (najbližší stonkový úponok suchý), realizoval sa odber príslušných listov na analýzu koncentrácie peroxidu vodíka, redukovanej formy askorbátu, celkových fenolických látok ako aj celkovej antioxidačnej aktivity hydrofilnej fázy. Súčasne bola zhodnotená produkcia plodov a nadzemnej vegetatívnej časti rastliny. Experiment sa realizoval vo fóliovníku Botanickéj záhrady SPU Nitra.

Tab. 1: pH, vodivosť a minerálne zloženie pripravovaného zásobného roztoku morskej vody.

| pH   | vodivosť<br>(mS.cm <sup>-1</sup> ) | mg.l <sup>-1</sup> |                |                  |                  |                 |                 |                              |                               |                               |
|------|------------------------------------|--------------------|----------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|      |                                    | Na <sup>+</sup>    | K <sup>+</sup> | Ca <sup>2+</sup> | Mg <sup>2+</sup> | Cl <sup>-</sup> | Br <sup>-</sup> | NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> |
| 7.07 | 13.66                              | 2310               | 100            | 170              | 290              | 4290            | 18              | 6                            | 428                           | 250                           |

### Kolorimetrické analýzy antioxidačných parametrov

Produkcia peroxidu vodíka v listoch bola sledovaná pomocou metodiky Mukherjee, Choudhuri /8/ postavenej na jeho kryštalizácii so sulfoxidom titaničitým v zásaditom prostredí amoniaku. Koncentráciu redukovanej formy askorbátu sme stanovili podľa metodiky Sgherri et al. /9/, založenej na reakcii s chloridom železitým za prítomnosti batofenantrolínu. Celkové fenolické látky boli analyzované podľa postupu Nguyen a Niemeyer /10/ na báze reakcie s Folin-Ciocalteu reagensiou. K stanoveniu celkovej antioxidačnej aktivity sme použili metodiku Pellegrini et al. /11/, založenú na redukcii radikálu diamóniovej soli kyseliny 2,2'azinobis 3-etylénbenzotiazolín-6-sulfónovej (ABTS<sup>+</sup>).

### Štatistická analýza

Metabolické a produkčné dáta (n=3) boli podrobené analýze rozptylu (ANOVA) pomocou aplikácie Statgraphics Plus v. 4.1 (LSD-test, α=0,05).

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Zvýšená koncentrácia solí v pôde síce nevedla k zníženiu počtu plodov na rastlinu (Tab. 2), ale významne zredukovala hmotnosť nasadených plodov (o približne 65%). Kultivar Sugar Baby vyprodukoval pri závlahy zriedenou morskou vodou o vodivosti 1 mS.cm<sup>-1</sup> o štvrtinu menej sušiny

nadzemnej vegetatívnej biomasy ako kultivar Crimson Sweet a vyššia koncentrácia solí v závlahovej vode viedla k 45 resp. 35% zníženiu jej tvorby.

Tab. 2: Produkčné parametre dyne červenej zavlažovanej zriedenou morskou vodou. U hmotnostných ukazovateľov uvádzame priemerné hodnoty s indikáciou štatistickej odlišnosti na hladine významnosti  $\alpha=0,05$ . Vysvetlivky: SB – Sugar Baby, CS – Crimson Sweet.

| Kultivar | Vodivosť závlahovej vody (mS.cm <sup>-1</sup> ) | Počet plodov | Hmotnosť plodov (g) | Hmotnosť sušiny nadzem. veg. biomasy (g) |
|----------|---|--------------|---------------------|--|
| SB       | 1   | 2            | 556,95 c            | 31,28 b                                  |
|          | 8   | 2            | 201,20 b            | 17,07 a                                  |
| CS       | 1   | 1            | 136,05 ab           | 43,46 c                                  |
|          | 8   | 1            | 46,25 a             | 28,65 b                                  |

V listoch rastlín kultivaru Sugar Baby sa pri závlaha vodou o vodivosti 1 mS.cm<sup>-1</sup> tvorilo v priemere asi 295  $\mu\text{g}$  peroxidu vodíka na g ČH a pri závlaha vodou o vodivosti 8 mS.cm<sup>-1</sup> polovičné množstvo (Tab. 3). Naopak, následkom zvýšenia koncentrácie solí v závlahovej vode došlo u kultivaru Crimson Sweet k 5-násobnému nárastu jeho produkcie (na ca. 192  $\mu\text{g.g}^{-1}$  ČH). Pritom celková antioxidačná aktivita listov kultivaru Sugar Baby vzrástla pri závlaha koncentrovanejšou morskou vodou o 40%, no u kultivaru Crimson Sweet zostala na úrovni 190 nmol TEAC.g<sup>-1</sup> ČH. Podobne, koncentrácia redukovanej formy askorbátu stúpla u kultivaru Sugar Baby o 50% a u kultivaru Crimson Sweet bol zaznamenaný o 20% pokles. Obsah fenolických látok v listoch oboch kultivarov sa následkom zvýšeného zasolenia pôdy štatisticky nemenil, hoci genotypové rozdiely boli markantné (ca. 5500 u SB a ca. 3000  $\mu\text{g.g}^{-1}$  ČH u CS).

Tab. 3: Antioxidačné ukazovatele listov dyne červenej po celovegetačnej aplikácii zriedenej morskej vody vo forme závlahy. V tabuľke uvádzame priemerné hodnoty s indikáciou štatistickej odlišnosti na hladine významnosti  $\alpha=0,05$ . Vysvetlivky: SB – Sugar Baby, CS – Crimson Sweet, TEAC – Trolox equivalent antioxidant activity.

| Kultivar | Vodivosť závlahovej vody (mS.cm <sup>-1</sup> ) | Koncentrácia peroxidu vodíka ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ČH) | Celková antioxidačná aktivita (nmol TEAC.g <sup>-1</sup> ČH) | Koncentrácia redukovanej formy askorbátu ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ ČH) | Koncentrácia fenolických látok ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ČH) |
|----------|---|---|--|---|---|
| SB       | 1   | 294,88 c  | 183,15 a   | 2,17 a  | 5523,8 b  |
|          | 8   | 153,83 b  | 255,34 b   | 3,26 b  | 5629,2 b  |
| CS       | 1   | 36,93 a   | 185,95 a   | 2,48 ab   | 3389,7 a  |
|          | 8   | 191,52 b  | 190,75 a   | 2,08 a  | 2827,7 a  |

K podobným výsledkom dospeli Han et al. /12/, ktorí študovali toleranciu dvoch genotypov dyne červenej voči soľnému stresu v hydroponických podmienkach. Tolerantnejší z nich, Xiuya, vykazoval nielen menšiu redukciu vegetatívneho rastu ale aj produkciu superoxidového radikálu a poškodenie bunkových membrán. Okrem toho, u tohto kultivaru boli zistené vyššie koncentrácie askorbátu a osmoprotektívnych substancií ako aj aktivity antioxidačných enzýmov POD, CAT

a APX. Goreta et al. /13/ pozorovali s rostúcou vodivosťou živného média pokles sušiny nadzemnej časti rastliny u neštepenej dyne, no pri aktivite SOD nezaznamenali žiadnu preukaznú zmenu. Práca Colla et al. /14/ popisuje účinky solného stresu na produkciu a kvalitu plodov dyne červenej. Hmotnosť plodov bola vplyvom zvýšenej koncentrácie solí v hydroponickom roztoku (vodivosť 5,2 oproti 2 mS.cm<sup>-1</sup>) nižšia o 20%. Huang et al. /15/ pozorovali okrem negatívneho efektu solného stresu na hmotnosť plodov aj negatívny účinok na ich počet.

Naše výsledky poukazujú na zvýšenú citlivosť veľmi vzrastného kultivaru Crimson Sweet voči pôdnemu zasoleniu, kedy už závlahová voda o vodivosti 1 mS.cm<sup>-1</sup> značne znižuje hmotnosť plodov. Na druhej strane, vegetatívny rast je u tohto kultivaru v porovnaní so Sugar Baby stabilnejší. Menšiu úrodu plodov Crimson Sweet v týchto podmienkach je možné spájať s menšou kapacitou antioxidantnej ochrany, ktorá sa prejavila stagnáciou celkovej antioxidantnej aktivity, miernym poklesom koncentrácie redukovanej formy askorbátu ako aj nižšou hladinou fenolických látok. Použitie menej vzrastného kultivaru Sugar Baby v podmienkach pôdneho zasolenie sa teda javí ako vhodnejšie.

## LITERATÚRA

- /1/ Kóňa, J., Ďurovka, M., Tancík, J.: Tekvicovité zeleniny. Garmond: Nitra, 2007, 148 s. ISBN 978-80-89148-36-3
- /2/ Tlili, I., Hdider, C., Lenucci, M.S., Ilahy, R., Jebari, H., Dalessandro, G.: Bioactive compounds and antioxidant activities during fruit ripening of watermelon cultivars. J. Food Composit. Anal. 24, 2011: 923-928.
- /3/ Halliwell, B., Gutteridge, J.C.M.: Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, 2007, 704 p. ISBN 978-0198568698
- /4/ Munns, R., Tester, M.: Mechanisms of salinity tolerance. Annu. Rev. Plant Biol. 59, 2008: 651-681.
- /5/ Borghesi, E., González-Miret, M.L., Escuredo-Gilete, M.L., Malorgio, F., Heredia, F.J., Meléndez-Martínez, A.J.: Effects of salinity stress on carotenoids, anthocyanins, and color of diverse tomato genotypes. J. Agric. Food Chem. 59(21), 2011: 11676–11682.
- /6/ Keutgen, A., Pawelzik, E.: Modifications of strawberry fruit antioxidant pools and fruit quality under nacl stress. J. Agric. Food Chem. 55(10), 2007: 4066–4072.
- /7/ Navarro, J.M., Flores, P., Garrido, C., Martinez, V.: Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. Food Chem. 96, 2006: 66–73.
- /8/ Mukherjee S.P., Choudhuri M.A.: Implications of water stress-induced changes in the level of endogenous ascorbic acid and hydrogen peroxide in Vigna seedlings. Physiol. Plant. 58, 1983: 166-170.
- /9/ Sgherri, C. L. M., Navari-Izzo, F.: Sunflower seedlings subjected to increasing water deficit stress: oxidative stress and defense mechanisms. Physiol. Plant. 93, 1995: 25–30.
- /10/ Nguyen P.M., Niemeyer E.D.: Effects of nitrogen fertilization on the phenolic composition and antioxidant properties of basil (*Ocimum basilicum* L.). J. Agric. Chem. 56, 2008: 8685-8691.
- /11/ Pellegrini N., Re R., Min Yang, Rice-Evans C.: Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'azinobis (3-ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic) acid radical cation decolorization assay. Methods Enzym. 299, 1999: 379-389.
- /12/ Han, Z.P., Guo, S.R., You, X.N., Sun, J., Duan, J.J.: Metabolism of reactive oxygen species and contents of osmotic substances in watermelon seedlings under salinity stress. Xibei Zhiwu Xuebao 30, 2010: 2210-2218.
- /13/ Goreta, S., Bucevic-Popovic, V., Vuletin Selak, G., Pavela-Vrancic, M., Perica, S.: Vegetative growth, superoxide dismutase activity and ion concentration of salt-stressed watermelon as influenced by rootstock. J. Agric. Sci. 146, 2008: 695-704.
- /14/ Colla, G., Roupahel, Y., Cardarelli, M., Rea, E.: Effect of salinity on yield, fruit quality, leaf gas exchange, and mineral composition of grafted watermelon plants. HortSci. 41, 2006: 622-627.
- /15/ Huang, Y., Tang, R., Cao, Q., Bie, Z.: Improving the fruit yield and quality of cucumber by grafting onto the salt tolerant rootstock under NaCl stress. Sci. Hort. 122, 2009: 26-31.

## Pod'akovanie

Táto práca vznikla s podporou bilaterálneho vedecko-technického projektu SK-IT-0018-08.

## VLIV APLIKACE ATONIKU A NÍZKÉ TEPLoty NA OBSAH PROLINU A REL% U PAPRIKY ROČNÍ

### *EFFECT OF APPLICATION OF ATONIK AND LOW TEMPERATURES TO CONTENT OF PROLINE AND REL% BY PEPPER PLANT*

František Hnilička, Monika Nosálková, Helena Hniličková, Kamil Kraus  
Česká zemědělská univerzita v Praze, FAPPZ, katedra botaniky a fyziologie rostlin, Kamýcká 129, Praha 6  
- Suchdol, 165 00, hnilicka@af.czu.cz

#### *Summary*

Three varieties were chosen for the experiment: Amy, Eva and Lydia. Plants were divided into a control group and a treatment group. Both groups were further divided into two additional groups – with and without the application of Atonic in the beginning of vegetative growth (6th day of exposure to stress). Control group plants were grown at 20 °C and stressed plants were moved into a klimabox with temperature of 5 °C throughout the entire day. Proline content in leaves of *Capsicum annuum* and a relative discharge of electrolyte was studied in two-day intervals. From the obtained results it can be concluded that the accumulation of proline was the highest for Lydia variety in a stressed scenario with the application of Atonic and the lowest proline content was found in the Amy variety in a control group. Furthermore, it was discovered that the ontogeny of plants has an effect on the accumulation of proline and relative discharge of electrolyte from the beginning of measurement. The absolute highest electrolyte discharge was measured in the Lydia variety in a stressed scenario and the lowest one was present in the Amy variety in a control

*Key words: Capsicum annuum, low temperature, Atonic, proline, Rel%, sweet pepper*

#### *Souhrn*

U tří odrůd papriky roční byl sledován vliv nízké teploty a aplikace Atoniku na obsah prolinu a relativní výtok elektrolytu. Odrůdy papriky roční Amy, Eva a Lydia byly pěstovány v řízených podmínkách při teplotě 20 °C a při 5 °C. Obě skupiny rostlin byly pěstovány s/bez aplikace přípravku Atonic. Ze získaných výsledků lze konstatovat, že akumulace prolinu byla nejvyšší u odrůdy Lydia ve stresované variantě s použitím přípravku Atonic a nejnižší obsah prolinu byl sledován u odrůdy Amy v kontrolní variantě. Dále bylo zjištěno, že ontogenetický vývoj rostliny má vliv na akumulaci prolinu a relativní výtok elektrolytu od počátku měření. Nejvyšší relativní výtok elektrolytu byl naměřen u odrůdy Lydia ve stresované variantě a nejnižší relativní výtok elektrolytu byl sledován u odrůdy Amy v kontrolní variantě.

*Klíčová slova: paprika roční, nízká teplota, Atonic, prolin, relative electrolyte leakage (REL%)*

## ÚVOD

Paprika roční patří do čeledi lilkovité (Solanaceae) a v podmínkách České republiky patří primárně mezi jednoleté rostliny. Od roku 1940 se začala pěstovat na jižní Moravě na ploše 800 ha a významné rozšíření nastalo po druhé světové válce. V současné době se v ČR pěstuje na ploše 333 ha. Paprika roční je plodinou teplomilnější, proto se pěstuje v teplejších oblastech ČR a na polní stanoviště se vysazuje až v druhé polovině května, v krytých prostorách v první polovině března, neboť citlivě reaguje na působení nízkých teplot /8/.

Nízká teplota má vliv na pěstování polních plodin, které jsou vlivem chladu či mrazu velmi ovlivňovány. Je patrný negativní vliv na výnos, produkci a jsou narušeny fyziologické a biochemické pochody v buňkách, které se projevují následně na rostlinách (vadnutí, změna barvy atd.) /5, 6/.

V případě rostlin papriky seté hovoříme o poškození chladem. Poškození chladem je způsobeno teplotami nad bodem mrazu až do 9 i 15 °C a primárně jsou narušeny fyzikálně chemické vlastnosti soustavy buněčných membrán, které jsou nezbytné pro základní životní funkce rostliny. Rostliny reagují na tento stresor různými obrannými mechanismy, mezi které patří primární molekulární a fyziologické změny v membráně /11/. Dalšími obrannými mechanismy je syntéza bílkovin a cukrů, hromadí se prolin a dochází k biochemickým změnám. Dochází ke zvýšení koncentrace nenasyčených mastných kyselin a tvoří se fytohormony, především kyselina abscisová – ABA. Další důležitou ochranou jsou specifické proteiny, jež se nazývají AFPs, neboli antifreeze proteins /12/.

Vedle správné agrotechniky a výběru vhodných odrůd je možné využít tzv. antistresové látky, které by měly snížit negativní vliv stresoru. Jedná se především o regulátory růstu, např. brassinosteroidy, kyselinu jasmonovou či komerčně dodávané přípravky – např. Atonic.

Cílem práce bylo sledování vlivu nízké teploty na fyziologické reakce souboru genotypů papriky roční a vliv antistresové látky Atonic, která byla aplikována v 6. dnu působení stresu.

## MATERIÁL A METODY

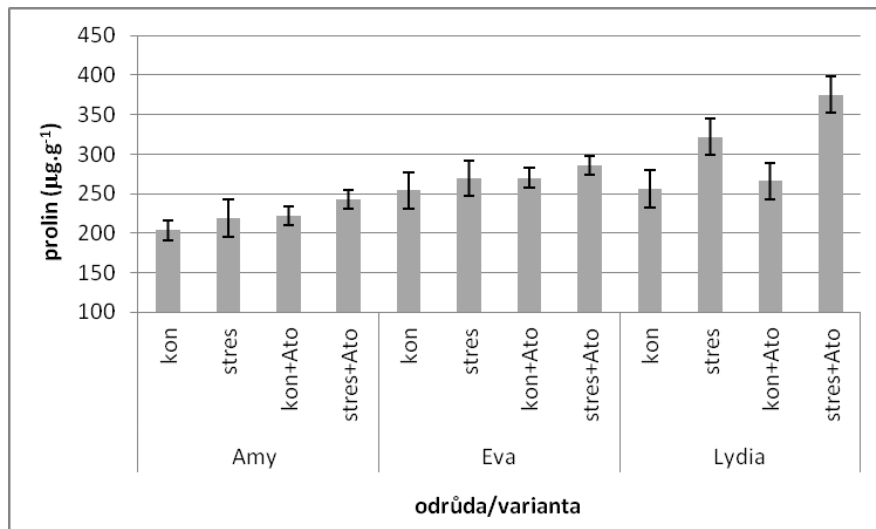
Pro pokus byly vybrány tři odrůdy papriky roční: Amy, Eva a Lydia. Rostliny ve fázi 8. listu byly rozděleny do dvou základních variant na kontrolní rostliny a stresované. Dále byla každá z těchto variant ještě rozdělena na rostliny bez aplikace Atonicu a rostliny s aplikací Atonicu na počátku vegetativního růstu (6. den působení stresu). Kontrolní rostliny byly pěstovány při teplotách 20 °C ve dne a 15 °C a stresované rostliny byly přesunuty do klimaboxu s teplotou 5 °C přes noc a přes den 15 °C. Tato teplota se může vyskytnout po začátku vysazení paprik na venkovní stanoviště. Ve dvoudenních intervalech byl sledován obsah prolinu v listech papriky roční na základě metody /1/ a relativní výtok elektrolytu podle metody dle /2/. Pro statistické vyhodnocení dat byl použit program STATISTICA 12. Pro statistické zpracování dat byla použita Analýza rozptylu (ANOVA, metoda nejmenších čtverců). Data byla testována při hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Nejnižší obsah prolinu byl u všech odrůd zjištěn v kontrolní variantě za normálních podmínek bez působení stresu (teplota 5 °C), jak dokládá graf 1. U odrůdy Amy bylo naměřeno 204  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , u Evy 254  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  a u Lydie 256  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Nejvyšší obsah prolinu byl u všech odrůd naměřen ve stresované variantě (teplota 5 °C) s použitím přípravku Atonic. U odrůdy Amy bylo naměřeno 243  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , u Evy 286  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  a u Lydie 375  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Uvedený závěr, že obsah prolinu se zvyšuje u rostlin ovlivněných stresem, ve své práci také uvádí např. /4/. Podobné zjištění ve svém článku uvádí i /9/, kteří popisují vliv nízké teploty na brukev a udává, že hromadění prolinu bylo vyšší při působení nízké teploty. Z výsledků /10/ vyplývá, že se prolin hromadí u mnoha druhů rostlin jako reakce na stres abiotický i biotický, tedy i stres způsobený nízkou či vysokou teplotou. Tento závěr byl potvrzen také u rostlin paprik ovlivněných nízkou teplotou.

Byl také prokázán vliv genotypu na obsah prolinu, neboť nejnižší průměrný obsah prolinu vykazuje odrůda Amy a naopak nejvyšší odrůda Lydia. Z výsledků např. /4, 9/ vyplývá, že obsah prolinu je ovlivněn genetickým základem rostlin. /4/ uvádí rozdíl v obsahu prolinu v listech i stoncích papriky roční u dvou zkoumaných odrůd.

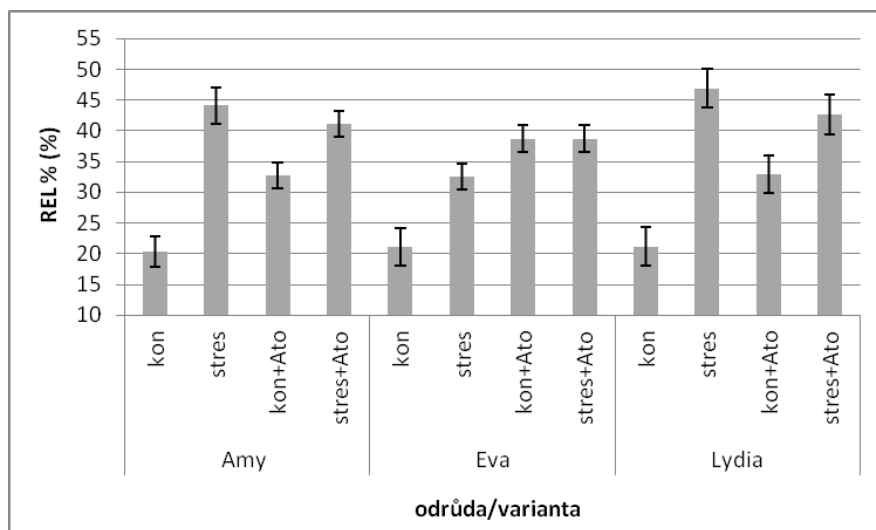
Byl prokázán vliv antistresové látky na obsah prolinu u jednotlivých odrůd papriky roční v kontrolní i stresované variantě. U odrůdy Amy v kontrolní variantě došlo ke zvýšení obsahu prolinu o 9 %, u Evy došlo ke zvýšení o 6 % a u Lydie o 4 %. Ve stresované variantě došlo u Amy ke zvýšení o 11 %, u Evy o 6 % a u Lydie o 16 %. /9/ uvádí, že při použití epibrasinolidu došlo k významnému zvýšení obsahu prolinu u odrůd, které byly vystaveny nízké teplotě.



Obr. 1: Obsah prolinu ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) v listech papriky roční v závislosti na variantě pokusu

Nejnižší relativní výtok elektrolytu byl u všech odrůd naměřen v kontrolní variantě bez použití přípravku Atonic, jak dokumentuje obr. 2. Amy – 20,4 %, Eva – 21,1 % a Lydia – 21,2 %. Je zřejmé, že jsou tyto nejnižší hodnoty u všech odrůd velmi podobné. Nejvyšší relativní výtok elektrolytu byl u odrůd Amy a Lydia naměřen u varianty stresované (teplota 5 °C) bez použití přípravku Atonic. U genotypu Eva byl nejvyšší relativní výtok elektrolytu stanoven u variant kontrolní s použitím přípravku Atonic a stresované s použitím přípravku Atonic. Amy – 44,1 %, Eva – 38,7 % a Lydia – 46,9 %.

/13/ se zabývali změnou v propustnosti membrány pomocí měření relativního výtoku elektrolytu. Z jejich výsledků vyplývá, že se relativní výtok elektrolytu od počátku měření do dalších měření zvyšuje. Uvedený závěr potvrzují získané výsledky vlivu nízké teploty a aplikace antistresové látky na rostliny papriky.



Obr. 2: Relativní výtok elektrolytu (%) z listů papriky roční v závislosti na variantě pokusu

/7/ uvádí, že relativní výtok elektrolytu byl vyšší při působení nízkých teplot. Dále potvrzují, že se relativní výtok elektrolytu zvyšuje s postupným měřením u kontrolní varianty i u varianty ošetřené /7/. Zjištěné výsledky potvrzují, že relativní výtok elektrolytu byl vyšší při působení nízkých teplot u neošetřených variant. U ošetřených variant byl také zjištěn vyšší relativní výtok elektrolytu u rostlin, které byly vystaveny stresu, výjimkou je odrůda Eva, kde jsou výsledky

shodné. Výsledky /13/ naznačují, že účinnost postřiku a působení nízké teploty se více projevuje až po 20 dnech. Poté se relativní výtok elektrolytu začíná rovnat kontrolní variantě. Výsledky se shodují s výsledky Wanga a kol (2012), že vliv nízké teploty a postřiku je méně patrný ze začátku doby měření.

Vliv genotypu na relativní výtok elektrolytu nebyl jednoznačně prokázán, jelikož průměrný relativní výtok elektrolytu se u všech odrůd pohybuje v rozmezí od 33 % (Eva) do 36 % (Lydia).

Při použití antistresové látky Atonic v kontrolní variantě došlo ke zvýšení relativního výtoku elektrolytu u všech odrůd. U odrůdy Amy došlo ke zvýšení o 12,3 %, u odrůdy Eva bylo naměřeno zvýšení o 17,6 % a u odrůdy Lydia bylo patrné zvýšení o 11,7 %. Ve stresované variantě se výsledky neliší tak výrazně, jako ve variantě kontrolní. U odrůd Amy a Lydia došlo ke snížení relativního výtoku elektrolytu po použití přípravku Atonic. U Amy došlo ke snížení o 3 % a u Lydie o 4 %. U odrůdy Eva došlo ke zvýšení o 6 %. Z výsledků /7/ vyplývá, že rostliny ošetřené spermidinem ve stresové situaci měly nižší relativní výtok elektrolytů ve srovnání s kontrolou, membrána tedy byla méně poškozena. /3/ se zabývali vlivem 24-epibrassinolidu na relativní výtok elektrolytu při stresu způsobeném NaCl.

## LITERATURA

- /1/ Bates, L., Waldren, R., P., Teare, I., D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
- /2/ Campos J., Huertas, F., Colado, J., C., López, A., L., Pablos, A., Pablos, C. 2003. Efectos de un programa de ejercicio físico sobre el bienestar psicológico de mujeres mayores de 55 años. *Revista de Psicología del Deporte*, Valencia. 7-26 s.
- /3/ Houimli, S., I., M., Denden, M., Mouhandes, B., D. 2010. Effects of 24-epibrassinolide on growth, chlorophyll, electrolyte leakage and proline by pepper plants under NaCl-stress. *EurAsian Journal of BioSciences*, Tunisia, 96 – 104 s.
- /4/ Koc, E., Islek, C., Ustun, A., S. 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum L.*) varieties. *G.U. Journal of Science*, Ankara, 6 s.
- /5/ Kůdela, V., Ackermann, P., Prášil, I. T., Rod, J., Veverka, K. 2013. Abiotikózy rostlin: poruchy, poškození a poranění. *Academia*, Praha, 566 s. ISBN 978-80-200-2262-2.
- /6/ Larcher, W. 1988. *Fyziologická ekologie rostlin*. Československé akademie věd, Praha, 368 s.
- /7/ Liu, D., Sui, G., He, Y., Liu, J., Qin, W. 2013. Effect of ice – temperature and spermidine on chilling sensitivity of pepper. *Food and nutrition sciences*. 156-162 s.
- /8/ Pekárková, E. 2001. *Pěstujeme rajčata, papriky a další plodové zeleniny*. 1. vyd., Grada Publishing, Praha 72 s. ISBN 80-247-0170-7.
- /9/ Pradhan, S., K., Gupta, R., C., Kumar, M. 2013. Effect of 24-Epibrassinolide on lipid peroxidation and proline in three Brassica species under temperature stress. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 9 (3).
- /10/ Szabados, L., Savoure, A. 2010. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in plant science*, 15 (2): 89-97.
- /11/ Theocharis, A., Clément, Ch., Barka, E., A. 2012. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperatures. *Planta*, France, 15 s.
- /12/ Vítámvás, P., Kosová, K., Prášil, I. T. 2007. Proteome analysis in plant stress research. *Czech journal of genetics and plant breeding*, Praha, 6s.
- /13/ Wang, Q., Ding, T., Gao, L., Pang, J., Yang, N. 2012. Effect of brassinolide on chilling injury of green bell pepper in storage. *Scientia Horticulturae*, China, 195 – 200 s.

## Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory S grantu MŠMT.



## Postery

## **VLIV APLIKACE BIOEFEKTORŮ NA RŮST, ODBĚR ŽIVIN, VÝNOS A PROCENTO SUŠINY U KUKUŘICE V NÁDOBOVÝCH A POLNÍCH PODMÍNKÁCH**

### ***INFLUENCE OF BIOEFFECTORS APPLICATION ON THE GROWTH, NUTRIENT UPTAKE, YIELD AND DRY MASS PERCENTAGE IN MAIZE IN POT AND FIELD CONDITIONS***

Zlata Holečková, Markéta Drešlová, Martin Kulhánek

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

#### ***Summary***

Applications of bioeffectors should improve the mobilization of nutrients from less accessible forms in soil, plant growth and contribute to the development of mycorrhiza. Consequently, the application should therefore lead to a better plant growth and higher yields. Aim of this research was influence of bioeffectors application on growth of plants, yield, dry mass and on amount of available nutrients from soil. Influence of bioeffectors was tested both in pot and field experiments with maize (*Zea mays* L., var. Colisee). Pot experiment was conducted on cambisol from Lukavec site and field experiment was conducted at Lukavec site. Three bioeffectors (Trianum P, Proradix, RhizoVital) have been tested in combination with two phosphorus fertilizers. Actual results of pot and field experiments do not show significant positive effect of application of bioeffectors on plant growth, dry mass or better availability of nutrients from less accessible forms in soil.

*Key words: bioeffector, Zea mays, soil, growth, yield, dry matter, nutrient uptake.*

#### ***Souhrn***

Aplikace bioefektorů by měla zlepšit mobilizaci živin z hůře přístupných forem v půdě, růst rostlin a podpořit rozvoj mykorhizy. V důsledku toho, by mělo dojít k lepšímu růstu rostlin a vyšším výnosům. Cílem tohoto výzkumu bylo zjištění vlivu aplikace bioefektorů na růst rostlin, výnos, sušinu a množství dostupných živin z půdy. Vliv bioefektorů byl testován v nádobových a polních experimentech s kukuřicí (odráda Colisee). Nádobový pokus byl realizován na kambizemi ze stanoviště v Lukavci a polní pokus byl realizován přímo na stanovišti v Lukavci. V pokusech byly testovány tři bioefektory (Trianum P, Proradix, RhizoVital) v kombinaci se dvěma P-hnojivem. Aktuální výsledky nádobových a polních experimentů neukazují průkazný pozitivní vliv aplikace bioefektorů na růst rostlin, sušinu nebo lepší dostupnost živin z hůře přístupných forem v půdě.

*Klíčová slova: bioeffektor, kukuřice, půda, růst, výnos, sušina, odběr živin.*

## **ÚVOD**

Odolnost Dnešní společnost je závislá na anorganických sloučeninách živin (hnojiva a krmiva) a vyčerpává tak omezené světové zásoby ložisek minerálů potřebných k výrobě hnojiv. Z těchto důvodů je potřeba vyvinout více udržitelné mechanismy, které udržují dostupnost živin pro úrodu a hospodářská zvířata, ale s menším množstvím dodaného minerálního hnojiva. Tvorba nových strategií vyžaduje větší informovanost veřejnosti o důsledcích na životní prostředí, lepší pochopení dynamiky prvků ve vztahu půda-rostlina, vytvoření nových inovativních technologií s cílem zmenšit závislost populace na těžbě minerálů a zvýšit účinnost hnojení.

Vývojem nových strategií se očekává významné zlepšení ekonomické a environmentální situace, ale také zlepšení funkce půdy /9/. Vzhledem k omezené dostupnosti produktivní zemědělské půdy, a vzrůstající závislosti na minerálních hnojivech je tedy potřeba nalézt alternativní strategie pro výživu rostlin /4, 6/. V roce 2012 vznikl projekt, který se týká využití tzv. bioefektorů v rostlinné výrobě. Měl by přispět ke snížení vstupů minerálních hnojiv používaných v zemědělství a ke správnému využívání půdy. Tento projekt zahrnuje testování v reálných podmínkách různých zeměpisných poloh /7/. Přípravky obsahují mikroorganismy (bakterie, houby) a aktivní přírodní sloučeniny (výluhy z půdy nebo kompostu, mikrobiální zbytky, rostlinné výtažky, výrobky z biologických procesů a další). Bioefektory jsou vyvíjeny pro široké spektrum plodin (např. kukuřice, pšenice, rajčata, řepka, špenát, traviny, jahody, okrasné rostliny). Jejich efektivita spočívá v mobilizaci živin z hůře přístupných forem v půdě /6, 7/, podporují růst kořenů /1, 3/ a rozvoj mykorhizy /10/. Cílem práce je vyhodnocení vlivu aplikace bioefektorů na růst rostlin kukuřice, výnos, sušinu a odběr hlavních živin nadzemní hmotou.

## MATERIÁL A METODA

Tabulka 1.: Charakteristiky pokusného stanoviště.

| Stanoviště                  | Lukavec                  |
|-----------------------------|--------------------------|
| Zeměpisná šířka             | 49°33'36" s.š.           |
| Zeměpisná délka             | 15°58'22" v.d.           |
| Nadmořská výška (m.n.m)     | 610                      |
| Průměrná roční teplota (°C) | 8,2                      |
| Průměrné roční srážky (mm)  | 573                      |
| Půdní typ                   | kambizem                 |
| Půdní druh                  | písčitohlinitá           |
| pH                          | 5,4                      |
| P (mg/kg)                   | 120(±10) B <sup>1)</sup> |

<sup>1)</sup> Kategorie B – nízký obsah

### Nádobový pokus

V roce 2014 byl založen nádobový pokus, konkrétně 30.4. Součástí experimentu bylo založení nádobových pokusů, kde bylo do nádob o objemu 5 litrů zaseto vždy 5 semen kukuřice (odrůda *Colisee*). Půda byla získána ze stanoviště v Lukavci (pokusné stanice VÚRV, v.v.i.). Substrát byl namíchan z půdy a křemenného písku v poměru 2:1. Každá varianta byla realizována v pěti opakováních. Po dvou týdnech pěstování byly rostliny kukuřice vyjednoceny na finální počet tří rostlin, které proběhlo 28.5.2014. V pokusu byly při stejné dávce N (0,5 g N/nádoba) (LV) a K (0,85 g K/nádoba) (Patentkali) testovány tři bioefektory v kombinaci se dvěma hnojivy. Jako bioefektory byly použity: *Trianum P (Trichoderma harzianum)*, *Proradix (Pseudomonas sp.)*, *RhizoVital (Bacillus amyloliquefaciens)*. Výše uvedené bioefektory byly testovány v kombinaci s fosforečnými hnojivy: mletý fosfát (MF) a trojitý superfosfát (TSP), kterými byla dodána stejná dávka P. Všechny varianty byly srovnávány s variantami kontrolními, složenými z neaktivního bioefektoru (vody) a uvedených P-hnojiv, včetně neaktivního bioefektoru s fosforem nehnojenou variantou. Každá varianta měla pět opakování. Nádobový pokus byl sklizen 13.8.2014.

Schéma nádobového pokusu 2014:

- |                            |                               |
|----------------------------|-------------------------------|
| 1. BE0 + NK                | 7. BE2 + Mletý fosfát + NK    |
| 2. BE1 + NK                | 8. BE3 + Mletý fosfát + NK    |
| 3. BE2 + NK                | 9. BE0 + Trojitý fosfát + NK  |
| 4. BE3 + NK                | 10. BE1 + Trojitý fosfát + NK |
| 5. BE0 + Mletý fosfát + NK | 11. BE2 + Trojitý fosfát + NK |
| 6. BE1 + Mletý fosfát + NK | 12. BE3 + Trojitý fosfát + NK |

### Polní pokus

Na stejném stanovišti, ze kterého byla odebrána půda pro nádobový pokus, byl proveden také polní pokus. Jednalo se o výše uvedené stanoviště Lukavec. Polní pokus byl založen 25.4.2014 a byl realizován obdobně jako pokus nádobový. Testovanou rostlinou byla rovněž kukuřice stejné odrůdy a její výsevek byl 90 tis. semen na hektar. Během polního pokusu byly na parcelky o výměře 19,5 m<sup>2</sup> aplikovány dva bioefektory (Proradix a RhizoVital) v kombinaci s mletým fosfátem (MF) a trojitým superfosfátem (TSP). Pokusy byly hnojeny jednotně dusíkem, který byl dodán ve formě ledku amonného s vápencem (LAV) a draslíkem (Ptk). Pro účely polního pokusu byly založeny stejné kontrolní varianty jako u nádobového pokusu. Každá varianta byla založena ve čtyřech opakováních. Polní pokus byl sklizen 18.9.2014.

Schéma polního pokusu 2014:

| Varianta | BE         | Hnojivo             | BE aplikace |
|----------|------------|---------------------|-------------|
| 1.       | 0          | 0                   | 0           |
| 2.       | BE0 (voda) | 0                   | plošně      |
| 3.       | BE0 (voda) | Mletý fosfát        | plošně      |
| 4.       | BE0 (voda) | Trojité superfosfát | plošně      |
| 5.       | BE2        | 0                   | plošně      |
| 6.       | BE3        | 0                   | plošně      |
| 7.       | BE2        | Mletý fosfát        | plošně      |
| 8.       | BE2        | Trojité superfosfát | plošně      |
| 9.       | BE3        | Mletý fosfát        | plošně      |
| 10.      | BE3        | Trojité superfosfát | plošně      |
| 11.      | BE2        | Mletý fosfát        | lokálně     |
| 12.      | BE2        | Trojité superfosfát | lokálně     |
| 13.      | BE3        | Mletý fosfát        | lokálně     |
| 14.      | BE3        | Trojité superfosfát | lokálně     |

Po sklizni nádobových a polních pokusů byl hodnocen výnos nadzemí biomasy kukuřice a podíl její sušiny. U nadzemní hmoty rostlin z nádobových pokusů byl proveden rozklad na suché cestě při teplotě 500 °C. Vzorky byly převedeny do roztoku pomocí 1,5 % HNO<sub>3</sub> /upraveno dle 5/. Extrakty byly měřeny přístrojem ICP-OES (Varian, VistaPro, Austrálie) na celkový obsah makro- a vybraných mikroprvků. Všechny výsledky byly statisticky zpracovány programem Statistika verze 12 /8/.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

### Nádobový pokus

V tabulce 2. je uvedena naměřená výška rostlin kukuřice v určitých intervalech, během nádobového pokusu. Z údajů uvedených je zřejmé, že v počátečních fázích růstu (měření 5.6., 18.6. a 3.7.) ovlivnila výšku rostlin zejména aplikace trojitého superfosfátu. V době posledního

měření (13.8.) byl porost u všech variant dosti vyrovnaný. Kontrolní varianta BE0 vykazovala nejnižšího vzrůstu během měření 5.6., 18.6. a 3.7.

Tabulka 2.: Výška rostlin kukuřice (v cm) v časových intervalech.

| Varianta        | výška 5.6.        | výška 18.6.        | výška 3.7.          | výška 13.8.        |
|-----------------|-------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| BE0             | 28,1 <sup>a</sup> | 56,4 <sup>a</sup>  | 93,9 <sup>a</sup>   | 131,1 <sup>a</sup> |
| BE1             | 28,7 <sup>a</sup> | 64,2 <sup>a</sup>  | 103,9 <sup>a</sup>  | 135,9 <sup>a</sup> |
| BE2             | 32,0 <sup>a</sup> | 71,9 <sup>a</sup>  | 106,8 <sup>a</sup>  | 143,0 <sup>a</sup> |
| BE3             | 35,9 <sup>a</sup> | 70,9 <sup>a</sup>  | 100,0 <sup>a</sup>  | 137,4 <sup>a</sup> |
| BE0 + RP        | 31,8 <sup>a</sup> | 69,1 <sup>a</sup>  | 98,7 <sup>a</sup>   | 128,2 <sup>a</sup> |
| BE1 + RP        | 29,8 <sup>a</sup> | 67,7 <sup>a</sup>  | 99,2 <sup>a</sup>   | 136,9 <sup>a</sup> |
| BE2 + RP        | 31,2 <sup>a</sup> | 71,3 <sup>a</sup>  | 101,1 <sup>a</sup>  | 130,7 <sup>a</sup> |
| BE3 + RP        | 35,0 <sup>a</sup> | 77,3 <sup>a</sup>  | 105,4 <sup>a</sup>  | 127,1 <sup>a</sup> |
| BE0 + TSP       | 50,9 <sup>b</sup> | 103,7 <sup>b</sup> | 122,3 <sup>ab</sup> | 128,7 <sup>a</sup> |
| BE1 + TSP       | 51,6 <sup>b</sup> | 109,1 <sup>b</sup> | 130,2 <sup>b</sup>  | 133,4 <sup>a</sup> |
| BE2 + TSP       | 49,7 <sup>b</sup> | 102,6 <sup>b</sup> | 121,9 <sup>ab</sup> | 128,1 <sup>a</sup> |
| BE3 + TSP       | 51,1 <sup>b</sup> | 94,2 <sup>b</sup>  | 115,9 <sup>a</sup>  | 141,6 <sup>a</sup> |
| F-test          | 24,58             | 36,91              | 8,96                | 1,03               |
| p <sub>≤*</sub> | 0,01              | 0,01               | 0,01                | n,s,               |

\*p – hladina významnosti

V tabulce 3. jsou uvedeny průměrné odběry prvků rostlinami jednotlivých variant nádobového pokusu. S výjimkou obsahu draslíku a síry se jednalo o statisticky neprůkazné rozdíly.

Tabulka 3.: Průměrný odběr živin rostlinou (mg).

| č.v.            | N                 | P                 | K                  | Ca                | Mg                | S                  | Fe                 | Cu                | Zn                 | Mn                 |
|-----------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| 1               | 5816 <sup>a</sup> | 920 <sup>a</sup>  | 14278 <sup>a</sup> | 1827 <sup>a</sup> | 1176 <sup>a</sup> | 525 <sup>bc</sup>  | 37,79 <sup>a</sup> | 1,32 <sup>a</sup> | 12,16 <sup>a</sup> | 24,77 <sup>a</sup> |
| 2               | 5350 <sup>a</sup> | 854 <sup>a</sup>  | 15532 <sup>a</sup> | 1690 <sup>a</sup> | 1066 <sup>a</sup> | 481 <sup>c</sup>   | 26,56 <sup>a</sup> | 1,27 <sup>a</sup> | 9,80 <sup>a</sup>  | 21,16 <sup>a</sup> |
| 3               | 6055 <sup>a</sup> | 1255 <sup>a</sup> | 15282 <sup>a</sup> | 2098 <sup>a</sup> | 1419 <sup>a</sup> | 638 <sup>abc</sup> | 76,91 <sup>a</sup> | 1,79 <sup>a</sup> | 12,08 <sup>a</sup> | 30,32 <sup>a</sup> |
| 4               | 5704 <sup>a</sup> | 1038 <sup>a</sup> | 13812 <sup>a</sup> | 2031 <sup>a</sup> | 1276 <sup>a</sup> | 602 <sup>abc</sup> | 34,78 <sup>a</sup> | 1,56 <sup>a</sup> | 9,12 <sup>a</sup>  | 27,27 <sup>a</sup> |
| 5               | 5998 <sup>a</sup> | 1123 <sup>a</sup> | 12048 <sup>a</sup> | 2561 <sup>a</sup> | 1564 <sup>a</sup> | 645 <sup>abc</sup> | 42,72 <sup>a</sup> | 1,81 <sup>a</sup> | 9,58 <sup>a</sup>  | 30,08 <sup>a</sup> |
| 6               | 5654 <sup>a</sup> | 1040 <sup>a</sup> | 13475 <sup>a</sup> | 2384 <sup>a</sup> | 1427 <sup>a</sup> | 652 <sup>abc</sup> | 39,49 <sup>a</sup> | 1,61 <sup>a</sup> | 9,33 <sup>a</sup>  | 27,93 <sup>a</sup> |
| 7               | 5012 <sup>a</sup> | 995 <sup>a</sup>  | 14166 <sup>a</sup> | 2008 <sup>a</sup> | 1237 <sup>a</sup> | 626 <sup>abc</sup> | 41,84 <sup>a</sup> | 1,52 <sup>a</sup> | 7,56 <sup>a</sup>  | 28,23 <sup>a</sup> |
| 8               | 5878 <sup>a</sup> | 1390 <sup>a</sup> | 14198 <sup>a</sup> | 2020 <sup>a</sup> | 1348 <sup>a</sup> | 656 <sup>abc</sup> | 40,25 <sup>a</sup> | 1,61 <sup>a</sup> | 11,22 <sup>a</sup> | 35,40 <sup>a</sup> |
| 9               | 6099 <sup>a</sup> | 1627 <sup>a</sup> | 14486 <sup>a</sup> | 2569 <sup>a</sup> | 1622 <sup>a</sup> | 851 <sup>a</sup>   | 72,79 <sup>a</sup> | 2,05 <sup>a</sup> | 9,50 <sup>a</sup>  | 37,11 <sup>a</sup> |
| 10              | 5154 <sup>a</sup> | 1631 <sup>a</sup> | 14857 <sup>a</sup> | 2500 <sup>a</sup> | 1602 <sup>a</sup> | 806 <sup>ab</sup>  | 47,94 <sup>a</sup> | 1,74 <sup>a</sup> | 8,89 <sup>a</sup>  | 31,71 <sup>a</sup> |
| 11              | 6906 <sup>a</sup> | 1496 <sup>a</sup> | 15521 <sup>a</sup> | 2771 <sup>a</sup> | 1690 <sup>a</sup> | 827 <sup>a</sup>   | 61,64 <sup>a</sup> | 1,83 <sup>a</sup> | 9,19 <sup>a</sup>  | 35,93 <sup>a</sup> |
| 12              | 4784 <sup>a</sup> | 1434 <sup>a</sup> | 15611 <sup>a</sup> | 2425 <sup>a</sup> | 1479 <sup>a</sup> | 776 <sup>ab</sup>  | 70,65 <sup>a</sup> | 1,34 <sup>a</sup> | 7,52 <sup>a</sup>  | 37,65 <sup>a</sup> |
| F-test          | 0,76              | 3,27              | 1,52               | 2,66              | 2,57              | 7,31               | 1,92               | 1,44              | 1,35               | 3,48               |
| p <sub>≤*</sub> | n.s.              | n.s.              | n.s.               | n.s.              | n.s.              | 0,01               | n.s.               | n.s.              | n.s.               | n.s.               |

\*p – hladina významnosti

Nejvyšší odběr dusíku byl naměřen u variant 9 a 11. Naopak, nejnižší odběr měla varianta 12. Rostliny variant 9 a 10 odebraly nejvíce fosforu. Nejméně tohoto prvku odebrala varianta 2. Varianta 2 a 12 odebrala nejvyšší množství draslíku, nejméně potom rostliny kontrolní varianty 5. V případě vápníku, hořčíku, síry a mědi byl zaznamenán nejvyšší obsah těchto prvků u variant 9 a 11. Nejnižší množství prvků odebraly rostliny varianty 2. Rostliny variant 9 a 12 odebraly nejvyšší

množství železa a manganu. Naopak, nejnižší množství těchto prvků odebraly rostliny varianty 2. Nejvyšší množství zinku odebrala kontrolní varianta 1 a varianta 3. Nejméně zinku odebrala varianta 7. Z výsledků uvedených v tabulce 2. je zřejmé, že kromě síry není vliv aplikace bioefektorů statisticky průkazný.

Z prozatímních výsledků nelze s určitostí potvrdit pozitivní působení aplikace bioefektorů. Kolektiv autorů /10/ uvádí, že po aplikaci Proradixu a RhizoVitalu (jednotlivě nebo v kombinaci) v nádobovém experimentu došlo k výraznému zlepšení stavu kořenů rajčat. Kořeny byly zdravější a ukazovaly vyšší kolonizaci mykorhizními houbami. V našich experimentech nebyly tyto parametry hodnocené, ale dobrý zdravotní stav rostlin by měl zlepšit růst a výnos rostlin. Nicméně nepotvrdil se nám pozitivní významný vliv aplikace bioefektorů na výnos kukuřice.

### Polní pokus

V tabulce 4. je uvedeno průměrné procento sušiny a průměrný hektarový výnos jednotlivých variant u polního pokusu na stanovišti v Lukavci. Nejnižší procento sušiny varianta 9, 11 a 12 nejvyšší měla naopak varianta 14. Nejnižší výnos měla varianta 5 a nejvyšší hektarové výnosy měly varianty 3 a 11. Z výsledků vyplývá, že aplikace bioefektorů nemá statisticky průkazný pozitivní vliv na hektarový výnos ani na procento sušiny.

Tabulka 4.: Průměrné procento sušiny (%) a hektarový výnos (t/ha) polních pokusů 2014.

| Č.v.   | sušina (%)        | výnos (t/ha)      |
|--------|-------------------|-------------------|
| 1      | 25,2 <sup>a</sup> | 30,2 <sup>a</sup> |
| 2      | 25,5 <sup>a</sup> | 32,3 <sup>a</sup> |
| 3      | 24,1 <sup>a</sup> | 34,9 <sup>a</sup> |
| 4      | 24,6 <sup>a</sup> | 32,8 <sup>a</sup> |
| 5      | 24,5 <sup>a</sup> | 26,9 <sup>a</sup> |
| 6      | 24,7 <sup>a</sup> | 31,4 <sup>a</sup> |
| 7      | 24,3 <sup>a</sup> | 30,6 <sup>a</sup> |
| 8      | 25,1 <sup>a</sup> | 30,1 <sup>a</sup> |
| 9      | 23,9 <sup>a</sup> | 32,5 <sup>a</sup> |
| 10     | 26,8 <sup>a</sup> | 30,4 <sup>a</sup> |
| 11     | 23,9 <sup>a</sup> | 33,1 <sup>a</sup> |
| 12     | 23,9 <sup>a</sup> | 32,8 <sup>a</sup> |
| 13     | 24,1 <sup>a</sup> | 30,3 <sup>a</sup> |
| 14     | 28,0 <sup>a</sup> | 32,0 <sup>a</sup> |
| F-test | 0,68              | 1,00              |
| p≤*    | n.s.              | n.s.              |

\*p – hladina významnosti

Kolektiv autorů uvádí pozitivní účinky aplikace Proradixu u pěstování ječmene v polních podmínkách. Aplikace zvýšila výnos zrna, a také zvýšení hmotnosti nadzemní hmoty a množství slámy /2/. V našich polních podmínkách nebyl prokázán statisticky pozitivní účinek aplikace bioefektorů na procento sušiny nebo výtěžek.

### LITERATURA

- /1/ Ferrigo, D., Raiola, A., Rasera, R., Causin, R. 2014. Trichoderma harzianum seed treatment controls Fusarium verticillioides colonization and fumonisin contamination in maize under field conditions. Crop Protection. Elsevier Science. 65. 51-56. ISSN: 0261-2194.
- /2/ Fröhlich, A., Buddrus-Schiemann, K., Durner, J., Hartmann, A., von Rad, U. 2012. Response of barley to root colonization by Pseudomonas sp. DSMZ 13134 under laboratory, greenhouse, and field conditions. Journal of Plant Interactions. Taylor & Francis LTD. 7 (1). 1-9. ISSN: 1742-9145.

- /3/ Galletti, S., Fornasier, F., Cianchetta, S., Lazzeri, L. 2015. Soil incorporation of brassica materials and seed treatment with *Trichoderma harzianum*: Effects on melon growth and soil microbial activity. *Industrial Crops and Products*. Elsevier Science. 75. Part A. 73-78. ISSN: 0926-6690.
- /4/ Hogenhout, S. A., Van der Hoorn, R. A. L., Terauchi, R., Kamoun, S. 2009. Emerging Concepts in Effector Biology of Plant-Associated Organisms. *MOL PLANT MICROBE INTERACTION*. United Kingdom. 22 (2). 115-122. ISSN: 0894-0282.
- /5/ Mader, P., Száková, J., Míhlová, D. 1998. Classical dry ashing of biological and agricultural materials. Part II. Losses of analytes due to their retention in an insoluble residue. *Analisis*. EDP Sciences. 26. 121-129. ISSN: 0365-4877.
- /6/ Neumann, G. 2012. EU-funded research collaboration on use of bio-effectors in agriculture launched. Press Release. University of Hohenheim. Germany. [cit, 2011-11-4].  
Dostupné z <<http://biofector.agrobiology.eu/>>.
- /7/ Smalla, K. et al. 2012. EU-funded research collaboration on use of bio-effectors in agriculture launched. Julius Kühn-Institut (JKI). Germany. [cit, 2011-10-24].  
Dostupné z <<http://www.jki.bund.de/en/startseite/presse/english-press/eu-funded-research-collaboration-on-use-of-bio-effectors-in-agriculture-launched.html>>.
- /8/ Statsoft, Inc. 2016. Statistica (data analysis software systém). Version 9.1. Dostupné z <[www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)>.
- /9/ Withers, P. J., Sylvester-Bradley, R., Jones, D. L., Healey, J. R., Talboys, P. J. 2014. Feed the crop not the soil: rethinking phosphorus management in the food chain. *Environmental Science and technology*. American Chemical Society. 48 (12). 6523-6530.
- /10/ Yusran, Y., Weinmann, M., Neumann, G., Römheld, V., Müller, T. 2009. Effects of *Pseudomonas* sp. "Proradix" and *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 on the Establishment of AMF Infection. Nutrient Acquisition and Growth of Tomato Affected by *Fusarium oxysporum* Schlecht f.sp. *radicis-lycopersici* Jarvis and Shoemaker. The Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium XVI. University of California, 13 p.

### Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory výzkumného projektu Resource Preservation by Application of BioEffectors in European Crop Production č. 7. RP 312117.

**VPLYV SUCHA NA RAST *MALUS DOMESTICA******INFLUENCE OF DROUGHT ON GROWTH OF MALUS DOMESTICA***

Alan Klimaj, Viliam Bárek, Jakub Fuska, Jozefína Pokrývková

Slovenská poľnohospodárska univerzita, FZKI, Katedra krajinného inžinierstva, Hospodárska 7,  
Nitra 949 74, klimajalan@gmail.com, viliam.barek@uniag.sk, jozefina.pokryvkova@uniag.sk

***Summary***

During measurement, in Slovakia were long periods of drought and an above-average high temperatures. Due to these factors, there was a deficit of water needed for growth of plants. All measured changes in diameter correlated well with the relative humidity of the air. Slowed evapotranspiration is for higher relative humidity, as soon as it depressed, the evapotranspiration increased and the plant losses water received by the root system in period when it was not exposed to stress factors. In the first days after exposure to dryness and heat, there is no decrease of average values, because they could receive the soil water and to consume water stored in the tissues. Once there was a significant loss of water supplies it will be launched in the apple tree the defence mechanism to drought and began to acclimate to changed conditions, otherwise closing of stomata. Thereby the overall of water management was changed. Just these changes were monitored by dendrometry.

*Key words: Dendrometer, precipitation, Malus domestica, drought, diameter branch*

***Súhrn***

Počas merania sa na území Slovenska vyskytli obdobia dlhého sucha a nadpriemerne vysoké teploty. Vďaka týmto faktorom dochádzalo k deficitu vody potrebnej pre rast drevín. Všetky zmeny priemerov, ktoré boli zaznamenané, dobre korelujú s relatívnou vlhkosťou vzduchu. Pri vyššej relatívnej vlhkosti je spomalená evapotranspirácia, akonáhle dôjde k jej poklesu, zvyšuje sa evapotranspirácia a rastlina stráca vodu, ktorú koreňovým systémom prijala v období, keď nebola vystavená stresovým faktorom. V prvých dňoch po vystavení suchu a teplu nedochádzalo k poklesom priemerov, pretože dokázala prijímať pôdnu vodu a spotrebúvať vodu uloženú v pletivách. Akonáhle došlo k výrazným stratám zásob vody, spustil sa u jablone obranný mechanizmus voči suchu a začal sa proces aklimatizácie na zmenené podmienky a to uzavretím prieduchov. Tým sa zmenil celkový manažment hospodárenia s vodou. Práve tieto zmeny boli sledované dendrometrami.

*Kľúčové slová: dendrometer, zrážky, Malus domestica, sucho, priemer konára*

**ÚVOD**

Na Slovensku bol za posledných 100 rokov zaznamenaný trend rastu priemernej ročnej teploty vzduchu približne o 1,1°C a pokles ročných úhrnov atmosferických zrážok o 5,6 % v priemere. Ešte väčší problém ako samotný pokles zrážok predstavuje ich nerovnomerné rozloženie počas vegetačného obdobia. V posledných 25 rokoch dochádza k častému výskytu lokálnych alebo celoplošných súch. Najmä juhozápad Slovenska sa postupne vysušuje, ale v charakteristikách slnečného žiarenia nenastali podstatné zmeny. Prejavuje sa teda zrejmy trend zmeny klímy k mediteránnemu typu /1/.

Väčšina plodín má schopnosť vyrovnat' sa s podmienkami vonkajšieho prostredia a sú zraniteľné pri strate vody. Rastliny prijímajú vodu z pôdy na svoj fyziologický vývoj a na vykrytie jej strát pri evapotranspirácii. Čím je vyššia pôdna vlhkosť, tým rýchlejšie bude rastlina schopná znova doplniť svoje požiadavky, vyhnúť sa stresu a zregenerovať /2/.



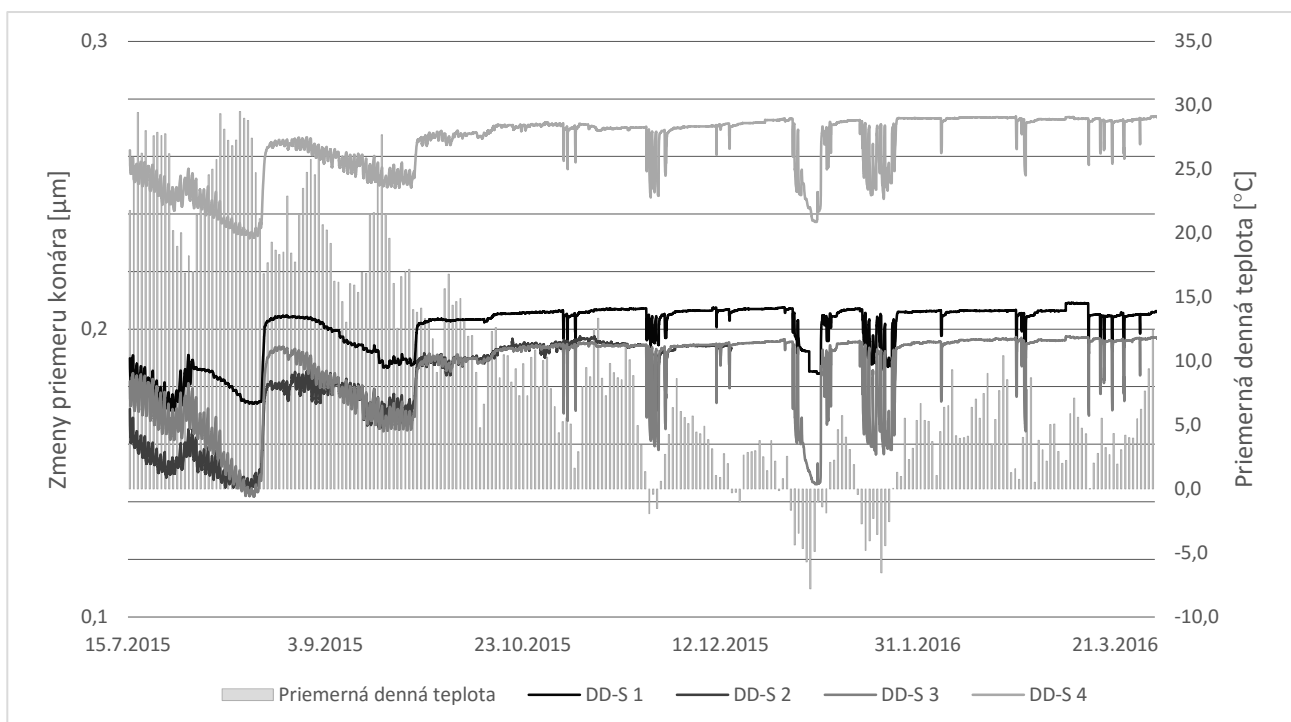
## MATERIÁL A METÓDY

*Malus domestica* var. *Yellow Transparent* je nenáročná odroda pôvodom z Pobaltia, rajonizovaná do všetkých polôh. Vhodná je hlavne pre väčšie voľne rastúce tvary, na stredne až silnejšie rastúcich podpníkoch. Dozrieva od polovice júla do začiatku augusta. Strom plodí skoro po výsadbe, často o 2-3 roky je už pomerne bohatá úroda. Drevina trpí v teplých oblastiach múčnatkou jabloňovou (*Podosphaera leucotricha*) a chrastovitou (*Venturia inaequalis*), plody sú napádané obaľovačom jablčným (*Cydia pomonella*).

Pre potreby merania boli zvolené štyri stromy na jednom stanovišti tak, aby mali rovnaké podmienky a aby boli minimalizované chyby spôsobené stanovištnými podmienkami. Na každý strom bol napojený jeden dendrometer.

Dendrometre predstavujú ideálny nástroj pre presné a kontinuálne monitorovanie radiálnych a zvislých zmien rastlinných tkanív, napr. stonky, plody, listy atď. Dendrometer DD-S je vhodný predovšetkým na meranie priemerov malých rastlín alebo konárov vyšších drevín. Presnosť merania je do 2  $\mu\text{m}$ , pri použití datalogger-a DL18 je  $\pm 0,1\%$ , výstupový signál je v rozsahu 0-11000 ohmov. Nie je potrebné napájanie z externého zdroja. Pred použitím nie je potrebná kalibrácia a má minimálne požiadavky na údržbu. Zariadenie nespôsobuje žiadne mechanické poškodenie rastline a taktiež nie je náchylné na väčšie zmeny počasia. Dendrometre je možné použiť pri vonkajších teplotách v rozsahu od  $-30$  do  $40$   $^{\circ}\text{C}$  a pri relatívnej vlhkosti vzduchu v rozsahu od 0 do 100 %. Sú vyrobené z nehrdzavejúcej ocele a hliníka. Teplotný koeficient je menší ako 0,04% na jeden K teploty. Hmotnosť zariadenia je len 13 g, vďaka čomu nespôsobuje zbytočnú záťaž rastlinám. Interval zberu dát je nastavený na 10 minút /9-11/.

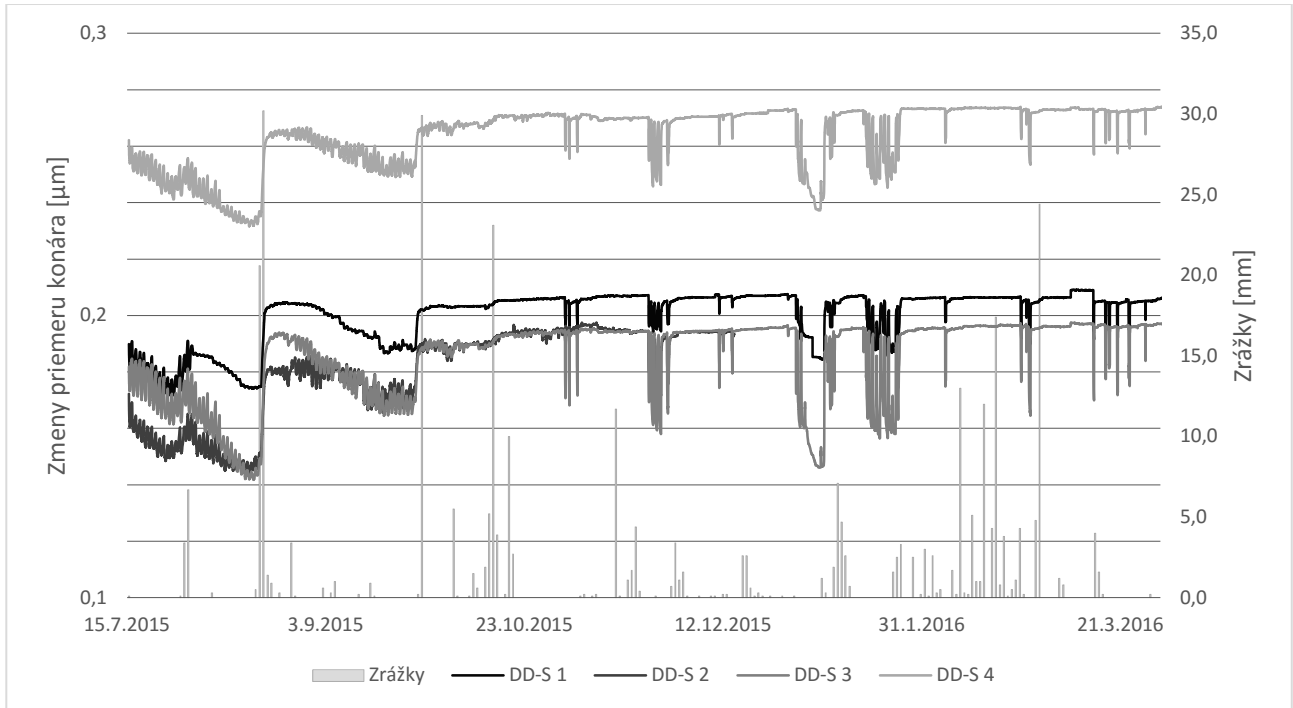
## VÝSLEDKY A DISKUSIA



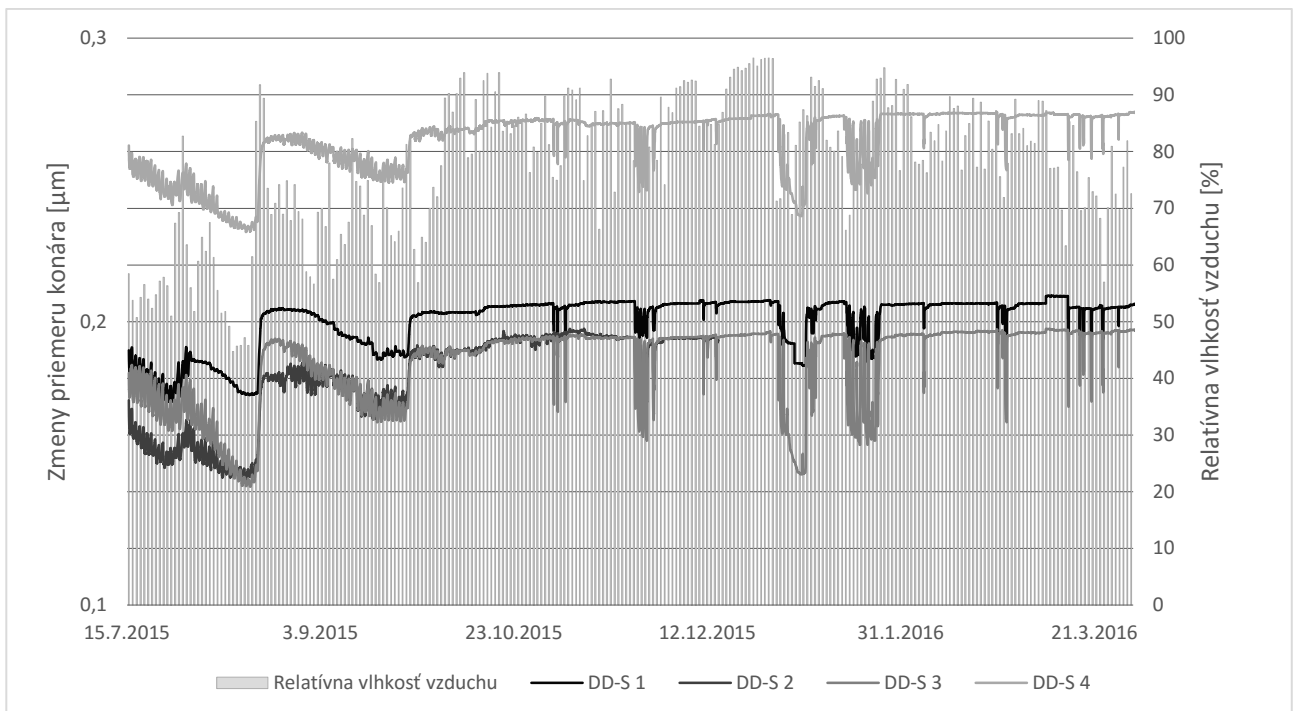
Graf 1: Namerané hodnoty zmien priemerov konárov so zohľadnením priemernej dennej teploty.

V dňoch od 15.7 do 25.7 sa hodnota priemernej dennej teploty pohybovala v rozpätí od takmer  $22^{\circ}\text{C}$  do  $28^{\circ}\text{C}$ , pričom maximálne denné teploty sa ustálili na hodnotách nad  $30^{\circ}\text{C}$ , maximálna bola dosiahnutá 22.7. a to  $36,8^{\circ}\text{C}$ . Počas týchto jedenástich dní bol celkový úhrn zrážok 0,1mm. Zmeny priemerov konárov boli v rozsahu 0,018-0,023  $\mu\text{m}$  V nasledujúcich piatich

dňoch došlo k miernemu ochladeniu, keď sa priemerná teplota pohybovala od 17-20°C. V dňoch od 28.7.-30.7. došlo k slabým zrážkam. Toto relatívne krátke ochladenie bolo postačujúce, aby sa jablone spamätali z predchádzajúceho stresujúceho obdobia a priemery konárov sa dostali na hodnoty pred suchom. Avšak od tohto obdobia senzor na jablони č.1 zaznamenával len minimálne zmeny denných zmien priemerov konára jablone.



Graf 2: Namerané hodnoty zmien priemerov konárov so zohľadnením zrážok.



Graf 3: Namerané hodnoty zmien priemerov konárov so zohľadnením relatívnej vlhkosti vzduchu.

Následne došlo k ďalšiemu dlhotrvajúcemu suchu, ktoré trvalo od 31.7. do 16.8. Celkový úhrn zrážok v danom období nedosiahol ani 1mm. Priemerné denné teploty boli v rozmedzí od 22 do 29,5 °C, v štrnástich po sebe idúcich dňoch teplota vystúpila nad 30°C, od 6.8. do 14.8. presahovala 35 °C, maximálna nameraná teplota bola 37,5 °C. Najväčší pokles priemerov bol zaznamenaný na jabloni č.3 a to 0,04 µm, u zvyšných troch sa pohyboval v rozmedzí 0,016-0,024 µm.

Po výdatných zrážkach od 16.8. do 20.8., keď celkový úhrn zrážok dosiahol nad 50mm, nastalo krátke obdobie s miernejšími teplotami a občasnými slabými zrážkami. Ochladenie z tohto obdobia očividne rastlinám prospelo, ich priemery stoniek narástli oproti obdobiu pred stresom o 0,015 µm. Od 26.8. do 26.9. bol úhrn zrážok len necelé 2 mm. Ale teploty už nepresahovali hodnoty dlhodobého priemeru v takom rozsahu, len v troch dňoch priemerná denná teplota presiahla 25 °C a maximálna denná teplota len v šiestich prípadoch presiahla 30 °C. Vzhľadom k tomu, že išlo o mesiac dlhé obdobie sucha, nebol pokles priemerov až tak veľký, v priemere o 0,25µm. Oproti minulým suchám nemal ani taký rapidný nástup a umenšovanie prebiehalo postupne plynulo počas celej doby. Po ochladení došlo k návratom k predchádzajúcim hodnotám, ale len u jablone č.2 došlo k minimálnemu nárastu.

Dendrometre zaznamenali krátkodobý pokles priemeru stoniek počas obdobia od 3.10. do 5.10. Išlo o reakciu na suchu z obdobia od 28.9. do 4.10., keď maximálne teploty dosahovali hodnoty nad 33 °C. Zmeny priemerov v tomto období boli rádovo 0,001-0,005µm.

V ďalšom období až do jari zaznamenávali senzory zmeny priemerov, ktoré boli v každom prípade spojené so zápornými teplotami. V dátumoch 1.11.-6.11., 23.11.-29.11. a 15.1.2016-27.1.2016 došlo k poklesu priemerov konárov spôsobených nočnými mrazmi, ale počas dňa po vystúpení teplôt na plusové hodnoty došlo k návratu priemerov do stavu pred mrazom. Denné zmeny sa pohybovali rádovo v rozsahu 0,013-0,022 µm, u jablone č.3 až 0,034 µm.

Počas celodenných mrazov z dátumov 27.12.2015-9.1.2016 nedošlo k výraznej dennej oscilácii. Čím trvali mrazy dlhšiu dobu a boli intenzívnejšie, tak sa priemery zmenšovali. U jabloní č.1 a č.4 o 0,023-0,035 µm u jablone č.3 bol opätovne zaznamenaný najväčší pokles a to o 0,052 µm.

## LITERATÚRA

- /1/ Bárek, V.: Klimatická zmena a závlahy. 1st ed., Bratislava: Slovenská bioklimatol. spoločnosť pri SAV: obr., tab. - (Štúdia Slovenskej bioklimatologickej spoločnosti pri SAV; 13.). 2006, p 37
- /2/ Bárek V., Halaj P., Báreková A.: Vplyv klimatickej zmeny na potrebu závlah pri pestovaní zeleniny a špeciálnych plodín [online]. [cit. 2011-01-25]. 2007 Dostupné na internete: <[http://www.cbks.cz/SbornikPolana07/pdf/Barek\\_et\\_al.pdf](http://www.cbks.cz/SbornikPolana07/pdf/Barek_et_al.pdf)>. ISBN 978-80-228-17-60-8.
- /3/ Bay, R.R.: Soil moisture and radial increment in two density levels of Red Pine. U.S. For. Serv. Res. Note LS, 1963: 30.
- /4/ Brestič, M. and Olšovská, K.: Vodný stres rastlín: príčiny, dôsledky, perspektívy. SPU Nitra, 2001, p 149.
- /5/ Bormann, F.H., and Kozlowski, T.T.: Measurement of tree growth with dial gauge dendrometers and vernier tree ring bands. Ecology, 43, 1962: 289–294.
- /6/ Bullock, S.H.: Effects of seasonal rainfall on radial growth in two tropical tree species. Int. J. Biometeorol. 41: 13–16. Kozlowski, T.T., and Winget, C.H. 1964. Diurnal and seasonal variation in radii of tree stems. Ecology, 45, 1997: 149–155.
- /7/ Sheil, D.: Growth assessment in tropical trees: large daily diameter fluctuations and their concealment by dendrometer bands Published on the NRC Research Press Web site at <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/x03-121#.VgkW5X33Ehk> on 14 October 2003.
- /8/ Ortunõ M.F., W. Conejero, F. Moreno et al.: Could trunk diameter sensors be used in woody crops for irrigation scheduling A review of current knowledge and future perspectives. Agricultural Water Management 97, 2010: 1-11.
- /9/ <http://www.ecomatik.de/en/dendrometer.php>
- /10/ [http://www.ecomatik.de/en/diameter\\_dendrometer1.php](http://www.ecomatik.de/en/diameter_dendrometer1.php)
- /11/ [http://www.ecomatik.de/en/data\\_logger.php](http://www.ecomatik.de/en/data_logger.php)

**Pod'akovanie**

Uvedená práce vznikla za finančnéj podpory Slovak Grant Agency VEGA, No. Projekt:VEGA 1/0456/14 Riadenie vlhkostného režimu pôd ako nástroja adaptácie na klimatickú zmenu a Slovak Research and Development Agency No. APVV-15- 0562 Efektívne riadenie závlah, ako nástroj adaptácie na meniacu sa klímu.

## VLIV ARSENU NA VYBRANÉ FYZIOLOGICKÉ A STRUKTURNÍ PARAMETRY KOŘENOVÉ KULTURY KŘENE SELSKÉHO

### *INFLUENCE OF ARSENIC ON SELECTED PHYSIOLOGICAL AND SCTRUCTURAL PARAMETERS OF HORSERADISH HAIRY ROOTS CULTURE*

Monika Kofroňová<sup>1</sup>, Jana Tremlová<sup>2</sup>, Dana Kolihová<sup>2</sup>, Helena Lipavská<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra experimentální biologie rostlin, Viničná 5, 128 44, Praha 2, kofronom@natur.cuni.cz

<sup>2</sup> Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie potravinových a přírodních zdrojů, Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin, Kamýcká 961/129, 165 21 Praha 6-Suchbát

#### *Summary*

Potential contamination of the food chain is the most important aspect of arsenic toxicity as it is highly toxic to all organisms. Horseradish, a crop plants representative, has been reported as a heavy metals accumulator, and so it can serve also for studies of physiological consequences of arsenic stress. The aim of the study was to contribute to clarification of the plant response mechanisms on the level of root structure and its carbohydrate metabolism. Results will contribute to possible phytoremediation exploitation, which in turn may help to limit the contamination of the food chain. Root culture (hairy roots type) of horseradish was grown *in vitro* on media with different contents of arsenic (5 - 60ppm). Subsequently, we determined arsenic contents inside the tissues and examined the effect of arsenic on the growth rate and levels of soluble sugars (possible antioxidants) and starch. The arsenic content in tissue cultures increased significantly with increasing concentration in the medium. The growth rate declined in concentration dependent manner. The results showed no large changes in the content or spectrum of soluble carbohydrates, in contrast, the starch amount decreased significantly in variants with increased arsenic concentrations. Determination of activities of selected antioxidant enzymes revealed tendency to increase only for catalase. Prolin contents increased significantly in cultures exposed to 5, 10 and 30 ppm.

*Key words: horseradish, Armoracia rusticana, hairy roots, arsenic, oxidative stress, carbohydrates*

#### *Souhrn*

Potenciální kontaminace potravního řetězce je nejvýznamnější aspekt toxicity arseu, protože je vysoce jedovatý pro většinu organismů. U kořenové kultury (typu hairy roots) křenu selského, zástupce zemědělsky využívaných rostlin, byla opakovaně zaznamenána schopnost akumulace těžkých kovů, a tak je také vhodným modelem pro studium fyziologických reakcí na působení arseu. Cílem experimentů bylo přispět k objasnění mechanismů odpovědi rostlin na přítomnost As v prostředí, a to na úrovni stavby kořene a bilance sacharidového metabolismu, a získat tak výsledky využitelné pro účely fytořemediací, které následně mohou posloužit k omezení kontaminace potravního řetězce. Kultura hairy roots křene byla pěstována v podmínkách *in vitro* na médiích s různým obsahem arseu. Následně byl změřen obsah arseu uvnitř pletiv a jeho jednotlivé formy, byl sledován vliv arseu na rychlost růstu a stanoveny hladiny rozpustných sacharidů (potenciál ochrany proti oxidativnímu stresu) a škrobu. Obsah arseu v pletivech kultury se průkazně zvyšoval s narůstající koncentrací v médiu. Uvnitř pletiv se arsen vyskytoval převážně ve formě As<sup>III</sup> ačkoliv byl do média přidáván pouze ve formě As<sup>V</sup>. Se zvyšující se koncentrací arseu v médiu se snižoval růstový koeficient kultur. Výsledky neukázaly velké změny v obsahu ani zastoupení jednotlivých rozpustných sacharidů naproti tomu se obsah škrobu u variant se zvýšenou koncentrací arseu významně snížil. Byly také stanoveny aktivity vybraných

antioxidačních enzymů. Aktivita se zvýšila jen u katalázy, kde ovšem navýšení aktivity nebylo statisticky průkazné. Stanovení obsahu prolinu ukázalo nejvyšší hladiny pouze u prvních třech ošetření arsenem (5, 10 a 30 ppm).

*Klíčová slova: křen, Armoracia rusticana, hairy roots, arsen, oxidativní stres, sacharidy*

## ÚVOD

Arsen patří k nebezpečným látkám přirozeně se vyskytujícím v životním prostředí pouze omezeně, jeho hladina se však významně zvyšuje činností člověka. Akumuluje se v potravním řetězci a pro organismy je toxický. Kontaminované půdy se vyskytují i v České republice, především v okolí výsypek. Výskyt arsenu v půdě negativně ovlivňuje zemědělskou produkci působením na fyziologické procesy (např. fotosyntéza, metabolismus sacharidů) či změnami v morfologických charakteristikách rostlin (např. zpomalení růstu kořenů, jejich deformace). Významným stresem, který arsen způsobuje, je stres oxidativní. Rostliny mají vyvinutý vysoce organizovaný systém pro zhášení volných radikálů, který zahrnuje jak antioxidační enzymy, tak antioxidační molekuly. Mezi důležité látky s antioxidační aktivitou, patří také sacharidy, které dokážou účinně zhášet volné radikály. Jednou z relativně účinných a přitom levných možností odstraňování arsenu z prostředí či jeho stabilizaci v půdě je fytoremediace. Abychom však mohli této metody plnohodnotně využívat, je nutno nejprve pochopit, jak rostliny reagují na přítomnost toxických kovů.

Biologické chování kořenové kultury typu hairy roots nabízí velkou míru autenticity a podobnost s netransformovanými kořeny, protože jsou pletiva organizovaná s větší podobností struktury a funkce rostlinným orgánům a větší genotypovou a fenotypovou stabilitou ve srovnání s nediferencovanými rostlinnými kulturami /1/. Hairy roots se široce používají pro studium příjmu, toxicity a tolerance některých kovů, např. arsenu /6/.

## MATERIÁL A METODA

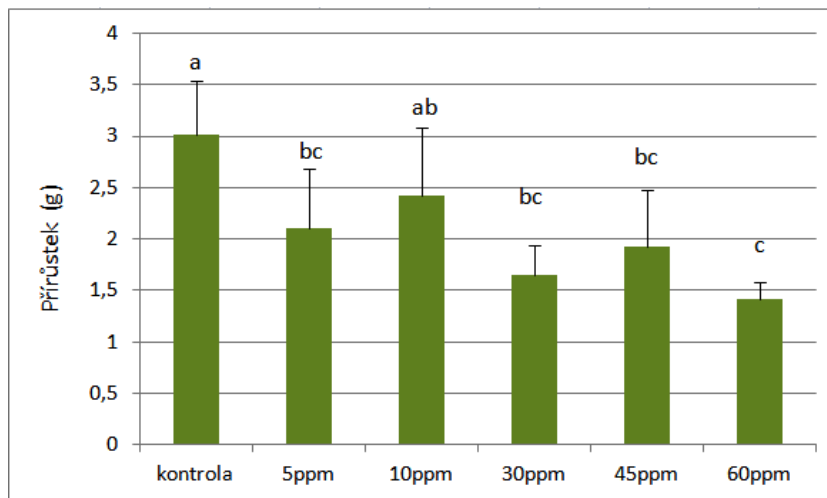
Kultura hairy roots křene byla pěstována v podmínkách in vitro, v tekutém MS médiu s různým obsahem arsenu ve formě  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (v koncentracích 5ppm, 15ppm, 30ppm, 45ppm a 60ppm). Kultury hairy roots byly pěstovány při konstantní teplotě 25 °C ve tmě, na orbitální třepačce při 100 rpm. Obsah nestrukturních sacharidů byl stanoven pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s refraktometrickou detekcí. Obsah škrobu byl stanoven jako množství glukózy po enzymatickém štěpení. Stanovení obsahu arsenu proběhlo metodou atomové absorpční spektrometrie s technikou generace hydridů. Aktivity antioxidačních enzymů a obsah prolinu byly stanoveny spektrofotometricky. Získaná data byla vyhodnocena pomocí statistického programu NCSS9.0. Pro porovnávání dat byla použita jednocestná analýza rozptylu a analýza variance. V případě normálního rozdělení dat byl jako mnohonásobný srovnávací test použit Tukey-Kramer test. V případě nenormálního rozdělení byl použit Kruskal-Wallis Z test. Hladina významnosti byla zvolena  $\alpha = 0,05$  nebo 0,1.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

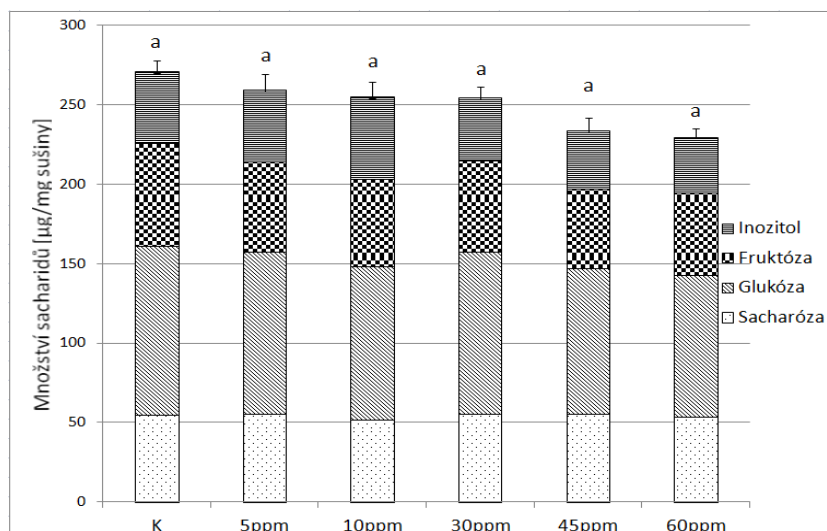
Kořenová kultura „hairy roots“ byla schopná růstu i při vyšších koncentracích arsenu v médiu. Nicméně se stoupající koncentrací arsenu byla pozorována tendence k poklesu růstového koeficientu (Graf 1) Tento pokles byl signifikantní oproti kontrole u všech variant. Ačkoliv hairy roots byly schopny růst i ve vyšších koncentracích, tvořily mnohem více postranních kořenů než varianty s nižšími koncentracemi. To může být způsobené odumíráním kořenového apexu negativním vlivem arsenu v médiu s následným posílením zakládání postranních kořenů.

Celkový obsah rozpustných sacharidů v kultuře (Graf 2) s narůstající koncentrací v živném médiu mírně klesal, rozdílů oproti kontrole však nebyly průkazné. Ani podíly jednotlivých sacharidů na celkovém obsahu neukázaly žádné odlišnosti. Podíl sacharózy ve všech variantách

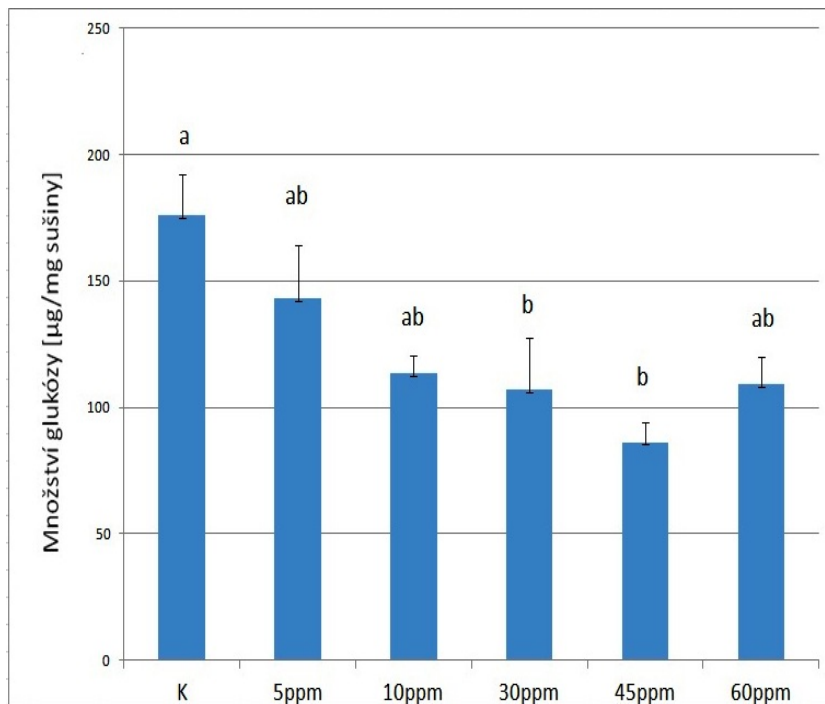
pouze lehce stoupá. Zdá se, že za daných podmínek se neprojevila výraznější stresová odpověď na úrovni obsahu a spektra rozpustných sacharidů. U škrobu (Graf 3) došlo k významnějším změnám. S narůstající koncentrací arsenu v médiu obsah škrobu klesá ve všech stresovaných variantách, nicméně statisticky průkazný pokles byl pouze u varianty 30 a 45ppm. Snížení obsahu škrobu může být způsobeno navýšením aktivity enzymů degradace škrobu pod vlivem arsenu /3/. Při kontaminaci těžkými kovy dochází většinou k akumulaci škrobu, jako např. při kontaminaci arsenem a hliníkem u sazenic rýže /3/, /5/. Ale naopak snížení množství škrobu bylo pozorováno u rostlin mangrovníků či borovice vystavených těžkým kovům /2/, /4/.



Graf 1: Týdenní přírůstek biomasy u kultury hairy roots *Armoracia rusticana* pod vlivem arsenu. Obsah arsenu v médiu- 5ppm, 10ppm, 30ppm, 45ppm a 60ppm. Úsečky nad sloupci znázorňují směrodatné odchylky. Rozdílná písmena znamenají statisticky významný rozdíl na hladině  $\alpha=0,1$ ,  $n=5-7$

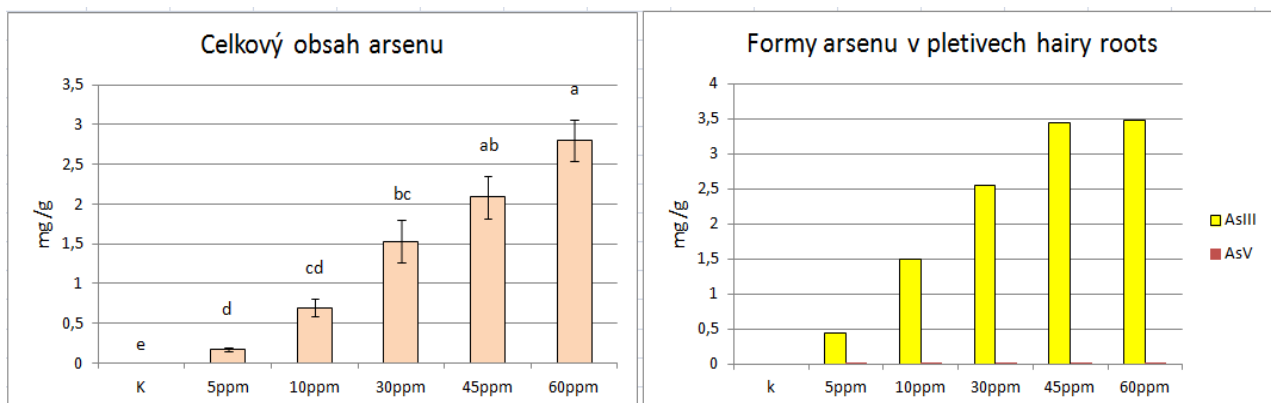


Graf 2: Obsah endogenních rozpustných sacharidů u kultury hairy roots *Armoracia rusticana* pod vlivem arsenu. Obsah arsenu v médiu- 5ppm, 10ppm, 30ppm, 45ppm a 60ppm. Úsečky nad sloupci znázorňují směrodatné odchylky celkového obsahu sacharidů. Rozdílná písmena znamenají statisticky významný rozdíl na hladině  $\alpha=0,05$ ,  $n=5-7$



Graf 3: Obsah škrobu u kultury hairy roots *Armoracia rusticana* pod vlivem arzeniu. Obsah arzeniu v médiu 5ppm, 10ppm, 30ppm, 45ppm a 60ppm. Úsečky nad sloupci znázorňují směrodatné odchylky celkového obsahu sacharidů. Rozdílná písmena znamenají statisticky významný rozdíl na hladině  $\alpha=0,1$ ,  $n=5-7$

Výsledky obsahu všech forem arzeniu v sušině (Graf 4) jasně ukazují, že tato kultura je schopná velice dobře akumulovat arsen, a tak můžeme vyloučit, že malé změny v sacharidové bilanci jsou způsobeny tím, že arsen do pletiv kultury nevstupuje. Čím více bylo arzeniu dodáváno do růstového média, tím více kultura tento metaloid akumulovala.

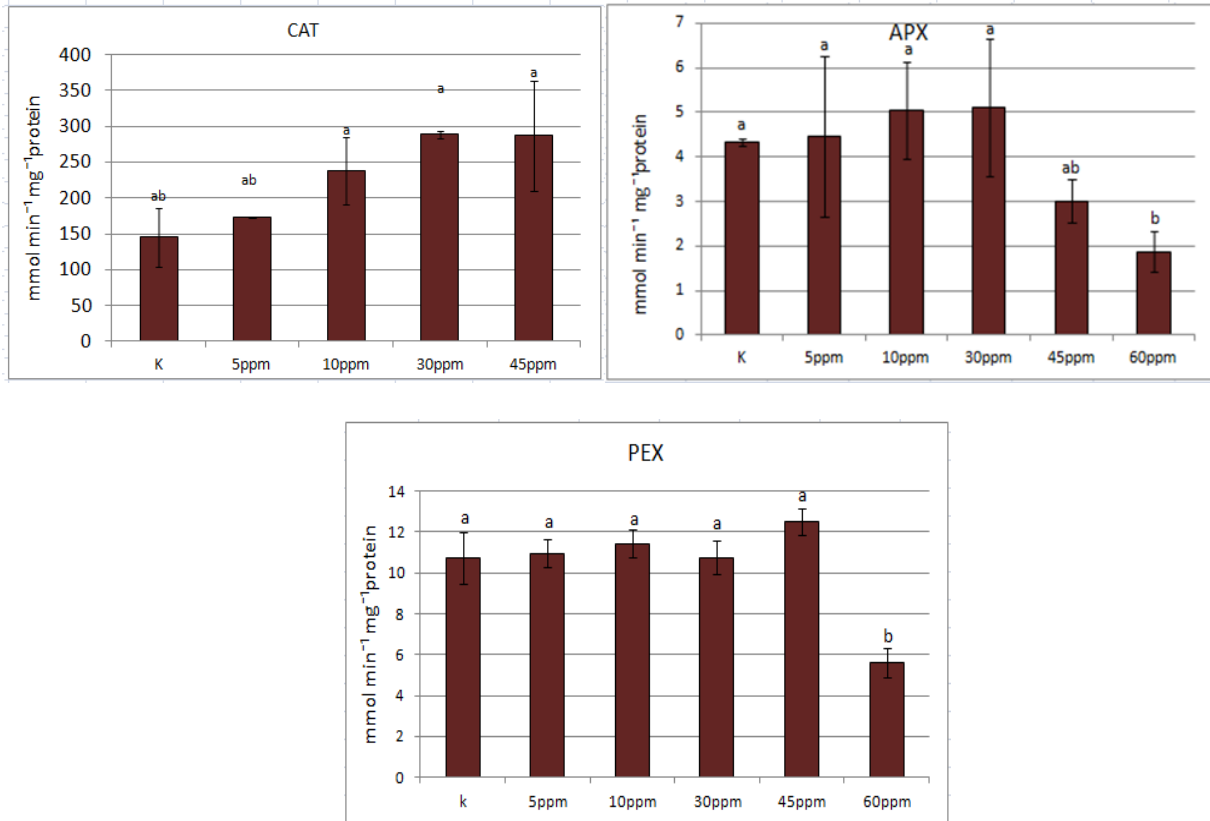


Graf 4 a 5: Celkový obsah arzeniu a anorganických forem arzeniu u kultury hairy roots *Armoracia rusticana* v závislosti na koncentraci arzeniu v médiu 5ppm, 10ppm, 30ppm, 45ppm a 60ppm varianty množství dodaného arzeniu. Úsečky nad sloupci znázorňují směrodatné odchylky. Rozdílná písmena znamenají statisticky významný rozdíl na hladině  $\alpha=0,5$ ,  $n=5-7$

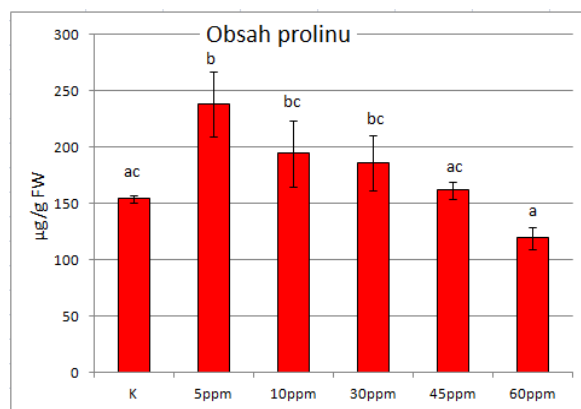
Byly stanoveny aktivity vybraných antioxidačních enzymů katalázy, askorbátperoxidázy a peroxidáz (Graf 6, 7 a 8). Odezvy těchto enzymů byly velmi variabilní. Aktivita se zvýšila pouze u katalázy, což indikuje, že arsen způsobuje této kultuře oxidativní stres. S narůstající koncentrací arzeniu v médiu narůstala i aktivita katalázy. Žádná aktivita však nebyla detekovaná u nejvyšší koncentrace 60ppm. Kataláza je antioxidační enzym, který je aktivní hlavně při vyšších hodnotách



oxidativního stresu. Je schopna během jedné sekundy rozložit až miliony molekul  $H_2O_2$ . Zvýšenou aktivitu katalázy pod vlivem arsenu naměřili také například u brukve sítinovité /7/ či rajčete /8/. Aktivity peroxidáz a askorbátperoxidázy se po působení arsenu téměř nezměnily. U variant s nejvyšší koncentrací As (60 ppm) došlo dokonce ke statisticky průkaznému snížení jejich aktivity. Peroxidázy jsou enzymy, které také rozkládají  $H_2O_2$ . Je možné, že veškerý  $H_2O_2$  byl rozkládán pouze pomocí katalázy či jiných antioxidačních enzymů a antioxidačních molekul.



Graf 6, 7 a 8: Aktivity antioxidačních enzymů u kultury hairy roots *Armoracia rusticana* pod vlivem arsenu. CAT– kataláza, APX– askorbátperoxidáza, PEX– peroxidázy. Obsah arsenu v médiu 5ppm, 10ppm, 30ppm, 45ppm a 60ppm. Úsečky nad sloupci znázorňují směrodatné odchylky celkového obsahu sacharidů. Rozdílná písmena znamenají statisticky významný rozdíl na hladině  $\alpha=0,1$ ,  $n=5-7$ .



Graf 9: Obsah prolinu u kultury hairy roots *Armoracia rusticana* pod vlivem arsenu. Obsah arsenu v médiu 5ppm, 10ppm, 30ppm, 45ppm a 60ppm. Úsečky nad sloupci znázorňují směrodatné odchylky celkového obsahu sacharidů. Rozdílná písmena znamenají statisticky významný rozdíl na hladině  $\alpha=0,1$ ,  $n=5-7$ .

Proto byl také stanoven významný antioxidant – prolin. Jeho obsah se však zvýšil průkazně pouze u prvních třech ošetření arsenem - 5,10 a 30 ppm (Graf 9). Je tedy možné, že při nejvyšších koncentracích arsenu, kde se předpokládá, že je oxidativní stres velmi vysoký, působí jiné antioxidanty. Můžeme tak uvažovat, že právě sacharidy, které si udržují vysokou hladinu i při nejvyšším zatížení arsenem se mohou významně podílet na zhášení reaktivních forem kyslíku u hairy roots křene.

#### LITERATURA

- /1/ Flores HE. 1987. Use plant cells and organ culture in the production of biological chemicals. *Chemistry* 334:66 – 86.
- /2/ Guanqiu Q, Chongling Y, Haoliang L. 2007. Influence of Heavy Metals on the Carbohydrate and Phenolocs in Mangrove, *Aegiceras corniculatum* L., Seedlings. *Bull Environment Contam Toxicol* 78: 440 – 444.
- /3/ Jha AB, Dubey RS. 2005. Effect of arsenic on behaviour of enzymes of sugar metabolism in germinating rice seeds. *Acta physiologia plantarum* 27:341-347.
- /4/ Kim CG, Power SA, Bell JNB. 2003. Effect of kadmium and soil type on mineral nutrition and carbon partitioning in seedlings of *Pinus silvestris*. *Water, Air, and Soil Pollution* 145:253 – 266
- /5/ Mishra P, Dubey RS. 2008. Effect of aluminium on metabolism of starch and sugars in growing rice seedlings. *Acta Physiol Plant* 30:265 – 275.
- /6/ Sato K, Maitani T, Yoshihira K. 1991. Uptake of Arsenic by Cultured Hairy Roots of *Rubia tinctorum* from Liquid Medium. *J. Food Hyg. Soc. Japan* 5:414 – 419.
- /7/ Khan I, Ahmad A, Iqbal M. 2009. Modulation of antioxidant defence system for arsenic detoxification in Indian mustard. *Ecotoxicology and Enviromnetal Safety* 72: 626-634
- /8/Singh VK, Upadhyay RS . 2014. Effects of arsenic on reactive oxygen species and antioxidant defense system in tomato plants *Toxicological and Environmental Chemistry* 96:1374-1383

#### Poděkování

This work was supported by Grant No 1018216 Grant Agency of Charles University in Prague, and the grant of Czech ministry of education youth and sport LO 1417. Děkuji RNDr., Mgr. Petru Soudkovi, Ph.D. z Ústavu experimentální botaniky AVČR za pomoc při stanovení aktivit antioxidantních enzymů.

## THE ROLE OF METHYL JASMONATE DURING THE BIOTIC STRESS IN *MATRICARIA CHAMOMILLA L.*

### ***ROLE METHYLJSMONÁTU PŘI PŮSOBNÍ BIOTICKÉHO STRESU NA MATRICARIA CHAMOMILLA L.***

Zuzana Dučaiová, Martina Benáková, Šárka Moravcová, Jiří Tůma  
University of Hradec Kralove, Faculty of Science, Rokitanskeho 62, Hradec Kralove, 500 02, Czech  
Republic, zuzana.ducaiova@uhk.cz

#### *Summary*

The experiment was carried out to test the effect of methyl jasmonate (MJ) in plant resistance to polyphagous thrips (*Echinothrips americanus*). Diploid and tetraploid chamomile plants in stage of leaf-rosettes were pre-treated with 0.2 mM MJ and then co-cultivated with thrips for next 96 h. The accumulation of total phenols and flavonoids corresponded to the PAL enzyme activity. The highest enzymatic activity and the highest levels of phenols were observed in plants infected with thrips. MJ pre-treatment slightly decreased their values. Within the cultivars we noticed differences in the accumulation of monitored coumarins: (Z)- and (E)-GMCA, herniarin and umbelliferone. In diploids MJ ameliorated their accumulation caused by thrips. On the other hand, in tetraploids, their amounts increased. The amount of umbelliferone sharply increased in both cultivars which points to its role as a stress metabolite.

*Key words: biotic stress, Echinothrips americanus, Matricaria chamomilla, methyl jasmonate*

#### *Souhrn*

V pokusu je sledován účinek metyl-jasmonátu (MJ) v rezistenci rostlin k polyfágní třásněnce (*Echinothrips americanus*). Diploidní a tetraploidní rostliny heřmánku ve fázi listových růžic byly předem ošetřeny roztokem 0,2 mM MJ a poté byly společně kultivovány s třásněnkou po dobu 96 hodin. U rostlin byl sledován obsah celkových fenolů a flavonoidů, který korespondoval s PAL aktivitou enzymu. Nejvyšší enzymatická aktivita a nejvyšší hladiny fenolů byly pozorovány u rostlin infikovaných třásněnkami. Po předčištění MJ se mírně snížily jeho hodnoty. U sledovaných kultivarů jsme zjistili rozdíly v akumulaci sledovaných kumarinů: (Z) - a (E), -GMCA herniarin a umbelliferon. U diploidních rostlin se po aplikaci MJ zvýšila jejich koncentrace po působení třásněnky. Na druhé straně, u tetraploidů, se jejich množství zvyšuje. Množství umbelliferon u obou kultivarů svědčí o jeho roli jako stresového metabolitu, neboť jeho koncentrace se prudce zvýšila.

*Klíčová slova: biotický stres, metyl-jasmonát, Echinothrips americanus, Matricaria chamomilla*

## INTRODUCTION

Various fungal, bacterial and parasitic diseases degrade the quality of important medical herbs and crops. Use of protecting pesticides has a negative impact on the overall quality of the environment, which is why the need for effective and less harmful alternatives becomes actual problems. Plant hormones, such as salicylic acid, jasmonic acid (JA) and ethylene, play an important role in both local and systemic defence responses of plants. Application of JA and its derivatives is a widely used agent for the induction of resistance in number of plant species. In addition, volatile methyl jasmonate (MJ) can easily diffuse through the environment and affects more distant plants. Several experiments have demonstrated that exogenous application of JA or MJ stimulated resistant responses in plants not only against various bacterial and fungal diseases, but also to herbivory insects and nematodes. After insect attack in MJ pre-treated plants the

percentage of plant survival increased /1/, the number of eggs and larvae /2, 3/, or the degree of the mechanical feeding damage decreased /4/ was reduced.

*Echinothrips americanus* is a polyphagous thrip species that in a very short time occupy large areas of plants. Their original territory was east part of North America and their first European catch was recorded in 1989. Since then, this species infested greenhouses at least in 15 European countries. It can be easily recognize due to the white stripes pass across the chest and at the base of the wings. It has piercing-sucking mouthparts and feed on plant juices sucking from a wide range of host plants /5/. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) is a widely used in traditional herbal medicine thanks to a large number of therapeutically active compounds; such as sesquiterpenes, flavonoids, coumarins (herniarin and its glucosidic precursors (Z)- and (E)-2-β-d-glucopyranosyloxy-4-methoxycinnamic acid (GMCA); umbelliferone) and polyacetylenes /6/. Several papers, dealing with the changes of mentioned metabolites as a result of plant reaction to biotic stimuli, approved their involvement in plant defence processes /7, 8/. The aim of the present study was to evaluate the function of MJ as a signal molecule in regulation of insect-induced biosynthesis of secondary metabolite. The results of previous experiments and published works /7, 9/ pointed out that the impact of phytophagous insects or/and at the same time MJ increased the level of chamomile secondary metabolites. Since the used MJ concentration (0.4 mM) significantly affected the accumulation of the total phenols and coumarins, in our experiment we selected lower concentration, only 0.02 mM, for stimulation the defence processes.

## MATERIAL AND METHODS

Diploid and tetraploid cultivars of *M. chamomilla* L. (cv. 'Novbona' and 'Lutea') were used in all experiments. Leaves of eight week old plants (cultivated under the laboratory conditions: 60% humidity, 12-h photoperiod, 25/20 °C day/night) were hand sprayed with 0.02 mM aq. solution of MJ. After 72 h, 100 imagoes of *E. americanus* were released under the glass bells that covered the experimental plants and co-cultivated with plants for next 96 h. Thrips were collected from leaves of *Alocasia macrorrhiza* in greenhouse of the Botanical Garden UPJŠ in Košice with the use of pooter. Four different treatments were studied: control (C), treated with MJ (MJ), treated with thrips (S), and pre-treated with MJ followed with thrips (MJS). Leaf rosettes were cut at the soil level, washed in distilled water and divided into two parts. First part was used for analyses of total soluble phenols, flavonoids and activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) /9/. Second part was immediately dried at 105 °C to constant weight and used for HPLC analyses of coumarin-related compounds /9/. One-way analyses of variance (ANOVA) and Tuckey's test were used to evaluate the significance ( $P < 0.05$ ) of differences among results.

## RESULTS AND DISCUSSION

Priemerná During the experiment, any significant increment or drop of biomass compared to the control plants was record. MJ treated plants exhibited mild leaves curling with prolonged isolation inside a glass bell. Exposure to thrips led to the visible changes in plants. On a closer study, numerous silver or brownish diffuse spots were observed, which in older leaves changed into the necrotic lesions. This negative effect was in MJ pre-treated plants slightly reduced. A similar or even greater negative impact of thrips was recorded in the work of /7/, where authors used a significantly higher number of individuals (200 imagoes).

A variety of phenolic compounds have been identified as potent antioxidants in plants, and their biosynthesis was significantly stimulated under the stress conditions. The total content of soluble phenols (Figure 1A) rose sharply and maximum values were observed in plants infected with thrips. In case of flavonoids (Figure 1B), a similar trend of accumulation was observed. The addition of MJ before thrips influenced their negative impact only in tetraploid plants where a significant drop was monitored, but values were still higher compared to the control. The accumulation of flavonoids and phenols corresponded to the PAL enzyme activity (Figure 1C).

The highest enzymatic activity was observed in plants infected with thrips. MJ pre-treatment slightly decreased their values.

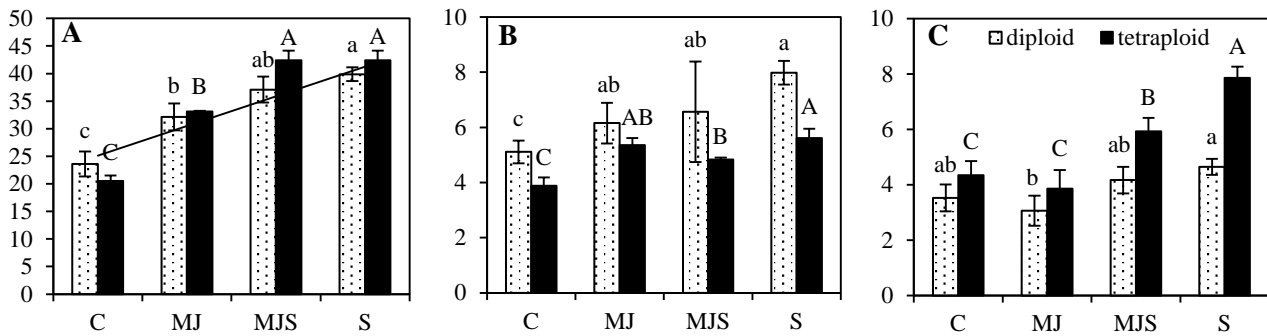


Figure 1: Effect of 0.2 mM MJ and *Echinothrips americanus* on (A) contents of total soluble phenols (mg g<sup>-1</sup> DW), (B) flavonoids (mg g<sup>-1</sup> DW) and (C) PAL activity (nmol t-CA min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> prot.). Data are means  $\pm$  SDs. Values within columns, followed by the same small or capital letter(s), are not significantly different according to Tuckey's test ( $P < 0.05$ ,  $n = 6$ ).

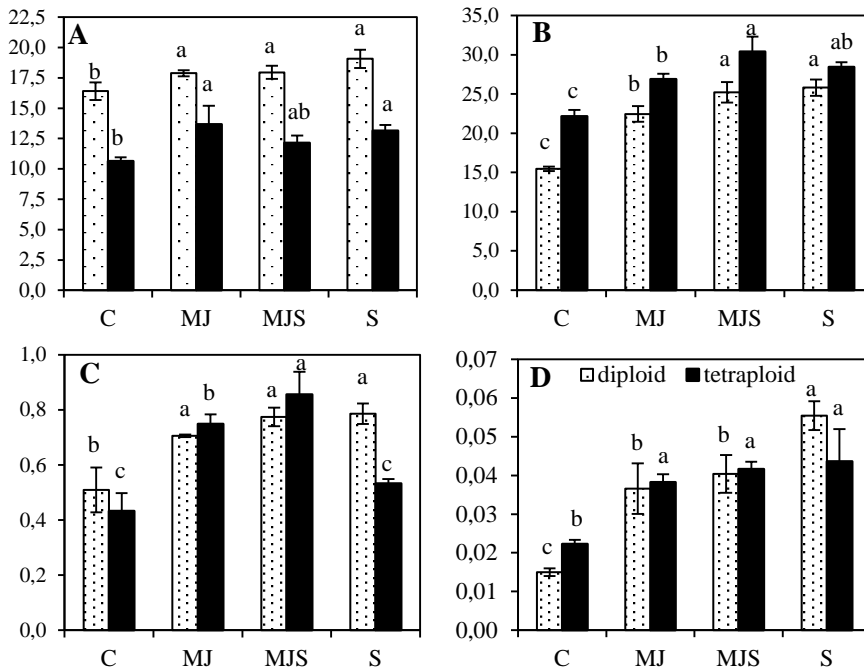


Figure 2: Effect of 0.2 mM MJ and *Echinothrips americanus* on studied coumarins (mg g<sup>-1</sup> DW). (A) (Z)-GMCA; (B) (E)-GMCA; (C) herniarin; (D) umbelliferone. Data are means  $\pm$  SDs. Results of statistics are as in Figure 1.

It is suggested that coumarins are due to their chemical structure (conjugated double bond, ester bond and a hydroxyl group) good antioxidants [10]. In our study, the treatment of thrips and MJ was variously reflected in the accumulation of coumarins and their glucosidic precursors (Figure 2) in both cultivars. In diploid plants infected with thrips we marked increment in all monitored coumarins with exception for (Z)-GMCA. MJ pre-treatment reduce their level, but significantly only in case of umbelliferone. MJ alone increased values of coumarin, but their levels still remained lower in comparison with other variants. The accumulation trend in tetraploid plants was similar only in case of (E)-GMCA and umbelliferone. For herniarin, the highest values were observed in variants containing MJ. Thrips themselves increased its value only minimally. This

parallel increase of GMCA as a glucoside and herniarin as its aglycone does not match the theory, which after damage of cellular compartment, monitored as an increment of malondialdehyde (data not shown), the enzyme  $\beta$ -glucose oxidase separates the GMCA and release the aglycone herniarin.

Repčák and Suvák /7/ monitored a significant coumarin accumulation not only due to thrips infection, but also due to the MJ treatment. Their values increased after MJ treatment also during ontogenetic development of leaves. From the above we can conclude that the used concentration may act more stressful than acclimation. Elevated levels of coumarins were also observed in chamomile plants infected with *Erypside cichoracearum* /8/. As in our study, as well as in previous experiments, a significant increase of umbelliferone was found. Coumarins containing a methoxy group, including umbelliferone, are commonly called phytoalexins - metabolites synthesized during the stress conditions.

## REFERENCES

- /1/ Tierranegra-García N, Salinas-Soto P, Torres-Pacheco I, et al (2011) Effect of foliar salicylic acid and methyl jasmonate applications on protection against pill-bugs in lettuce plants (*Lactuca sativa*). *Phytoparasitica* 39:137–144.
- /2/ Santos MCV dos, Curtis RHC, Abrantes I (2013) Effect of plant elicitors on the reproduction of the root-knot nematode *Meloidogyne chitwoodi* on susceptible hosts. *Eur J Plant Pathol* 136:193–202.
- /3/ Wu J, Wang L, Baldwin IT (2008) Methyl jasmonate-elicited herbivore resistance: does MeJA function as a signal without being hydrolyzed to JA? *Planta* 227:1161–1168.
- /4/ Heijari J, Nerg A-M, Kainulainen P, et al (2005) Application of methyl jasmonate reduces growth but increases chemical defence and resistance against *Hylobius abietis* in Scots pine seedlings. *Entomol Exp Appl* 115:117–124.
- /5/ Varga L, Fedor PJ (2008) First interception of the greenhouse pest *Echinothrips*. *Plant Prot Sci* 44:155–158.
- /6/ Franke R, Schilcher H (2005) *Chamomile: Industrial Profiles*. CRC Press
- /7/ Repčák M, Suvák M (2013) Methyl jasmonate and *Echinothrips americanus* regulate coumarin accumulation in leaves of *Matricaria chamomilla*. *Biochem Syst Ecol* 47:38–41.
- /8/ Repčák M, Imrich J, Franeková M (2001) Umbelliferone, a stress metabolite of *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert. *J Plant Physiol* 158:1085–1087.
- /9/ Dučaiová Z, Sajko M, Mihaličová S, Repčák M (2016) Dynamics of accumulation of coumarin-related compounds in leaves of *Matricaria chamomilla* after methyl jasmonate elicitation. *Plant Growth Regul* 79:81–94.
- /10/ Lee B-C, Lee SY, Lee HJ, et al (2007) Anti-oxidative and photo-protective effects of coumarins isolated from *Fraxinus chinensis*. *Arch Pharm Res* 30:1293–1301.

## Acknowledgement

This study was financially supported by Particular Research Program, University of Hradec Kralove, No. 2102/2016.

## SALICYLIC ACID AFFECTS THE COPPER TOXICITY IN CHAMOMILE PLANTS

### VLIV KYSELINY SALICYLOVÉ NA TOXICITU MĚDI U ROSTLIN HEŘMÁNKU

Šárka Moravcová, Zuzana Dučaiová, Martina Benáková, Jiří Tůma

Department of Biology, Faculty of Science, University of Hradec Králové, Nám. Svobody 301, 500 02 Hradec Králové, Czech Republic, sarka.moravcova@uhk.cz

#### Summary

The experiment was focused on the study of the effect of Cu on *Matricaria chamomilla* grown in the medium enriched with salicylic acid (SA). SA was added to the medium in two intervals, three days before or simultaneously with Cu treatment. Negative effect of Cu was expressed by the decrease in the biomass accumulation and chlorophyll fluorescence. Addition of SA to Cu medium led to the better growth, but it surprisingly stimulated the production of ROS. Strong accumulation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the roots, the place of primal contact with Cu, caused a significant damage of membrane lipids. The accumulation of all monitored coumarins ((Z)-GMCA, (E)-GMCA, herniarin and umbelliferone) was stimulated by Cu. SA alleviated their values, but they still remained higher in comparison with control values.

*Key words: abiotic stress, copper, salicylic acid, Matricaria chamomilla, coumarins*

#### Souhrn

V pokusu byl sledován vliv mědi na rostliny heřmánku pravého, které byly pěstovány v médiu obohaceném kyselinou salicylovou (SA). SA byla přidána do média ve dvou časových intervalech, tři dny před nebo současně s aplikací mědi. Negativní vliv Cu byl vyjádřen poklesem akumulace biomasy a fluorescence chlorofylu. Přídavek SA do média s mědí vedl k lepšímu růstu a překvapivě ke stimulaci produkce ROS. Silná akumulace H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> v kořenech, v místě primárního kontaktu s Cu, způsobila významné poškození membránových lipidů. Akumulace všech sledovaných kumarinů ((Z)-GMCA, (E)-GMCA, herniarin a umbelliferon) byla stimulována Cu. SA zmírnila jejich hodnoty, ale stále zůstává koncentrace vyšší ve srovnání s kontrolními hodnotami.

*Klíčová slova: abiotický stres, měď, kyselina salicylová, kumarin, Matricaria chamomilla*

## INTRODUCTION

Elevated levels of heavy metals in crop plants, including medicinal plants cultured for pharmaceutical purposes, has an important negative impact on human health. Copper (Cu) is an essential plant micronutrient, but it can be toxic at higher concentrations. It has received increasing attentions over the last few decades because of its use in chemicals for agricultural fungicides. Cu overdose inhibits root and shoot growth /1/, decreases chlorophyll and protein content. Being a redox-active metal, it generates reactive oxygen species which can result in a peroxidation of membrane lipids and stimulation of the synthesis of antioxidative compounds, such as peroxidases /2/, carotenoids, proline or phenols /3, 4/.

Salicylic acid (SA) is an important signalling molecule which can reduce the negative impact of various environmental stresses. Several studies have already proved that SA mitigates the effects of heavy metals on plants /5–7/. The results suggest that the SA treatment can ameliorate the toxicity of heavy metals both by high vacuolization in the cells and by membrane components

retention of the heavy metals ions /8/. However, in a concentration-dependent manner, SA application can also result in serious damage.

The objective of this study was to evaluate the amelioration of copper stress in chamomile plants by using of different treatment of salicylic acid.

## MATERIAL AND METHODS

Tetraploid variety ‚Lutea‘ of *Matricaria chamomilla* L. was cultivated 4 weeks in sand and subsequently 3 weeks in modified Hoagland solution under the controlled conditions (photoperiod 12 h/12 h with temperature 25°C/20°C, day/night). Medium was changed once a week. There were 5 variants: control (C); SA for 7 days (SA); Cu for 4 days (Cu); SA for 3 days and subsequently Cu for 4 days (SA+Cu); SA and Cu together for 4 days (Scu). SA was used in concentration 50 µM and Cu as CuCl<sub>2</sub> in concentration 60 µM.

Roots and leaf rosettes were analysed separately. The contents of chlorophylls, carotenoids, hydrogen peroxide and malondialdehyde (MDA) were analysed according to /9/. The chlorophyll fluorescence was measured in plants acclimatized in the dark for 30 min and expressed as a ratio of variable fluorescence to maximum fluorescence. Coumarins in the leaves were determined from a dry material (dried at 105 °C to constant weight) using HPLC with DAD detection /9/.

One-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test at the level  $P < 0.05$  were used for statistical analysis.

## RESULTS AND DISCUSSION

Cu toxicity generally causes an inhibition in plant growth and development, disturbances in chlorophylls synthesis showed as chlorosis or necrosis. Similarly as in works of /3, 10/, reduction of biomass was monitored in plants cultivated with Cu (Table 1). SA improved growth in Cu plants, but surprisingly it has opposite effect when it was added alone. During the cultivation brown roots were observed in all variants with Cu, but leaves did not show any signs of chlorosis, which was also demonstrated with no significant changes in the content of chlorophyll *a*, *b* or their sum (Table 1). Added SA even increased their values regardless of Cu presence in the medium. Contrarily, chlorophyll *a* fluorescence significantly decreased in all variants with Cu and SA pre-treatment ameliorated the negative effect of Cu. Carotenoids content slightly decreased only in Cu variant.

*Table 1: Changes in biomass accumulation (mg DW), photosynthetic pigments (mg g<sup>-1</sup> DW) and fluorescence in chamomile plants after exposure to different treatment. Data are means ± SDs. Values within each line followed by the same letter(s), are not significantly different according to Tuckey's test ( $P < 0.05$ ,  $n = 6$ ).*

|                      | C           | SA          | Cu           | SA+Cu        | Scu         |
|----------------------|-------------|-------------|--------------|--------------|-------------|
| Root biomass         | 6.8±0.9a    | 4.3±0.3bc   | 4.0±0.6c     | 5.9±0.7ab    | 5.63±0.5abc |
| Shoot biomass        | 24.9±0.9a   | 21.1±8.9a   | 22.5±9.7a    | 33.6±3.5a    | 23.6±3.6a   |
| Chlorophyll <i>a</i> | 19.9±4.1a   | 19.6±0.6a   | 21.1±3.7a    | 21.5±1.7a    | 22.4±2.7a   |
| Chlorophyll <i>b</i> | 8.8±1.9a    | 8.7±0.2a    | 9.4±1.6a     | 9.4±1.7a     | 9.7±2.7a    |
| Carotenoids          | 2.8±0.5a    | 3.0±0.6a    | 2.5±0.5a     | 2.9±.3a      | 2.9±0.4a    |
| Fluorescence         | 0.80±0.002a | 0.81±0.004a | 0.75±0.010bc | 0.76±0.0002b | 0.75±0.006c |

Cu-induced damage to plants was estimated by measuring H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and MDA contents in leaf and root tissues (Figure 1). Roots represent the place of primal contact with Cu so more pronounced generation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> here was as expected. Its content increased in all variants with Cu, with maximum in Scu variant. In leaves, the highest values were also in this variant. Increased level of MDA was reflected mainly in Cu and Scu variants. SA pre-treatment reduced MDA content to a value comparable to control. In leaves, slight, but not significant increase was



monitored in all variants with Cu in medium. Similar results found Mostofa and Fujita /10/, but also opposite accumulation trend was monitored /3/. Decrease in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and MDA after application of SA illustrated that SA could protect the plant cell against the oxidative stress and subsequent membrane lipid peroxidation by stimulating of synthesis of antioxidative enzymes /3, 11/.

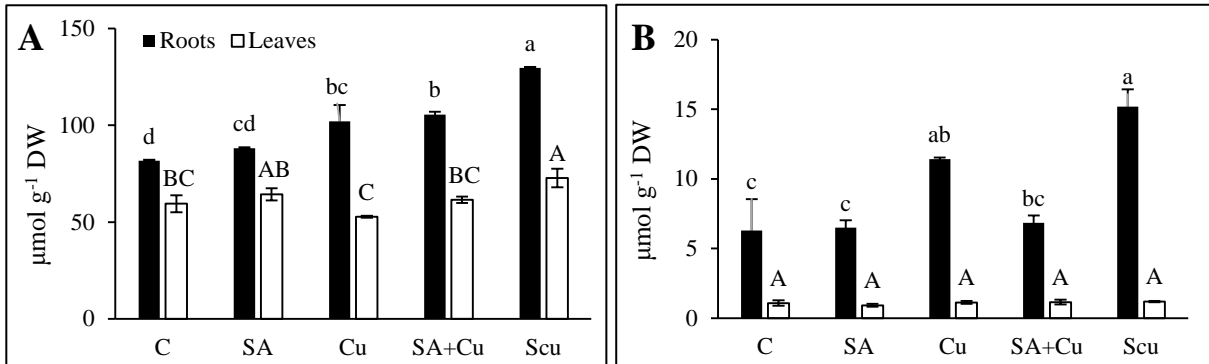


Figure 1: Accumulation of hydrogen peroxide (A) and MDA (B) in chamomile plants after exposure to different treatment. Data are means  $\pm$  SDs. Values within each column followed by the same small or capital letter(s), are not significantly different according to Tuckey's test ( $P < 0.05$ ,  $n = 6$ ).

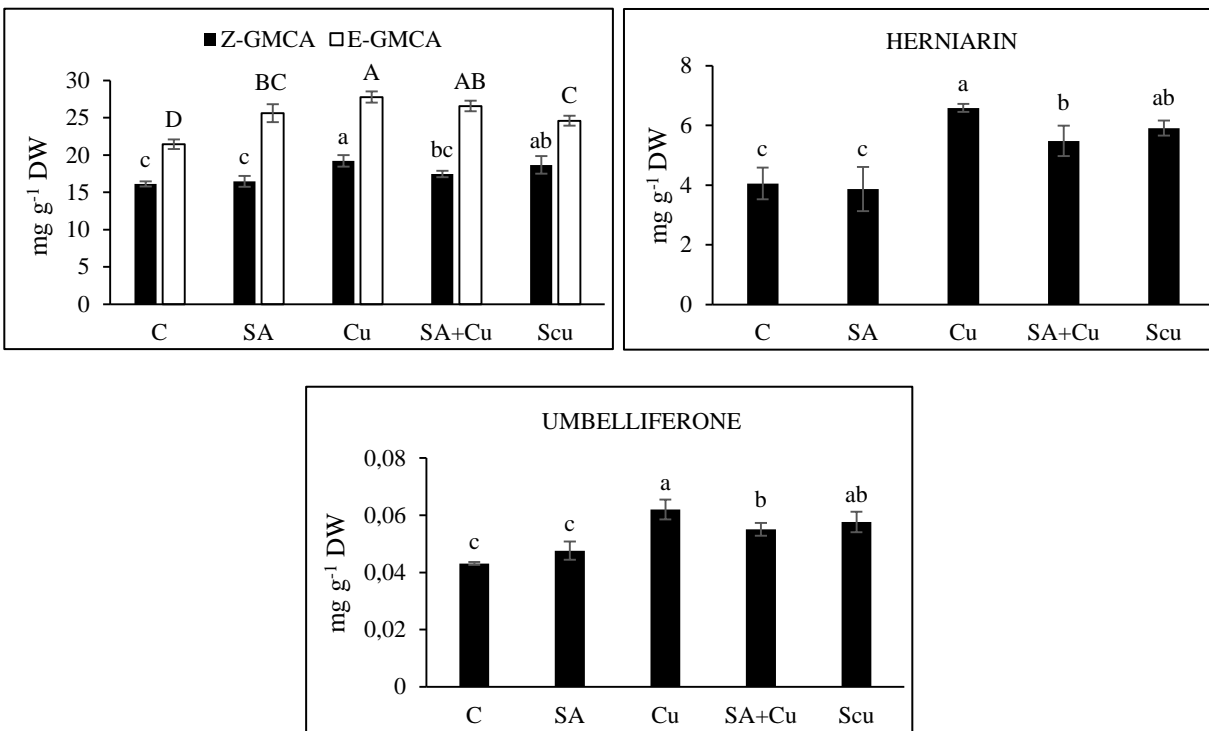


Figure 2: Accumulation of coumarins ( $\text{mg g}^{-1}$  DW) in leaves of chamomile plants after exposure to different treatment. Data are means  $\pm$  SDs. Results of statistics are as in Figure 1.

Several works show that among chamomile secondary metabolites greatly stimulated under the stress are mainly coumarins, such as (*Z*)- and (*E*)-2- $\beta$ -d-glucopyranosyloxy-4-methoxycinnamic acids (GMCA), herniarin and umbelliferone. Cu in the medium led to the increment of all monitored metabolites, with maximum in Cu variant (Figure 2). The addition of SA to Cu medium reduced their content, but not to the control values. SA alone has also stimulating effect, but significantly only in case of (*E*)-GMCA.

No works till now deal with the consequences of simultaneous effect of SA and heavy metal on these secondary metabolites. The study of /12/ reported only the accumulation of herniarin and GMCA which was not affected by the same concentration of SA, but was enhanced by higher dosage (250  $\mu$ M). Cd and Ni excess led to higher accumulation of phenolic acids, which were ameliorated after SA addition only in case of Cd /13/.

All these results suggest that salicylic acid can help the plants under stress copper stress.

## REFERENCES

- /1/ Yang Z, Chen J, Dou R, et al (2015) Assessment of the Phytotoxicity of Metal Oxide Nanoparticles on Two Crop Plants, Maize (*Zea mays* L.) and Rice (*Oryza sativa* L.). *Int J Environ Res Public Health* 12:15100–15109.
- /2/ Bouazizi H, Jouili H, Ferjani E (2007) Copper-induced oxidative stress in maize shoots (*Zea mays* L.): H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation and peroxidases modulation. *Acta Biol Hung* 58:209–218.
- /3/ Mei L, Daud MK, Ullah N, et al (2015) Pretreatment with salicylic acid and ascorbic acid significantly mitigate oxidative stress induced by copper in cotton genotypes. *Environ Sci Pollut Res* 22:9922–9931.
- /4/ Kováčik J, Klejdus B, Hedbavny J, et al (2010) Copper Uptake, Physiology and Cytogenetic Characteristics in Three *Matricaria chamomilla* Cultivars. *Water Air Soil Pollut* 218:681–691.
- /5/ Sinha P, Shukla AK, Sharma YK (2015) Amelioration of Heavy-Metal Toxicity in Cauliflower by Application of Salicylic Acid. *Commun Soil Sci Plant Anal* 46:1309–1319.
- /6/ Li XM, Ma LJ, Bu N, et al (2014) Effects of salicylic acid pre-treatment on cadmium and/or UV-B stress in soybean seedlings. *Biol Plant* 58:195–199.
- /7/ Kazemi N, Khavari-Nejad RA, Fahimi H, et al (2010) Effects of exogenous salicylic acid and nitric oxide on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in leaves of *Brassica napus* L. under nickel stress. *Sci Hortic* 126:402–407.
- /8/ Mingxuan Z, Yingbang L, Aiyun L, Xuewen Z (2015) Cadmium Toxicology to Cultured BY-2 Cells and the Relief Effects of Salicylic Acid to the Cadmium Toxicity. *Asian J Ecotoxicol* 10:224–229.
- /9/ Dučaiová Z, Sajko M, Mihaličová S, Repčák M (2015) Dynamics of accumulation of coumarin-related compounds in leaves of *Matricaria chamomilla* after methyl jasmonate elicitation. *Plant Growth Regul* 79:81–94.
- /10/ Mostofa MG, Fujita M (2013) Salicylic acid alleviates copper toxicity in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings by up-regulating antioxidative and glyoxalase systems. *Ecotoxicol Lond Engl* 22:959–973.
- /11/ Ding J, Xue Z, Yang C (2014) Effects of Exogenous Salicylic Acid on Copper-Mediated Membrane Lipid Peroxidation in Rice Seedlings. *Fresenius Environ Bull* 23:2245–2252.
- /12/ Kovacik J, Gruz J, Backor M, et al (2009) Salicylic acid-induced changes to growth and phenolic metabolism in *Matricaria chamomilla* plants. *Plant Cell Rep* 28:135–143.
- /13/ Kovacik J, Gruz J, Hedbavny J, et al (2009) Cadmium and Nickel Uptake Are Differentially Modulated by Salicylic Acid in *Matricaria chamomilla* Plants. *J Agric Food Chem* 57:9848–9855.

## Acknowledgement

This study was financially supported by Particular Research Program, University of Hradec Kralove, No. 2109/2016.

## **PRIEDUCHOVÉ CHARAKTERISTIKY KONTRASTNÝCH PROVENIENCIÍ BUKA LESNÉHO**

### ***STOMATAL CHARACTERISTICS OF CONTRASTING EUROPEAN BEECH PROVENANCES***

Alena Konôpková, Peter Petřík, Jaroslav Kmet', Daniel Kurjak

Technická univerzita vo Zvolene, Lesnícka fakulta, T. G. Masaryka 24, 960 01 Zvolen, Slovenská republika, alena.konopkova@tuzvo.sk

#### ***Summary***

The study is focused on the inter-provenances differences and geographical and climatic trends of stomatal characteristics of European beech. The experiment was conducted at provenance trial Tále in 2014. For 11 beech provenances with origin in contrasting altitudes, stomatal imprints using koloid method were taken. Stomatal imprints were used for measurement of basic characteristics, which are not influenced by daily dynamics: length stomata guard cell, stomatal density and potential conductance index. Results reveal that the size and number of stomata are largely influenced by the average annual precipitation of provenance origin. Size and number of stomata increased with the increasing precipitation. Similar trends were observed also for altitude, but only with marginal significance. Impact of temperature on stomata structure was not confirmed.

*Key words: stomatal characteristics, provenance research, European beech, drought*

#### ***Súhrn***

Práca je zameraná na sledovanie medziprovenienčných rozdielov a geografických a klimatických trendov prieduchových charakteristík buka lesného. Experiment bol realizovaný v roku 2014 na provenienčnej ploche Tále. Pre 11 proveniencií buka lesného s pôvodom v kontrastných nadmorských výškach, boli koloidovou metódou odobrané odtlačky prieduchov. Z odtlačkov boli stanovené charakteristiky, ktoré nepodliehajú dennej dynamike: dĺžka zatváracích buniek, hustota prieduchov a odvodený index potenciálnej vodivosti. Výsledky naznačujú, že veľkosť a množstvo prieduchov je ovplyvnené celkovým ročným úhrnom zrážok v mieste pôvodu. Ich množstvo a veľkosť totiž narastá so stúpajúcim množstvom zrážok. Podobné trendy boli pozorované aj pri nadmorskej výške, avšak len s marginálnou štatistickou významnosťou. Vplyv teploty v mieste pôvodu na štruktúru prieduchov nebol potvrdený.

*Kľúčové slová: prieduchové charakteristiky, provenienčný výskum, buk lesný, sucho*

## **ÚVOD**

Vplyvom klimatickej zmeny očakávame v nasledujúcich decéniách zvýšenie globálnych priemerov teplôt a zmeny v rozložení zrážok, ktoré sa prejaví predovšetkým v podobe dlhších období sucha v letných mesiacoch /1/. Základným mechanizmom, ktorým sú rastliny schopné kontrolovať svoju vodnú bilanciu, reagovať na sucho a optimalizovať priebeh fotosyntézy s dostupnou zásobou vody, sú prieduchy /2/. Prieduchové charakteristiky, akými sú hustota prieduchov, maximálna prieduchová plocha a prieduchový odpor sú ovplyvňované stavom okolitého ovzdušia, preto zmeny v hustote, rozložení a morfológii prieduchov môžeme považovať za dôležité znaky rastlín charakterizujúce ich stav v danom prostredí. Schopnosti vyšších rastlín prostredníctvom prieduchov regulovať výmenu vodných pár a CO<sub>2</sub> nie sú významné len z hľadiska

zvyšovania ich kompetičnej schopnosti, ale tiež z hľadiska rozširovania priestoru, v ktorom sú schopné rásť /3, 4/.

Pri momentálnych globálnych klimatických zmenách je teda výskum prieduchov veľmi aktuálny a navyše ide o pomerne ľahko merateľné veličiny s jednotnou metodikou merania. Získané poznatky by mohli napomôcť pri lepšej predikcii fyziologickej reakcie proveniencií na prenos, takisto pri výbere ekotypov tolerantných na sucho. Výsledky tiež môžu byť súčasťou podkladových informácií pre prípravu nových pravidiel získavania a použitia lesného reprodukčného materiálu. Hoci legislatíva na Slovensku zatiaľ prenos semenného materiálu neumožňuje, toto opatrenie je jedno z najčastejšie diskutovaných pri zmierňovaní dopadov zmeny klímy na lesné porasty.

## MATERIÁL A METÓDY

Rastlinný materiál bol zozbieraný na provenienčnej ploche Tále (48°38' s. z. š, 19°02' v. z. d., 810 m n. m.). Pre experiment bolo z celkového počtu 32 proveniencií vybraných 11 (Tab. 1). Hlavným kritériom pri výbere proveniencií bola nadmorská výška, pričom sme sa snažili rovnomerne pokryť celý rozsah výskytu buka.

Tab. 1 Geografické a klimatické charakteristiky pôvodných stanovišť jednotlivých proveniencií

|        | Názov proveniencie   | Krajina     | Zem. dĺžka | Zem. šírka | Nadm. výška | T <sub>MEAN</sub> | T <sub>5-9</sub> | Z <sub>MEAN</sub> | Z <sub>5-9</sub> |
|--------|----------------------|-------------|------------|------------|-------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|
| 17 UK  | Westfield (2002)     | Anglicko    | -3°25'     | 57°40'     | 10          | 8,23              | 12,70            | 671               | 303              |
| 26 DE  | Farchau (SH)         | Nemecko     | 10°40'     | 53°39'     | 55          | 8,33              | 15,00            | 678               | 319              |
| 30 DE  | Belzig               | Nemecko     | 12°25'     | 52°03'     | 140         | 8,57              | 15,56            | 558               | 282              |
| 05 FR  | Bretagne/08 Fougier. | Francúzsko  | 1°09'      | 48°22'     | 180         | 10,2              | 15,70            | 670               | 271              |
| 12 LX  | Gruenewald           | Luxembursko | 6°12'      | 49°40'     | 400         | 8,60              | 14,92            | 866               | 365              |
| 39 PL  | Jaworze/Bielsko2     | Poľsko      | 19°10'     | 49°50'     | 450         | 6,31              | 13,88            | 903               | 533              |
| 43 PL  | Jawornik, 92b        | Poľsko      | 22°49'     | 49°15'     | 900         | 6,34              | 14,12            | 762               | 433              |
| 53 SLO | Postojna Masun.      | Slovinsko   | 14°23'     | 45°38'     | 1000        | 7,53              | 14,38            | 1346              | 577              |
| 55 SLO | Postojna Javor.      | Slovinsko   | 14°21'     | 45°44'     | 1040        | 8,7               | 14,98            | 1345              | 586              |
| 36 AT  | Eisenerz             | Rakúsko     | 14°51'     | 47°32'     | 1100        | 2,94              | 9,96             | 1168              | 648              |
| 35 AT  | Hinterstoder         | Rakúsko     | 14°06'     | 47°43'     | 1250        | 2,35              | 9,20             | 1495              | 779              |

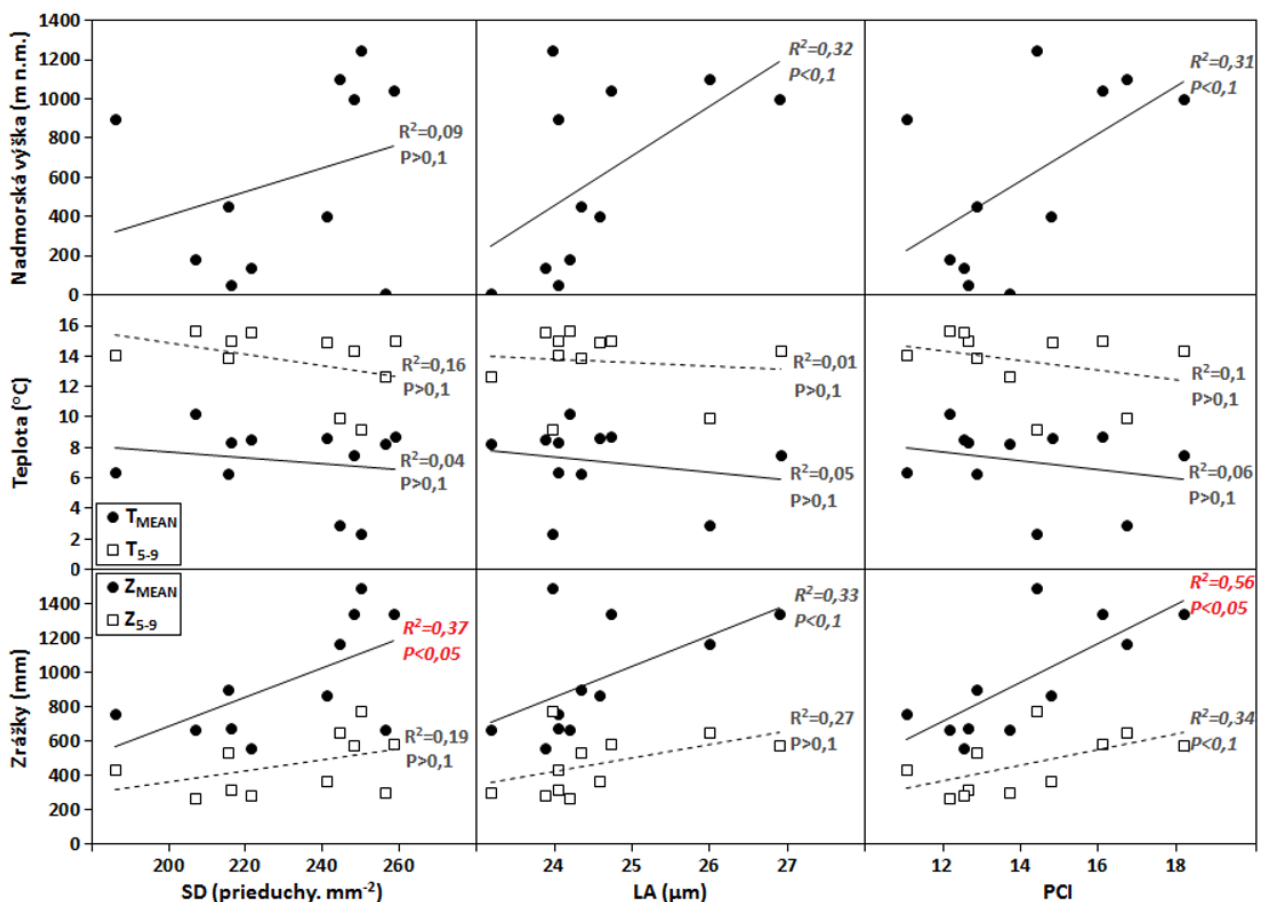
*T* = priemerná ročná teplota, *T*<sub>5-9</sub> = priemerná teplota počas vegetačnej sezóny (máj–september), *Z* = priemerný ročný úhrn zrážok, *Z*<sub>5-9</sub> = priemerný úhrn zrážok počas vegetačnej sezóny (máj–september)

Vzorky boli odoberané z dvoch blokov, spolu zo šiestich jedincov na provenienciu. Odoberali sme nezatienené listy z hornej časti koruny. Na spodnú stranu listov sme následne aplikovali priesvitný lak na nechty s lycrou. Po uschnutí laku (cca 10 minút), sme vrstvu laku prelepili priesvitnou lepiacou páskou, plynulým rýchlym pohybom strhli a nalepili na podložné sklíčko. Vzorky boli fotené mikroskopom Olympus BX50 prepojeným s fotoaparátom Canon DS126491 (Canon Inc., Japonsko) a ďalej spracované v programe NIS Elements AR 3.0 (Laboratory Imaging, Česká republika). Z odtlačkov prieduchov sme stanovili charakteristiky, ktoré nepodliehajú dennej dynamike a sú viac-menej stabilné počas celej vegetačnej sezóny: (i) hustota prieduchov (SD), ktorá bola stanovená pri zväčšení 20×10 na dvoch plochách 500×500 μm a prepočítaná na 1 mm<sup>2</sup> a (ii) dĺžka zatváracích buniek (*L*<sub>A</sub>), ktoré boli merané na 15 prieduchoch na jednom odtlačku pri zväčšení 40×10. Z uvedených charakteristík bol podľa nasledovného vzťahu odvodený potenciálny index vodivosti (PCI):  $PCI = L_A^2 \times SD \times 10^{-4} / 5$ .

Získané dáta boli štatisticky vyhodnotené pomocou programu Statistica 12 (StatSoft, USA).

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z korelačnej analýzy (Obr. 1) vyplýva, že existuje štatisticky významný vzťah medzi celkovým ročným úhrnom zrážok a hustotou prieduchov. Hustota prieduchov totiž narastá so zvyšujúcim sa množstvom zrážok v mieste pôvodu v priemere o cca 2% na 100 mm zrážok. Pri dĺžke zatváracích buniek sa potvrdil iba marginálne významný vplyv nadmorskej výšky a zrážok počas roka, pričom tieto trendy majú rastúcu tendenciu. Takisto významný alebo marginálne významný vzťah sa potvrdil medzi nadmorskou výškou, množstvom zrážok a indexom potenciálnej vodivosti. Keďže táto charakteristika je odvodená z hustoty prieduchov a dĺžky zatváracích buniek, vykazuje obdobné trendy ako tieto charakteristiky. Vplyv priemernej ročnej teploty a teploty počas vegetačnej sezóny na štruktúru prieduchov sa nepotvrdil ani v jednom prípade.



Obr. 1 Vzťahy medzi priemernými hodnotami meraných prieduchových charakteristik (SD, LA a PCI) a geografickými a klimatickými charakteristikami miesta ich pôvodu. Každý bod predstavuje priemernú hodnotu za provenienciu. Legenda:  $T_{MEAN}$  = priemerná ročná teplota,  $T_{5-9}$  = priemerná teplota počas vegetačnej sezóny (máj–september),  $Z_{MEAN}$  = priemerný ročný úhrn zrážok,  $Z_{5-9}$  = priemerný úhrn zrážok počas vegetačnej sezóny (máj–september)

Obdobne, viaceré štúdie potvrdili významný vzťah medzi nadmorskou výškou a prieduchovými charakteristikami u stromov /napr. 6, 7/. Tieto práce sa však zaoberali hodnotením uvedených parametrov na vertikálnom tranzekte v rámci jedného pohoria (Kordillery resp. Changabai). Štúdia zaoberajúca sa analýzou prieduchov na provenienčných plochách síce bola publikovaná /5/, ale autori sa zaoberajú medziročnými rozdielmi a na základe piatich

sledovaných proveniencií nemožno hodnotiť geografické trendy. Preto sme doposiaľ nepoznali odpoveď na otázku, či prieduchové charakteristiky sú ovplyvnené výhradne aktuálnymi podmienkami prostredia (aklimácia napr. na vyššie zrážkové úhrny a nižšie teploty vo vyšších polohách), alebo či podmienky prostredia vedú k adaptačným zmenám na úrovni populácií. Analýza variancie potvrdila (Tab. 2), že aj napriek tomu, že všetky proveniencie rástli na rovnakom stanovišti a teda vplyv prostredia bol rovnaký, štruktúra prieduchov je u nich odlišná. Syntézu prieduchov teda významne ovplyvňovalo miesto pôvodu jednotlivých proveniencií, pričom ako hlavný faktor ovplyvňujúci množstvo a veľkosť prieduchov sa javí celkový ročný úhrn zrážok v mieste pôvodu.

Tab. 2 Analýza variancie (*F*-testy a ich významnosť) parametrov SD, LA a PCI

| Efekt        | SD    |       | LA    |       | PCI   |       |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|              | F     | P     | F     | P     | F     | P     |
| Proveniencia | 42,22 | <0,05 | 12,98 | <0,05 | 30,42 | <0,05 |

## LITERATÚRA

- /1/ Schär C., Vidale P. L., Lüthi D., Frei C., Häberli C., Liniger M. A.: The role of increasing temperature variability in European summer heatwaves. *Nature*, 427(6972), 2004: 332–336.
- /2/ Casson S., Gray J. E.: Influence of environmental factors on stomatal development. *New Phytologist*, 178(1), 2008:9–23.
- /3/ Barber J. L., Thomas G. O., Kerstiens G., Jones K. C.: Current issues and uncertainties in the measurement and modelling of air-vegetation exchange and within-plant processing of POPs. *Environmental Pollution*, 128(1–2), 2004:99–138.
- /4/ Alves E. S., Moura B. B., Domingos M.: Structural analysis of *Tillandsia usneoides* L. exposed to air pollutants in São Paulo City–Brazil. *Water, Air and Soil Pollution*, 189 (1–4), 2007: 61–8.
- /5/ Stojnić S., Orlović S., Trudić B., Živković U., von Wuehlisch G., Miljković D.: Phenotypic plasticity of European beech (*Fagus sylvatica* L.) stomatal features under water deficit assessed in provenance trial. *Dendrobiology*, 73, 2015: 163–73.
- /6/ Holland N., Richardson A. D.: Stomatal length correlates with elevation of growth in four temperate species. *Journal of Sustainable Forestry*, 28 (1–2), 2009: 63–73.
- /7/ Wang R., Yu G., He N., Wang Q., Xia F., Zhao N., Xu Z., Ge J.: Elevation-related variation in leaf stomatal traits as a function of plant functional type: Evidence from Changbai Mountain, China. *PLoS ONE* 9 (12), 2014: e115395

## Pod'akovanie

Uvedená práca vznikla s finančnou podporou projektov APVV-0744-12, VEGA č. 2/0034/14 a KEGA č. 015TU Z-4/2014.

## VLIV FORMY A DÁVKY DUSÍKU NA BOTANICKÉ SLOŽENÍ EXTENZIVNÍHO TRÁVNÍKU

### *EFFECT OF NITROGEN FORM AND NITROGEN RATION ON THE BOTANICAL COMPOSITION OF EXTENSIVE TURF TYPE GRASSLAND*

Martin Lošák<sup>1,2</sup>, Magdalena Ševčíková<sup>2</sup>

<sup>1</sup> OSEVA PRO s.r.o., Výzkumná stanice travinářská Rožnov – Zubří, Hamerská 698, 756 54 Zubří, losak@oseva.cz

<sup>2</sup> OSEVA vývoj a výzkum s.r.o., Hamerská 698, 756 54 Zubří

#### *Summary*

The effects of type and rate of nitrogen fertilizer application on botanical composition were studied in extensive turf type grassland sown with a grass mixture (40% *Festuca rubra*, 30% *Lolium perenne* and 30% *Poa pratensis*) in the years 2007-2010. The field trial was set up in a randomized block design with three replicates at the Grassland Research Station in Zubří (49°27'57"N, 18°4'51"E, altitude: 345 m, annual rainfall: 865 mm, annual average temperature: 7.5 °C) in 2006. Fertilization treatments consisted of (i) three forms of nitrogen fertilizer: soluble, stabilized (with nitrification inhibitor), slow release nitrogen and unfertilized variant and (ii) two application rates: 50 and 100 kg N ha<sup>-1</sup> y<sup>-1</sup>. Statistically significant differences (P<0.05) were proved in the vegetation cover of *Lolium perenne*, *Poa pratensis* and not sowed species between the observed variations.

*Key words: extensive turf, grass mixture, N fertilization, botanical composition*

#### *Souhrn*

V letech 2007-2010 byl studován vliv formy a dávky dusíku na botanické složení extenzivního trávníku založeném travní směsí (40 % *Festuca rubra*, 30 % *Lolium perenne*, 30 % *Poa pratensis*). Polní pokus byl založen v roce 2006 metodou znáhodněných bloků ve třech opakováních ve Výzkumné stanici travinářské v Zubří (49°27'57"N, 18°4'51"E, nadmořská výška 345 m, srážkový normál 865 mm, průměrná roční teplota vzduchu 7,5 °C). Byly použity varianty hnojení (i) tři formy dusíkatých hnojiv: rychle rozpustné, se stabilizátorem (inhibitorem nitrifikace), s pomalým uvolňováním dusíku a nehnojená varianta, (ii) dvě aplikované dávky: 50 a 100 kg N.ha<sup>-1</sup>.rok<sup>-1</sup>. Mezi sledovanými variantami byly prokázány statisticky významné rozdíly (P<0.05) v pokryvnosti *Lolium perenne*, *Poa pratensis* a nevsetých druhů rostlin.

*Klíčová slova: extenzivní trávník, travní směs, N hnojení, botanické složení*

## ÚVOD

V zemědělské krajině, v parcích a městských oblastech v mnoha evropských zemích v reakci na hospodářské změny obecně docházelo a dochází ke zvyšování podílu neproduktivních travnatých ploch s extenzivním systémem ošetřování. Tyto travnaté plochy jsou často ošetřovány v low-input systému. Extenzivně ošetřované travní porosty výrazně přispívají k biologické rozmanitosti a kvalitě krajiny /10/, ale pro poskytnutí největšího prospěchu vyžadují k životnímu prostředí šetrné způsoby ošetřování. Genofond travních porostů je nenahraditelným přírodním zdrojem a jeho ovlivňování zemědělskou činností je jedním z nejstarších způsobů vlivu zemědělství na přírodu /8/. Cílem práce bylo zhodnotit vliv působení různých forem a dávek N hnojiv na pokryvnost jednotlivých složek extenzivního trávníku.

## MATERIÁL A METODA

Polyfaktoriální maloparcelkový pokus byl založen metodou znárodněných bloků ve třech opakováních v roce 2006 v Zubří (nadmořská výška 345 m, srážkový normál 865 mm, průměrná roční teplota vzduchu 7,5 °C). Velikost jednotlivých parcel činila 1,8 x 1,8 m. Pro výsevek bylo použito 25 g.m<sup>-2</sup> osiva travní směsi ve složení: *Lolium perenne* 30 % (směs 3 odrůd), *Festuca rubra* 40 % (směs odrůd reprezentujících 3 formy růstu – trsnatou, krátce výběžkatou a výběžkatou), *Poa pratensis* 30 % (směs 3 odrůd). Pokusnými faktory byly:

1. použitá forma dusíku v hnojivu: a) RN – N v rychlorozpustné formě s nitrátovým a amonným N s poměrem živin 15N-5P-20-K + mikroprvky, hnojivo Nitrophoska; b) SN – se stabilizátorem N (inhibitorem nitrifikace) s poměrem živin 14N-7P-17K + mikroprvky, hnojivo ENTEC; c) DN – N ve formě dlouhodobé (IBDU-kondenzát močoviny) s poměrem živin 16N-7P-15K + mikroprvky, hnojivo Floranid; d) K – kontrola (bez hnojení).

2. dávka dusíku za rok: a) 50 kg N.ha<sup>-1</sup> jednorázově v časném jarním období; b) 100 kg N.ha<sup>-1</sup> rozdělených do dvou dávek po 50 kg N.ha<sup>-1</sup> v časném jarním období a po 3. seči.

Hodnocení bylo prováděno v letech 2007-2010 ve variantách sečených 5x ročně, v nichž byla vždy před první sečí v 1. dekádě května hodnocena botanická skladba porostu metodou redukované projektivní dominance /4/. Vyhodnocení pokryvnosti (dominance) rostlin bylo prováděno vizuálně pohledem na porost shora, kolmo nebo mírně až středně šikmo; odhadované hodnoty pokryvnosti byly korigovány na celkovou pokryvnost 100 %. Hodnocena byla pokryvnost všech vyšetých druhů: *Lolium perenne* (jílek vytrvalý), *Festuca rubra* (kostřava červená), *Poa pratensis* (lipnice luční), pokryvnost nevyšetého – plevelného druhu s největším zastoupením: *Trifolium repens* (jetel plazivý) a pokryvnost všech ostatních nevyšetých druhů rostlin. Meteorologická charakteristika sledovaného období pro lokalitu Zubří: rok 2007 teplotně mimořádně nadnormální (odchylka od normálu +2,0 °C), srážkově normální (odchylka -10,8 mm), rok 2008 teplotně mimořádně nadnormální (odchylka +2,2 °C), srážkově podnormální (odchylka -86,5 mm), rok 2009 teplotně silně nadnormální (odchylka +1,5 °C), srážkově nadnormální (odchylka +104,4 mm), rok 2010 teplotně nadnormální (odchylka +0,7 °C), srážkově nadnormální (odchylka +258,5 mm). Výsledky byly zpracovány vícefaktorovou analýzou variance ANOVA v programu STATISTICA CZ 12 a statistická významnost rozdílů středních hodnot u všech porovnávaných skupin byla zhodnocena pomocí Tukeyova HSD testu na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky hodnocení vlivu formy a dávky dusíkatého hnojiva na botanickou skladbu extenzivního trávníku v letech 2007-2010 jsou uvedeny v tabulce 1. Protože hodnocení probíhalo bezprostředně v období po založení krajinného trávníku, které je charakteristické značnou změnou druhové skladby v počáteční fázi sukcese /3/, vyznačovala se získaná data vyšší mírou variability (hodnoty SD: *Lolium perenne* 7,90 %; *Festuca rubra* 8,18 %; *Poa pratensis* 7,66 %; *Trifolium repens* 13,54 %; nevyšeté druhy 14,05 %). V případě travního druhu *Lolium perenne* byla pokryvnost v nehnojené kontrolní variantě statisticky průkazně nižší než ve variantách RN<sub>100</sub> a SN<sub>100</sub>. Vliv použití hnojiva s dlouhodobě působícím N na pokryvnost *L. perenne* nebyl jednoznačně prokázán. Porovnáním varianty RN<sub>100</sub> s největší pokryvností (36 %) s kontrolní nehnojenou variantou s nejmenší pokryvností (28 %) lze vyvodit závěr, že zastoupení *L. perenne* v trávníkovém porostu je ovlivňováno zejména dávkou dusíkatého hnojení, kdy vyšší roční dávka N má pozitivní vliv na pokryvnost tohoto druhu, a zároveň byl zřejmý také pozitivní vliv hnojiva s rychle rozpustnou formou N na pokryvnost *L. perenne*. Podle /2/ je *L. perenne* druhem vyznačujícím se vyššími požadavky na živiny, zejména větší potřebou N. Jak zjistil /7/, počet odnoží je pozitivně ovlivněn hnojením N, kdy stupňovaná dávka N vyvolává zvýšení počtu fertálních odnoží u *L. perenne* až do celkové roční dávky 130 kg N.ha<sup>-1</sup>. I přes uvedené zjištění lze používání tohoto travního druhu ve směsích pro extenzivní trávníky, v nichž se předpokládá spíše



nižší úroveň výživy považovat za nezbytné, protože díky rychlému počátečnímu vývoji umožňuje vytvoření vhodných podmínek pro ostatní vyseté druhy a vyznačuje se velmi dobrou odolností vůči zátěži sešlapáváním /12/. Signifikantní rozdíly v pokryvnosti *Festuca rubra* mezi variantami N hnojení nebyly zjištěny, neprůkazně větší pokryvnost byla sledována ve variantě nehnojené (37 %) a ve variantě DN<sub>100</sub> (38 %). Použití dlouhodobě působících hnojiv v extenzivním trávníku má v případě kostravy červené výraznější vliv na produkci kořenné biomasy, zejména při použití dávky 100 kg N.ha<sup>-1</sup>.rok<sup>-1</sup> /6/. Jak uvádí /2/, jedná se o druh nenáročný na živiny, který je při nižší úrovni výživy konkurenčně velmi silný a může ostatní druhy z trávníku vytlačovat.

Tab. 1: Pokryvnost složek travní směsi stanovená metodou redukované projektivní dominance podle formy a roční dávky N hnojiva v kg.ha<sup>-1</sup> (průměry let 2007-2010)

| Varianta –<br>forma N<br>hnojiva | Varianta –<br>dávka N<br>hnojiva | Pokryvnost (%)            |                          |                          |                             |                  | Ostatní nevyseté<br>druhy |
|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------------|------------------|---------------------------|
|                                  |                                  | <i>Lolium<br/>perenne</i> | <i>Festuca<br/>rubra</i> | <i>Poa<br/>pratensis</i> | <i>Trifolium<br/>repens</i> |                  |                           |
| <b>K</b>                         | <b>0</b>                         | 28 <sup>b</sup>           | 37 <sup>a</sup>          | 10 <sup>c</sup>          | 16 <sup>bc</sup>            | 20 <sup>b</sup>  |                           |
| <b>RN</b>                        | <b>50</b>                        | 33 <sup>ab</sup>          | 33 <sup>a</sup>          | 10 <sup>c</sup>          | 16 <sup>bc</sup>            | 23 <sup>b</sup>  |                           |
| <b>RN</b>                        | <b>100</b>                       | 36 <sup>a</sup>           | 34 <sup>a</sup>          | 14 <sup>abc</sup>        | 10 <sup>ab</sup>            | 16 <sup>ab</sup> |                           |
| <b>SN</b>                        | <b>50</b>                        | 30 <sup>ab</sup>          | 33 <sup>a</sup>          | 13 <sup>bc</sup>         | 19 <sup>c</sup>             | 23 <sup>b</sup>  |                           |
| <b>SN</b>                        | <b>100</b>                       | 34 <sup>a</sup>           | 34 <sup>a</sup>          | 14 <sup>abc</sup>        | 12 <sup>abc</sup>           | 16 <sup>ab</sup> |                           |
| <b>DN</b>                        | <b>50</b>                        | 33 <sup>ab</sup>          | 35 <sup>a</sup>          | 15 <sup>ab</sup>         | 11 <sup>ab</sup>            | 16 <sup>ab</sup> |                           |
| <b>DN</b>                        | <b>100</b>                       | 33 <sup>ab</sup>          | 38 <sup>a</sup>          | 17 <sup>a</sup>          | 6 <sup>a</sup>              | 11 <sup>a</sup>  |                           |

Písmenné indexy znázorňují statisticky průkazné rozdíly zjištěné Tukey HSD testem na hladině významnosti  $\alpha=0,05$ .

Obecně nižší pokryvnost *Poa pratensis* v porovnání s jejím podílem ve vyseté travní směsi (30 %) odpovídá pomalejšímu počátečnímu vývoji tohoto druhu /5/. V travních směsích bývá ve vztahu k *P. pratensis* častým problémem vysoká konkurenční schopnost trsnatého druhu *L. perenne* /11/, avšak v pozdějších stádiích vývoje porostu jsou trsnaté druhy nahrazovány druhy výběžkatými, jako je např. *P. pratensis*, které se díky vegetativnímu způsobu rozmnožování v porostu postupně rozšiřují. Z hlediska vlivu formy N hnojení na pokryvnost *P. pratensis* byl zjištěn pozitivní vliv použití dlouhodobě působícího hnojiva, kdy ve variantách DN<sub>50</sub> a DN<sub>100</sub> byla pokryvnost statisticky průkazně větší než ve variantě nehnojené a variantě RN<sub>50</sub>. Pokryvnost nevysetému druhu *Trifolium repens* byla ve variantě DN<sub>100</sub> signifikantně nižší v porovnání s variantami RN<sub>50</sub>, SN<sub>50</sub> a nehnojenou kontrolní variantou. Z výsledků je zřejmá také tendence k nižší pokryvnosti tohoto druhu ve variantách RN a SN hnojených vyšší dávkou 100 kg N.ha<sup>-1</sup>. Podle /3/ mezi faktory snižující podíl *T. repens* v travním porostu patří vysoké a pravidelné hnojení N, nízký počet sečí v roce (vyšší nároky *T. repens* na světlo) a pozdní provedení 1. seče. Největší pokryvnost *T. repens* ze všech sledovaných variant byla zjištěna ve variantě SN<sub>50</sub> (19 %). *T. repens* je druhem vyznačujícím se vysokou konkurenční schopností, zejména v porostech založených na orné půdě /9/. Pozitivní vliv dlouhodobě působícího hnojiva byl zjištěn také v případě pokryvnosti ostatních nevysetých druhů. Pokryvnost této skupiny rostlin ve variantách RN<sub>50</sub>, SN<sub>50</sub> a nehnojené kontrolní variantě byla statisticky průkazně větší než ve variantě hnojené DN<sub>100</sub>, přičemž rozdíly v pokryvnostech činily 9-12 %. Také v tomto případě byl zřejmý trend většího zastoupení plevelných druhů ve variantách hnojených nižší dávkou N hnojiv. Na základě dosažených výsledků můžeme konstatovat, že hnojení extenzivního trávníku vyššími dávkami dlouhodobě působících hnojiv pomáhá omezovat rozvoj plevelných druhů v trávnících. Jak uvádí /1/, aplikace hnojiv s pomalým uvolňováním N přispívá rovněž ke snížení produkce nadzemní biomasy o přibližně 25 %. Použití těchto hnojiv také omezuje riziko jednorázového přehnojování

a růstové výkyvy trávnickového porostu. Při jejich použití je však nutno zohlednit vyšší pořizovací cenu, a proto lze předpokládat jejich využití především na plochách s vyššími pěstebními nároky.

#### LITERATURA

- /1/ Cagaš, B. *Zakládání a ošetřování krajinných trávníků a travnatých ploch veřejné zeleně: certifikovaná metodika*. Brno: SZÚZ, 2011. 66 s.
- /2/ Hrabě, F. et al. *Travníky pro zahradu, krajinu a sport*. Olomouc: Vydavatelství Petr Baštan, 2009. 335 s.
- /3/ Hrabě, F., Buchgraber, K. *Pícninářství – Travní porosty*. Brno: MZLU v Brně, 2004. 151 s.
- /4/ Kobes, M. *Fytoecologie a typologie travních porostů*. [on line]. České Budějovice: ZF JU, 2010. Učební text., [cit. 23.5.2016]. Dostupné z: <http://opr.zf.jcu.cz/docs/predmety/Lukarstvi-a-pastvinarstvi-8c054ff511.doc>
- /5/ Larsen, S. U., Andreassen, C., Kristoffersen, P. *Differential sowing-time of turfgrass species affects the establishment of mixtures*. *Crop Science*, 2004, roč. 44, č. 4. s. 1315-1322.
- /6/ Lošák, M., Ševčíková, M. Vliv N hnojení extenzivních trávníků na produkci nadzemní a podzemní biomasy. *Úroda: vědecká příloha*. 2010, roč. 58, č. 12. s. 509-512.
- /7/ Míka, V. et al. *Morfogeneze trav*. Praha: VÚRV, 2002. 200 s.
- /8/ Novák, J. *Pasienky, lúky a travníky*. Prievidza: Patria, 2008. 708 s.
- /9/ Opitz von Boberfeld, W. *Grünlandehre*. Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer, 1994. 336 s.
- /10/ Schüpbach, B. et al. Grassland and landscape aesthetics. In *Grassland Science in Europe: Land Use Systems in Grassland Dominated Regions*. Luzern: Organising Committee of the 20th General Meeting of the European Grassland Federation, 2004. s. 186-188.
- /11/ Sobotová, H., Svobodová, M., Šantrůček, J. Konkurenční vztahy jílku vytrvalého a lipnice luční v travních směsích. In *Travníky 2007*. Hrdějovice: Jana Lepičová – Agentura BONUS, 2007. s. 27-30.
- /12/ Ševčíková, M. Pro travníky používejme správné druhy a odrůdy. In *Travníkářská ročenka 2006*. Olomouc: Petr Baštan – vydavatelství. s. 41-49.

#### Poděkování

Uvedená práce vznikla za podpory MŠMT (projekt 2B06034) a za podpory MZe (Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity, Institucionální podpora na rozvoj výzkumné organizace).

## VPLYV KREMÍKA NA RASTOVÉ PARAMETRE A PEROXIDÁCIU LIPIDOV V MLADÝCH RASTLINÁCH KUKURICE STRESOVANÝCH ANTIMÓNOM

### *INFLUENCE OF SILICON ON THE GROWTH PARAMETERS AND LIPID PEROXIDATION IN YOUNG MAIZE PLANTS STRESSED BY ANTIMONY*

Ivana Fialová, Miroslava Vaculíková, Lenka Šimková, Barbora Sedláková, Miroslava Luxová  
Botanický ústav Slovenskej akadémie vied, Dúbravská cesta 9, 841 05 Bratislava, ivfiala@gmail.com

#### *Summary*

The effects of different concentrations (10 mg.L<sup>-1</sup> and 50 mg.L<sup>-1</sup>) of Sb<sup>3+</sup> and possible ameliorative effect of added silicon (5mM) on growth parameters, leaf relative water content and content of malondialdehyde (MDA) were investigated in hydroponically grown *Zea mays* L. hybrid Valentina. The results indicated that the growth of maize seedlings was inhibited under treatment with 10 mg.L<sup>-1</sup> Sb<sup>3+</sup>. Maize seedlings exposed to 50 mg.L<sup>-1</sup> Sb<sup>3+</sup> exhibited significant growth reduction. The effect of Sb on the MDA rising content was obvious in the seedlings treated with both concentration of Sb. The addition of silicon to growth medium significantly improved not only a growth paramaters, but also lipid peroxidation in the stressed plants. In the case of antimony as a stressor, the positive effect of 5 mM silicon in the treatment was confirmed.

*Key words:* : antimony, growth parameters, maize (*Zea mays* L.), lipid peroxidation, silicon, relative water content

#### *Súhrn*

Sledovali sme vplyv dvoch koncentrácií antimónu (10 mg.l<sup>-1</sup> a 50 mg.l<sup>-1</sup>) a prípadný pozitívny vplyv pridaného kremíka (5 mM) na rastové parametre, relatívny obsah vody v listoch a peroxidáciu lipidov v hydroponicky pestovaných rastlinách kukurice siatej (*Zea mays* L.) hybrid Valentina. Zistili sme spomalenie rastu pri oboch použitých koncentráciách, signifikantne pri koncentrácii 50 mg.l<sup>-1</sup> Sb. Antimón spôsobil nárast obsahu MDA pri oboch použitých koncentráciách. Po pridaní Si (5 mM) do živného média s Sb, došlo v sledovaných rastlinných orgánoch stresovaných rastlín k zlepšeniu rastových parametrov, rovnako ako k poklesu peroxidácie lipidov. V prípade vybraných koncentrácií antimónu sme potvrdili pozitívny vplyv pridaného kremíka na ovplyvnené rastliny.

*Kľúčové slová:* antimón, kremík, kukurica siata (*Zea mays* L. ), peroxidácia lipidov, rastové parametre, relatívny obsah vody

## ÚVOD

Riziko Jedným z potenciálnych kontaminantov životného prostredia je antimón. Nemá esenciálnu biologickú úlohu a vo zvýšenej koncentrácii je toxický. Prirodzeným zdrojom Sb je zvetrávanie hornín a vulkanická činnosť, vo väčšom množstve sa Sb dostáva do životného prostredia antropogénnou činnosťou. Pre Slovensko sú najvýznamnejším zdrojom vysoké ložiskové koncentrácie tohto prvku v horninovom prostredí /6/. Za stresových podmienok rastliny produkujú vo zvýšenej miere aktívne formy kyslíka, ktoré sú pre ne škodlivé, zasahujú rast aj metabolizmus rastliny. Rastliny disponujú veľmi efektívnym enzymatickým a neenzymatickým obranným systémom, ktorý kontroluje oxidáciu a chráni tak rastlinné bunky pred poškodením /3/. Malondialdehyd (MDA) sa všeobecne pokladá za marker peroxidácie lipidov. Tvorí sa pri

autooxidácii a enzymatickej degradácii polyneenasýtených mastných kyselín membrán v bunkách. Kremík (Si) je druhý najrozšírenejší prvok zemskej kôry. Pre vyššie rastliny nie je považovaný za esenciálny, ale bol dokázaný jeho pozitívny vplyv na zdravý rast a vývoj mnohých rastlinných druhov /1/. Účinne zmiernuje vplyv rozličných abiotických (Mn, Al, zasolenie, sucho a i.) aj biotických stresorov, ale mechanizmus pôsobenia nie je dosiaľ objasnený.

## MATERIÁL A METÓDY

Sterilizované semená kukurice siatej (*Zea mays* L. hybrid Valentina) sme po naklíčení pestovali hydroponicky v Hoaglandovom /4/ živnom roztoku v nasledovných variantoch: 1.– 0 (kontrola), 2.– 10 mg.l<sup>-1</sup> Sb, 3.– 50 mg.l<sup>-1</sup> Sb, 4.– 5 mM Si, 5.– 10 mg.l<sup>-1</sup> Sb + 5 mM Si, 6.– 50 mg.l<sup>-1</sup> Sb + 5 mM Si. Rastliny sme pestovali v rastových komorách v kontrolovaných podmienkach – 16/8 h fotoperiódou pri svetelnej intenzite 300 μmol m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> a teplote 24/22°C deň/noc. Gravimetricky sme stanovili rastové parametre: hmotnosť čerstvej a suchej biomasy, ďalej sme stanovili dĺžku koreňov, listovú plochu. Spektrofotometricky sme zistili obsah MDA metódou podľa Hodges et al. (1999) /5/.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

V mladých 12 dňových rastlinách kukurice, hybridu Valentina, sme zaznamenali negatívnu zmenu v sledovaných rastových parametroch vo variantoch pestovaných s antimónom (10 mg.l<sup>-1</sup> Sb, 50 mg.l<sup>-1</sup> Sb). Zároveň sme zistili pozitívny účinok pridaného Si (5mM) na rastové parametre pri koreni (tab. 1). Pri parametroch dĺžka koreňa a čerstvá hmotnosť sme zistili štatisticky významné zlepšenie po pridaní Si do média, a to pri oboch koncentráciách Sb. Výraznejšie zlepšenie sa prejavilo pri vyššej koncentrácii – 50 mg.l<sup>-1</sup> Sb. V nadzemnej časti sme po pridaní Si do média pozorovali štatisticky významné zvýšenie parametra čerstvej hmotnosti, aj sušiny, opäť pri oboch koncentráciách Sb (tab. 1). Antimón v médiu spôsobil zníženie relatívneho obsahu vody (RWC) v listoch. Po pridaní Si do živného média s antimónom sme zistili štatisticky preukazné zvýšenie hodnôt tohto parametra (tab. 1). V experimentoch s kukuricou Liang a kol. (2005) /7/ zistili, že pri rastlinách pestovaných v prítomnosti Cd sa zmenšila sušina koreňov aj nadzemnej časti a po pridaní Si sa biomasa signifikantne zvýšila.

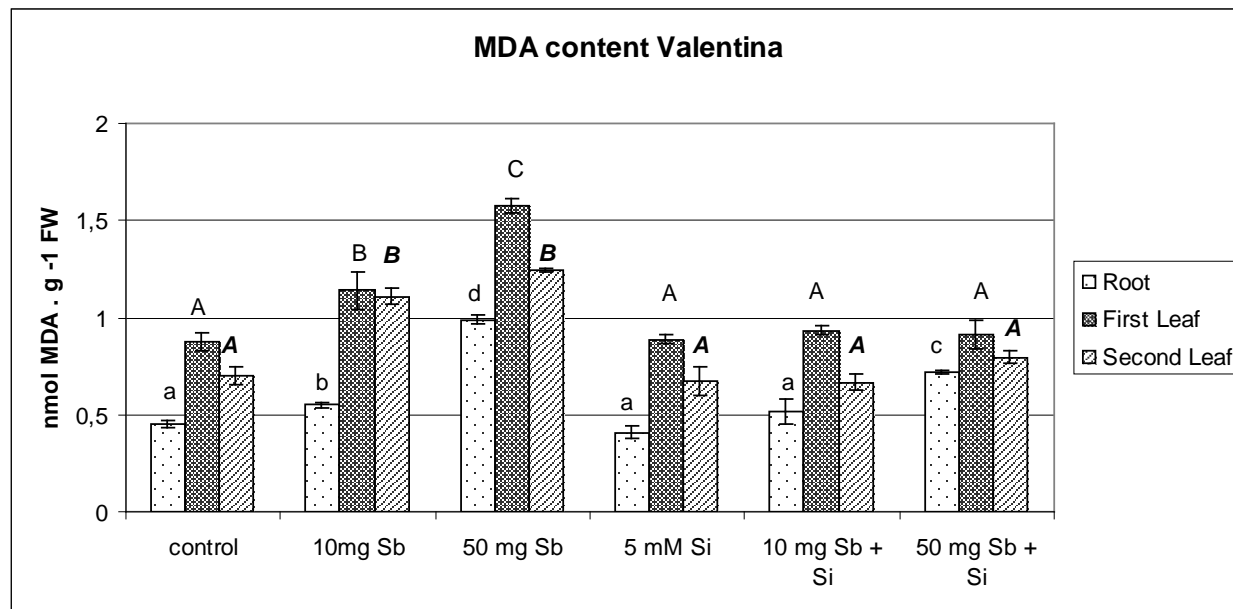
Tab.1: Vplyv antimónu na vybrané fyziologické parametre mladých rastlín kukurice hybridu Valentina

| Treatments  | RWC (%)         | FW shoot (g/plant) | DM shoot (g/plant) | FW root (g/plant) | DM root (g/plant) | Root lenght (cm) |
|-------------|-----------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| control     | 99,07 ± 0,44 c  | 1,77 ± 0,10 e      | 0,12 ± 0,0065 d    | 0,86 ± 0,08 ab    | 0,048 ± 0,0039 a  | 17,47 ± 1,37 cd  |
| 10 mg Sb    | 98,67 ± 0,41 bc | 1,35 ± 0,12 c      | 0,11 ± 0,0086 c    | 0,85 ± 0,09 ab    | 0,053 ± 0,0041 b  | 17,05 ± 1,39 c   |
| 50 mg Sb    | 97,36 ± 0,83 a  | 0,79 ± 0,08 a      | 0,08 ± 0,0081 a    | 0,78 ± 0,08 a     | 0,057 ± 0,0041 c  | 14,75 ± 1,16 a   |
| 5 mM Si     | 99,16 ± 0,29 c  | 1,73 ± 0,11 e      | 0,12 ± 0,0079 d    | 0,81 ± 0,11 ab    | 0,045 ± 0,0039 a  | 17,43 ± 1,77 cd  |
| 10 mg Sb+Si | 99,08 ± 0,28 c  | 1,48 ± 0,09 d      | 0,11 ± 0,0058 c    | 0,99 ± 0,07 c     | 0,049 ± 0,0035 ab | 17,97 ± 1,68 d   |
| 50 mg Sb+Si | 98,33 ± 0,33 b  | 1,00 ± 0,10 b      | 0,09 ± 0,0067 b    | 0,87 ± 0,12 b     | 0,057 ± 0,0058 c  | 16,28 ± 1,14 b   |

Relatívny obsah vody (RWC), čerstvá hmotnosť nadzemnej časti (FW shoot), sušina nadzemnej časti (DM shoot), čerstvá hmotnosť koreňov (FW root), sušina koreňov (DM root), dĺžka koreňov. Údaje zodpovedajú príslušným hodnotám ± SD. Rozdielne písmená nasledujúce po hodnotách v rovnakom stĺpci poukazujú na hladiny významnosti rozdielov pri  $P < 0,05$

Vo všetkých sledovaných rastlinných orgánoch ovplyvnených rastlín sme zaznamenali zvýšený obsah MDA v porovnaní s kontrolou. Po pridaní Si do živného média s Sb, vyššou aj nižšou koncentráciou, sme zistili štatisticky preukazné zníženie obsahu MDA, čo poukazuje na pozitívny vplyv kremíka pri ochrane stability bunkových membrán pri nami navodenom strese (graf 1). Zvýšený obsah MDA v ryži a kukurici, ktoré boli pestované v podmienkach s antimónom,

zaznamenali aj iní autori /2, 8/. Výsledky získané z porovnávania rastových parametrov potvrdzujú náš predpoklad, že kremík znížil negatívny vplyv antimónu. Rovnako aj zmeny hladiny MDA prispeli k potvrdeniu predpokladu o pozitívnom vplyve kremíka. Pokles hladiny MDA nastal u variantov kultivovaných v médiu s antimónom spolu s kremíkom, v porovnaní s rastlinami kultivovanými len s antimónom (oboma koncentraciami).



Graf. 1 Obsah MDA (nmol MDA. g<sup>-1</sup> FW) v mladých rastlinách kukurice siatej hybridu Valentina v jednotlivých variantoch pokusu. Dáta predstavujú priemerné hodnoty ± SD (n=3) Písmená vyjadrujú signifikantné rozdiely medzi variantami s hladinou významnosti 0,05 (P<0,05)

## LITERATÚRA

- /1/ Koga, D., Mitsutomi, M., Kono, M. et al.: Biochemistry of chitinases. Jollés, P., Muzzarelli, R. A. A.: Chitin and chitinases. Basel : Birkhäuser, 1999: 111-123.
- /2/ Schraudner, M., Ernst, D., Langebartels, Ch. et al.: Biochemical plant responses to ozone : III. Activation of the defense-related proteins β-1,3-glucanase and chitinase in tobacco leaves. Plant Physiology, 99, 1992: 1321-1328.
- /3/ De Los Reyes, G., Taliaferro, M., Anderson, P.: Induced expression of the class II chitinase gene during cold acclimation and dehydration of bermudagrass (Cynodon sp.). Theoretical and Applied Genetics, 103, 2001: 297-306.
- /4/ Xu, F., Fan, Ch., He, Y.: Chitinases in Oryza sativa ssp. japonica and Arabidopsis thaliana. Journal of Genetics and Genomics, 34, 2007: 138-150.
- /5/ Mészáros, P., Rybanský, L., Hauptvogel, P. et al.: Cultivar-specific kinetics of chitinase induction in soybean roots during exposure to arsenic. Molecular Biology Reports, 40, 2013: 2127-2138.
- /6/ Békésiová, B., Hraška, Š., Libantová, J. et al.: Heavy metal stress induced accumulation of chitinase isoforms in plants. Molecular Biology Reports, 35, 2008: 579-588.
- /7/ Rivera-Becerill, F., Metwally, A., Martin-Laurent, F. et al.: Molecular responses to cadmium in roots of *Pisum sativum* L. Water, Air, and Soil Pollution, 168, 2005: 171-186.
- /8/ Hurkman, W.J., Tanaka, C.K.: Solubilization of plant membrane proteins for analysis by two-dimensional gel electrophoresis. Plant Physiology, 81, 1986: 802-806.
- /9/ Pan, S.Q., Ye, X.S., Kuc, J.: A technique for detection of chitinase, β-1,3-glucanase and protein patterns after a single separation using polyacrylamide gel electrophoresis or isoelectrofocusing. Phytopathology, 81, 1991: 970-974.
- /10/ Zur, I., Golebiowska, G., Dubas, E., Golemiec, E., Matušíková, I., Libantová, J., Moravčíková, J.: β-1,3-glucanase and chitinase activities in winter triticales during cold hardening and subsequent infection by *Microdochium nivale*. Biologia (Poland), 68, 2013: 241-248.

**Pod'akovanie**

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory grantovej agentúry VEGA, grant 1/0817/12 a 2/022/13.

## STANOVENIE AKTIVITY STRESOVÝCH PROTEÍNOV (PR-3) CHITINÁZ – POROVNANIE METODÍK

### *DETERMINATION OF THE ACTIVITY OF STRESS PROTEINS (PR-3) CHITINASES – COMPARISON OF METHODOLOGIES*

Patrik Mészáros, Zuzana Gregorová

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

#### *Summary*

Chitinases are considered to be a stable component of plant defense against heavy metals. Data on their activity are not yet complete, since relate enzymatic activities at selected concentrations of metals. The work was aimed at the study of activity of defense enzymes chitinases in roots of soybean exposed to a wide concentration range of cadmium, through their separation on polyacrylamide gels as well as fluorimetric determination of their content. After electrophoretic separation we identified in soybean roots 4 isoforms of chitinases with various reaction to the applied doses of cadmium, predominantly with increased activity. The fluorimetric determination of chitinase content in soybean roots confirmed their elevated activity to cadmium. Simultaneously, we pointed to the reliability and comparability of the results acquired by both methods, while there appeared differences only in the rate of increase of enzyme activity.

*Key words: soybean, cadmium, PR-proteins*

#### *Súhrn*

Chitinázy predstavujú stabilnú zložku rastlinnej obrany pri raste v prítomnosti ťažkých kovov. Údaje o ich aktivite však nie sú doteraz kompletne, nakoľko sa týkajú väčšinou len enzymatických aktivít pri vybraných koncentráciách kovov. Práca bola zameraná na štúdium aktivity obranných enzýmov chitináz v koreňoch sóje vystavených širokej koncentračnej škále kadmia a to pomocou ich separácie na polyakrylamidových géloch ako aj fluorimetrickým stanovením ich obsahu. V koreňoch sóje sme po elektroforetickom delení identifikovali 4 izoformy chitináz, ktoré reagovali na prítomnosť aplikovaných dávok kadmia veľmi odlišne, predovšetkým však so zvýšenou akumuláciou. Fluorimetrickým stanovením obsahu chitináz v koreňoch sme potvrdili ich zvýšenú celkovú aktivitu na kadmium. Zároveň sme poukázali na to, že výsledky získané obidvoma metódami sú spoľahlivé a porovnateľné, pričom rozdiely sme zistili iba v miere nárastu enzymovej aktivity.

*Kľúčové slová: sója, kadmium, PR-proteíny*

## ÚVOD

Jednou z odpovedí rastlín na toxicitu ťažkých kovov je aj syntéza špecifických proteínov, ktoré sú reprezentované medzi inými aj PR-proteínmi (proteíny spojené s patogenézou). Objektom nášho záujmu sú rastlinné chitinázy patriace do skupiny PR-3 proteínov. Jedinečné fyzikálne vlastnosti týchto enzýmov – široké pH optimum (4 - 9), stabilita pri vysokých teplotách (do 50 °C), odolnosť voči proteázam /1/ – a ich prítomnosť takmer vo všetkých organizmoch naznačujú ich dôležitú úlohu v obrane voči environmentálnym stresom aj pri rôznych endogénnych procesoch v rastlinách /2/. Podieľajú sa napr. na vývine rastlín vrátane embryogenézy a morfogénézy, ďalej na regulácii tvorby signálnych molekúl ako aj na programovanej bunkovej smrti /3/. Z hľadiska obranných mechanizmov je významná ich úloha v obrane rastlín predovšetkým voči patogénom, kde hydrolyzujú chitín bunkovej steny húb /4/. V niektorých

prácach však už bola naznačená aj ich špecifická úloha v obrane rastlín voči abiotickým typom stresu vrátane ťažkých kovov /5, 6/. Zmenenú aktivitu niektorých izoform chitináz v rastlinách vystavených účinkom rôznych ťažkých kovov pozorovali viacerí autori /5, 6, 7/, pričom sa zistilo, že ich aktivita závisí od rastlinného druhu ako aj typu a koncentrácie aplikovaného kovu /6, 7/. Rýchlosť a amplitúda ich aktivácie zrejme vplýva na obranný potenciál rastlín pri vystavení účinkom ťažkých kovov /7/. Iní autori pozorovali, že niektoré izoformy chitináz sa pri vysokých dávkach kovov syntetizujú *de novo* /6/. Doteraz však nie je objasnené, či tieto izoformy zohrávajú úlohu pri samotnej obrane voči kovu, alebo pri iných procesoch ako napr. apoptóze.

V práci sa zameriavame na stanovenie aktivity obranných enzýmov chitináz v koreňoch sóje fazuľovej vystavených toxickým vplyvom rôznych koncentrácií kadmia, a to pomocou dvoch principiálne odlišných metód.

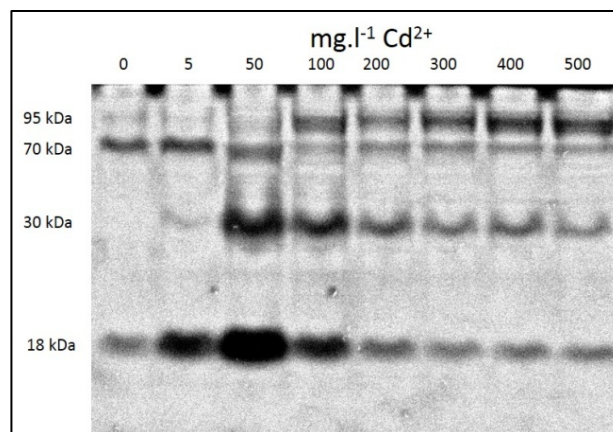
## MATERIÁL A METÓDY

Korene testovanej odrody sóje fazuľovej (*Glycine max* L. MERLIN) sme vystavili účinkom širokej koncentračnej škály kadmia (0 – 500 mg.l<sup>-1</sup> Cd<sup>2+</sup>) aplikovaného vo forme roztokov CdCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O. Chitinázovú aktivitu v proteínových extraktoch koreňov /8/ sme detekovali pomocou polyakrylamidových gélov (SDS PAGE) podľa /9/ ako aj spektrofotometricky podľa /10/. Intenzitu proteínových pásov (bandov) na polyakrylamidovom géle zodpovedajúcej miere akumulácie chitináz sme vyhodnotili softvérom Scion Image 4.

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

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

V koreňoch testovanej odrody sóje vystavených rôznym koncentráciám kadmia sme pomocou polyakrylamidových gélov detekovali 4 izoformy enzýmov chitináz, ktorých aktivita sa zreteľne menila v závislosti od koncentrácie aplikovaného ťažkého kovu (Obr.1).

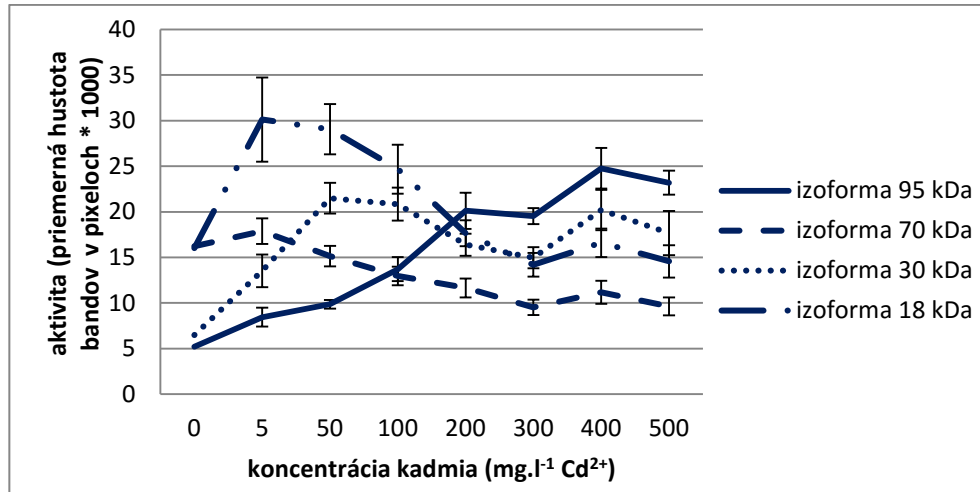


Obr. 1: Detekované izoformy enzýmov chitináz v proteínových extraktoch koreňov sóje fazuľovej stresovaných širokou koncentračnou škálou kadmia po separácii na polyakrylamidových géloch.

Izoformy chitináz detekované v rámci našich experimentov boli pôsobením zvyšujúcej sa koncentrácie kadmia najčastejšie významne aktivované (izoformy 30 a 95 kDa;  $P \leq 0,001$ ), a to až o 475 % v porovnaní s kontrolou (izoforma 95 kDa pri 400 mg.l<sup>-1</sup> Cd<sup>2+</sup>;  $P \leq 0,001$ ). Identifikovali sme však aj takú izoformu, ktorej aktivita bola štatisticky signifikantne potlačená toxickým pôsobením kadmia (izoforma 70 kDa, pri konc. 100, 200, 300, 400, 500 mg.l<sup>-1</sup> Cd<sup>2+</sup>;  $P \leq 0,001$ ), najviac však o 41 % (izoforma 70 kDa, pri konc. 300, 500 mg.l<sup>-1</sup> Cd<sup>2+</sup>;  $P \leq 0,001$ ). Najmenšia izoforma chitináz o molekulovej hmotnosti 18 kDa bola významne indukovaná len nižšími

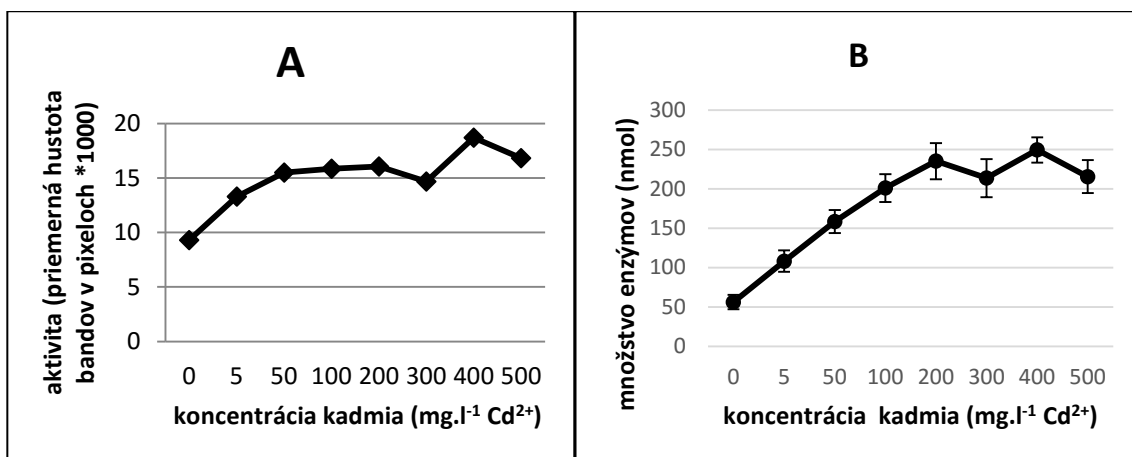


koncentracií kadmia (5, 50, 100 mg.l<sup>-1</sup> Cd<sup>2+</sup>; P≤0,001) (Graf 1). Výsledky teda naznačujú, že aktivita jednotlivých izoforiem chitináz neprejavuje vždy lineárnu závislosť od aplikovaných koncentrácií kadmia. V nastavenom experimente sme zároveň nezistili kvalitatívne zmeny v profile chitináz (zmeny v počte izoforiem pri jednotlivých koncentraciách kadmia) (Obr. 1).



*Graf 1: Aktivita jednotlivých izoforiem chitináz detekovaných v koreňoch sóje fazuľovej vystavených rôznym koncentraciám kadmia. Údaje zodpovedajú hodnotám priemernej hustoty proteínových bandov na polyakrylamidových géloch \* 1000. Chybové úsečky znázorňujú strednú chybu priemeru z najmenej 4 biologických opakovaní experimentu. Štatistické významnosti rozdielov sú uvedené v texte.*

Fluorimetrické stanovenie aktivít testovaných obranných enzýmov odhalilo významný nárast akumulácie chitináz až do 200 mg.l<sup>-1</sup> Cd<sup>2+</sup>, následne slabé zníženie, resp. kontinuitu v ich aktivite pri najvyšších testovaných dávkach kadmia (na úrovni min. P≤0,05) (Graf 2B).



*Graf 2: Celková aktivita enzýmov chitináz v koreňoch sóje fazuľovej stresovaných rôznou koncentraciou kadmia stanovená pomocou polyakrylamidových gélov (a po sčítaní aktivít jednotlivých izoforiem) (A) a fluorimetricky (B). Údaje zodpovedajú priemerným hodnotám stanoveným z najmenej 4 biologických opakovaní experimentu. Chybové úsečky znázorňujú strednú chybu priemeru. Štatistické významnosti rozdielov sú uvedené v texte.*

Pre porovnanie výsledkov dvoch testovaných metodických postupov bolo potrebné sčítať aktivitu jednotlivých izoformiem enzýmov chitináz (získaných pomocou polyakrylamidových gélov) pri každej aplikovanej koncentrácii kadmia. Týmto postupom sme sa dopracovali k celkovej aktivite chitináz aj na základe polyakrylamidových gélov (Graf 2A), pričom výsledky preukázali podobnú avšak menej markantnú tendenciu chitinázovej aktivity v závislosti od aplikovaných koncentrácií kadmia aká bola získaná pomocou fluorimetra (Graf 2B).

Na záver treba skonštatovať, že detekcia aktivít enzýmov pomocou fluorimetra neumožňuje detekovať konkrétne izoformy, je však časovo a finančne výhodnejšia. Naopak, detekcia enzymatickej aktivity na polyakrylamidových géloch poskytuje komplexný obraz o akumulácii jednotlivých izoformiem sledovaných enzýmov. Výsledky oboch metód sú navzájom porovnateľné, rozdiely sa ukázali iba v miere, resp. rýchlosti nárastu enzymovej aktivity v odpovedi na jednotlivé koncentrácie kadmia.

## LITERATÚRA

- /1/ Koga, D., Mitsutomi, M., Kono, M. et al.: Biochemistry of chitinases. Jollés, P., Muzzarelli, R. A. A.: Chitin and chitinases. Basel : Birkhäuser, 1999: 111-123.
- /2/ Schraudner, M., Ernst, D., Langebartels, Ch. et al.: Biochemical plant responses to ozone : III. Activation of the defense-related proteins  $\beta$ -1,3-glucanase and chitinase in tobacco leaves. Plant Physiology, 99, 1992: 1321-1328.
- /3/ De Los Reyes, G., Taliaferro, M., Anderson, P.: Induced expression of the class II chitinase gene during cold acclimation and dehydration of bermudagrass (*Cynodon* sp.). Theoretical and Applied Genetics, 103, 2001: 297-306.
- /4/ Xu, F., Fan, Ch., He, Y.: Chitinases in *Oryza sativa* ssp. japonica and *Arabidopsis thaliana*. Journal of Genetics and Genomics, 34, 2007: 138-150.
- /5/ Mészáros, P., Rybanský, E., Hauptvogel, P. et al.: Cultivar-specific kinetics of chitinase induction in soybean roots during exposure to arsenic. Molecular Biology Reports, 40, 2013: 2127-2138.
- /6/ Békésiová, B., Hraška, Š., Libantová, J. et al.: Heavy metal stress induced accumulation of chitinase isoforms in plants. Molecular Biology Reports, 35, 2008: 579-588.
- /7/ Rivera-Becerill, F., Metwally, A., Martin-Laurent, F. et al.: Molecular responses to cadmium in roots of *Pisum sativum* L. Water, Air, and Soil Pollution, 168, 2005: 171-186.
- /8/ Hurkman, W.J., Tanaka, C.K.: Solubilization of plant membrane proteins for analysis by two-dimensional gel electrophoresis. Plant Physiology, 81, 1986: 802-806.
- /9/ Pan, S.Q., Ye, X.S., Kuc, J.: A technique for detection of chitinase,  $\beta$ -1,3-glucanase and protein patterns after a single separation using polyacrylamide gel electrophoresis or isoelectrofocusing. Phytopathology, 81, 1991: 970-974.
- /10/ Zur, I., Golebiowska, G., Dubas, E., Golemić, E., Matušíková, I., Libantová, J., Moravčíková, J.:  $\beta$ -1,3-glucanase and chitinase activities in winter triticales during cold hardening and subsequent infection by *Microdochium nivale*. Biologia (Poland), 68, 2013: 241-248.

## PodĎakovanie

Práca vznikla za finančnej podpory projektov VEGA 1/0061/15 a UGA VIII/31/2015.

**STANOVENÍ STRESOVÝCH MARKERŮ *SCENEDESMUS QUADRICAUDA******DETERMINATION STRESS MARKERS SCENEDESMUS QUADRICAUDA***

Olga Kryštofová<sup>1,2</sup>, Branislav Ruttkay-Nedecký<sup>2</sup>, Dalibor Húska<sup>1</sup>, Aneta Strejcková<sup>1</sup>, Vojtěch Adam<sup>1,2</sup>, Josef Zehnálek<sup>1</sup>, Bořivoj Klejdus<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Ústav chemie a biochemie, Zemědělská 1, 613 00 Brno, olga.krystofova@mendelu.cz

<sup>2</sup> Středoevropský technologický institut, Vysoké učení technické v Brně, Purkyňova 123, 612 00 Brno

***Summary***

Mining, industrial production and human activities have their share in increasing soil contamination with heavy metals. In soil, heavy metals, are spread by hydrological processes in the environment, which can lead to contamination of soil, water and the subsequent entry and accumulation in the food chain. For this reason, many scientific laboratories are engaged in exploring of biotransformation mechanisms of plants and algae and their role in bioaccumulation of heavy metals. Our work is focused on the monitoring of stress response of algae *Scenedesmus quadricauda*, as a result of exposure to a high concentrations of copper. Primarily we monitor effect on thiol proteins and antioxidant activity.

*Key words: copper, Scenedesmus quadricauda, thiol proteins, markers of stress response*

***Souhrn***

Těžba, průmyslová výroba a lidská činnost mají svůj podíl na zvyšování kontaminace půd těžkými kovy. V půdě jsou těžké kovy působením hydrologických procesů šířeny v životním prostředí, což může vést k znečištění půd, vod a následnému vstupu a kumulaci v potravním řetězci. Z toho to důvodu se mnohá vědecká pracoviště zabývají biotransformační mechanismy rostlin a jejich rolí v bioakumulaci těžkých kovů. Naše práce je zaměřena na sledování stresové reakce řasy *Scenedesmus quadricauda*, jako důsledku působení vysoké koncentrace mědi. Primárně sledujeme její vliv na thiolové proteiny a antioxidační aktivitu.

*Klíčová slova: měď, Scenedesmus quadricauda, thiolové proteiny, antioxidační aktivita*

**ÚVOD**

Ze zvyšující se koncentrace mědi v životním prostředí, která je v důsledkem jejího intenzivního využívání v agroprůmyslu (součást hnojiv a fungicidů), chemickém či elektrotechnickém průmyslu, se v poslední době zvyšuje počet studií zaměřených na studium jejího vlivu na živé organismy a jejího potenciálu kumulace v potravním řetězci /1/.

Řasy, které jsou jednoduché fotosyntetizující vodní organizmy, produkují významnou část zemské organické biomasy. Vzhledem k tomu, že velká část znečištění  $\text{Cu}^{2+}$  je lokalizována v odpadních vodách a sedimentech jsou řasy jednou ze vstupních bran mědi do potravního řetězce a proto je v zájmu mnoha vědeckých pracovišť studium vlivu a schopnosti akumulace kovů v těchto organismech /2-6/. Bylo zjištěno je sladkovodní řasy (např. rodu *Chlorella* a *Scenedesmus*) mají zvýšenou schopnost účinně akumulovat  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  a  $\text{Cr}^{6+}$  z kontaminovaných vod /7/.

Zvýšená schopnost příjmu mědi řasami je dána nejen na základě vysoké schopnosti biosorpce na buněčnou stěnu a také efektivními obrannými mechanismy, mezi které patří zvýšená syntéza fytochelatinů (metallothioneinů třídy III). Pomocí fytochelatinů řasy vážou kovy komplexů, které jsou následně ukládány primárně do vakuol a sekundárně do cytosolu, chloroplastů a mitochondrií /7/. Těžké kovy, mezi které patří i měď, mohou kromě tvorby

komplexů s fytochelatiny, ovlivňovat také syntézu dalších thiolových proteinů (glutathiony - GSH a GSSG) a také stimulovat antioxidační aktivitu. Cílem naší práce bylo sledování vlivu  $\text{Cu}^{2+}$  na růst řasy *Scenedesmus quadricauda* a dále sledování vlivu na antioxidační aktivity metodou DPPH a FRAP a obsah GSH a GSSG.

## MATERIÁL A METODA

### Kultivace řas

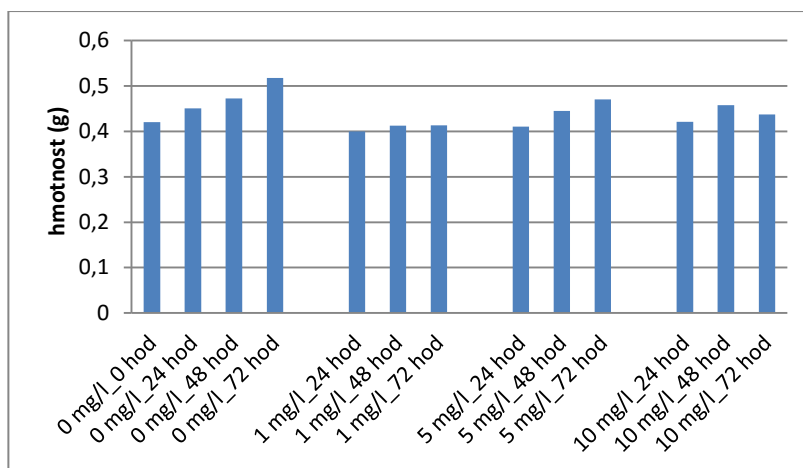
Zásobí kultura unicelulární řasy *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Bréb. (Chlorophyta, Chlorophyceae), kmen UTEX 76, byla kultivována při 21°C, 12/12 hodin den/noc, a při intenzitě osvětlení 2200 lx na Bold's Basal Médiu (BBM) s 1.5% agarem na Petriho miskách. Následně byla převedena do 300ml tekutého média (BBM) a kultivována za stejných podmínek s pravidelným promícháváním po dobu 14 dnů. Poté byly řasy ( $8 \times 10^6$  buněk na 1 ml) inokulovány do Erlenmayerových baněk, které obsahovaly 100 ml tekutého BBM suplementovaného  $\text{Cu}^{2+}$  o koncentraci 0, 1, 5 a 10 mg/l. Vzorky byly odebírány po 24, 48 a 72 hod a analyzovány.

### Zpracování vzorků

0,3 g vzorku z každé varianty bylo homogenizováno v mikrozkumavce pomocí tyčového homogenizátoru (Turex) za stálého chlazení ledem po dobu dvou minut s přidávkem 1 ml miliQ vody. Po homogenizaci byly vzorky centrifugovány po dobu 15 minut, při 16 400 rpm a teplotě 4 °C. Následně byl odebrán supernatant a následovala analýza.

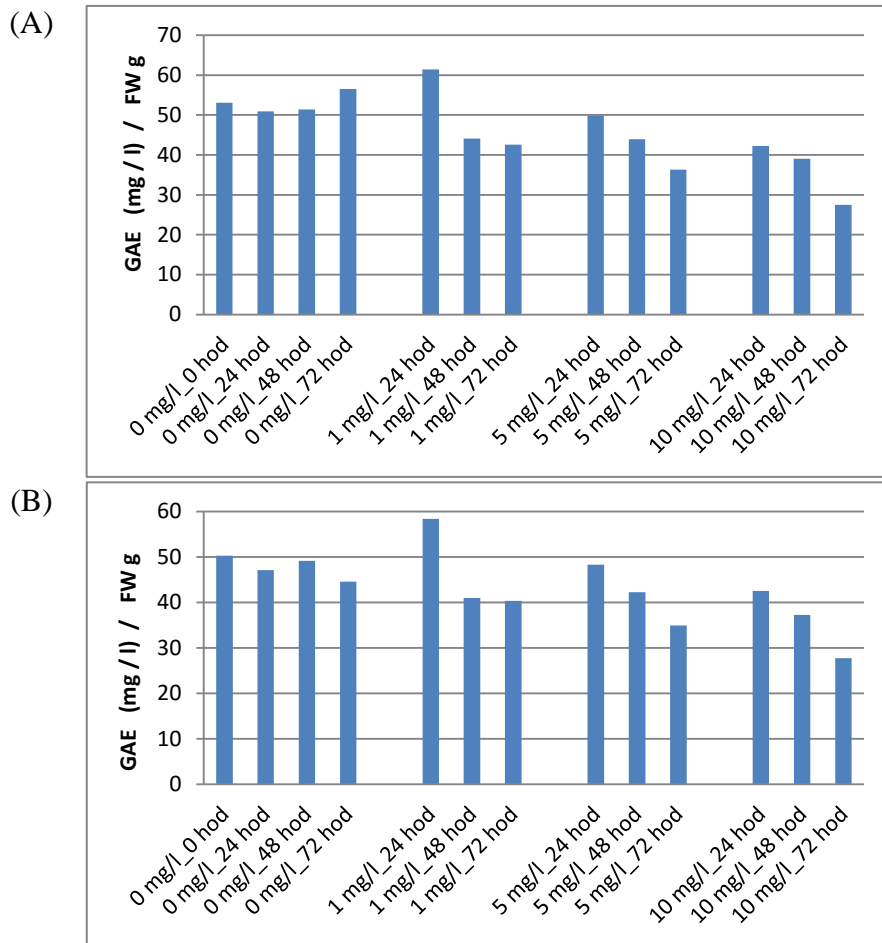
## VÝSLEDKY A DISKUSE

V našem experimentu jsme se zabývali vlivem různých koncentrací  $\text{Cu}^{2+}$  na *Scenedesmus quadricauda*. Prvním sledovaným parametrem byl jejich vliv na růst. Z námi získaných výsledků vyplývá, že všechny koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  mají inhibiční vliv a nárůst biomasy, přičemž nejvíce patrné to bylo u koncentrace 1mg/l u které byl nárůst biomasy prakticky zastaven. U koncentrace 5 mg/l byl po celou dobu experimentu pozorován nárůst biomasy v nižší míře než v kontrolních vzorcích. (graf 1).



Graf 1: Svěží hmotnost (FW). Vliv různých koncentrací  $\text{Cu}^{2+}$  na růst *Scenedesmus quadricauda*.

Druhým sledovaným parametrem byl vliv  $\text{Cu}^{2+}$  na antioxidační aktivitu. Antioxidační aktivita je často používaným markerem ukazujícím míru stresové reakce. V naší práci jsme stanovovali antioxidační aktivitu pomocí metody DPPH a FRAP. Z námi získaných výsledků je patrné, že se prodlužující se dobou expozice dochází k snižování antioxidační aktivity v porovnání s kontrolou a také v porovnání mezi jednotlivými odběry v čase. (graf 2)



Graf 2: Antioxidační aktivita. Vliv různých koncentrací Cu<sup>2+</sup> na antioxidační aktivitu stanovenou metodou (A) – DPPH, (B) – FRAP. Antioxidační aktivita je definována jako GAE (ekvivalent kyseliny gallové)

Posledními sledovanými markery byl obsah thiolových proteinů GSH a GSSG. Na základě analýzy bylo zjištěno, že Cu<sup>2+</sup> ionty v porovnání s kontrolou stimulují syntézu GSSG v prvních dvou odběrech (24 a 48 hod) u koncentrací 1 a 5 mg/l o 15 - 40 %. To svědčí nejen o snaze navázat přítomné Cu<sup>2+</sup> ionty to komplexů a jejich uložení to vakuol, ale také o zintenzivnění obranný mechanismů vůči způsobenému oxidačnímu stresu.

## ZÁVĚR

Vzhledem k vysoké diversitě řas a v nich se vyskytujících sekundárních metabolitů bylo cílem naší práce optimalizovat metody pro stanovení vybraných markerů stresových reakcí v tzv. mikro-řasách *Scenedesmus quadricauda*. Na základě námi provedených prací jsme dokázali tento primární cíl splnit a tyto poznatky budou do budoucna využity při dalších experimentech, které se budou zabývat vlivem různých inhibitorů a minerální výživy na obsah výše popsanych markerů.

## LITERATURA

- 1/ Duruibe, J. O., Ogwuegbu, M. O. C., and Egwurugwu, J. N. (2007) Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *International Journal of Physical Sciences* 2, 112-118
- 2/ Kumar, K. S., Dahms, H. U., Won, E. J., Lee, J. S., and Shin, K. H. (2015) Microalgae - A promising tool for heavy metal remediation. *Ecotox. Environ. Safe.* 113, 329-352

- /3/ Tripathi, B. N., and Gaur, J. P. (2004) Relationship between copper- and zinc-induced oxidative stress and proline accumulation in *Scenedesmus* sp. *Planta* 219, 397-404
- /4/ Tripathi, B. N., and Gaur, J. P. (2006) Physiological behavior of *Scenedesmus* sp during exposure to elevated levels of Cu and Zn and after withdrawal of metal stress. *Protoplasma* 229, 1-9
- /5/ Zhang, L. P., Mehta, S. K., Liu, Z. P., and Yang, Z. M. (2008) Copper-induced proline synthesis is associated with nitric oxide generation in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell Physiol.* 49, 411-419
- /6/ Zheng, Q., Meng, Q., Wei, Y. Y., and Yang, Z. M. (2011) Alleviation of Copper-Induced Oxidative Damage in *Chlamydomonas reinhardtii* by Carbon Monoxide. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 61, 220-227
- /7/ Perales-Vela, H. V., Pena-Castro, J. M., and Canizares-Villanueva, R. O. (2006) Heavy metal detoxification in eukaryotic microalgae. *Chemosphere* 64, 1-10

### **Poděkování**

Tento výzkum byl finančně podpořen Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR v rámci projektu CEITEC 2020 (LQ1601) a projektem GAČR 14-28933S.

**TRANSPORT QDs U *HELIANTHUS ANNUUS******TRANSPORT OF QDs IN HELIANTHUS ANNUUS***

Helena Štuříková<sup>1</sup>, Tereza Vaněčková<sup>1</sup>, Vedran Milosavljevic<sup>1</sup>, Olga Kryštofová<sup>1, 2</sup>, Vojtěch Adam<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Ústav chemie a biochemie, Zemědělská 1, 613 00 Brno, olga.krystofova@mendelu.cz

<sup>2</sup> Středoevropský technologický institut, Vysoké učení technické v Brně, Purkyňova 123, 612 00 Brno

***Summary***

With growing world population and therefore increasing demand for higher agricultural yields, new technologies and products are developed to reach this goal. Nanomaterials may be one of new instruments to be used in agriculture. It aims to reduce the amounts of chemicals applied for plant protection, minimize the loss of nutrients and increase revenues through optimized nutrient management. Our work is focused on the potential ways of entry of nanoparticles into plants and their possible transport within plants.

*Key words: nanoparticles, Helianthus annuus, CdTe quantum dots, transport*

***Souhrn***

S rostoucí populací a z toho zvyšující se poptávkou po vyšších zemědělských výnosech jsou vyvíjeny nové technologie a přípravky, které mají být účinným nástrojem k dosažení tohoto cíle. Jedním nových nástrojů je i použití nanomateriálů v zemědělství. Má za cíl snížit aplikované množství přípravků na ochranu rostlin, minimalizovat ztráty živin při hnojení a zvýšit výnosy prostřednictvím optimalizovaného hospodaření s živinami. Proto jsme se v naší práci zaměřili na potenciál vstupu nanočástic do rostlin a jejich případný transport rostlinou.

*Klíčová slova: nanočástice, Helianthus annuus, CdTe kvantové tečky, transport*

**ÚVOD**

Využití nanočástic v zemědělství a dalších průmyslových odvětví nabývá v posledních letech na významu. V zemědělství jsou nově nanočástice součástí chemických postřiků, které obsahují fotosensitivní pesticid nebo jako látka na ochranu rostlin před UV zářením /1/. Předmětem výzkumu je také jejich možné použití ve formě povlaku kapsulovaných hnojiv /2/, nebo jako přímá hnojiva /3/.

Nanomateriály a nanotechnologie se staly se jedním z nástrojů ke studiu a transformaci živých systémů. V environmentálních aplikacích mají potenciál využití především jako cílené nosiče léčiv a dalších substancí, čímž by se mohly snížit některé negativní účinky na živé organismy, které jsou důsledkem aplikace chemických přípravků (poškození rostlinných pletiv, kontaminace životního prostředí, apod.) /2/.

K detekci a vizualizaci translokace a ukládání nanočástic v tělech vyšších rostlin se využívá mikroskopických technik, jejichž aplikace byla podrobněji popsána na použití uhlíkových nanočástic u *Cucurbita pepo* /3/. Studovány byly také nanočástice palladia u *Hordeum vulgare* /4/, kde byla prokázána nepřímá závislost mezi velikostním průměrem částic a mírou jejich příjmu kořenovým systémem. Rozdílné druhy rostlin také reagují vůči jednomu typu nanočástic různě, což se podařilo prokázat ve studii magnetitových nanočástic u *Cucurbita maxima* a *Phaseolus limensis* /5/. Pouze *Phaseolus limensis* byl schopen nanočástice translokovat a ukládat. Bohužel mikroskopické techniky jsou destruktivní a jejich využití pro sledování v čase není zcela optimální, a proto se začínají objevovat práce, které se zabývají *in vivo* zobrazováním /7/.

Kvantové tečky (angl. quantum dots) jsou nanočástice velké 1 – 20 nm, vykazující nízkou fotodegradabilitu, schopné absorbovat světelné záření mnoha vlnových délek. Díky této vlastnosti je zkoumán jejich potenciál využití v *in vitro* a *in vivo* zobrazování /6, 7/. Prohloubení znalostí o problematice příjmu, transportu a ukládání nanočástic v tělech cévnatých rostlin je jeden z prvních kroků k pochopení jejich vlivu na fyziologické procesy rostlin a životní prostředí. Proto jsem se v naší práci zabývali analýzou možných cest translokace nanočástic CdTe kvantových teček (CdTe-QDs) u *Helianthus annuus* L. jako zástupce vyšších rostlin.

## MATERIÁL A METODA

### *Příprava CdTe-QDs*

Roztok obsahující CdTe-QDs byl připraven smícháním 10 ml octanu kademnatého (5,34 mg/ml), 1 ml kyseliny merkaptosukcinové (60 mg/ml) a 76 ml deionizované vody. Následně bylo do směsi za stálého míchání postupně přidáno 1,8 ml amoniaku (1 M), 1,5 ml telluridu sodného (4,43 mg/ml) a 40 mg tetrahydridoboritanu sodného. Směs byla promíchávána další 2 hodiny a poté naředěna na 100 ml deionizovanou vodou. Nakonec byl připravený roztok zahřát pomocí mikrovlnného záření (Multiwave 3000, Anton-Paar GmbH, Graz, Rakousko) na 100 °C, při 300 W po dobu 20 minut.

### *Kultivace rostlin*

Jako pokusný rostlinný materiál byla použita slunečnice roční (*Helianthus annuus* L.), hybridní odrůda Kongo s žíhanými semeny. Nažky byly před zasazením vysterylizovány (20 minut ve 20% roztoku SAVA) a zasazeny do perlitového substrátu (cca 25 semen). Poté nažky klíčily sedm dní při teplotě 22 °C a fotoperiodě den/noc 16/8 hodin. Po sedmi dnech byly vzrostlé semenáčky přesazeny do hydroponie obsahující Murashige-Skoog médium s vitamíny. Růst v hydroponii trval 6 týdnů, za standardních podmínek při teplotě 22 °C, fotoperiodě den/noc 16/8 hodin a vlhkosti 55 %.

### *In vivo sledování distribuce CdTe-QDs*

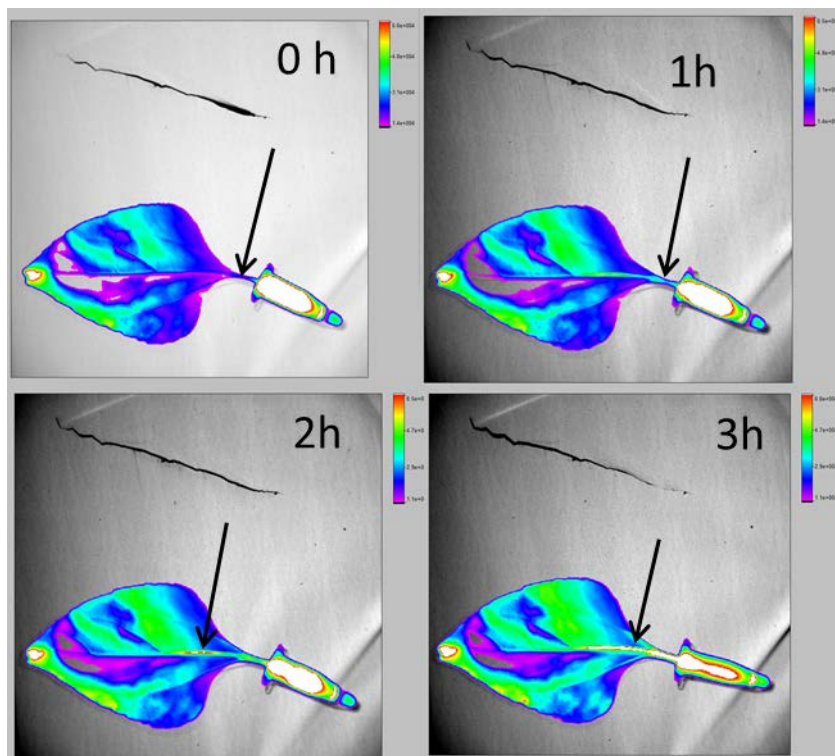
Sledování distribuce CdTe-QDs v listu slunečnice bylo provedeno pomocí fluorescenční kamery (In vivo Xtreme, Bruker Corporation) při nastavení expozičního času 2 s. Pro daný druh fluoroforu byl zvolen excitační filtr 590 nm a emisní filtr 700 nm. První snímek byl získán v čase 0, poté byla distribuce fluoroforu v listu sledována vždy po 1 h (po dobu 5h). Následně zpracování obrazů pro vizualizaci zahrnovalo nastavení prahů intenzity fluorescence pro pseudobarvení na 3 000 až 65 000 counts. Pro zobrazení změny distribuce fluoroforu v čase byly provedeny vzájemné diference obrazů. V softwaru Carestream Multispectral bylo provedeno modelování spektra použitého fluoroforu pro možnost oddělení autofluorescence listu a samotné fluorescence kvantových teček.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Hodnotili Existuje jen malé množství studií zabývajících se možností vstupu a distribucí nanočástic do rostlin. Proto jsme v našem experimentu vystavili části rostliny (*Helianthus annuus* L.) působení CdTe-QDs, které vykazovali červenou fluorescenci.

Ze 7 týdnů staré rostliny byl uřezán list, jehož řapík byl ponořen do zkumavky s 2mM roztokem CdTe-QDs. První snímek byl získán v čase 0, poté byla distribuce fluoroforu (CdTe-QDs) v listu sledována vždy po 1 h. Na základě analýzy obrazu byl pozorován postupný průnik CdTe-QDs do řapíku a hlavní žilnatiny (obr 1). Postup fluoroforu žilnatinou byl viditelný v prvních 3 hodinách experimentu poté postup ustal z důvodu ucpání cévních svazků.





Obr 1: In vivo zobrazování listu *Helianthus annuus* L. vystaveného působení CdTe-QDs ( $\lambda_{ex}$  590 nm,  $\lambda_{em}$  700 nm).

Kromě distribuce CdTe-QDs v listu byla také sledována distribuce v týden starém semenáčku *Helianthus annuus* L. Na základě analýzy obrazu jsme zjistili, že námi vytvořené nanočástice do rostliny přes kořenový systém do rostliny nevstupují. To bylo způsobeno s velkou pravděpodobností velikostí nanočástic v námi připraveném roztoku, která byla 7-9 nm.

## ZÁVĚR

Vzhledem k tomu, že nanočástice začínají být čím dál více součástí našeho života, je nezbytné věnovat pozornost jejich vlivu na životní prostředí a také na schopnost kumulovat se v rostlinách. Z našich pilotních experimentů vyplývá, že pokud se nanočástice dostanou přes kořenovou bariéru, mohou následně velmi snadno putovat rostlinou a kumulovat se v ní.

## LITERATURA

- /1/ Schwab, F., Zhai, G., Kern, M., Turner, A., Schnoor, J. L., Wiesner, M. R.: Barriers, pathways and processes for uptake, translocation and accumulation of nanomaterials in plants - critical review. *Nanotoxicology*, 10, 2016: 257-278
- /2/ Monica, R. C., Cremonini, R.: Nanoparticles and higher plants. *Caryologia*, 62, 2009: 161-165
- /3/ González-Melendi, P., Fernández-Pacheco, R., Coronado, M. J., Corredor, E., Testillano, P. S., Risueño, M. C., Marquina, C., Ibarra, M. R., Rubiales, D., Pérez-de-Luque, A.: Nanoparticles as smart treatment-delivery systems in plants: assessment of different techniques of microscopy for their visualization in plant tissues. *Annals of Botany*, 101, 2008: 187-195
- /4/ Battke, F., Leopold, K., Maier, M., Schmidhalter, U., Schuster, M.: Palladium exposure of barley: uptake and effects. *Plant biology*, 10, 2008: 272-276
- /5/ Zhu, H., Han, J., Xiao, J. Q., Jin, Y.: Uptake, translocation, and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants. *Journal of Environmental Monitoring*, 10, 2008: 713-717
- /6/ Drummen, G. P. C.: Quantum dots - from synthesis to applications in biomedicine and life sciences. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 2010: 154-163

/7/ Šmerková, K., Blažková, I., Chudobová, D., Vaculovičová, M., Kopel, P., Adam, V., Kizek, R.: Fluorescence Properties of Quantum Dots, In MendelNet 2013 – Proceedings of International PhD Students Conference, Brno 20.-21.11.2013, roč. 20, 2013: 934-939

### **Poděkování**

Tento výzkum byl finančně podpořen Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR v rámci projektu CEITEC 2020 (LQ1601).

## ANALYSIS OF GROWTH AND STRUCTURAL CHARACTERISATION OF *PINUS NIGRA* EMBRYOGENIC TISSUES AFTER CRYOPRESERVATION

### ANALÝZA RASTU A ŠTRUKTÚRNA CHARAKTERISTIKA EMBRYOGÉNNYCH PLETÍV *PINUS NIGRA* ARN. PO KRYOKONZERVÁCIÍ.

Terézia Salaj, Radoslava Matusova, Katarína Klubíková, Ján Salaj  
Institute of Plant Genetics and Biotechnology SAS, Akademická 2, 95007 Nitra, Slovak Republic

#### Summary

Embryogenic tissues of *Pinus nigra* Arn. have been cryopreserved by a slow-freezing method. The tissues were pretreated with sucrose (0.5 M) for 24 hours and DMSO (7.5%) for 1 hour, dehydrated and plunged into liquid nitrogen for 2 hours. Tissue regeneration occurred in the tested cell lines E413, E414, E415. In post-thaw period the regenerated tissues were fast growing and their growth was comparable to non-cryopreserved control. The cryopreservation procedure resulted in structural disintegration of bipolar structures but during post-thaw growth the original organisation of somatic embryos was restored.

*Key words:* *Pinus nigra*, *in vitro*, growth, embryogenetic tissues, cryopreservation

#### Súhrn

Embryogénne pletivá *Pinus nigra* Arn. boli kryokonzervované metódou pomalého zamrznania. Pletivá boli kultivované na médiu s 0.5 M sacharózou 24 hodín a 7.5% DMSO 1 hodinu. Po následnej dehydratácii sa ponorili do tekutého dusíka na 2 hodiny. Regenerácia pletív sa pozorovala pri všetkých troch testovaných bunkových líniiach (E413, E414, E415). V období po kryokonzervácii pletivá rástli intenzívne a ich rast bol porovnateľný s rastom kontrolných pletív. Kryokonzervácia spôsobila narušenie bipolárnej organizácie somatických embryí, avšak v post-kryokonzervačnom období sa obnovila ich pôvodná štruktúra.

*Kľúčové slová:* *Pinus nigra*, *in vitro*, rast, embryogenná pletivá, kryoprezervácia

## INTRODUCTION

The long-term maintenance of embryogenic tissues is time consuming, moreover genetic changes and loss of embryogenic capacity may occur during *in vitro* cultivation. Cryopreservation – storage in liquid nitrogen at -196 °C – offers an alternative possibility for their long-term maintenance. Tissue recovery and somatic seedlings regeneration of cryopreserved tissues have been reported for many tree species /6/. Somatic embryogenesis from immature zygotic embryos and plantlet regeneration in *Pinus nigra* has been reported /10/. The aim of the present study was to develop an efficient protocol for cryopreservation of initiated embryogenic tissues.

## MATERIAL AND METHODS

*Plant material:* The embryogenic tissues of *Pinus nigra* Arn. have been initiated from isolated megagametophytes containing immature zygotic embryos. Cell lines E413, E414, E415 have been tested in cryopreservation experiments. For initiation as well as *in vitro* maintenance medium DCR /1/ has been used /details in 10/.

*Cryopreservation:* The tissues were pretreated with sucrose (0.5 M) for 24 hours and following were resuspended in DCR basal medium containing 0.5 M sucrose. Dimethylsulfoxid

(DMSO 15%) was added stepwise during 1 hour to reach final concentration 7.5%. The pretreated suspension was pipetted into cryovials and the cryovials were transferred to container Mr. Frosty and kept in deep freezer at -80 °C until the temperature reached -40 °C. Finally, the cryovials were plunged into liquid nitrogen and kept there for 2 hours. Thawing occurred in water bath at 40 °C /details in 9/.

*Growth characteristics:* Fresh and dry mass accumulation were followed at day 0, 7 and 14 of growth cycle. These parameters have been followed in cryopreserved and control 2 tissues (not pretreated not cryopreserved)

*Microscopic observation:* Small pieces of tissues were stained with acetocarmine (2%), squashed and covered by cover slip. For fluorescence observations the tissues were treated by fluorescein diacetate. The preparations were observed under Axioplan 2 light microscope (Carl Zeiss).

## RESULTS AND DISCUSSION

*Tissue regeneration and growth:* The control 1 tissues (pretreated but not cryopreserved) started to regenerate three-four days after treatment. The cryopreserved cell lines showed delay in the „regeneration speed“. The first sign of cryopreserved tissue regeneration have been observed 6-7 days after thawing and in following period massive growth was observable (Figs. 1, 2). Tissues regeneration occurred in all the tested cell lines with individual recovery frequencies 90% (E413), 100% (E414), 100% (E415). Regarding color or texture the recovered tissues showed the same features as the control 2 (not pretreated and not cryopreserved). Approximately 3 months after tissues recovery the fresh as well as dry mass accumulation have been evaluated. These parameters were very similar in control 2 and cryopreserved tissues and no statistically significant differences have been found. The recovered tissues have been monitored several months after thawing and in this period they were fast growing without any symptoms of necrotisation.

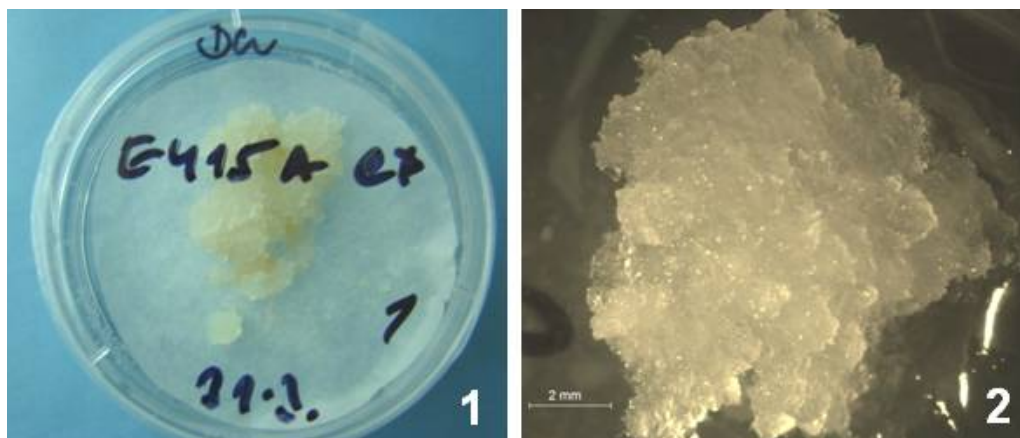


Fig. 1 Massive growth of embryonic tissue two weeks after thawing.

Fig. 2 Embryonic tissue at day 8 of growth cycle.

*Structural features:* The *Pinus nigra* embryonic tissues (control 2) are of white color and mucilaginous consistence. Microscopic investigations showed structural heterogeneity in their cell composition. Long vacuolised individual cells as well as clumps of meristematic cells were often observed. The early somatic embryos were composed of suspensor and embryonal meristematic cells with typical bipolar organisation. Cryopreservation caused structural changes in somatic embryo structural organisation. The long vacuolised cells were disrupted and the fluorescence signal was mainly observed in embryonal meristematic cells (Fig. 3). As further structural observation showed the bipolar organisation of somatic embryos was restored during post-thaw period. In recovered tissues early bipolar structures were present (Fig. 4).

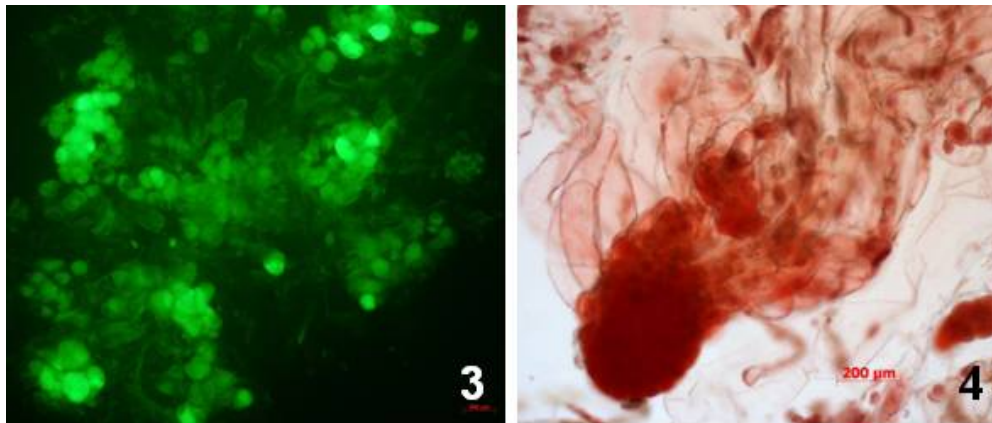


Fig. 3 Disintegrated early somatic embryos.

Fig. 4 Bipolar early somatic embryos in recovered tissue.

In our experiment the slow-freezing method has been used. This method is based on the slow cooling of the specimen until  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ . When this temperature is reached the intra-cellular solution is concentrated enough to vitrify upon a subsequent plunging into liquid nitrogen /7/. The cryopreserved tissue recovery was satisfactory as compared with other conifer species as *Abies alba* /4/ or *A. fraseri* /8/. The critical factors which affect recovery after cryopreservation are dehydration of tissues, cryoprotectant treatment /2/ and also cell composition of tissues /9/. Dimethylsulfoxid used to be component of cryoprotectant solutions but it is not absolutely necessary. Recently Hazubaska-Przybyl et al. /3 / referred cryopreservation and successful tissue regeneration of *Picea omorica* embryogenic tissues without DMSO. The growth of recovered tissues evaluated three months after thawing showed very similar pattern as in the control 2, indicating no negative impact of cryopreservation.

Disintegration of early bipolar somatic embryos has been observed as a result of the cryopreservation procedure. Their recovery started with cell mitotic activity in survived meristematic embryonal cells /5/. Subsequent vacuolisation indicates the beginning of suspensor formation and full recovery of the original bipolar structural organisation /11/.

Our results demonstrate the slow-freezing method is convenient for cryopreservation of *Pinus nigra* embryogenic cell lines. No negative effect of liquid nitrogen storage on the tissue recovery as well as growth has been observed. Although the bipolar organisation disintegrated during the cryopreservation procedure, in the post-thaw period the somatic embryos regained their original structure.

## REFERENCES

- /1/ Gupta, P.K., Durzan, D.J: Shoot multiplication from mature trees of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugar pine (*Pinus lambertiana*). Plant Cell Reports, 4, 1985: 177-179.
- /2/ Fraga, H.P.F, Vieira, L.N., Putkammer, C.C., da Silva, J.M., dos Anjos, K.G., Oliveira, E.M., Guerra, M.P.: High-efficiency cryopreservation of *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze embryogenic cultures: ultrastructural characterization and morpho-physiological features. Plant Cell Tissues and Organ Culture, 124, 2016: 307-318.
- /3/ Hazubaska-Przybyl, T., Chmielarz, P., Michalak, M., Bojarczuk, K.: Cryopreservation of embryogenic tissues of *Picea omorica*. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 102, 2010: 35-44.
- /4/ Krajňáková J., Bertolini A., Gomory D., Vianello A., Häggman H. :Initiation, long-term cryopreservation and recovery of *Abies alba* Mill. embryogenic cell lines. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 49, 2013: 560–571.
- /5/ Kristensen, M.M., Find, J.I., Moeller, J.D., Norgaard, J.V., Krogstrup, P.: The origin and development of somatic embryos following cryopreservation of an embryogenic suspension culture of *Picea sitchensis*. Protoplasma 182: 1-2, 1994, 65-70.

- /6/ Ozudogru, E.A., Lambardi, M.: Cryotechniques for the long-term conservation of embryogenic cultures from woody plants. In: Methods in molecular biology (Clifton, N.J.), 1359, 2016: 537-550.
- /7/ Panis, B., Lambardi, M.: Status of cryopreservation techniques in plants (crops and forest trees). In: The role of Biotechnology, Villa Gualino, Turin, Italy, 5-7 March, 2005, p. 43-54.
- /8/ Pullman, G.S., Olson, K., Fischer, T., Egersdotter, U., Frampton, J., Bucalo, K.: Fraser fir somatic embryogenesis: high frequency initiation, maintenance, embryo development, germination and cryopreservation. New Forest, 47, 2016: 453-480.
- /9/ Salaj, T., Matušíková, I., Swennen, R., Panis, B., Salaj, J.: Long-term maintenance of *Pinus nigra* embryogenic cultures through cryopreservation. Acta Physiologiae Plantarum 34, 2012: 227-233.
- /10/ Salaj, T., Fráterová, L., Cárach, M., Salaj, J.: The effect of culture medium formulation on *Pinus nigra* somatic embryogenesis. Dendrobiology, 71, 2014: 119-128.
- /11/ Salaj, T., Matusova, R., Panis, B., Swennen, R., Salaj, J.: Tissue regeneration of *Abies* embryogenic cell lines after 1 year storage in liquid nitrogen. Biologia, 71, 2016: 93-99.

### Acknowledgement

The financial support of Slovak Grant Agency VEGA, proj, 2/0136/14, is highly appreciated.

## VZŤAH MEDZI SEZÓNNOU DYNAMIKOU NÁRASTU OBVODOU KMEŇOV MLADÝCH JEDINCOV JEDLE BIELEJ A VARIABILITOU POČASIA V R. 2015

### *THE LINK BETWEEN INTRA-ANNUAL STEM CIRCUMFERENCE INCREASE AND WEATHER VARIABILITY DURING 2015 IN YOUNG EUROPEAN SILVER FIR TREES*

Marek Ježík, Miroslav Blaženec, Ľubica Ditmarová

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

#### *Summary*

Seasonal dynamics of daily stem circumference increase (SCI) of young silver fir trees was studied during 2015 season. The low-frequency part of SCI, associated with processes of new tree ring formation, correlated mainly with temperature during high soil water potential ( $\Psi_w$ ) among meteorological variables. High temperatures, precipitation deficit and decreased  $\Psi_w$  presumably influenced low-frequency SCI during August and September. The high frequency part of the signal was linked mainly with precipitation. Spectral analysis of SCI daily values allowed us to analyze the influence of individual factors in more detail.

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

#### *Súhrn*

Počas sezóny 2015 sme sledovali dennú dynamiku nárastu obvodov kmeňov (SCI) mladých jedincov jedle bielej. Nízko-frekvenčná zložka SCI, spájaná s procesom formovania ročného kruhu, korelovala počas vysokého vodného potenciálu pôdy ( $\Psi_w$ ) spomedzi meteorologických faktorov predovšetkým s teplotou. Vysoké teploty, zrážkový deficit a pokles  $\Psi_w$  počas augusta a následne v septembri zrejme ovplyvnili dynamiku formovania SCI. Vysokofrekvenčná zložka signálu bola spojená predovšetkým so zrážkami. Spektrálna analýza denných hodnôt SCI umožňuje detailnejšiu analýzu vplyvov jednotlivých faktorov.

*Kľúčové slová: jedľa biela, nárast obvodov kmeňov, variabilita počasia*

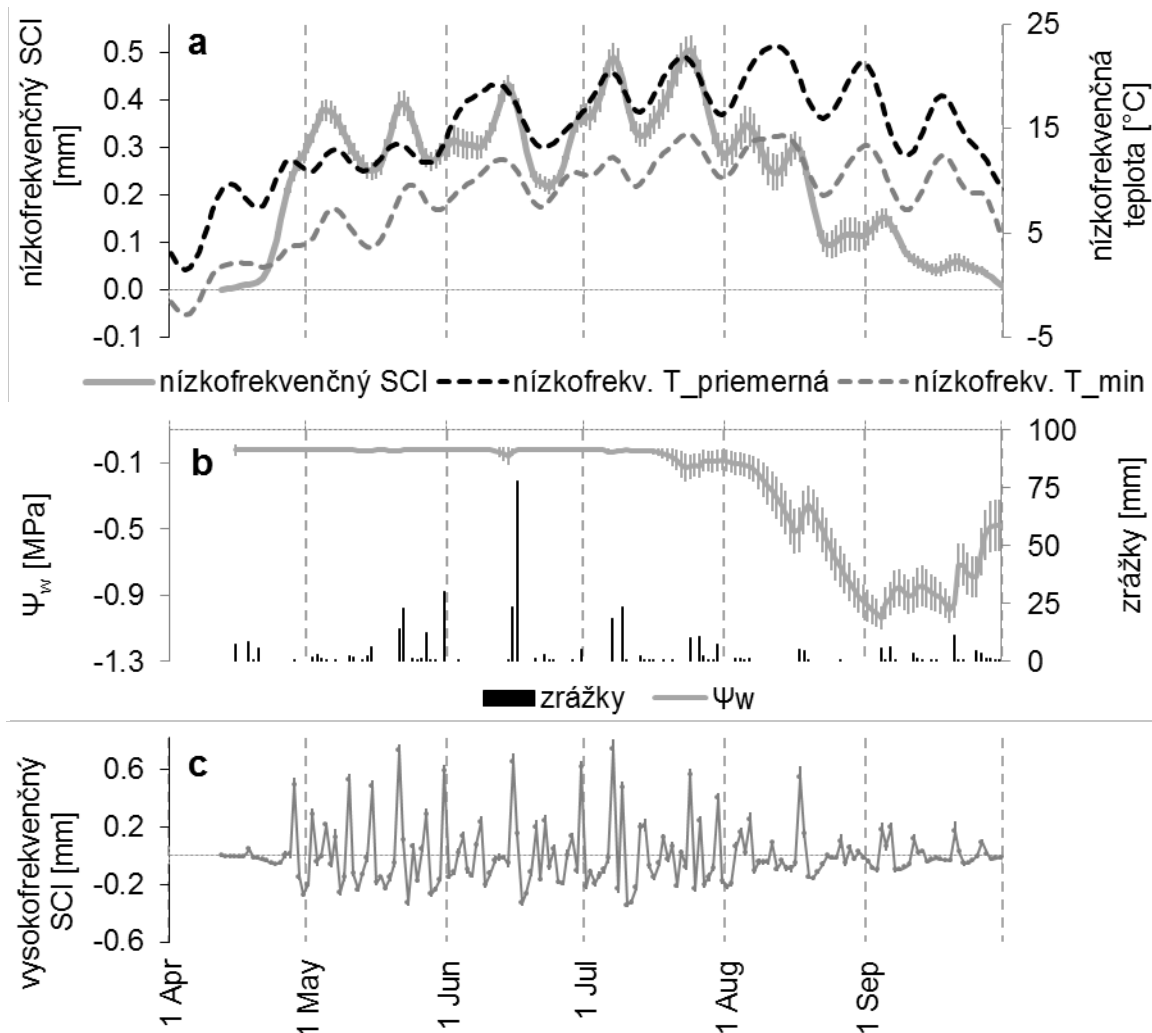
## ÚVOD

Jedľa biela (*Abies alba* Mill.) je jedna z najproduktívnejších a ekologicky najhodnotnejších pôvodných európskych drevín, študovaná aj s ohľadom na jej chradnutie, ktoré sa periodicky vyskytovalo v areáli jej prirodzeného rozšírenia [1]. V súčasnosti narastá význam poznávania odozvy jednotlivých druhov a ich schopností prispôsobovať sa novým environmentálnym podmienkam vyplývajúcim z prebiehajúcich klimatických zmien. Z uvedených dôvodov sme v r. 2015 sledovali vzťahy medzi sezónnou dynamikou nárastu obvodov kmeňov (SCI) mladých jedincov jedle bielej a variabilitou počasia.

## MATERIÁL A METÓDY

Štúdia prebiehala na provenienčnej ploche (390 m n.m.) jedle bielej (*Abies alba* Mill.) situovanej severovýchodnej časti Slovenska neďaleko obce Hertník. Počas sezóny 2015 sme v rámci 5 proveniencií vybrali 6 jedincov (celkovo 30 jedincov) pre merania sezónnej dynamiky zmien obvodov kmeňov. Merané stromy mali vek 15 r. na jar 2015. Obvody kmeňov (automatické dendrometre DRL 26 pre malé kmene, EMS Brno) boli zaznamenávané kontinuálne v 20 min. intervaloch. Denné nárasty obvodov kmeňov (SCI) boli vypočítané z hodinových priemerov o 6h rannej (čo je približne vrchol z časti expanzie kmeňa v rámci denného chodu) ako časť ktorou

obvod kmeňa presiahol predchádzajúce maximum na sezónnej krivke obvodov /6/. Získané SCI dáta boli filtrované s použitím 13 dní dlhých Hammingových filtrov pre extrakciu vysoko- a nízko-frekvenčného spektra. V tejto štúdii sme použili priemerné krivky pre všetkých 30 stromov keďže sme zaznamenali rovnaký synchronný priebeh všetkých proveniencií poukazujúci na environmentálnu kontrolu tejto charakteristiky.



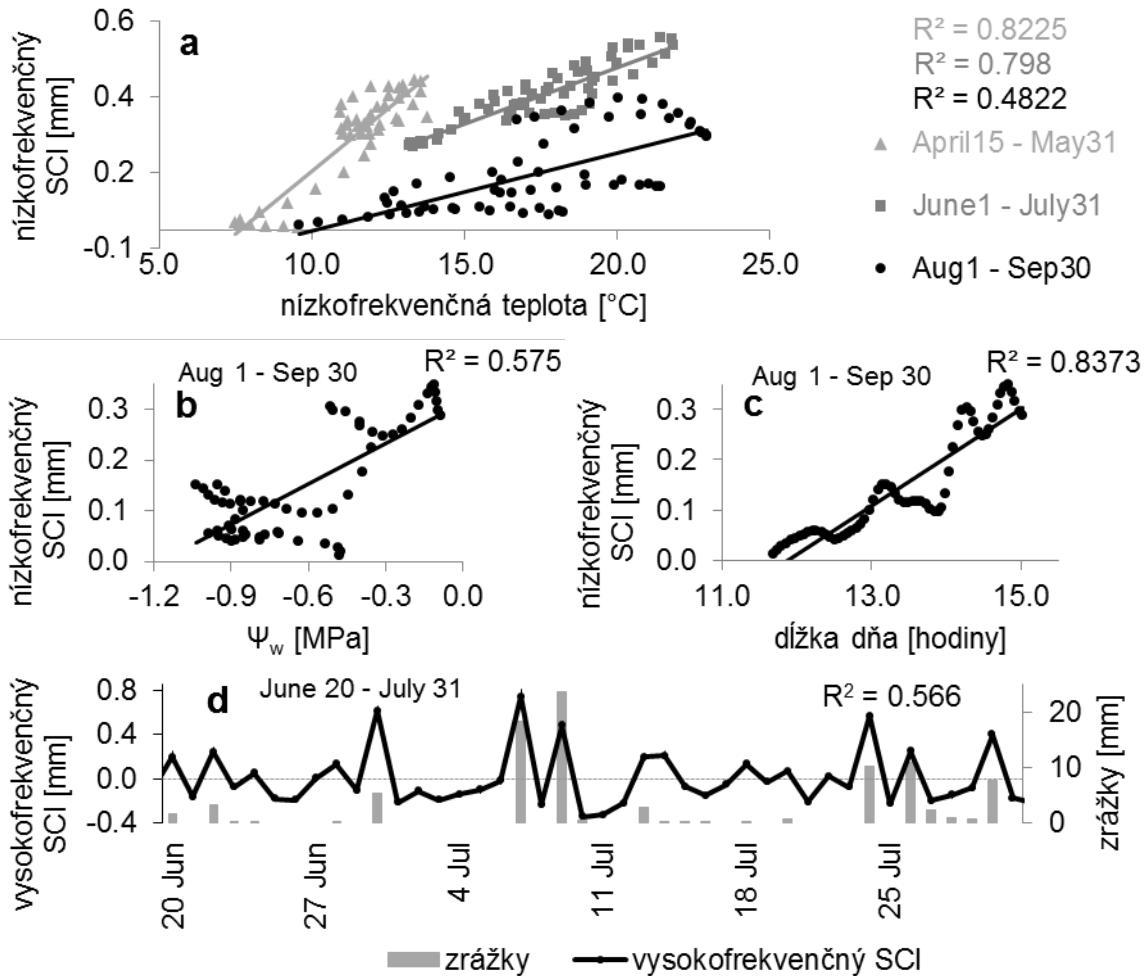
Obr. 1. Sezónny priebeh nízko-frekvenčných denných SCI a nízko-frekvenčných priemerných a minimálnych denných teplôt (a), denných úhrnov zrážok a priemerného vodného potenciálu pôdy (b) a vysokofrekvenčných denných SCI (c). Vertikálne čiary reprezentujú 95% intervaly spoľahlivosti.

Na voľnej ploche v rámci provenienčnej plochy sme merali slnečnú radiáciu, teplotu vzduchu, vlhkosť vzduchu a úhrny zrážok. Merania vodného potenciálu pôdy ( $\Psi_w$ ) prebiehali na každej mikroploche v 15, 30 a 50 cm hĺbke (kontinuálne do -1.1 MPa, s použitím sádrových bločkov (Delmhorst Inc., USA)) a zároveň na 2 mikroploškách pri meteo meraniach. Celkovo bolo použitých 36 sádrových bločkov, 12 pre každú hĺbku.



## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Celkovo bolo vegetačné obdobie (apríl – september) 2015 teplotne nadnormálne ( $+1.7^{\circ}\text{C}$ ), a zrážkovo deficitné (77% z dlhodobého priemeru) s najväčšími odchýlkami v mesiaci august (Obr. 1a, b,  $+3.4^{\circ}\text{C}$  a iba 17% zrážok) ktorý bol najteplejším mesiacom s najnižším zrážkovým úhrnom, čo sa prejavilo na poklese hodnôt vodného potenciálu pôdy až k minimu  $-1.03\text{ MPa}$  dňa 4. septembra. Následne počas obdobia zrážok s nízkymi dennými úhrnmi  $\Psi_w$  kolísal a k výraznejšiemu nárastu došlo v poslednej septembrovej dekáde. Nízkofrekvenčný signál SCI reprezentujúci predovšetkým prírastkové procesy v rámci tvorby nového ročného kruhu /5, 6/ boli počas obdobia s vysokým  $\Psi_w$  úzko spojené s nízkofrekvenčným signálom teploty (Obr. 1a, 2a).



Obr. 2. Vzájomné vzťahy medzi nízkofrekvenčným SCI a nízkofrekvenčnou dennou teplotou (a) v rozličných obdobiach sezóny (legenda), vzťahy medzi nízkofrekvenčným SCI a vodným potenciálom pôdy (b) resp. dĺžkou dňa (c) v období 1. august – 30. september. Priebeh a vzájomný vzťah medzi vysokofrekvenčným SCI a zrážkami (d) v období 20. jún – 31. júl.

Predovšetkým každé výraznejšie ochladenie sa jednoznačne manifestovalo na poklese nízkofrekvenčného SCI. Začiatok a ukončovanie sezónneho nárastu obvodu, ktoré bývajú synchronizované s fotoperiódou (Obr. 1a, 2 c) /5, 6/, sú zrejme zároveň spojené s vnútornými faktormi súvisiacimi s hormónmi a rastovými regulátormi. Sezónna nízkofrekvenčná zložka SCI prudko začala stúpať koncom apríla, následne bola synchronizovaná s teplotou približne do konca júla – začiatku augusta. Potom nízkofrekvenčný SCI začína klesať, synchronizácia s teplotou slabne (Obr. 2a)

a naopak narastá synchronizácia s  $\Psi_w$  (Obr. 2b, za obdobie 1. august – 3. september  $R^2 = 0.69$ ). Hoci najvyššiu koreláciu sme v období august-september zaznamenali s klesajúcou dĺžkou dňa môžeme predpokladať, že pokles SCI, predovšetkým v auguste bol ovplyvnený suchom spojeným s poklesom  $\Psi_w$ , keďže rast jedle sa zdá byť senzitívnejší k vodnému stresu počas leta v porovnaní s bukom /8/, ktorý reaguje na takéto poklesy zníženým SCI /6/. Bližšia kvantifikácia vplyvu jednotlivých faktorov si vyžaduje porovnanie viacerých sezón /7/. Sezónne zmeny obvodu kmeňov jedle bielej sledovali /3/ a /7/. Sezónnou dynamikou formovania xylému a floému jedle bielej sa zaoberali /4/, ktorí konštatujú užšie prepojenie dynamiky formovania xylému s vonkajšími environmentálnymi faktormi ako v prípade floému.

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

## LITERATÚRA

- /1/ Bošela, M., Petráš, R., Sitková, Z., Priwitzer, T., Pajčík, J., Hlavatá, H., Sedmák, R., Tobin, B. : Possible causes of the recent rapid increase in the radial increment of silver fir in the Western Carpathians. *Environmental Pollution*, 184, 2014: 211–221.
- /2/ Duchesne, L., Houle, D.: Modeling day to day stem diameter variation and annual growth of balsam fir (*Abies balsamea* (L.) Mill.) from daily climate. *Forest Ecology and Management*, 262, 2011: 863–872.
- /3/ Ďurský, J., Mozoľová, Z.: Dynamika hrúbkového rastu stromov horského lesa počas vegetačného obdobia. In CD: Perspectives of the ecological research in mountain forest ecosystems, ISBN 80-88853-45-1, Poľana 22.-25. Október 2001: p11.
- /4/ Gričar, J., Čufar, K.: Seasonal Dynamics of Phloem and Xylem Formation in Silver Fir and Norway Spruce as Affected by Drought. *Russian Journal of Plant Physiology*, 55, 2008: 597–603.
- /5/ Ježík, M., Blaženec, M., Střelcová, K.: Intraseasonal stem circumference oscillations: their connection to weather course. *Folia Oecologica*, 34, 2014: 105–115.
- /6/ Ježík, M., Blaženec, M., Kučera, J., Střelcová, K., Ditmarová, L.: The response of intra-annual stem circumference increase of young European beech provenances to 2012-2014 weather variability. *iForest, Biogeosciences and Forestry*, 2016: doi: 10.3832/ifor1829-009.
- /7/ Knott, R.: Seasonal Dynamics of the diameter increment of fir (*Abies alba* Mill.) and beech (*Fagus sylvatica* L.) in a mixed stand. *Journal of Forest Science*, 50, 2004: 149–160.
- /8/ Maxime, C., Dendrik, D.: Effects of climate on diameter growth of co-occurring *Fagus sylvatica* and *Abies alba* along an altitudinal gradient. *Trees*, 25, 2011: 265–276.

## Pod'akovanie

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

## LISTOVÉ HNOJIVO JAKO DOPLNĚK VÝŽIVY OVOCNÝCH DŘEVIN V OBDOBÍ SUCHA

### *FOLIAR FERTILIZER AS A SUPPLEMENT OF NUTRITION FRUIT TREES DURING DROUGHT*

Gabriela Kurešová<sup>1</sup>, Adéla Neumannová<sup>1</sup>, Martin Mészáros<sup>2</sup>, Pavel Svoboda<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Oddělení produkční fyziologie a výživy rostlin, Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně,

<sup>2</sup> Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy, s.r.o., Holovousy 129, Hořice 508 01

#### *Summary*

The effect of foliar nutrition on quality and fruit size of apple was observed. The fertilizers, calcium and potassium hydrolysates with microelements were alternately applied to varieties 'Topaz' and 'Rosana' eight times at ten-day intervals. At 2014 harvest, basic quality of fruit apples treated with foliar fertilizer was higher compared to untreated control apples. In 2015, this effect was not confirmed, probably due to long – term heat and drought stresses during the growing season.

*Key words: Apple tree, foliar nutrition, drought, stress*

#### *Souhrn*

Byl sledován vliv listové výživy na kvalitu a velikost plodů jabloní. Ověřovaná hnojiva, hydrolyzát vápenatý a hydrolyzát draselný s mikroelementy, byla střídavě aplikována na odrůdy 'Topaz' a 'Rosana' v osmi termínech v desetidenních intervalech. V době sklizně bylo provedeno základní kvalitativní hodnocení plodů jabloní s aplikací listového hnojiva v porovnání s jablky z kontrolních neošetřených jabloní. V roce 2014 byla velikost a kvalita jablek z hnojených jabloní výrazně vyšší než u kontrolní varianty. V roce 2015 se tento efekt nepotvrdil, pravděpodobně v důsledku působení dlouhodobého stresu z vysokých teplot a nedostatku vody v průběhu vegetace.

*Klíčová slova: jabloň, listová výživa, stres, sucho*

## ÚVOD

Hlavním zdrojem živin je pro rostliny jejich příjem kořenovým systémem z půdy. Rostliny jsou schopny přijímat živiny nadzemní částí a to především povrchem listů. Mimokořenová výživa se uplatňuje především při zhoršeném příjmu živin kořeny (např. při nedostatku vláhy) nebo při akutním nedostatku některých prvků /2/.

Doplňková mimokořenová výživa může být velmi účinná při korekci výživného stavu rostlin, příjem takto dodávaných živin je však ovlivněn vnějšími podmínkami. Stres způsobený nedostatkem vody v kombinaci s vysokými teplotami může být příčinou snížené schopnosti listů přijímat živiny a využít je pro svůj růst /1/.

Ovocné stromy jsou trvalou kulturou a během jejich růstu postupně dochází k vyčerpání živin z půdy, některé živiny (především stopové prvky) lze doplnit aplikací na list.

## MATERIÁL A METODIKA

Pokusy byly provedeny v letech 2014 a 2015 v sadu na stanovišti v Praze Ruzyni. K pokusu bylo vybráno třicet stromů jabloní v období plodnosti, odrůdy 'Topaz' a 'Rosana'. Každá z odrůd byla rozdělena na čtyři skupiny pokusných stromů, u kterých bylo aplikováno navržené hnojivo a

čtyři kontrolní skupiny bez aplikace. Na začátku vegetace byla provedena listová analýza výživného stavu. Vzhledem k fyzikálně-chemickým vlastnostem byl na stromy určené ke hnojení střídavě aplikován čistý kolagenní hydrolyzát vápenatý pro zajištění přísunu vápníku a kolagenní hydrolyzát draselný s mikroelementy. Bylo provedeno celkem osm aplikací v přibližně desetidenních intervalech.

Tab.1: Složení aplikovaných listových hnojiv v %

|                                    | Hycol -jádrovina | Hycol-E Ca |
|------------------------------------|------------------|------------|
| <b>Celkový dusík jako N</b>        | min 4,0          | min. 4,0   |
| <b>Sušina</b>                      | min. 35          | min. 25    |
| <b>Draslík jako K<sub>2</sub>O</b> | min. 2,0         | 0          |
| <b>Hořčík jako MgO</b>             | 0                | 0          |
| <b>Bor jako B</b>                  | 0,2              | 0          |
| <b>Mangan jako Mn</b>              | 0,2              | 0          |
| <b>Zinek jako Zn</b>               | 0,2              | 0          |
| <b>Železo jako Fe</b>              | 0,05             | 0          |
| <b>Ca jako CaO</b>                 | 0                | 3          |
| <b>Hodnota pH</b>                  | 5,0-7,0          | 6,5-8,0    |

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Pozitivní vliv aplikovaného hnojiva byl v roce 2015 pouze u odrůdy Rosana. V roce 2014 byl pozitivní vliv hnojení pozorován u obou odrůd. U kontrolní varianty byl v roce 2014 v obou případech zjištěn vyšší podíl menších plodů (Rosana 38%, Topaz 55% plodů do 65 mm). U ošetřené varianty bylo plodů o velikosti do 65 mm pouze 13% u odrůdy Rosana, u odrůdy Topaz 28%. Průměrná hmotnost plodů je uvedena v tabulce č. 2.

Tab.2: Velikost jablek v Praze Ruzyni v letech 2015 a 2014

| ODRŮDA | VARIANTA | 2015        | 2014        |
|--------|----------|-------------|-------------|
|        |          | m[g]        | m[g]        |
| ROSANA | H        | 167,2 ± 4,7 | 206,2 ± 6,4 |
|        | K        | 155,6 ± 9,2 | 171,3 ± 7,8 |
| TOPAZ  | H        | 156,1 ± 4,7 | 104,2 ± 8,1 |
|        | K        | 147,0 ± 5,9 | 128,0 ± 2,1 |

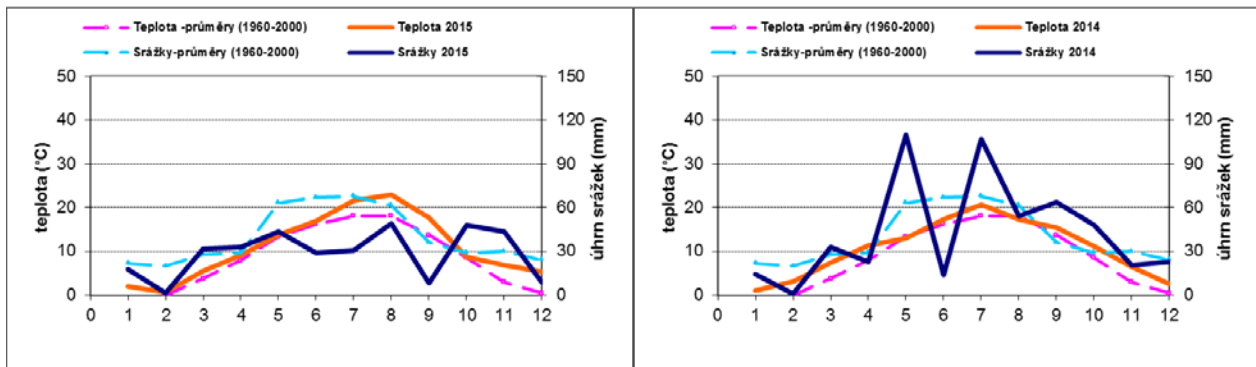
Ošetřované varianty se vyznačovaly vyšším stupněm kvality v roce 2014 u obou variant. V roce 2015 byla kvalitnější odrůda Rosana oproti odrůdě Topaz. U odrůdy Rosana byl zjištěn pozitivní vliv aplikovaného hnojiva. Odrůda Topaz měla kvalitnější jablka v kontrolní variantě. Konkrétní data uvádí tabulka č. 3.

Výsledky pokusů mohou souviset s průběhem počasí během vegetace (graf 1). Rok 2015 byl extrémně suchý a horký, což se mohlo projevit na schopnosti listů přijímat živiny. Aplikace živin na list je účinná při zhoršených podmínkách příjmu živin z půdy způsobených suchem, ale při kombinaci dlouhodobého stresu z vysokých teplot se pravděpodobně tento efekt snižuje.

Tab.3: Kvalitativní třídy u jablek odrůd Topaz a Rosana (Praha Ruzyně 2014,2015)

| Odrůda        |                   | Topaz          |                 | Rosana         |                 |
|---------------|-------------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|
| 2015          |                   | <b>hnojeno</b> | <b>kontrola</b> | <b>hnojeno</b> | <b>kontrola</b> |
| kvalit. třída | výběr             | 11%            | 7%              | 81%            | 61%             |
|               | I                 | 12%            | 10%             | 6%             | 12%             |
|               | II                | 35%            | 23%             | 2%             | 4%              |
|               | nestandard (mošt) | 36%            | 30%             | 4%             | 8%              |
|               | odpad             | 6%             | 5%              | 7%             | 14%             |

| Odrůda        |                   | Topaz          |                 | Rosana         |                 |
|---------------|-------------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|
| 2014          |                   | <b>hnojeno</b> | <b>kontrola</b> | <b>hnojeno</b> | <b>kontrola</b> |
| kvalit. třída | výběr             | 45%            | 46%             | 53%            | 27%             |
|               | I                 | 29%            | 16%             | 12%            | 17%             |
|               | II                | 7%             | 7%              | 13%            | 15%             |
|               | nestandard (mošt) | 12%            | 28%             | 16%            | 25%             |
|               | odpad             | 6%             | 4%              | 6%             | 16%             |



Graf 1: Průběh teplot a srážek v letech 2015 a 2014 ve srovnání s dlouhodobým průměrem

## LITERATURA

- /1/ Singh, J., Singh, M., Jain, A., Bhardwaj, S., Singh, A., Singh, D. K., Dubey, S. K.: An introduction of plant nutrients and foliar fertilization: a review. Precision farming: a new approach. Daya Publishing Co., New Delhi, 2013: 252-320.
- /2/ Waraich, E. A., Ahmad, R., Halim, A., & Aziz, T.: Alleviation of temperature stress by nutrient management in crop plants: a review. Journal of soil science and plant nutrition, 12(2), 2012: 221-244.

## Poděkování

Příspěvek byl připraven s podporou projektu NAZV QJ1210209 a NAZV QJ1510133.

## BIOMARKERY OXIDATIVNÍHO STRESU U *LEMNA MINOR* V PŘÍTOMNOSTI DIKLOFENAKU A PARACETAMOLU

### **BIOMARKERS OF OXIDATIVE STRESS IN *LEMNA MINOR* UNDER DICLOFENAC AND PARACETAMOL**

Štěpán Zezulka<sup>1</sup>, Marie Kummerová<sup>1</sup>, Markéta Hájková<sup>1</sup>, Petr Babula<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> Masarykova univerzita Brno, Lékařská fakulta, Fyziologický ústav, Kamenice 753/5, 625 00 Brno

#### *Summary*

Results of this study proved a marginal effect of paracetamol and low concentrations (0.1 and 10 µg/l) of diclofenac to dry weight of duckweed (*Lemna minor*). Increasing environmental loading (0.1, 10 and 100 µg/l) led in plants to a significant increase in content of reactive oxygen and nitrogen species (ROS, RNS) especially under the effect of paracetamol. Opposingly the occurrence of diclofenac (especially 100 µg/l) decreased significantly the oxido-reductase and dehydrogenase activity and increased the peroxidation of lipids (MDA) and even the permeability of membrane (accumulation of Evans Blue dye).

*Key words: Lemna minor, diclofenac, paracetamol, ROS, RNS, oxidative stress*

#### *Souhrn*

Výsledky této studie prokázaly nevýznamný vliv paracetamolu a nízkých koncentrací (0,1 a 10 µg/l) diklofenaku na hmotnost sušiny okřehku menšího (*Lemna minor*). Se zvyšujícím se zatížením prostředí (0,1; 10 a 100 µg/l) se u rostlin významně zvyšoval obsah reaktivních forem kyslíku (ROS) a dusíku (RNS) zejména vlivem paracetamolu. Přítomnost 100 µg/l diklofenaku naopak významně snížila oxidoreduktázovou a dehydrogenázovou aktivitu, zvýšila peroxidaci lipidů (MDA) i propustnost membrán (akumulace Evansovy modři).

*Klíčová slova: Lemna minor, diklofenak, paracetamol, ROS, RNS, oxidativní stres*

## ÚVOD

Léčiva byla poprvé identifikována jako potenciální environmentální kontaminanty v sedmdesátých letech 20. století. Humánní a veterinární přípravky, jejich aktivní složky a produkty transformace kontaminují vodní ekosystémy zejména z odpadních kalů a vod /1/. Je prokázána jejich akumulace i akutní a chronická toxicita, vedoucí např. k ovlivnění reprodukce necílových organismů /2/. Na druhou stranu, jen omezený počet metod je využitelný pro kvantitativní hodnocení jejich potenciálního ekologického dopadu.

Cílem studie bylo posoudit vliv často používaných protizánětlivých léků diklofenaku a paracetamolu a jejich zvyšující se koncentrace (0,1; 10 a 100 µg/l) na růst rostlin (sušina) a doposud zřídka studované biochemické parametry na úrovni buněk a pletiv (aktivita enzymů, přítomnost reaktivních forem kyslíku a dusíku) okřehku menšího (*Lemna minor*). Tato vyšší vodní cévnatá rostlina je pro svou citlivost a schopnost akumulace hojně využívána jako modelový organismus pro studium ekologie společenstev, v ekotoxikologii a v neposlední řadě při produkci biofarmak.

## MATERIÁL A METODA

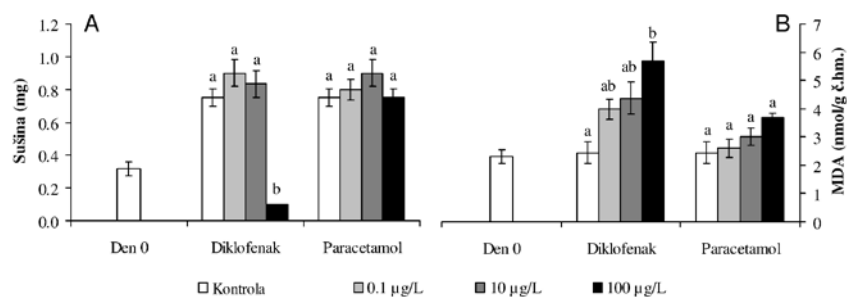
Diklofenak (DCF) i paracetamol (PCT) byly rozpuštěny v acetonu (Labscan, Ireland) a dodány do Steinbergova média (SM, pH 5.5±0.2; ČSN EN ISO 20079) na finální koncentrace 0,1;

10 a 100  $\mu\text{g/l}$ . Stejně rostliny okřehku menšího (*Lemna minor*) byly po předkultivaci umístěny do makrotitračních destiček (6 jamek, objem jamky 15 ml; 6 rostlin na jamku) a kultivovány v SM bez (kontrola) a s přidavkem DCF nebo PCT. Na počátku pokusu (den 0) a po 10 dnech kultivace v řízených podmínkách (teplota  $22\pm 2$  °C, relativní vzdušná vlhkost 60 %, ozáření 150  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ , fotoperioda 12/12) byla u každého zatížení hodnocena hmotnost sušiny rostlin. Pro kvantifikaci různých forem ROS byly použity Cell ROX Deep Red reagent, dihydrorhodamine 123, dihydroethidium a 3'-(p-aminophenyl)fluorescein a pro RNS 4-amino-5-methylamino-2',7'-difluorofluorescein diacetate (vše Life Technologies, USA). Dehydrogenázová a oxido-reduktázová aktivita byla hodnocena spektrofotometricky z redukce 1-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-3,5-diphenyltetrazolium bromidu (MTT) a 1,3,5-triphenyltetrazolium chloridu (TTC) na formazan /3/. Míra peroxidace lipidů byla vyjádřena jako ekvivalent obsahu malondialdehydu. Změny v integritě plazmatické membrány byly stanoveny spektrofotometricky užitím Evansovy modři. Pro vyhodnocení výsledků byla použita jednocestná analýza rozptylu (ANOVA) a Tukey HSD test při  $P < 0.05$ .

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Vodní rostliny, které jsou významnými organismy v produkci  $\text{O}_2$ , cyklu živin, kontrole kvality vod a stabilizaci sedimentů, hrají ve vodních ekosystémech i úlohu potravy a přirozeného prostředí pro organismy vyšších trofických úrovní. Kontaminace organickými polutanty včetně léčiv může mít negativní dopad jak na jednotlivé organismy, tak i biotická společenstva a tím na kvalitu vod. Vodní rostliny však mohou významně přispívat i k odstranění a biotransformaci xenobiotik z kontaminovaných vod a sedimentů /4/.

Jeden z obvykle hodnocených růstových parametrů v testech fytoxicity, tvorba biomasy, nebyl ovlivněn žádným zatížením PCT (0,1; 10 a 100  $\mu\text{g/l}$ ), ani nízkými koncentracemi DCF (0,1 a 10  $\mu\text{g/l}$ ) (obr. 1A). Inhibiční vliv 100  $\mu\text{g/l}$  DCF je v souladu se závěry Pomati *et al.* /5/, kteří však vystavili okřehku účinku až o řád vyšších koncentrací podobného léku, ibuprofenu.

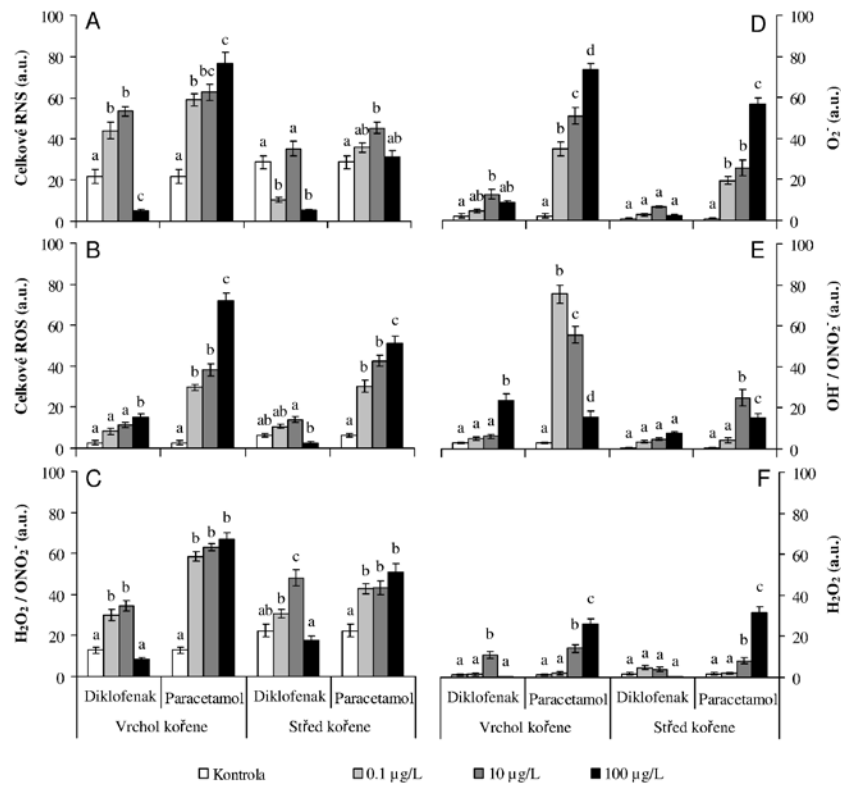


Obr. 1: Sušina (mg; A) a obsah malondialdehydu (MDA, nmol/g č.hm.; B) u *Lemna minor* po 10 dnech ve Steinbergově médiu bez (kontrola) a s diklofenakem a paracetamolem (0,1; 10 a 100  $\mu\text{g/l}$ ). Sloupce prezentují průměr ze 6 opakování, chybové úsečky směrodatnou odchylku. Písmena značí statisticky významné rozdíly při  $P < 0.05$  (ANOVA, Tukey HSD range test).

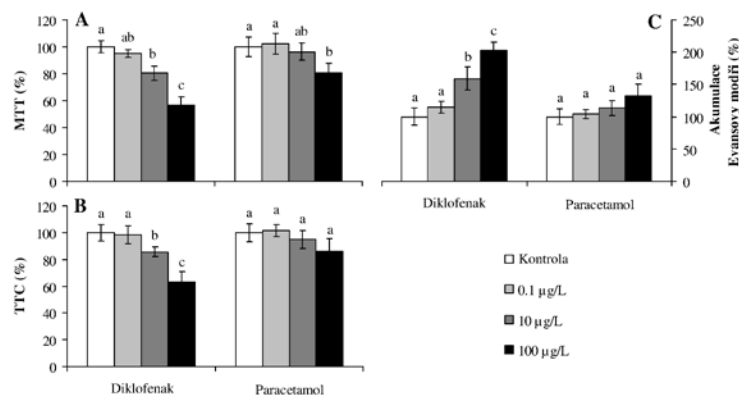
Negativní vliv řady organických polutantů na rostliny souvisí i s nadměrnou tvorbou reaktivních forem kyslíku nebo dusíku, které jsou zodpovědné za peroxidaci lipidů, oxidaci proteinů, sloučenin s thiolovými skupinami a nukleových kyselin /6/. Z obr. 2 je patrné, že také při zvyšujícím se zatížením prostředí léčiv (0,1; 10 a 100  $\mu\text{g/l}$ ) se u rostlin okřehku jak ve vrcholu, tak ve střední části kořene významně zvyšoval obsah reaktivních forem kyslíku (celkové ROS,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{OH}^-$ ) a dusíku (celkové RNS,  $\text{ONO}_2^-$ ) zejména vlivem PCT.

Přítomnost toxických látek v prostředí a oxidativní stres v důsledku zvýšené tvorby ROS a RNS v rostlinných buňkách a pletivech se negativně odrazilo i ve funkci řady enzymatických

systémů. Prokázané snížení aktivity cytosolických oxidoreduktáz (MTT) a mitochondriálních dehydrogenáz (TTC; obr. 3A,B) zejména v přítomnosti DCF je toho důkazem.



Obr. 2: Relativní obsah celkových reaktivních forem dusíku (RNS; A), celkových reaktivních forem kyslíku (ROS; B), peroxidu vodíku / peroxynitritu ( $H_2O_2$  /  $ONO_2^-$ ; C), superoxidového anoinu ( $O_2^-$ ; D), hydroxylového radikálu / peroxynitritu ( $OH$  /  $ONO_2^-$ ; E), a peroxidu vodíku ( $H_2O_2$ ; F) u *Lemna minor* po 10 dnech ve Steinbergově médiu bez (kontrola) a s diklofenakem a paracetamolem (0,1; 10 a 100  $\mu$ g/l). Statistické hodnocení jako u obr. 1.



Obr. 3: Relativní změny v oxido-reduktázové aktivitě stanovené spektrofotometricky (MTT test; A), dehydrogenázové aktivitě (TTC test; B), a akumulace Evansovy modři v důsledku poškození membrán (C) u *Lemna minor* po 10 dnech ve Steinbergově médiu bez (kontrola) a s diklofenakem a paracetamolem (0,1, 10 a 100  $\mu$ g/l). Statistické hodnocení jako u obr. 1.

Jedním z negativních důsledků oxidativního stresu je také peroxidace lipidů v buněčných membránách, vedoucí ke snížení jejich integrity a omezení funkčnosti. Zvýšený obsah malondialdehydu (obr. 1B), produktu peroxidace lipidů, zejména v přítomnosti vyšších



koncentrací DCF a průkazně zvýšená akumulace Evansovy modři (obr. 3C) při působení DCF 10 a 100 µg/l dokládají, že léčivy vyvolaná tvorba reaktivních forem kyslíku a dusíku a jimi způsobený oxidativní stres se negativně odrazilo ve stavu buněčných membrán rostlin okřehku.

Výsledky této studie prokázaly, že léčiva jsou významnými kontaminanty životního prostředí, které mohou ovlivňovat růst a vývoj rostlin. Již na subcelulární úrovni jsou jimi ovlivněny procesy, jejichž změny včasné indikují přítomnost a vliv stresoru.

#### LITERATURA

- /1/ Uslu, M.O., Jasim, S., Arvai, A., Bewtra, J., Biswas, N.: A survey of occurrence and risk assessment of pharmaceutical substances in the Great Lakes Basin. *Ozone Science and Engineering* 35, 2013: 249-262.
- /2/ Zhang, D.Q., Gersberg, R.M., Ng, W.J., Tan, S.K.: Removal of pharmaceuticals and personal care products in aquatic plant-based systems: A review. *Environmental Pollution* 184, 2014: 620-639.
- /3/ Babula, P., Vaverková, V., Pobořilová, Z., Ballová, L., Masařík, M., Provazník, I.: Phytotoxic action of naphthoquinone juglone demonstrated on lettuce seedling roots. *Plant Physiology and Biochemistry* 84, 2014: 78-86.
- /4/ Zezulka, Š., Kummerová, M., Babula, P., Váňová, L.: Lemna minor exposed to fluoranthene: Growth, biochemical, physiological and histochemical changes. *Aquatic Toxicology* 140-141, 2013: 37-47.
- /5/ Pomati, F., Netting, A.G., Calamari, D., Neilan, B.A.: Effects of erythromycin, tetracycline and ibuprofen on the growth of *Synechocystis* sp. and *Lemna minor*. *Aquatic Toxicology* 67, 2004: 387-396.
- /6/ Babula, P., Vodička, O., Adam, V., Kummerová, M., Havel, L., Hošek, J., Provazník, I., Skutková, H., Beklová, M., Kizek, R.: Effect of fluoranthene on plant cell model: Tobacco BY-2 suspension culture. *Environmental and Experimental Botany* 78, 2012: 117-126.

#### Poděkování

Uvedená práce vznikla v rámci specifického výzkumu na vysoké škole. Autoři děkují studentu Mgr. Aleši Bradáčovi (PřF MU) za přípravu experimentu.

## VPLYV TEPLoty A ZRÁŽOK NA RAST GAŠTANA JEDLÉHO (*CASTANEA SATIVA MILL.*) V OBLASTI MODRÉHO KAMEŇA

### *INFLUENCE OF TEMPERATURE AND PRECIPITATION ON EUROPEAN CHESTNUT GROWTH (*CASTANEA SATIVA MILL.*) IN THE MODRÝ KAMEŇ AREA*

Michal Pástor<sup>1</sup>, Vlastimil Murgaš<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Katedra plánovania a krajiny, Fakulta ekológie a environmentalistiky, Technická univerzita vo Zvolene, T.G. Masaryka 24, 960 53 Zvolen, email: michalpastor65@gmail.com

<sup>2</sup> Katedra hospodárskej úpravy lesov a geodézie, Lesnícka fakulta, Technická univerzita vo Zvolene, T.G. Masaryka 24, 960 53 Zvolen, email: xmurgasv@tuzvo.sk

#### *Summary*

European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) belongs among hardwood deciduous tree species, where the border between earlywood and latewood is easily distinguish. From this reason, this tree species is therefore seems to be suitable for performing dendrochronological analysis. Objective of the paper was found out strength of correlation between ring-width index of chestnut standard chronology and average month temperatures / precipitations. From the results revealed, that chestnut growth in selected area limits more precipitation than air temperature. Significantly negative influence on chestnut growth had average values of air temperatures for all vegetation season (April – September). Taking into account the precipitation for the whole vegetation season was found significantly positive impact.

*Key words: dendroclimatology, chestnut, growth, temperature, precipitation*

#### *Súhrn*

Gaštan jedlý (*Castanea sativa* Mill.) patrí medzi tvrdé listnaté dreviny, kde hranica medzi letným drevom a jarným drevom je ľahko rozoznateľná. Z tohto dôvodu sa preto táto drevina javí ako vhodná na vykonávanie dendrochronologických analýz. Cieľom príspevku bolo zistenie tesnosti korelácie medzi letokruhovými indexmi štandardnej chronológie gaššana a priemernými mesačnými teplotami vzduchu a úhrnmi zrážok. Z výsledkov výskumu vyplynulo, že rast gaššana v danej oblasti limituje viac úhrn zrážok ako teplota vzduchu. Signifikantne negatívny vplyv na prírastok gaššana mali priemerné hodnoty teploty vzduchu za celé vegetačné obdobie (apríl – september). Pri zohľadnení úhrnu zrážok za celé vegetačné obdobie sa zistil signifikantne pozitívny vplyv.

*Kľúčové slová: dendroklimatológia, gaštan, rast, teplota, zrážky*

## ÚVOD

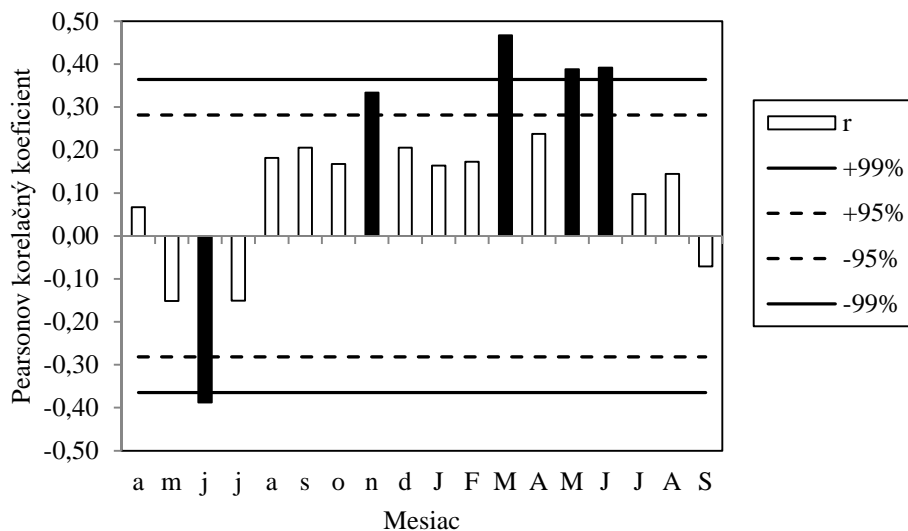
Gaštan jedlý (*Castanea sativa* Mill.) je veľmi významná drevina s viacúčelovým využitím vo viacerých oblastiach Európy, hlavne vo vidieckych oblastiach. Je dôležitý druh z environmentálneho, sociálneho a ekonomického pohľadu. Bohužiaľ, je ohrozovaný rakovinou kôry (spôsobenou nepôvodnou hubou *Cryphonectria parasitica*), atramentovou chorobou a hmyzími škodcami. Mnohé ďalšie problémy boli identifikované pri manažmente gaššana a v posledných rokoch je klimatická zmena jedna z najvýznamnejších /1/. Dendrochronologické analýzy sú už dlho využívané k odhaleniu klimatických a environmentálnych vplyvov na dreviny /3/. Cieľom príspevku je zistenie tesnosti korelácie medzi letokruhovými indexmi reziduálnej chronológie gaššana a priemernými mesačnými teplotami vzduchu a úhrnmi zrážok.

## MATERIÁL A METÓDY

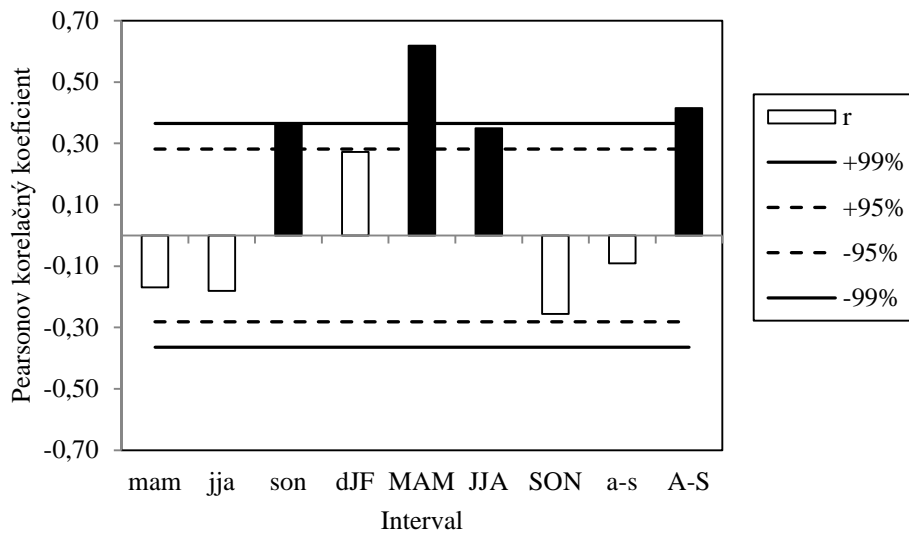
Odber prírastkových vývrtov gaššana jedlého pre dendrochronologické analýzy sa realizoval v novembri 2015. Vzorky pochádzali celkovo zo 16-tich jedincov nachádzajúcich sa v katastrálnych územiach obcí Modrý Kameň, Plachtince a Príbelce. Katastrálne územia patria do geomorfologického celku Juhoslovenská kotlina a klimaticky do teplej oblasti s miernou až chladnou zimou. Priemerný ročný úhrn zrážok je 600 – 700 mm. Priemerná ročná teplota vzduchu je 8 – 9 °C. Lokality s odberom vzoriek sú charakteristické nadmorskou výškou 261 – 393 m n. m. s prevažne juhovýchodnou expozíciou. Na týchto lokalitách boli jedince gaššana súčasťou porastového okraja alebo ako jednotlivé stojace stromy. Vzorky boli odobraté Presslerovým nebožiecom vo výške 1,30 m nad päťou kmeňa, resp. z hornej strany svahu s cieľom vyhnúť sa reakčnému drevu z vizuálne zdravých jedincov bez známok poškodenia a hniloby. Odoberal sa 1 vývrt za strom a zároveň sa zaznamenali GPS súradnice (Trimble Nomad 900G), údaje o hrúbke (obvodomer) a výške stromu (Vertex IV-GS). Spracovanie vzoriek sa riadilo podľa všeobecných zásad a postupov uplatňovaných v dendrochronológii /2/. Ročné radiálne prírastky sa merali na digitálnom poziciometri s presnosťou  $\pm 0,01$  mm. Údaje o ročných prírastkoch sa zaznamenávali v počítačovom programe DAS. Odstránenie vplyvu vekového trendu na veľkosť radiálneho prírastku sa previedla pomocou detrendizácie (indexácie) letokruhových sérii jednotlivých stromov. Pre dendroklimatickú analýzu sa použili klimatické údaje z meteorologickej stanice v Dolných Plachtinciach. Údaje o priemerných mesačných teplotách vzduchu a mesačných úhrnoch zrážok sa získali za obdobie 1966 – 2015. Na zistenie tesnosti korelácie medzi hodnotami letokruhových indexov štandardnej chronológie (závislá premenná) a klimatickými údajmi (nezávislá premenná) sa použila kros-korelačná funkcia.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

V oblasti Modrého Kameňa má väčší vplyv na tvorbu a šírku radiálneho prírastku gaššana úhrn zrážok ako teplota vzduchu. Z uvedeného vyplýva, že zrážky vystupujú ako limitujúci faktor pre rast gaššana v danej oblasti. Pri porovnaní tesnosti korelácie medzi letokruhovými indexmi a úhrnom zrážok sa preukázal signifikantne pozitívny vplyv zrážok v mesiacoch marec, máj, jún v aktuálnom roku a v novembri predchádzajúceho roka. Nedostatok zrážok v júni predchádzajúceho roka signifikantne negatívne vplyva na rast a prírastok gaššana (Obr. 1).

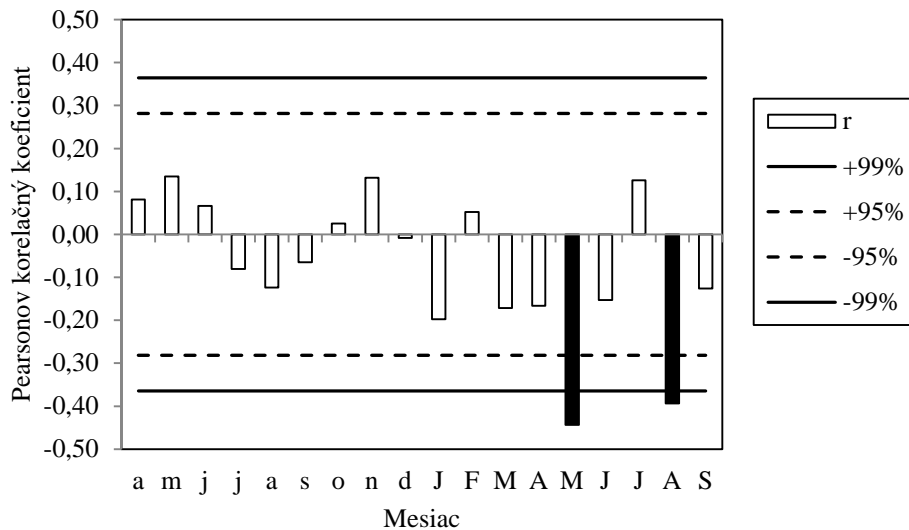


Obr. 1: Tesnosť korelácie medzi letokruhovými indexmi štandardnej chronológie gaššana a mesačným úhrnom zrážok od apríla predchádzajúceho roka do septembra aktuálneho roka. Tmavé stĺpce indikujú štatistickú významnosť koeficientov pri  $p < 0,05$ .



Obr. 2: Tesnosť korelácie medzi letokruhovými indexmi štandardnej chronológie gaššana a úhrnom zrážok pre jednotlivé intervaly s dĺžkou 3 mesiace a pre interval s dĺžkou 6 mesiacov. Tmavé stĺpce indikujú štatistickú významnosť koeficientov pri  $p < 0,05$ .

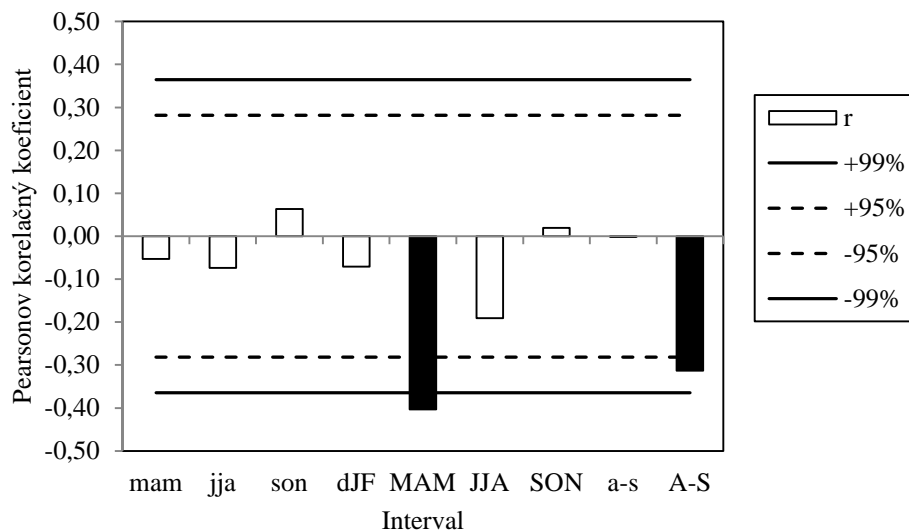
Na základe Obr. 2 môžeme konštatovať, že na rast gaššana signifikantne pozitívne vplyva úhrn zrážok za obdobie marec – máj, ako aj úhrn zrážok za jún – august v aktuálnom roku. Pozitívne vplyvajú tiež zrážky v predchádzajúcom roku od septembra do novembra. Rovnako pozitívny sa ukázal byť vplyv zrážok na rast a prírastok počas celého vegetačného obdobia v aktuálnom roku.



Obr. 3: Tesnosť korelácie medzi letokruhovými indexmi štandardnej chronológie gaššana a priemernými mesačnými teplotami vzduchu od apríla predchádzajúceho roka do septembra aktuálneho roka. Tmavé stĺpce indikujú štatistickú významnosť koeficientov pri  $p < 0,05$ .

Z Obr. 3 je zrejmé, že vysoké májové a augustové teploty vzduchu inhibujú rast a prírastok gaššana v aktuálnom roku. Pri pohľade na Obr. 4 vidíme, že na rast gaššana signifikantne negatívne

vplývajú priemerne vysoké teploty vzduchu za obdobie marec – máj a taktiež počas celého vegetačného obdobia v aktuálnom roku. Treba podotknúť, že na záujmovom území pretrváva zrážkový deficit v období od júna do októbra.



Obr. 4: Tesnosť korelácie medzi letokruhovými indexmi štandardnej chronológie gaštana a priemernými mesačnými teplotami vzduchu pre jednotlivé intervaly s dĺžkou 3 mesiace a pre interval s dĺžkou 6 mesiacov. Tmavé stĺpce indikujú štatistickú významnosť koeficientov pri  $p < 0,05$ .

#### LITERATÚRA

- /1/ Bratanova-Doncheva, Sv., Mirchev St., Lubenova, M. 2005. In *Acta Horticulturae*, special issue, Chaves, Portugal, 367-379.
- /2/ Cook, E. R. – Kairukstis, L. A. 1990. *Methods of dendrochronology: applications in the environmental sciences*. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher. 394 p.
- /3/ Schweingruber, F. H. 1989. *Tree Rings*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holland, 276 p.

#### Pod'akovanie

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory výskumného projektu IPA 01/2016 „Význam gaštaníc v agro-silvo-pastorálnych systémoch a hodnotenie zdravotného stavu gaštana jedlého s využitím bezpilotného lietadla“.

**ENDOFYTYCKÉ HUBY AKO BIOTICKÉ STRESORY RODU *PINUS******ENDOPHYTIC FUNGI AS BIOTIC STRESS FACTORS ASSOCIATED TO GENUS PINUS***

Helena Ivanová

<sup>1</sup> Ústav ekológie lesa SAV Zvolen, Pobočka biológie drevín, Akademická 2, 949 01 Nitra, SR

helena.ivanova@savzv.sk

**Summary**

Some endophytic fungi are actually latent pathogens that only become active under specific environmental conditions or when their host plants are stressed or begin to senesce. The spread and activity of endophytes *Chaetomium*, *Fusarium*, *Stachybotrys*, *Ulocladium* and *Acremonium* which in changed environmental conditions become of distinctive pathogens of plants as biotic stresses and are main reason of weaken of health state and vitality of selected *Pinus* species were observed.

*Key words:* *Acremonium sp.*, *biotic stress*, *Chaetomium sp.*, *Fusarium sporotrichioides*, *Pinus coulteri*, *Pinus nigra*, *Pinus ponderosa*, *Pinus strobus*, *Stachybotrys sp.*, *Ulocladium sp.*

**Súhrn**

Niektoré endofytické huby sú latentné patogénne mikroorganizmy, aktívne sa stávajú len za špecifických podmienok prostredia, alebo keď sú ich hostitelia vystavení stresovým podmienkam, prípadne starnú. My sme sledovali rozšírenie a aktivitu endofytov *Chaetomium*, *Fusarium*, *Stachybotrys*, *Ulocladium* a *Acremonium*, ktoré sa v zmenených environmentálnych podmienkach stávali výraznými patogénmi rastlín a ako biotické stresory boli hlavnou príčinou oslabenia zdravotného stavu a vitality vybraných druhoch rodu *Pinus*.

*Kľúčové slová:* *Acremonium sp.*, *biotický stres*, *Chaetomium sp.*, *Fusarium sporotrichioides*, *Pinus coulteri*, *Pinus nigra*, *Pinus ponderosa*, *Pinus strobus*, *Stachybotrys sp.*, *Ulocladium sp.*

**ÚVOD**

Endofyty sú organizmy, ktoré žijú vo vnútri pletív rastlín, pričom ich prítomnosť sa na vzhľade hostiteľa neprejavuje. Sú odolné voči stresu, čím pomáhajú hostiteľským rastlinám lepšie sa adaptovať v rôznych environmentálnych podmienkach /18, 19/. Podieľajú sa na produkcii sekundárnych metabolitov, ktoré ničia patogénne druhy húb, čím zohrávajú významnú úlohu v prevencii a vo vitalite rastlín /21/. V súvislosti so zmenenými klimatickými podmienkami sa na naše územie intenzívnejšie rozširujú patogény z južnej Európy. Takýmto príkladom je nárast ochorení letorastov a asimilačných orgánov borovic, najmä borovice čiernej. Celkovo sa mení rozšírenie a ekológia druhov húb a niektoré endofytické druhy sa môžu stať výraznými patogénmi rastlín /3, 4/. Potom sa správajú ako biotické stresory a spolu so zmenenými environmentálnymi podmienkami sú hlavnou príčinou oslabenia zdravotného stavu a vitality drevín. V týchto súvislostiach sme sa zamerali aj na rozšírenie a aktivitu húb vyskytujúcich sa na druhoch rodu *Pinus*, ktoré zaraďujeme do rodov *Chaetomium*, *Fusarium*, *Stachybotrys*, *Ulocladium* a *Acremonium*.

**MATERIÁL A METODIKA**

Počas hodnotenia drevín v parku Arboréta Mlyňany sme pozorovali výrazné poškodenie niektorých druhov rodu *Pinus* (*P. ponderosa* Douglas ex C. Lawson, *P. coulteri* D. Don., *P. strobus* L. a *P. nigra* L.). Výskumný materiál - symptomatické vzorky ihlíc vybraných druhov

borovic zozbierané počas leta a jesene 2015 vo vždyzelenom parku Arboréta Mlyňany - je depozitom na Pobočke biológie drevín ÚEL SAV v Nitre. Klasickými fytopatologickými metódami sme z poškodených ihlíc získali čisté kultúry. Kultivácia prebiehala v tme na 3% PDA médiu (T 24±1°C, 45% vzdušná vlhkosť) v testovacej komore MLR-351H (Sanyo). Na indukciu sporulácie sme čisté kultúry prenášali na čerstvé živné médium. Štruktúry húb sme sledovali klinickým mikroskopom BX41 (Olympus) pri 400× a 1000× zväčšení. Kultúry húb sme identifikovali podľa ich morfológických a mikroskopických charakteristík využívajúc rôzne morfológické kľúče a morfológické štúdie autorov: /3, 4, 10, 12, 15, 18/.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Počas sledovania rozšírenia a aktivity húb, vyskytujúcich sa na ihliciach borovic sme zaznamenali prítomnosť aj veľmi rôznorodého a vo svete hojne sa vyskytujúceho rodu *Chaetomium*. Mnohé z 95 druhov tohto rodu majú významnú schopnosť - pôsobením mykotoxínov chaetoglobozinu A a C rozkladajú celulózu, čím sú užitočné, ale môžu spôsobiť aj vážne poškodenie papiera a dreva (tzv. zelenú hnilobu dreva) /19/. Huby patria do triedy *Pyrenomycetes*, čeľaď *Xylariaceae*. Ich zástupcovia rastú na najrozmanitejších substrátoch, v pôde, vo vzduchu, na rastlinných zvyškoch a veľmi často na dreve /16/. My sme ich výskyt zaznamenali na viacerých druhoch borovic, ktoré rástli v Arboréte Mlyňany. Na povrchu poškodených pletív ihlíc sa tvorili peritéciá huby husto pokryté vláskami, otvárajúce sa ostiolom. Rod je charakterizovaný plodničkami ležiacimi na povrchu, ktoré sú zvyčajne pokryté vláskami so zaujímavou výzdobou /8/. Vrecká so spórmi sú kyjakovitého alebo vretenovitého tvaru, niekedy cylindrické, hrubostenné, bez apikálnych štruktúr. Parafýzy sa vyskytujú vzácne a strácajú sa po dozretí plodničky /23/. Askospóry sú hnedé alebo sivohnedé, citrónového tvaru, z oboch strán sploštené, jednobunkové, s jedným /2/ alebo častejšie s dvomi klíčiacími otvormi vylučujúce tmavú, čiernu, lepkavú masu /9, 14/. V našich pozorovaniach sa cez ostiol uvoľňovali jednovrstvové guľaté tenkostenné vrecká obsahujúce askospóry citrónového tvaru. Po dozretí spór sa stena vrecka rozpustila a slizovité spóry hnedej alebo sivohnedej až olivovohnedej farby sa z plodničky uvoľnili. Askospóry boli jednobunkové, veľké 6(7-)-8 × 3(4-)-5 μm, z oboch strán sploštené, s jedným alebo dvoma klíčiacími otvormi, vytlačané z aktívne narušených peritécií hruškového tvaru vo forme tmavej slizovitej masy obtočenej okolo dichotomicky rozvetvených vláskov rastúcich okolo hrdla plodničky. Spóry, ktoré neboli v slizovitej mase dostatočne spojené unikali vetrom, pričom buď uschli alebo sa úplne rozrušili.

Výskyt húb rodu *Chaetomium* bol spojený aj s výskytom ďalších húb rodov *Fusarium*, *Stachybotrys*, *Ulocladium* alebo *Acremonium*. Rod *Fusarium* predstavuje veľkú triedu vláknitých húb, rozšírenú v pôde /6/. Väčšina druhov sú neškodné saprofyty a sú relatívne početnými zástupcami mikrobiálnej komunity. Niektoré druhy produkujú v potrave z obilnín toxíny a môžu tak ovplyvniť zdravie človeka aj zvierat /5/. Zástupcovia rodu patria aj do širokého spektra fytopatogénnych mikroskopických húb vyskytujúcich sa aj na boroviciach. Huby prezimujú v pôde a na rastlinných zvyškoch vo forme mycélia alebo vo forme chlamydospór. K infekcii môže dôjsť prerastaním mycélia alebo konídiami, prípadne askospórmi. Vplyvom stresových faktorov: dostatok hubového inokula, suché a veľmi teplé počasie, náchylné druhy borovic vädnú od vrcholu. Poškodenie sa prejavuje usychaním korún, čo je spôsobené ochorením vetvičiek a konárov. Ochorenie je spojené so zmenou farby ihličia, ktoré neskôr opadáva. Najprv nastáva poškodenie malých konárov, neskôr začne vädnúť ihličie nad miestom infekcie, ktoré sa stáva postupne chlorotické, neskôr červené a hnedé. Huba je zodpovedná za padanie semenáčikov /1/, menej známe sú vplyvy pôsobenia na dospelé stromy. Znamky usychania korún spojené s farebnými zmenami asimilačných orgánov nás viedli k pokusom, kde sme poškodené ihlice kultivovali na PDA médiu a z poškodeného pletiva ihlíc počas 10-dňovej kultivácie sme izolovali hubu *Fusarium sporotrichioides*. Na médiách tvorila huba rýchlorastúce vzdušné, biele, časom mierne ružové až fialové mycélium, ktoré postupne nadobúdalo výrazné antokyánovo purpurové

zafarbenie s typicky 3 až 4-priehradkovými makrokonídiami. Najčastejšie sa vyskytovali 3-priehradkové makrokonídie veľké  $23(29)\text{-}37 \times 4\text{-}5(6) \mu\text{m}$ , menej 4-priehradkové makrokonídie veľké  $40\text{-}43 \times 4\text{-}5 \mu\text{m}$  s jemne zakrivenou stenou. Medzi makrokonídiami sa vyskytovali aj jednobunkové ovoidné mikrokonídie veľké  $5\text{-}8(15) \times 2\text{-}3(6) \mu\text{m}$  a početné chlamyospóry.

*Stachybotrys* je rozšírená saprotrofná vláknitá mikroskopická huba, ktorú možno izolovať z rozličných rastlinných materiálov /22, 25/. Patrí do triedy *Sordariomycetes*, rad *Hypocreales*. Izolovali sme ju z poškodených ihlíc borovíc. Mycélium zeleno-čiernej farby rástlo na médiách pomerne pomaly. Malo delené, rozvetvené, hladké,  $2\text{-}3 \mu\text{m}$  veľké hýfy. Konidiofory bledososovej farby boli jednoduché alebo vyrastali v skupinách, vzpriamené, rovné, niekedy mierne stočené, cylindrické, jemne sa stenčujúce smerom k vrchnej časti. Boli delené, hladké, hyalinné, veľké  $48\text{-}85 \times 3\text{-}5 \mu\text{m}$ , zakončené praslenom fialidov, vyrastajúcich v skupinkách po päť okolo bázy centrálnej fialidy. Niesli elipsoidné, jednobunkové konídie tmavohnedej farby, veľké  $9\text{-}11 \times 4\text{-}5 \mu\text{m}$ . Huba sa v prirodzených podmienkach podieľa na poškodzovaní a rozkladaní odumretého organického materiálu. Rozmnožuje sa pomocou drobných spór voľným okom neviditeľných. Podľa /7/ je túto hubu relatívne ľahko identifikovať pre jedinečnosť fialidov a morfológiu konidií. Fialidy sú dlhé  $9\text{-}14 \mu\text{m}$ , konidiofory sú vzpriamené, nepravidelne vetvené a delené, tmavo olivové, hrubostenné. Konídie sú elipsoidné, jednobunkové  $7\text{-}12 \times 4\text{-}6 \mu\text{m}$ , tmavohnedé až čierne. Mladé konídie sú na povrchu hladké, staršie majú zvlnený okraj. Sú uvoľňované postupne v slizovitej mase a po jej zaschnutí často zostávajú na konidioforoch ako kľbko spór.

Bežný kontaminant, ktorý sa vyskytuje v pôde a na rastlinách a môže byť izolovaný z papiera, dreva aj textilu /16, 25/ bol pozorovaný na poškodených ihliciach sledovaných borovíc. Rod *Ulocladium* patrí do triedy *Dothideomycetes*, radu *Pleosporales*. Tvoril hnedé až olivovo-čierne kolónie podobné vlne a pri teplote  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  bol rast jeho mycélia veľmi rýchly. Hýfy boli svetlohnedé, delené,  $1\text{-}2 \mu\text{m}$  dlhé. Krátke konidiofory mal jednoduché alebo sympodiálne rozvetvené, hladké, svetlohnedé. Početné viacbunkové konídie boli hnedej až žltohnedej farby, okrúhleho až oválneho, často vajcovitého tvaru, na báze zúžené, často hrubostenné, väčšinou jednotlivo usporiadané. Konídie veľké  $15\text{-}50 \times 8\text{-}9 \mu\text{m}$  boli pozdĺžne (0-2 priehradky) a priečne (1-4 priehradky) veľmi zreteľne septované, čo je pre rod *Ulocladium* charakteristické. Hlavným diagnostickým znakom, ktorým sa odlišujú konídie tohto rodu od konidií rodu *Alternaria* je tvar konidií, ktoré sú na báze zúžené /24/. Podľa týchto autorov rod tvorí hyalinné žltohnedé hladké mycélium s delenými hýfami a početnými vzpriamenými jednoduchými alebo delenými konidiofórmi zlatohnedej farby. Konídie sú kyjakovitého alebo elipsoidného tvaru s 3-6 priečnymi a 0-2 pozdĺžnymi priehradkami, veľké  $28\text{-}48 \times 11\text{-}14 \mu\text{m}$ , niektoré oválne až elipsoidné konídie majú veľkosť  $20\text{-}26 \times 13\text{-}15 \mu\text{m}$ , 3-6 priečných a 0-2 pozdĺžnych priehradiek.

Ďalšou endofytickou hubou nájdenou na ihliciach borovíc bola huba *Acremonium sp.* Na *Pinus halepensis* Mill. ju zaznamenal aj (11). Patrí do hojne rozšíreného rodu, ktorý obsahuje okolo 100 druhov. Väčšina zástupcov rodu ktoré sú izolované z odumretého rastlinného materiálu alebo z pôdy existuje ako saprofyty. Kompaktné kolónie rástli pomaly tvoriac práškovité až zamatové mycélium, najprv bielej, neskôr šedo-ružovej, červenej až oranžovej farby. Jeho hýfy boli hyalinné a produkovali mnoho jednoduchých vzpriamených fialidov. Konídie boli malé, jednobunkové, niekedy dvojbunkové, hyalinné alebo farebné, okrúhle alebo cylindrické, väčšinou skoncentrované vo forme slizovitého hlavičkového zakončenia alebo vo forme retiazky na každej fialide. Ich veľkosť sa pohybovala v rozmedzí  $4.0\text{-}7.8 \times 2.5\text{-}3 \mu\text{m}$ . Výskyt chlamyospór a sklerócií sme nepozorovali. Získané hodnoty korešpondujú s hodnotami nameranými autormi /13/. Huba tvorila kolónie bielej, neskôr oranžovej farby. Rozmery jednoduchých fialid:  $7\text{-}7.8 \times 1.4\text{-}4.9 \mu\text{m}$ . Konídie boli vajcovitého tvaru, niektoré dvojbunkové s rozmermi od  $4.2\text{-}8.4 \times 2.6\text{-}3.5 \mu\text{m}$ . Rýchlosť rastu mycélia bola pomalá, kompletný vývoj pri rýchlosti  $3.8 \text{ mm}$  trval 19 dní

Geografická poloha, podnebie a krátkodobé klimatické podmienky ovplyvňujú výskyt rôznych typov mikroskopických húb vo vonkajšom prostredí. Špecifické zmeny environmentálnych podmienok môžu vytvoriť stresové situácie, pri ktorých sa endofytické huby



ako latentní patogény aktivizují a reprodukují. V poslednom období sa aj my čoraz častejšie stretáme so zvýšeným výskytom endofytických húb, ktoré v našich pozorovaniach indikujú výskyt biotických stresorov ovplyvňujúcich vlastnosti sledovaných drevín.

## LITERATÚRA

- /1/ Azevedo, H., Pinto C.G.C., Fernandes, J., Loureiro, S., Santos, C.: Cadmium Effects on Sunflower Growth and Photosynthesis, *Journal of Plant Nutrition*, 28, 2005: 2211-2222
- /1/ Anderson, R.L.: New method for assessing contamination of slash and loblolly pine seeds by *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. *Plant Disease*, 70, 1986: 452-453.
- /2/ Asgari, B., Zare, R.: The genus *Chaetomium* in Iran, a phylogenetic study including six new species. *Mycologia*, 103(4), 2011: 863-882.
- /3/ Bacon, C.H.W., White, J.F.: *Microbial endophytes*. Marcel Delles, 2000: 514.
- /4/ Carroll, G.C., Carroll, F.C.: Studies of the incidence of coniferous needle endophytes in the Pacific Northwest. *Can. J. Bot.*, 56, 1978: 3034-3043.
- /5/ Cormick, S.P., Stanley, A.M., Stover, N.A., Alexander, N.J.: Trichothecenes: from simple to complex mycotoxins. *Toxins*, 3, 2011:802-814.
- /6/ Domsch, K.H., Gams, W., Anderson, T.H.: *Compendium of soil fungi*. Eching: IHW-Verl. 1993.
- /7/ Hauglan, R.A., Vesper, S.J., Harmon, S.M.: Phylogenetic relationships of *Memmoniella* and *Stachybotrys* species and evaluation of morphological features for *Memmoniella* species identification. *Mycologia*, 93, 2001: 54-65.
- /8/ Hawksworth, D.L., Wells, H.: Ornamentation on the terminal hairs in *Chaetomium* Kunze ex Fr. and some allied genera. *Mycol. Pap.*, 134, 1973: 1-24.
- /9/ Hess, W.M., Müller, E., Aue, R.: Germ pores of *Chaetomium* ascospores. *Naturwissensch.* 19, 1967: 521-522.
- /10/ Gerlach, W., Nirenberg, H.I.: The genus *Fusarium* - a pictorial atlas. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land- u. Forstwirtsch. Berlin-Dahlem* 209, 1982: 1-406.
- /11/ Ladjal, S., Harzallah, D., Dahamna, S., Bouamra, D., Bouharati, S., Khennouf, S.: Endophytic fungi isolated from *Pinus halepensis* needles in M'sila (Algeria) region and their bioactivities. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* 78(3), 2013: 625-631.
- /12/ Leslie, J.F., Summerell, B.A.: *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publ. Prof., Iowa, 2006: 256.
- /13/ Molina, R.E., Morales, R., Valenzuela, F.E., Vives, G.I.: Morphological characterization of *Acremonium*-like associated with *Neonectria fuckeliana* in *Pinus radiata* in Chile. *J. Bol. Micol.*, 27(2) 2012: 32-38.
- /14/ Millner, P.D., Motta, J.J., Lentz, P.L.: Ascospores, germ pores, ultrastructure and thermophilism of *Chaetomium*. *Mycologia*, 69, 1997: 720-733.
- /15/ Nelson, P.E., Toussoun, T.A., Marasas, W.F.O.: *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press, Univ. Park. 1983:193.
- /16/ Novotný, D.: A study of endophytic fungi of important agricultural plants. *Proceedings of the MICROMYCO 2007*. Nováková, A. (ed.). 2007: 97-101.
- /17/ Pieckova, E.: In vitro toxicity of indoor *Chaetomium* Kunze ex Fr. *Ann. Agric. Env. Med.* 10(1), 2003: 9-14.
- /18/ Porras-Alfaro, A., Bayman, P.: Hidden fungi, emergent properties: endophytes and microbiomes. *Annu Rev. Phytopathol.* 49, 2011: 291-315.
- /19/ Rodriguez R.J., Henson J., Van Volkenburgh E., Hoy M., Wright L., Beckwith F., Kim Y., Redman R.S.: Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *ISME J.*, 2(4), 2008: 404-416.
- /20/ Sekita, S., Yoshihira, K., Natori, S., Udagawa, S., Muroi, T., Sugiyama, Y., Kurata, H., Umeda, M.: Mycotoxin production by *Chaetomium* spp. and related fungi. *Can. J. Microbiol.*, 27, 1981: 766-772.
- /21/ Strobel, G.A.: Reinforest endophytes and bioactive products. *Crit. Rev. Biotech.*, 22, 2002: 315-333.
- /22/ Sudakin, D.L.: *Stachybotrys chartarum*: Current knowledge of its Role in Disease. *Medscape General Medicine, Veterans Administration Medical Center, Portland, Oregon*, 2000: 11.
- /23/ Von Arx, J.A., Guarro, J., Figueras, M.J.: The ascomycete genus *Chaetomium*. *N. Hedwigia* 84, 1986:1-162.
- /24/ Yong, W.L., Cam, B., Zhang, Xiu-Guo: Two new species of *Ulocladium* from Southwest China. *Mycologia*, 100(3), 2008: 455-459.
- /25/ Zeng, Q.Y., Hansson, P., Wang, X.R.: Specific and sensitive detection of the conifer pathogen *Gremmeniella abietina* by nested PCR. *BMC Microbiology*, 5(65), 2005: 1-9.

## Pod'akovanie

Práca bola vypracovaná za podpory grantov VEGA č. 2/0069/14 č. 2/0071/14.

## VYTRVALOST A KONKURENCESCHOPNOST JETELOVINOTRAVNÍCH SMĚSÍ NA ORNÉ PŮDĚ SE ZAŘAZENÍM NOVÉ ODRŮDY SRHY LALOČNATÉ

### ***PERENNIALITY AND COMPETITIVE ABILITY OF LEGUME-GRASS MIXTURES ON ARABLE LAND WITH INCLUSION NEW VARIETY OF ORCHARD GRASS (DACTYLIS GLOMERATA L.)***

Jaroslav Lang<sup>1</sup>, Josef Procházka<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> Oseva Uni, a.s. Choceň, Šlechtitelská stanice Větrov

#### ***Summary***

A new variety of orchard grass (*Dactylis glomerata*) VV 115-132/10 was tested in small plot trials performed at the locality Větrov – Nadějkov. The new orchard grass variety was evaluated in mixtures together with alfalfa (*Medicago sativa*) and the red clover (*Trifolium pratense*). Interspecific hybrid Felina was used as control variety. Competitive ability and persistence of each component was evaluated. It was found that orchard grass has high competitive ability. Due to this fact the ratio of orchard grass seeds in the mixtures with the red clover should be lower than 20%. Ratio of the interspecific hybrid Felina and the red clover seeds 50%:50% proved to be suitable. The mixtures based on alfalfa are not suitable to these conditions, alfalfa after the first year completely disappeared from the mixture.

*Key words: alfalfa, red clover, Felina, orchard grass, grass-legume mixtures*

#### ***Souhrn***

V maloparcelových polních pokusech byla na lokalitě Větrov – Nadějkov zkoušena nová odrůda srhy laločnaté (VV 115-132/10) a hybrid Felina ve směsích s vojtěškou setou a jetelem lučním. Ve směsích byla sledována konkurenceschopnost jednotlivých komponent a jejich vytrvalost. Bylo zjištěno, že srha laločnatá má vysokou konkurenční schopnost. Proto zastoupení osiva srhy ve směsi s jetelem lučním by mělo být nižší než 20 %. Poměr osiva jetele s hybridem Felina 50:50 % je vyhovující. Vojtěškotrávy se do uvedených podmínek stanoviště nehodí, z porostu po prvním roce mizí.

*Klíčová slova: vojtěška, jetel luční, Felina, srha, jetelovinotravní směsi*

## ÚVOD

Jetelovinotravní směsi mají nezastupitelnou funkci ve výživě skotu. Jsou zdrojem energie ve formě bílkovin a cukrů, obsahují množství vlákniny důležité pro peristaltiku střev a zároveň slouží jako zdroj potravy pro mikrobiální život v bachoru skotu. Jetelovinotravní směsi se pěstují na orné půdě v rámci osevního postupu, nebo na loukách jako trvalé porosty. V osevním postupu na orné půdě mají jeteloviny důležitou funkci. Svými kořeny dokáží rozrušit utuženou půdu v podorniční vrstvě, zanechávají velké množství organické hmoty s příznivým poměrem C:N, vyžadují minimální vstupy agrochemikálií, vlivem symbiotického vztahu s nitrifikačními bakteriemi zanechávají množství dusíku v půdě pro následné plodiny. Navzdory těmto vlastnostem z orné půdy jeteloviny mizí vlivem poklesu stavu skotu, a bohužel, do bioplynových stanic se více používá biomasa z kukuřice než z jetelovinotráv. Částečnému návratu směsí do osevního postupu může přispět i současný rozvrat klimatu. Kukuřice, vlivem period sucha, které se stále častěji na našem území objevují, mají nízký výnos s nedostatečnou kvalitou biomasy a jistou náhradou

mohou být právě jetelovinotravní směsi. Ty jsou na rozdíl od kukuřice vícesečné a tím je riziko nízkého výnosu a kvality rozloženo do celé vegetační doby, protože mohou produkovat hospodářský výnos v době, kdy to u kukuřice není možné. Problematikou jetelovinotravních směsí i do suchých lokalit se na našem pracovišti podrobně zabýváme a výsledky jsou publikovány /např. 2, 3/. Účelem pokusu je komplexně vyhodnotit růstové a kvalitativní hodnoty pozdní odrůdy srhy laločnaté (VV 115-132/10 – novošlechtění Oseva Uni, v současné době je ve zkoušení na ÚKZÚZ) a její vhodnost zařazení do jetelovinotravních směsí. Článek se zabývá jedním dílčím cílem a to konkurenceschopností srhy laločnaté ve směsích s jetelovinami.

## MATERIÁL A METODA

V roce 2011 byly v katastru obce Větrov –Nadějkov založeny maloparcelové polní pokusy s monokulturami trav, jetelovin a jejich směsmi. Do pokusu byly zařazeny druhy běžně v praxi používané: vojtěška setá 'Zuzana', jetel luční 'Vltavín', referenční mezirodový hybrid (MRH) Felina a nově pozdní odrůda srhy laločnaté (VV 115-132/10). Složení směsí a výsevky uvádí tab. č. 1. Pokus byl založen metodou znáhodněných bloků ve čtyřech opakováních. Během vegetace bylo každoročně aplikováno dusíkaté hnojivo ledek amonný s vápencem vždy na jaře a po druhé sklizni. Pokusy byly trojsečné, v prvním roce proběhla jedna odplevelovací nevážená seč, další dvě byly vážené. V každém roce před první váženou sklizní byla odečtena pokryvnost druhů metodou redukované projektivní dominance, kdy bylo posuzováno zastoupení komponent a plevelů. Posouzení pokryvnosti rostlin se provádí vizuálně pohledem na porost shora, kolmo nebo mírně až středně šikmo a odhadované hodnoty pokryvnosti jsou korigovány na 100 %. Výjimkou v odečtech byl 3. rok, kdy vlivem přívalových dešťů a celkově zvýšených srážek ve vegetačním období byly provedeny sklizně v pozdějších termínech a z provozních důvodů byl proveden odpočet až před třetí sklizni.

Tab. č. 1: Složení směsí a výsevek komponent

| číslo | směs                           | zastoupení [%] |       | výsevek [kg.ha <sup>-1</sup> ] |       |
|-------|--------------------------------|----------------|-------|--------------------------------|-------|
|       |                                | jetelovina     | tráva | jetelovina                     | tráva |
| 1     | vojtěška setá 'Zuzana'         | 100            | 0     | 18                             | 0     |
| 2     | jetel luční 'Vltavín'          | 100            | 0     | 18                             | 0     |
| 3     | MRH Felina                     | 0              | 100   | 0                              | 30    |
| 4     | srha laločnatá                 | 0              | 100   | 0                              | 20    |
| 5     | vojtěška setá + srha laločnatá | 80             | 20    | 14,4                           | 4     |
| 6     | vojtěška setá + srha laločnatá | 50             | 50    | 9                              | 10    |
| 7     | jetel luční + srha laločnatá   | 80             | 20    | 14,4                           | 4     |
| 8     | jetel luční + srha laločnatá   | 50             | 50    | 9                              | 10    |
| 9     | vojtěška setá + MRH Felina     | 80             | 20    | 14,4                           | 6     |
| 10    | vojtěška setá + MRH Felina     | 50             | 50    | 9                              | 15    |
| 11    | jetel luční + MRH Felina       | 80             | 20    | 14,4                           | 6     |
| 12    | jetel luční + MRH Felina       | 50             | 50    | 9                              | 15    |

Statistické hodnocení pokryvnosti bylo provedeno metodou analýzy variance (ANOVA  $P > 0.05$ ) s následným hodnocením Tukeyovým testem. Pokusná lokalita patří do regionu mírně teplého, vlhkého, s průměrnou roční teplotou 6 – 7 °C, s 650-750 mm srážek a nadmořskou výškou 535 m n. m. Půdní typ pseudoglej, půda slabě skeletovitá.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Zjištěné parametry zastoupení jetelovin, trav a plevelů v monokulturách a ve směsích jsou uvedeny v grafu č. 1. Z grafu vyplývá, že vojtěška setá (var. č. 1) je zastoupena v prvním roce z 93 %, v dalších letech její podíl výrazně klesá a nahrazují ji plevely. Vojtěška se, v současné době vlivem oteplování, pěstuje i ve vyšších polohách, než bylo zvykem v minulosti. Kromě nároků na teplo vyžaduje kypré a hluboké půdy s neutrální až mírně alkalickou reakcí. Skeletovité a pseudoglejové půdy na pokusné lokalitě, charakterizované periodicky zvýšenou vlhkostí a s tím související kyselejší pH půdy, nejsou optimálními nároky pro růst a vývoj vojtěšky, a proto z porostu již druhým rokem rychle mizí. Naopak, jeteli lučnímu (var. č. 2) se v daných podmínkách daří a je v prvním i druhém roce zastoupen z více než 95 %. Rychlý úbytek jetele ve třetím roce je zapříčiněn několika faktory: poničením porostů červnovými přívalovými dešti, pozdějším odečtem v termínu, kdy jetel pozastavuje svůj růst a také jeho přirozeně nízkou vytrvalostí, kdy se většina rostlin jetele z porostu ve třetím až čtvrtém roce vytrácí /1/.

Počáteční růst hybridu Felina (var. č. 3) je v prvním roce pozvolnější ve srovnání se srhou laločnatou (var. č. 4). Hybrid Felina je zastoupen v porostu ze 63 %, srha laločnatá z 94 %, rozdíl je statisticky průkazný. To potvrzuje obecný fakt, že srha laločnatá velmi pozitivně a rychle reaguje tvorbou biomasy na přísun dusíku a vody. Ve druhém ani ve čtvrtém roce již není mezi variantami 3 a 4 v zastoupení komponent rozdíl. Ve třetím roce nastal pokles zastoupení u obou trav. Důvodem je pozdní hodnocení zastoupení komponent v porostu, kdy se obecně zpomaluje intenzita růstu trav a začínají růst zejména ozimé efemerní a jednoleté plevely.

Směs č. 5 je vytvořena podle doporučovaných pravidel pro vypěstování kvalitní směsi do normálních agroekologických podmínek. Z hlediska kvality píce je v směsích ideální poměr zastoupení jeteloviny a trávy (vztaženo zejména k první sklizni) 80:20 % /5/. Od požadovaného poměru zastoupení komponent se odvíjí (a přibližně i odpovídá) složení směsi osiva. Např. Vorlíček a kol. /5/ uvádějí složení směsi osiva 16 kg vojtěšky + 3 kg meziodovového hybridu (MRH) Felina určené k výsevu na 1 ha, což odpovídá procentuálnímu poměru 84:16. Ve směsi č. 5 je v prvním roce zastoupena vojtěška z 56 %, což je nižší než potřebné zastoupení. Tedy pro optimální složení směsi v daných podmínkách by bylo potřeba navýšit procento osiva vojtěšky na úkor osiva srhy laločnaté z důvodů její vysoké konkurence.

Z našich pokusů ze stejnými směsmi, založených v suchých podmínkách jižní Moravy vyplývá, že kvůli konkurenčním vztahům plodin ve směsi je potřeba v suchých podmínkách snížit podíl osiva vojtěšky a navýšit podíl trávy tak, aby vzniklá směs osiva odpovídala poměru 50:50 % /4/. Takovému poměru v pokusu na lokalitě Větrov odpovídá směs č. 6, u které bylo zjištěno v prvním roce (předpokládané) nižší zastoupení vojtěšky a to 35 %, ve směsi převládala srha laločnatá. Rozdíly v zastoupení vojtěšky mezi směsmi č. 5 a 6 v prvním roce pěstování nebyly statisticky prokázány. V dalších letech u obou variant klesl ve směsi podíl vojtěšky pod 10 % a její místo zabrala srha laločnatá. Prakticky se již nejedná o nutričně plnohodnotnou vojtěškotravní směs. Srha laločnatá má při dostatku vody vysokou schopnost konkurence a experimentálně jsme zjistili, že má tuto schopnost vyšší než hybrid Felina /3/. Ve třetím roce se objevuje vyšší výskyt plevelů a pokles podílu srhy. Důvodem je opět pozdní hodnocení zastoupení komponent v porostu (viz var. č. 3 a 4).

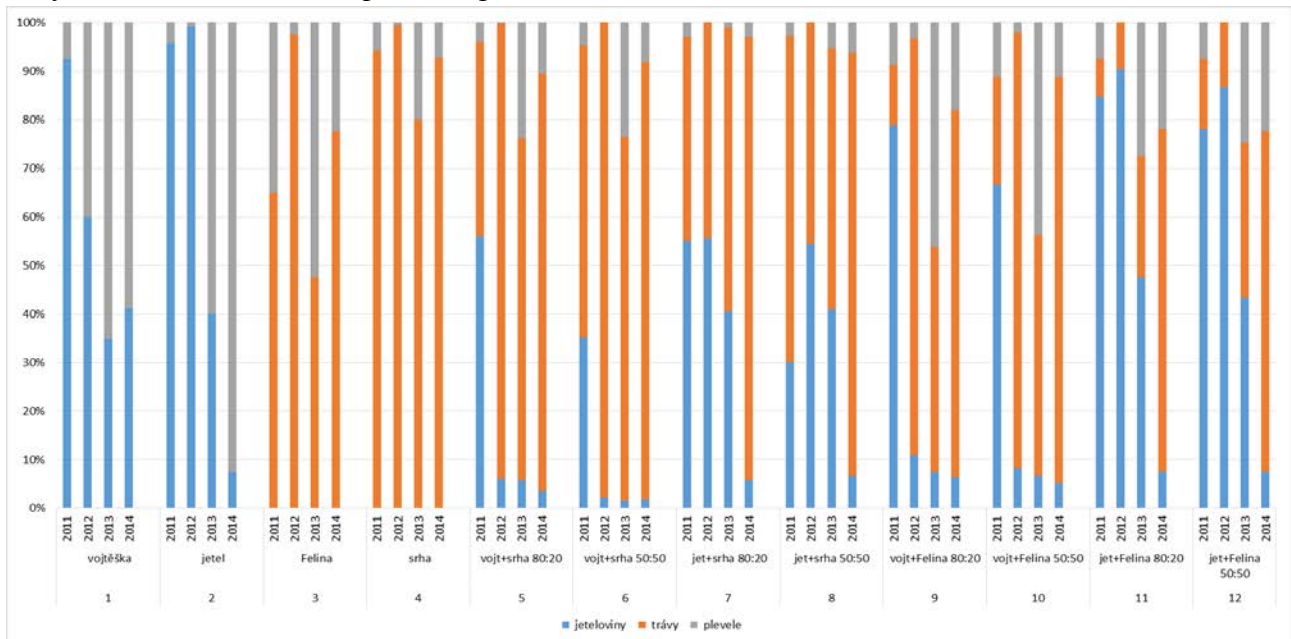
U variant č. 9 a 10 (vojtěškotravy), u kterých byl použit travní hybrid Felina, zaznamenáváme podobný trend jako u variant vojtěšky se srhou (var. č. 5 a 6) s tím rozdílem, že u variant s hybridem Felina se vyskytuje vyšší procento plevelů. To koreluje s výše uvedeným výsledkem u monokultury hybridu (var. č. 3) a také potvrzuje dřívější zjištění, že v dostatku vláhy vykazuje srha laločnatá vyšší konkurenceschopnost než hybrid Felina /3/. V daných podmínkách, zejména kvůli špatnému růstu vojtěšky, nenalézají vojtěškotravy uplatnění.

U směsí jetele se srhou (var. č. 7 a 8) jsme zaznamenali, podobně jako u směsí vojtěšky se srhou, vyšší konkurenceschopnost srhy než hybridu Felina (var. č. 11 a 12). Abychom dosáhli optimálního složení porostu, je potřeba u varianty 7 v daných podmínkách zvýšit poměr

zastoupení osiva jetele lučního a snížit procento zastoupení srhy. Přesné složení osivové směsi nelze odhadnout, to je záležitostí dalšího zkoušení. Můžeme se ale domnívat, že reálný poměr osivové směsi, pro vypěstování kvalitní směsi, by mohl být 85 % jetele a 15 % srhy, popřípadě množství srhy ještě snížit. K podobným závěrům konkurenceschopnosti srhy a snížení jejího poměru v osivové směsi jsme dospěli i v jiných experimentech v teplejších oblastech ve směsích srhy s vojtěškou, kdy v letech s dostatkem vody vykazovala srha podobně vysokou konkurenceschopnost jako v této lokalitě ve směsích s jetelem lučním /4/. Osivová směs č. 8 je do daných podmínek pro vysokou konkurenceschopnost srhy ve směsi nevhodná.

V případě použití hybridu Felina s jetelem (var. č. 11 a 12) se optimálně jeví varianta č. 12 s poměrem osiva 50 : 50 %. V této směsi je zastoupeno v prvním roce 78 % jetele, 15 % tráv. Ve směsi č. 11 sice bylo zastoupeno v témže roce 85 % jetele, ale tráv pouze 8 %. Zbylých 7 % byly plevele. Ve druhém roce má blíže k optimálnímu složení porostu opět varianta č. 12. Třetí rok je, podobně jako u ostatních směsí, negativně ovlivněn klimatickými podmínkami a hodnocením v pozdním termínu. Úbytek jetele ve směsích ve třetím roce je způsoben stejnými faktory jako u var. č. 2. Z jiných experimentů vyplývá, že použití jetelotrav do suchých podmínek je nevhodné, protože jetel luční v takových podmínkách ze směsi rychle mizí /2/.

Graf 1: Procentuální zastoupení komponent ve směsích



## ZÁVĚR

Pěstování vojtěškotravních směsí ve vyšších polohách je možné, ale je potřeba vždy přihlídnout nejen k potřebě vyšších teplot, ale také ke kvalitě půdy. Do mělkých a zamokřených půd s nízkým pH jsou vojtěškotrávy nevhodné, podobně jako do chladných lokalit. Vojtěška z porostu po prvním roce rychle mizí a její místo obsazují v různé míře plevele, anebo travní komponent směsi. Ve vojtěškotravních směsích v dostatku srážek má srha laločnatá vyšší konkurenceschopnost ve srovnání s hybridem Felina a s tím je potřeba počítat i při sestavování směsí a snížit podíl osiva srhy pod 20 %. Poměr osiva 80:20 % u směsi vojtěšky s hybridem Felina je optimální. Při použití srhy laločnaté za uvedených agroekologických podmínek do směsi s jetelem lučním je potřeba, podobně jako u vojtěškotrav, snížit poměr osiva srhy v osivové směsi pod 20 %. K vypěstování kvalitní píce při použití hybridu Felina do směsi s jetelem lučním je vhodné v daných podmínkách použít poměr osiva 50:50 %. Jetelotrávám se v uvedených podmínkách daří.

**LITERATURA**

- /1/ Abberton, M. T., Marshall, A. H.: Progress in breeding perennial clovers for temperate agriculture. *Journal of Agriculture Science*, 2005, 143, p. 117–135. Cambridge University Press.
- /2/ Lang, J.: Vyrvalost jetelovinotravních směsí na orné půdě v teplotně a srážkově nevyrovnaných podmínkách Jižní Moravy. *Úroda 12-2015, vědecká příloha*, s. 93-98. ISSN 0139-6013.
- /3/ Lang, J.: Výnosy jetelovinotravních směsí pěstovaných na orné půdě ve srážkově rozdílných letech. Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin. Sborník mezinárodní konference pořádané Ústavem ekologie lesa Slovenskej akadémie vied, Zvolen, 10-11. 9. 2014, ISBN 978-800-89408-17-7.
- /4/ Lang, J.: Dynamika zastoupení travních komponentů u jetelovinotravních směsí na orné půdě. *Úroda 12, 2012 vědecká příloha*, s. 315-318. ISSN 0139-6013
- /5/ Vorlíček, Z., Hanuš, O., Šindelková, I.: Zvýšení podílu energie v objemných krmivech ekologických farem pěstování vhodných travních a jetelovinotravních směsí. *Certifikovaná metodika, Troubsko 2009*, 16 s. ISBN 978–80–86908–09–0.

**Poděkování**

Výsledek byl získán za částečné institucionální podpory na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace.

## VLIV ROSTLINNÝCH STIMULÁTORŮ NA VÝNOS A VÝNOSOTVORNÉ PRVKY U TRAV PĚSTOVANÝCH NA SEMENO A OBILOVIN

### *THE EFFECT OF PLANT STIMULATORS FOR YIELD AND YIELD COMPONENTS ON GRASSES GROWN FOR SEED AND GRAINS*

Jan Frydrych, Pavla Volková

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

#### *Summary*

The use of stimulants in grasses grown for seed and grains is a new research direction in the production technologies of both commodities. Research on the effect of stimulants on grasses grown for seed and grains are interdependent and connected. Its aim is to reduce negative stress in grasses and grains, increase yield and product quality grass seed and grains quality. Part of the testing of biological activity of pesticide formulations is also testing of selected qualitative traits in grains. After the application of stimulants Tecamin Max, Break Superb and Atonik did not show phytotoxicity on *Lolium multiflorum*. Also for winter wheat showed no phytotoxicity after application Fertigrain start and AGOO7. Application positively affected the yield and yield components by *Lolium multiflorum* and winter wheat in the two years.

*Key words: grasses grown for seed, grains, stimulator, research, fytotoxicity*

#### *Souhrn*

Využití stimulantů v travách pěstovaných na semeno a obilovinách je novým směrem výzkumu v pěstitelských technologiích u obou komodit. Výzkum vlivu stimulantů na trávy pěstované na semeno a obiloviny vzájemně souvisí a je propojen. Jeho cílem je snížení negativních stresů u trav a obilovin, zvýšení výnosu a kvality výsledného produktu travního semene a kvality zrna obilovin. Součástí zkoušení biologické účinnosti pesticidních přípravků je i testování vybraných kvalitativních znaků u zrna obilovin. Po aplikaci stimulantů Tecamin Max, Break Superb a Atonik se neprojevila fytotoxicita ani u jednoho sledovaného znaku u jílku jednoletého. Rovněž u pšenice ozimé se neprojevila fytotoxicita po aplikaci přípravku Fertigrain start a AGOO7. Aplikace pozitivně ovlivnila výnos a výnosotvorné prvky u jílku jednoletého a ozimé pšenice ve dvou sledovaných letech.

*Klíčová slova: trávy pěstované na semeno, obiloviny, stimulant, výzkum, fytotoxicita*

## ÚVOD

Osivo trav je významným exportním artiklem a je součástí celkového potenciálu vývozu osiv v České republice. Pěstování trav na semeno klade zvýšené nároky zejména na efektivitu produkce výnosu a tím ekonomiku celého pěstitelského procesu. Současně je třeba zajistit i odpovídající kvalitu produkce osiva trav, která bude odpovídat evropským a světovým parametrům. Nedílnou součástí tohoto procesu pěstitelské technologie je i rostlinolékařský výzkum v travním semenářství. V současnosti nabývají na významu stimulanty umožňující eliminaci stresů rostlin, zvýšení výnosů a výnosotvorných prvků dané plodiny. V nabídce přípravků se můžeme setkat i se stimulanty na rostlinné bázi. V rámci intenzifikace pěstitelské technologie v travách na semeno byly ověřeny biostimulanty společně s mikroprvky. Hlavním cílem intenzifikace pěstitelské technologie je zvyšování produkce a kvality výsledného produktu travních semen a ověřování nových přípravků k tomuto cíli jednoznačně přispívá. V průběhu posledních deseti let byly ověřeny na stanici v Zubří tyto stimulanty v travách pěstovaných na semeno – Atonik, Tecamin

Max, AG007, Fertigrain start. Výzkumná stanice travinářská v Zubří se podílí více jak 15 let na zkoušení biologické účinnosti přípravků na ochranu rostlin v obilovinách v rámci režimu GEP a více jak 30 let na ověřování nových pesticidních látek a stimulátorů v travách pěstovaných na semeno. Rostlinolékařský výzkum v travách a obilovinách vzájemně souvisí. Účinné látky pesticidních přípravků a stimulátorů používané v obilovinách jsou úspěšně testovány a doporučovány pro použití i v travách pěstovaných na semeno. V současnosti jsou testovány v Zubří stimulátory v travách pěstovaných na semeno s cílem jejich vlivu na výnos a výnosotvorné prvky (hmotnost tisíce zrn a klíčivost), stimulátory v trvalém travním porostu a zjišťován jejich vliv na výnos zelené hmoty a krmnou hodnotu píce. V obilovinách je zjišťován vliv stimulátorů na energii klíčivosti, klíčivost, počet rostlin, výšku rostlin, vitalitu, délku kořenů, přezimování, počet odnoží, počet fertálních stébel, výnos, hmotnost tisíce zrn a klíčivost. Od roku 2015 se stanice podílí v rámci výzkumu obilovin na řešení projektu Technologie a metody pro zachování kvality, bezpečnosti a nutriční hodnoty vybraných rostlinných surovin. Projekt je zaměřen na testování kvality zrna v podmínkách oblasti stanice v Zubří. Projekt koordinuje Agrotest fyto s.r.o. Kroměříž, dalšími partnery jsou PRO BIO Staré Město, VÚZT Praha a VÚRV Praha. V roce 2015 byly založeny v rámci tohoto projektu polní pokusy s 2 odrůdami bezpluchého ječmene (AF Lucius a AF Cesar) a 2 odrůdami nahého ovsa (Otakar a Saul) ve variantě kontrolní a inokulované patogenem *Fusarium culmorum* (postřik suspenzí spor ve fázi kvetení). Polní pokusy byly založeny metodou znáhodněných polních bloků ve čtyřech opakováních o velikosti parcel 10 m<sup>2</sup>. Výsledná sklizeň zrna bude rozborována na kvalitativní parametry jako je vlhkost, objemová hmotnost, obsah příměsí a nečistot – s důrazem na podíl fuzariózních zrn, číslo poklesu, obsah dusíkatých látek v sušině a sedimentační index podle Zelenyho.

## MATERIÁL A METODA

### Vliv aplikace stimulátorů v travách na semeno

Tab. 1 Přípravky aplikované v jílku jednoletém v roce 2013 a 2014

| <b>Aplikace v roce 2013</b>  | <b>Aplikace v roce 2014</b>   |
|--|---|
| Varianty   | Varianty  |
| 1. neošetřená kontrola   | 1. neošetřená kontrola  |
| 2. Tecamin Max – 2l.ha <sup>-1</sup> + Break Superb 0,2 l.ha <sup>-1</sup> | 2. Tecamin Max – 2 l.ha <sup>-1</sup> + Break Superb 0,2 l.ha <sup>-1</sup> |
| 3. Tecamin Max – 3l.ha <sup>-1</sup> + Break Superb 0,2 l.ha <sup>-1</sup> | 3. Tecamin Max - 3 l.ha <sup>-1</sup> + Break Superb 0,2 l.ha <sup>-1</sup> |
| 4. Tecamin Max - 6l.ha <sup>-1</sup> + Break Superb 0,2 l.ha <sup>-1</sup> | 4. Atonik – 0,6 l.ha <sup>-1</sup>  |
| 5. Atonik – 0,6 l.ha <sup>-1</sup>   |   |

#### **Aplikace přípravku Tecamin Max a Atonik v roce 2013 na jílek jednoletý Levit (Tab. 1)**

Aplikace přípravku Tecamin Max se směsí Break Superb byla v roce 2013 spolu s vodou v 300 l na hektar ve fázi jílku jednoletého BBCH 39 - 45 (pokus založen v nevyrovnaném okraji pozemku). Pokus byl nahnojen dávkou 90 kg dusíku na hektar. 30 kg bylo aplikováno ve formě NPK před setím a 90 kg v průběhu vegetace ve formě DAMU. Pokus byl založen v provozních podmínkách Zemědělského družstva Lešná v okrese Vsetín.

#### **Aplikace přípravků Tecamin Max a Atonik v roce 2014 na jílek jednoletý Rožnovský (Tab. 1)**

Aplikace přípravku Tecamin Max se směsí Break Superb byla v roce 2014 spolu s vodou v 300 l na hektar ve fázi jílku BBCH 37. Pokus byl nahnojen dávkou 100 kg dusíku na hektar. 40 kg bylo aplikováno ve formě NPK před setím a 60 kg v průběhu vegetace ve formě



ledku amonovápenatého. Pro zkoušení byla vyřazena varianta s Tecaminem Max v dávce 6 l na hektar, v roce 2013 bylo prokázáno, že tato dávka již nezvyšovala výnos semen ani kvalitu výnosotvorných prvků a není ekonomická.

### Vliv aplikace stimulátorů v pšenici ozimé Pšenice ozimá v roce 2014 a 2015

Tab. 2 Přípravky aplikované v pšenici ozimé v roce 2013 a 2014

| Aplikace v roce 2013   | Aplikace v roce 2014   |
|--|--|
| Varianty   | Varianty   |
| 1. neošetřená kontrola   | 1. neošetřená kontrola   |
| 2. Fertigrain Start 1 l + Celest Extra 2 l.t <sup>-1</sup>   | 2. Fertigrain Start 1 l + Celest Extra 2 l.t <sup>-1t</sup>  |
| 3. Fertigrain Start 1,5 l + Celest Extra 2 l.t <sup>-1</sup>   | 3. Fertigrain Start 1,5 l + Celest Extra 2 l.t <sup>-1</sup>   |
| 4. Vibrance Gold 2 l.t <sup>-1</sup>   | 4. Vibrance Gold 2 l.t <sup>-1</sup>   |
| 5. A GOO7 – 0,20 l.t <sup>-1</sup> – 10 x více oproti původnímu zadání   | 5. A GOO7 – 0,20 l.t <sup>-1</sup> – 10 x více oproti původnímu zadání   |
| 6. Fertigrain Start 1 l + Celest Extra 2 l.t <sup>-1</sup> + A GOO7 0,20 l.t <sup>-1</sup> – 10x více u A GOO7 oproti původnímu zadání | 6. Fertigrain Start 1 l + Celest Extra 2 l.t <sup>-1</sup> + A GOO7 0,20 l.t <sup>-1</sup> – 10x více u A GOO7 oproti původnímu zadání |
| 7. - A GOO7 – 0,020 l.t <sup>-1</sup>  | 7. A GOO7 – 0,020 l.t <sup>-1</sup>  |
| 8. Fertigrain Start 1 l + Celest Extra 2 l.t <sup>-1</sup> + A GOO7 0,020 l.t <sup>-1</sup>  | 8. Fertigrain Start 1 l + Celest Extra 2 l/t + A GOO7 0,020 l.t <sup>-1</sup>  |

10 l.t<sup>-1</sup> mořící suspenze společně s vodou, moření všech přípravků proběhlo najednou v rámci jedné suspenze.

V roce 2013 na podzim byla namořena rostlinnými stimulátory pšenice ozimá Tobak a v roce 2014 na podzim byla namořena rostlinnými stimulátory ozimá pšenice odrůda Bohemia (Tab. 2). Pokusy byly zasety v obou letech v říjnu. V průběhu vegetace byla pšenice nahnojena dávkou dusíku 120 kg na hektar.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Aplikace přípravku Tecamin Max spolu se smáčedlem Break Superb v dávce 0,2 l na hektar pozitivně ovlivnila výnos a hmotnost tisíce semen u jílku jednoletého Levit. Vysoce průkazně se projevila zejména varianta č. 3 ošetřená dávkou přípravku Tecamin Max 3 l na hektar spolu se smáčedlem Break Superb v dávce 0,2 l na hektar. Zde byl dosažen nejvyšší výnos semen i nejvyšší hmotnost tisíce semen. V obou těchto znacích je vysoce průkazný rozdíl mezi variantou č. 3 a neošetřenou kontrolou. Byl hodnocen i vliv aplikace na % vymetaných rostlin u ošetřených variant a neošetřené kontroly týden po aplikaci. Pokus byl záměrně založen na nevyrovnaném okraji pozemku v provozní ploše.

Vyhodnocení % vymetaných rostlin ve fázi BBCH 39 – 45 po aplikaci přípravků na porost jílku jednoletého. Nejvíce vymetaných rostlin bylo na variantě ošetřené standardním přípravkem Atonik v dávce 0,6 l na hektar. U všech ošetřených variant bylo vyšší % vymetaných rostlin jílku jednoletého oproti neošetřené kontrole (var. 1 – 62,5 %, var. 2 – 70 %, var. 3 – 72,5 %, var. 4 – 75 % a var. 5 – 80 %).

Pokus byl v roce 2014 založen v jílku jednoletém Rožnovském. V pokuse byly ověřeny biostimulátory Tecamin Max + Break Superb a přípravek Atonik v dávce 0,6 l na hektar. V pokuse byla vyhodnocena zejména fytotoxicita přípravků po aplikaci na rostlinách a vliv aplikace přípravků na výnos semen a semenotvorné prvky u jílku jednoletého. Byl vyhodnocen výnos, hmotnost tisíce semen a klíčivost u jílku jednoletého. U všech hodnocených znaků došlo k navýšení a pozitivnímu vlivu aplikace. Navýšení bylo u všech ošetřených variant u sledovaných

znaků vzhledem k neošetřené kontrole. Nejvyšší navýšení bylo zaznamenáno u varianty ošetřené přípravkem Atonik v dávce 0,6 l na hektar.

Tab. 3 Výsledný čistý výnos osiva jilku jednoletého, hmotnost tisíce zrn a klíčivost (2013)

| Var.  | Výnos 2013          |               |                        | HTS  |               | Klíčivost |               |
|-------|---------------------|---------------|------------------------|------|---------------|-----------|---------------|
|       | kg.ha <sup>-1</sup> | % na kontrolu | průkaznost na kontrolu | g    | % na kontrolu | %         | % na kontrolu |
| 1 (K) | 774,25              | 100           |                        | 4,1  | 100           | 90,75     | 100           |
| 2     | 948,50              | 122,51        | ++                     | 4,2  | 102,47        | 90,75     | 100           |
| 3     | 987,25              | 127,51        | ++                     | 4,23 | 103,11        | 92,25     | 101,65        |
| 4     | 867,25              | 112,01        | ++                     | 4,15 | 101,15        | 95        | 104,68        |
| 5     | 924,25              | 119,37        | ++                     | 4,19 | 102,17        | 92,75     | 102,20        |

++ vysoce průkazný rozdíl ve výnosu, + průkazný rozdíl ve výnosu, 0 neprůkazný rozdíl  
ANOVA md 0,05: 13,650 md 0,01: 19,161

Tab. 4 Výsledný čistý výnos osiva jilku jednoletého, hmotnost tisíce zrn a klíčivost (2014)

| Var.  | Výnos 2014          |               |                        | HTS  |               | Klíčivost |               |
|-------|---------------------|---------------|------------------------|------|---------------|-----------|---------------|
|       | kg.ha <sup>-1</sup> | % na kontrolu | průkaznost na kontrolu | g    | % na kontrolu | %         | % na kontrolu |
| 1 (K) | 1051,25             | 100           |                        | 2,97 | 100           | 93        | 100           |
| 2     | 1230,25             | 117,03        | ++                     | 3    | 101,01        | 93,25     | 100,27        |
| 3     | 1249                | 118,81        | ++                     | 3,06 | 103,03        | 93,75     | 100,81        |
| 4     | 1289,75             | 122,69        | ++                     | 3,1  | 104,38        | 94,75     | 101,88        |

++ vysoce průkazný rozdíl ve výnosu, + průkazný rozdíl ve výnosu, 0 neprůkazný rozdíl  
ANOVA md 0,05: 24,606 md 0,01: 33,478

V průběhu hodnocení pokusu nebyla zaznamenána fytoxicita u žádné z ošetřených variant. Fytoxicitu přípravku neprokázala ani zkouška klíčivosti.

### Pšenice ozimá

Byl vyhodnocen výnos a stanovena hmotnost tisíce zrn a hektolitrová hmotnost. Ve všech hodnocených znacích na jaře a po sklizni dosáhla nejlepších výsledků varianta č. 7 ošetřená přípravkem AGOO7 v dávce 0,020 l.t<sup>-1</sup> osiva. Rozdíl mezi variantou číslo 7 a neošetřenou kontrolou byl vysoce průkazný zejména u výnosu. Varianta č. 7 dosáhla navýšení o 8,54 % výnosu zrna (6,1 t.ha<sup>-1</sup>) oproti neošetřené kontrole (5,62t.ha<sup>-1</sup>). Fytotoxický vliv varianty namořené desetinásobnou dávkou přípravku AGOO7 se projevil výrazným snížením hodnot u všech hodnocených znaků (Tab. 6). Ve všech hodnocených znacích dosáhla nejlepších výsledků varianta č. 7 ošetřená přípravkem A GOO7 v dávce 0,020 l.t<sup>-1</sup> osiva. U výnosu zrna došlo k navýšení o 8,19 % oproti neošetřené kontrole. V průběhu pokusu jsme nezaznamenali příznaky fytoxicity na rostlinách u žádné z ošetřených variant.

Tab. 5 Výsledný čistý výnos osiva pšenice ozimé Tobak, hmotnost tisíce zrn a hektolitrová hmotnost v roce 2014

| Var.  | Výnos 2014         |               |                        | HTS   |               | Hektolitrová hmotnost |               |
|-------|--------------------|---------------|------------------------|-------|---------------|-----------------------|---------------|
|       | t.ha <sup>-1</sup> | % na kontrolu | průkaznost na kontrolu | g     | % na kontrolu | kg                    | % na kontrolu |
| 1 (K) | 5,62               | 100           |                        | 45,47 | 100           | 66,02                 | 100           |
| 2     | 5,83               | 103,74        | ++                     | 45,83 | 100,79        | 66,29                 | 100,41        |
| 3     | 5,94               | 105,69        | ++                     | 46,18 | 101,56        | 66,76                 | 101,12        |
| 4     | 5,89               | 104,80        | ++                     | 46,04 | 101,25        | 66,39                 | 100,56        |
| 5     | 3,99               | 71            | --                     | 45,24 | 99,49         | 64,84                 | 98,21         |
| 6     | 5,96               | 106,05        | ++                     | 46,45 | 102,16        | 67,07                 | 101,59        |
| 7     | 6,1                | 108,54        | ++                     | 47,22 | 103,85        | 67,75                 | 102,62        |
| 8     | 5,99               | 106,58        | ++                     | 46,92 | 103,19        | 67,69                 | 102,53        |

++ vysoce průkazný rozdíl ve výnosu, + průkazný rozdíl ve výnosu, 0 neprůkazný rozdíl  
ANOVA md 0,05: 0,1462 md 0,01: 0,1989

Tab. 6 Výsledný čistý výnos osiva pšenice ozimé Bohemia, hmotnost tisíce zrn a hektolitrová hmotnost v roce 2015

| Var.  | Výnos 2015         |               |                        | HTS   |               | Hektolitrová hmotnost |               |
|-------|--------------------|---------------|------------------------|-------|---------------|-----------------------|---------------|
|       | t.ha <sup>-1</sup> | % na kontrolu | průkaznost na kontrolu | g     | % na kontrolu | kg                    | % na kontrolu |
| 1 (K) | 5,13               | 100           | 0                      | 47,74 | 100           | 70,96                 | 100           |
| 2     | 5,30               | 103,31        | 0                      | 48,30 | 101,17        | 71,65                 | 100,97        |
| 3     | 5,41               | 105,46        | 0                      | 49,15 | 102,95        | 71,68                 | 101,01        |
| 4     | 5,37               | 104,68        | 0                      | 48,96 | 102,56        | 71,12                 | 100,23        |
| 5     | 4,0                | 77,97         | +                      | 47,36 | 99,2          | 70,11                 | 98,8          |
| 6     | 5,45               | 106,24        | 0                      | 49,32 | 103,31        | 71,89                 | 101,31        |
| 7     | 5,55               | 108,19        | 0                      | 49,53 | 103,75        | 72,76                 | 102,54        |
| 8     | 5,50               | 107,21        | 0                      | 49,41 | 103,50        | 72,41                 | 102,04        |

ANOVA md 0,05: 0,876 md 0,01: 1,192

++ vysoce průkazný rozdíl ve výnosu, + průkazný rozdíl ve výnosu, 0 neprůkazný rozdíl

## ZÁVĚR

V průběhu zkoušení stimulatorů Tecamin Max, Break Superb a Atonik se neprojevila fytotoxicita ani u jednoho sledovaného znaku. Aplikace pozitivně ovlivnila výnos a výnosotvorné prvky u jílku jednoletého. Rovněž u obilovin se neprojevila fytotoxicita po aplikaci přípravku Fertigrain start a AGOO7. Aplikace pozitivně ovlivnila výnos a výnosotvorné prvky u ozimé pšenice ve dvou sledovaných letech. Využití stimulatorů v travách a obilovinách pěstovaných na semeno je novým směrem výzkumu v pěstitelských technologiích u obou komodit. Tento výzkum spolu vzájemně souvisí a je v podmínkách výzkumné stanice travinářské Zubří vzájemně propojen. V oblasti výzkumu nových účinných látek jsou přípravky v obilovinách testovány v travách na semeno s cílem intenzifikace pěstitelské technologie za účelem zvýšení ekonomiky technologických postupů a kvality výsledného osiva trav. Výsledky výzkumu pěstitelské technologie v travách pěstovaných na semeno a jetelovinách jsou doporučovány přímo v zemědělské praxi u množitelů trav a jetelů. V současnosti se novými směry výzkumu v oblasti

pěstitelské technologie trav a jetelovin zabývá projekt Inovace postupů zakládání, ošetřování a ochrany semenářských porostů víceletých píceňin.

#### **LITERATURA**

/1/ Frydrych J., Volková P.: Vliv biostimulátorů na výnos semen a výnosotvorné prvky u jílku jednoletého. In Aktuální témata v pícninářství a trávníkářství 2015. Praha, ČZU, 3. 12. 2015, s. 23-29. ISBN 978-80-213-2611-8

#### **Poděkování**

Publikace je realizována na základě podpory projektu NAZV ČR QJ1510121 Inovace postupů zakládání, ošetřování a ochrany semenářských porostů víceletých pícnin a na základě podpory výzkumného projektu NAZV QJ1510204 Technologie a metody pro zachování kvality, bezpečnosti a nutriční hodnoty rostlinných surovin.

## EFEKTIVNOST VYUŽITÍ VODY OZIMOU PŠENICÍ PŘI DIFERENCOVANÉ DOSTUPNOSTI VODY

### *THE WATER USE EFFECTIVENESS IN WINTER WHEAT UNDER DIFFERENT WATER AVAILABILITY*

Svoboda Pavel, Kurešová Gabriela, Neumannová Adéla, Haberle Jan  
Slovak Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i, oddělení produkční fyziologie rostlin, Drnovská 507,  
161 06, Praha 6 - svoboda@vurv.cz

#### *Summary*

The effect of irrigation and induced water shortage on cultivars of winter wheat was studied in field experiment in Ruzyně u Prahy, in years 2013-2015, strongly differing in precipitation. The effect of irrigation and water stress during grain growth increased and reduced grain yield but the effect also depended on water supply before anthesis in the experimental years. The water use efficiency (WUE) for the period from early spring plant regeneration to maturity ranged from 3,91 g to 1,27 g of grain per litter of water (256 to 789 liters of water per 1 kg grain). Higher WUE was attained under conditions of water shortage, with increasing water supply from precipitation and irrigation WUE decreased. The differences among cultivars were small in comparison with the impact of year conditions.

*Key words: drought; irrigation; evapotranspiration; water balance; root zone; grain yield*

#### *Souhrn*

V polním pokusu byl sledován vliv závlahy a indukovaného nedostatku vody na odrůdy ozimé pšenice. Pokus probíhal v Ruzyni u Prahy ve srážkově odlišných letech 2013 - 2015. Vliv závlahy a sucha v období růstu zrna se projevil podle očekávání zvýšením a snížením výnosů, ale efekt nebyl v pokusných letech stejný a závisel na podmínkách dodávky vody v předchozím období růstu do kvetení. Hodnoty efektivnosti využití vody pro tvorbu zrna (WUE) v období od počátku jarního růstu do zralosti se pohybovaly mezi 3,91 - 1,27 g zrna/l vody (256 – 789 litry vody na 1 kg zrna). Efektivnost využití vody byla vyšší v případě nedostatku vody, s vyšší dostupností vody ze srážek a závlahy se efektivnost snižovala. Rozdíly mezi odrůdami byly ve srovnání s vlivem ročníku malé.

*Klíčové slova: sucho; závlaha; evapotranspirace; bilance vody; kořenová zóna; výnos zrna*

## ÚVOD

V podmínkách nízkých srážek a vysoké evapotranspirace je jednou z klíčových otázek efektivnost využití vody (WUE), množství vody, které porost spotřebuje na růst a tvorbu hospodářského výnosu. K tomu je nutné stanovit dostupnou zásobu vody v půdě /2/ a skutečnou spotřebu vody - evapotranspiraci porostu, např. /4/. Cílem příspěvku bylo určit vliv dodávky vody na efektivnost využití vody u ozimé pšenice bilanční metodou.

## MATERIÁL A METODA

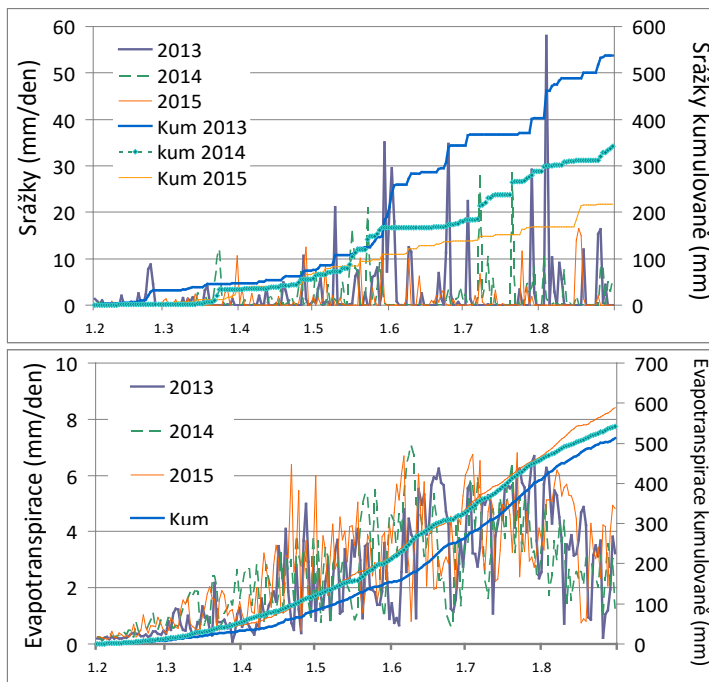
Údaje pro výpočet WUE byly získány v maloparcelkovém polním pokusu v letech 2013-2015 v Praze Ruzyni (N 50° 05'; W 14° 20', černozem luvická, 340 m n.m., průměrný roční úhrn srážek a teplota (1971-2000): 477 mm a 8,5°C. Varianty: nedostatek vody (S), optimální obsah vody v půdě (V) a kontrola (R) – pouze srážky. Nedostatek vody (S) byl indukován pomocí mobilního krytu porostu, optimální zásoba vody (V) byla zajištěna kapkovou závlahou. Obsah

vody v půdě byl řízen na základě sledování vlhkosti půdy, bilance vody a údajích o odběru vody porostem pšenice v minulých letech. Pšenice byla pěstována s pouze regenerační dávkou (N1) a na běžné úrovni hnojení dusíkem (N2). V letech 2013-14 byla pěstována pšenice Bagou a Manager, v roce 2015 Golem a Gordian. Byla určována vlhkost půdy (gravimetricky) do hloubky 90 cm - 130 cm. Objem vody byl počítán na základě průměrných hodnot objemové hmotnosti vrstev půdy a vlhkosti půdy. Polní vodní kapacita a bod vadnutí vrstev půdy byly odvozeny na základě určených pF křivek, zrnitostního složení a víceletých pozorování vlhkosti půdy.

V průběhu pokusu se nevyskytly podmínky pro významný průsak vody pod sledovanou hloubku. Proto bylo možné na základě bilance vody vypočítat efektivnost využití vody (WUE). Jsou také prezentovány modelované změny obsahu vody ve vrstvě půdy 0-90 cm, která je na tomto stanovišti podle našich sledování růstu kořenů a odběru vody plně dostupná pro rostliny ozimé pšenice, např. /3/.

WUE (v litrech vody na kg zrna) bylo vypočteno jako podíl výsledku bilance vody (rozdíl zásoby vody ve vrstvě 0-90 cm nebo 0-130 cm mezi předjařím a zralostí plus voda ve srážkách a dodaná závlahou) a výnosu zrna.

Meteo údaje byly zaznamenávány v blízké stanici ([www.vurv.cz/meteostanice](http://www.vurv.cz/meteostanice)). Byly vypočteny denní hodnoty referenční evapotranspirace, ETo /1/.



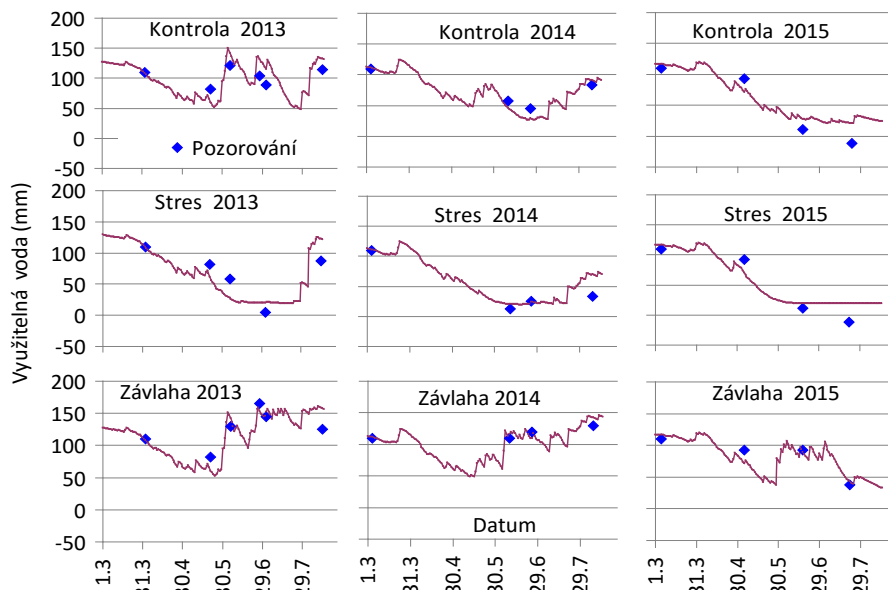
Graf 1: Denní srážky a kumulovaný úhrn (nahore) a denní hodnoty a kumulovaný úhrn referenční evapotranspirace (dole).

## VÝSLEDKY A DISKUSE

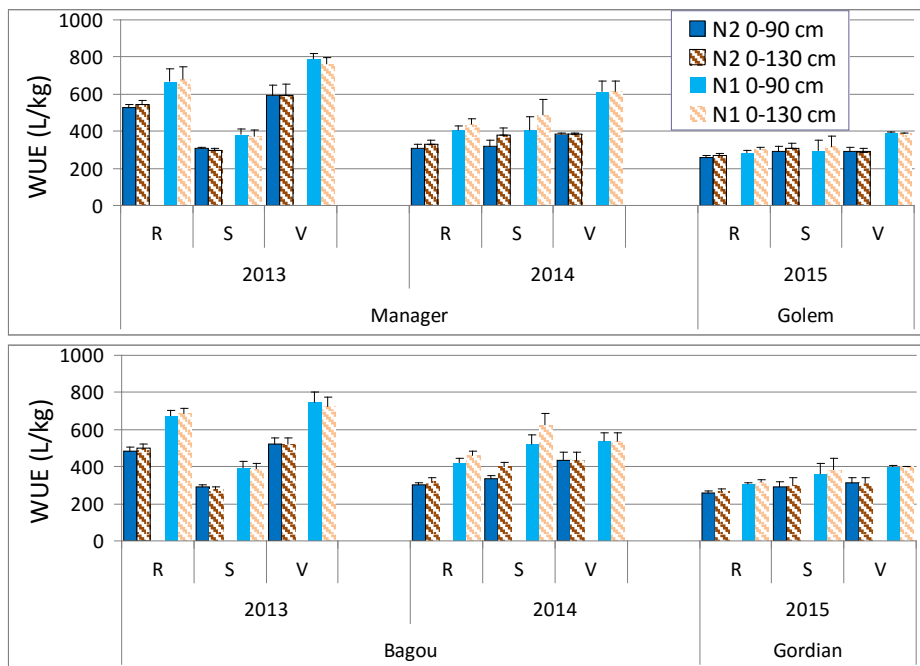
**Srážky a potenciální evapotranspirace** ukazují výrazné rozdíly mezi ročníky. Rok 2013 byl srážkově bohatý s nižší úrovní evapotranspirace, rok 2015 byl výjimečně suchý a v roce 2014 po suchém podzimu, zimě a počátku jara přišly na počátku června vydatné srážky (graf 1). Bilance vody byla v roce 2015 silně negativní, v období únor - srpen 2015 dosáhl deficit (rozdíl srážek a ETo) hodnoty -371 mm, v roce 2013 a 2014 byla bilance +25 mm a -209 mm. V hlavním období růstu pšenice (březen-červenec), v letech 2013 - 15 bilance činila -39 mm, - 187 mm a - 297 mm.

Srážkám a bilanci vody v pokusných letech odpovídal **obsah vody** v kořenové zóně (graf 2). V roce 2015 klesl objem vody ve vrstvě 0 - 90 cm na úroveň bodu vadnutí i na kontrole. Odrůdy ozimé pšenice reagovaly na suchu v období růstu zrna poklesem výnosu na 83 - 78%

odpovídajících výnosů kontroly a zavlažované varianty. Hnojení N (N2) zvýšila výnos zrna o 0,7 - 4,2 t/ha. Pozitivní vliv hnojení se projevil hlavně u R a V varianty (zvýšení o 1,6 - 4,2 t/ha), zatímco u stresovaného porostu byl vliv menší (zvýšení 0,7 - 2,9 t/ha).



Graf 2: Modelovaný průběh změn obsahu využitelné vody ve vrstvě 0-90 cm u porostu pšenice. Body - pozorovaný obsah vody. R - kontrola, S - stres, V - závlaha.



Graf 3: Efektivnost využití vody (L/kg zrna) při započítání zásoby dostupné vody ve vrstvě 0-90 cm a 0-130 cm u odrůd pšenice. R – kontrola, S – stres, V – závlaha.

**Hodnoty efektivnosti využití vody pro tvorbu zrna (WUE)** v období od počátku jarního růstu do zralosti se pohybovaly v širokém rozmezí 256 - 789 litrů vody na 1 kg zrna (3,91 - 1,27 g zrna/L vody) - graf 3. Efektivnost využití vody se významně lišila mezi variantou s nedostatkem vody po kvetení (S) a zavlažovanou variantou v letech 2013 a 2014, v suchém roce 2015 byly rozdíly malé. Rozdíl mezi kontrolou a stresovaným porostem se projevil pouze ve vlhkém roce 2013. V ostatních letech byl rozdíl mezi K a S malý, pouze u odrůdy Bagou v roce 2014 byl rozdíl

větší. Hnojení dusíkem snížilo spotřebu (zvýšilo efektivnost využití) vody o 90 až 159 L/kg. V průměru 3 let byla WUE u hnojených variant S, K a V 305 litrů, 355 litrů a 423 litrů na kg zrna při kalkulaci bilance vody ve vrstvě 0 - 90 cm. Při započtení čerpání vody do hloubky 130 cm byly hodnoty WUE 328 L/kg, 373 L/kg a 422 L/kg. Publikované údaje o WUE pro pšenici se pohybují v širokém rozmezí, podle použité metody, podmínek kultivace nebo hodnoceného období růstu. Například v práci /4/ je uváděna pro ozimou pšenici v průběhu růstu hodnota od 0,9 do 13,7 g/kg (1111 L/kg – 73 L/kg biomasy).

Silný vliv na WUE měl ročník. Efektivnost využití vody byla nejvyšší v suchém roce 2015, i v případě, že byla v době růstu zrna aplikována závlaha. S vyšší dostupností vody ze srážek a závlahy se spotřeba vody zvyšovala, efektivnost se snižovala. Rozdíly mezi odrůdami byly ve srovnání s vlivem ročníku malé.

Při výpočtu bilance vody z vrstvy 0 - 90 cm byla efektivnost ve většině případů vyšší než při výpočtu se započtením zásoby vody ve vrstvě 0 - 130 cm. Důvodem je čerpání zásoby vody kořeny pšenice z vrstev pod 90 cm. Naše výsledky sledování hloubky a distribuce kořenů pšenice na tomto stanovišti prokázaly, že kořeny pronikají do vrstev okolo 120 - 140 cm a jsou schopny v případě potřeby (vyčerpání horních vrstev) odčerpávat, i přes menší hustotu kořenů, z těchto hlubokých vrstev vodu a dusík /3/. Při vyčerpání dostupné vody v celé kořenové zóně až k bodu vadnutí (k jakému došlo v roce 2015) dochází pravděpodobně vztlínáním k využití menšího množství vody i z vrstvy pod dosahem kořenů.

Závěrem lze říci, že efektivnost využití vody porostem ozimé pšenice byla závislá na dostupnosti vody, při nedostatku vody se WUE významně zvyšovala, ale na úkor současné redukce výnosu. Nebyly pozorovány významné rozdíly ve WUE mezi sledovanými odrůdami.

#### LITERATURA

- /1/ Allen R. G., Pereira L. S., Raies D., Smith M., 1998: Crop evapotranspiration: Guidelines for computing crop water requirements. FAO Irrigation and Drainage Paper 56. UN. Rome. Italy. 300 p.
- /2/ Haberle J., Svoboda P., 2015: Calculation of available water supply in crop root zone and water balance of crops. Contributions to Geophysics and Geodesy 45 (4), 285-298.
- /3/ Svoboda P., Haberle J., Kurešová G., 2014: Root growth and depletion of nitrogen from root zone of winter wheat under drought and ample water supply (28.4. - 3.5. 2014, Villach, Austria).
- /4/ Záborský P., 2016: Analýza vláhové potřeby polních plodin v oblasti s častým výskytem sucha. Doktorská práce. ČZU Praha. 116 s.

#### Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory VZ MZE RO0416 a QJ 1510098.



## Príspevky do sborníku

## VITALITA SEMEN A VELIKOST KOŘENOVÉHO SYSTÉMU PRO ÚNIK A TOLERANCI K SUCHU

### *SEED VIGOUR AND ROOT SYSTEM SIZE AS A TOOL FOR DROUGHT ESCAPE AND TOLERANCE*

Jana Klimešová, Petra Procházková, Tomáš Středa

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

#### *Summary*

The root system size (RSS) of 39 winter wheat genotypes (*Triticum aestivum* L.) in field experiment was evaluated in relation to the seed germination, seed vigour and grain yield. Statistically significant intervarietal differences in average RSS values from the entire growing season were found. Positive relationship between RSS in the grain filling stage and seed germination was confirmed for early genotypes. RSS of late genotypes was statistically significantly associated with seed vigour. Grain yield was not affected by the seed vigour and seed germination, but by the root system size. Genotypes with a higher average values of RSS and RSS at stem elongation stage achieved higher grain yield.

*Key words: seed germination, grain yield, wheat, breeding*

#### *Souhrn*

Velikost kořenového systému (VKS) 39 ozimých genotypů pšenice seté (*Triticum aestivum* L.) byla hodnocena v polním pokusu byla ve vztahu k vitalitě semen, klíčivosti semen a výnosu zrna. Byly zjištěny statisticky průkazné meziodrůdové rozdíly hodnot průměrné VKS za celé vegetační období. U raných genotypů byl zjištěn pozitivní vztah mezi VKS ve fázi plnění zrn a klíčivostí semen. VKS pozdních genotypů statisticky průkazně souvisela s vitalitou semen. Výnos zrna nebyl ovlivněn vitalitou a klíčivostí semen, ale velikostí kořenového systému. Genotypy s větší průměrnou VKS a VKS ve fázi sloupkování dosáhly vyššího výnosu zrna.

*Klíčová slova: velikost kořenového systému, klíčivost, vitalita semen, výnos, pšenice*

## ÚVOD

Aktuálně nejzávažnějším abiotickým stresem, působícím ztráty evropským pěstitelům polních plodin, je stres vyvolaný nedostatkem vody. Schopnost semen vyklíčit a vytvořit životaschopné klíčence za suboptimálních podmínek až podmínek stresových (vitalita semen) může být klíčová pro úspěšné založení porostu v období s limitovanou dostupností vláhy či s výskytem chladných epizod. Biologická kvalita semen často ovlivní růst kořenů i nadzemní části po celou dobu vegetace, jak uvádí /1/. Existuje předpoklad, že u genotypů s vitálnějšími semeny dojde, mimo jiné, ke zvýšení tolerance k suchu. Klíčenci z vitálnějších obilek uniknou případnému suchu v počátečních fázích vegetace, vytvoří větší kořenový systém a budou tak suchovzdornější i v dalších fázích vegetace (tzv. „drought escape“). Zároveň kvalita i velikost kořenového systému může hrát významnou roli ve vztahu k získání výnosové stability účinnou absorpcí vody z půdy v kritických obdobích růstu rostlin a velký kořenový systém je jedním z aspektů vyšší odolnosti k suchu u polních plodin.

Cílem práce bylo (i) vyhodnotit rozdíly ve velikosti kořenového systému (VKS) vybraných genotypů pšenice seté, (ii) korelační analýzou kvantifikovat vzájemný vztah VKS, klíčivosti a

vitality a (iii) vyhodnotit vliv velikosti kořenového systému a klíčivosti resp. vitality semen na výnos zrna.

## MATERIÁL A METODIKA

Velikost kořenového systému (VKS), vitalita a klíčivost semen byla hodnocena u 39 ozimých genotypů pšenice seté (materiály RAGT Czech s.r.o.) v polním pokusu na lokalitě Branišovice (jižní Morava, Česká republika) v roce 2015 ve 4 opakováních. VKS rostlin byla zjišťována metodou měření elektrické kapacity (nF) dle Chloupka /2/ ve fázi sloupkování (BBCH 30) metání (BBCH 50) a plnění zrn (BBCH 75) LCR metrem při frekvenci 1 kHz a paralelním zapojení. Výnos zrna byl vyhodnocen ve fázi plné zralosti. Současně byla testována klíčivost a vitalita semen těchto genotypů. Vitalita byla stanovena jako procento vyklíčených semen ve stresových podmínkách, tj. při chladu 10 °C a za fyziologického sucha -0,5 MPa ve vodním roztoku polyethylenglykolu PEG 6000 /3/. Paralelně byla založena kontrolní varianta s optimálním vodním režimem při teplotě 20 °C. Obě varianty byly založeny v klícidlech na filtračním papíru s 50 obilkami vždy ve třech opakováních. Jako správně vyklíčená byla hodnocena semena s délkou klíčku minimálně do poloviny délky obilky a s minimálně třemi kořínky. Procento vyklíčených semen bylo hodnoceno po 14 dnech. Data byla zpracována v programu STATISTICA 10. Byla provedena analýza variance ( $p \leq 0,05$ ) a korelační analýza.

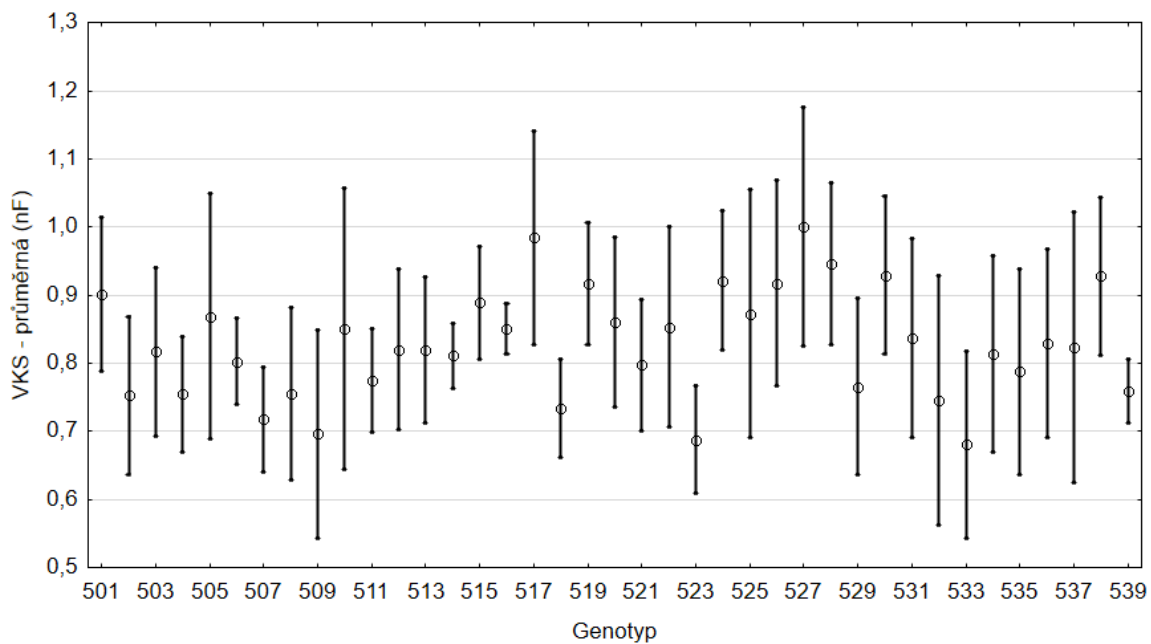
## VÝSLEDKY A DISKUSE

Velikost kořenového systému rostlin pšenice seté byla hodnocena v průběhu dubna až června, kdy srážkové úhrny v oblasti pokusné lokality dosáhly pouze 60 % dlouhodobého srážkového normálu a rostliny tak byly vystaveny nedostatku vody. Analýza variance prokázala statisticky průkazné rozdíly mezi VKS sledovaných odrůd ( $p \leq 0,05$ ), a byly pozorovány tendence genotypů vytvářet stabilně větší nebo menší kořenový systém. Nižší hodnoty VKS byly u genotypů pozorovány po celé vegetační období, vyšší hodnoty VKS byly pozorovány v závislosti na fenofázi. Ve fázi sloupkování se vysokými hodnotami VKS vyznačovaly genotypy 527, 517 a 528, ve fázi metání 527, 528, 526 a 536, ve fázi plnění zrn 526, 536 a 515. Udržování výrazně velkého kořenového systému po celou dobu vegetace nebylo pozorováno u žádného genotypu. Naopak malým kořenovým systémem se ve všech sledovaných fenofázích vyznačovaly genotypy 523, 509 a 507. Statisticky průkazný rozdíl byl nalezen mezi velikostí kořenového systému genotypu 527, 528, 517, 519 (velká VKS) a 523, 533, 507, 518 a 539 (malá VKS). Hodnoty průměrné VKS dokumentuje Obr. 1.

Korelační analýzou byl zjištěn statisticky průkazný vztah VKS v po sobě následujících fenofázích ( $r=0,445^{**}$ ;  $r=0,499^{**}$ ). Především stav kořenového systému ve fázi sloupkování zásadně ovlivnil rozvoj kořenů v dalším období. Je tedy pravděpodobné, že rostliny částečně upravují mohutnost svého kořenového aparátu aktivně v průběhu vegetace. Tato schopnost je jednou z žádaných vlastností odrůd tolerantních k působení abiotických stresorů.

Dobrá klíčivost a vitalita osiva může ve stresových podmínkách zajistit rychlejší nástup růstu rostlin a únik suchu v počátečních fázích ontogeneze v jarním i podzimním období. Bylo zjištěno, že velikost a vitalita semen jsou asociovány s tolerancí k suchu u pšenice /4/. Také dostatečně velký kořenový systém je asociován s odolností vůči nedostatku vody a bylo zjištěno, že větší kořenový systém je v pozitivní vazbě s výnosem zrna u ječmene /5/ i pšenice /6/. Kombinace těchto vlastností by tak mohla vést k vyšlechtění genotypu s vyšším potenciálem tolerance k suchu. Synergie větší VKS a současně větší vitality semen u 39 sledovaných genotypů pšenice nebyla v experimentu potvrzena. Korelační analýza nepotvrdila statisticky významnou závislost mezi VKS a klíčivostí resp. vitalitou osiva (viz Tab. 1). Nicméně, vztah vitality osiva a velikosti kořenové soustavy je ovlivněn také raností genotypu. Soubor genotypů tak byl rozdělen na 26 raných a 11 pozdních. 2 genotypy nebyly testovány. Klíčivost osiva byla u raných genotypů průkazně pozitivně korelována s hodnotami VKS ve fázi plnění zrn ( $r=0,411^{*}$ ). Vyšší vitalitu

osiva vykazovaly rovněž genotypy, které se vyznačovaly větším kořenovým systémem v závěru vegetace. Větší VKS v této fázi tak mohla být důsledkem vyšší životaschopnosti a kvality semen v počátku růstu, které zajistily vitální a velký kořenový systém. Naopak u pozdních genotypů nebyl kořenový systém ovlivněn klíčivostí ale vitalitou semen. Zajímavostí je statisticky vysoce průkazný negativní vztah mezi VKS ve fázi metání, resp. průměrnou VKS, a vitalitou osiva (Tab. 1). Lze předpokládat, že VKS pozdních genotypů je z produkčního hlediska významná i v pozdějších fázích ontogeneze. Pokud však dojde k rychlému nárůstu podzemní biomasy v počátku vegetace a v jarních měsících nejsou rostliny dostatečně zásobeny vodou (duben – červen 2015), může být růst kořenového systému v nastupující generativní fázi vývoje rostlin utlumen z důvodu šetření zdrojů a asimilátů pro udržení fotosyntetického aparátu a tvorbu zrna. V souboru pozdních genotypů zároveň nebyla nalezena závislost mezi klíčivostí a vitalitou osiva.



Obr. 1 Průměrné hodnoty VKS (nF) sledovaných genotypů pšenice seté za vegetační období v roce 2015 (vertikální sloupce označují intervaly spolehlivosti při  $p \leq 0,05$ ).

Tab. 1: Korelační závislost VKS pšenice ve třech vegetačních fázích a vitality, klíčivosti semen a výnosu zrna genotypů odlišených dle ranosti (\*korelační koeficient průkazný při  $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,01$ ).

|                   |        | Velikost kořenového systému |          |            |          |
|-------------------|--------|-----------------------------|----------|------------|----------|
|                   |        | Sloupkování                 | Metání   | Plnění zrn | Průměr   |
| <b>Vitalita</b>   | Rané   | 0,109                       | 0,229    | 0,388      | 0,241    |
|                   | Pozdní | -0,497                      | -0,799** | -0,184     | -0,829** |
|                   | Celkem | 0,046                       | 0,255    | 0,150      | 0,138    |
| <b>Klíčivost</b>  | Rané   | 0,235                       | 0,301    | 0,411*     | 0,369    |
|                   | Pozdní | 0,123                       | -0,020   | 0,211      | 0,148    |
|                   | Celkem | -0,036                      | 0,004    | 0,095      | -0,010   |
| <b>Výnos zrna</b> | Rané   | 0,494*                      | 0,028    | 0,109      | 0,417*   |
|                   | Pozdní | 0,350                       | 0,362    | 0,029      | 0,454    |
|                   | Celkem | 0,414**                     | 0,161    | 0,159      | 0,394*   |

Vitalita a klíčivost osiva nesouvisela s výnosem zrna. To může být dáno i dlouhou vegetační dobou ozimé pšenice, která je zásadně ovlivněna průběhem povětrnostních podmínek v zimních měsících (Tab. 2).

Tab. 2: Korelační závislost vitality resp. klíčivosti semen a výnosu zrna sledovaných genotypů pšenice odlišených dle ranosti (\*korelační koeficient průkazný při  $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,01$ ).

|                   | Vitalita |        |        | Klíčivost |        |        |
|-------------------|----------|--------|--------|-----------|--------|--------|
|                   | Rané     | Pozdní | Celkem | Rané      | Pozdní | Celkem |
| <b>Výnos zrna</b> | -0,117   | -0,055 | -0,258 | -0,078    | 0,142  | -0,164 |

Výnos zrna byl však významně pozitivně ovlivněn velikostí kořenového systému v průběhu celé vegetace a především ve fázi sloupkování u raných genotypů ( $r=0,494^{**}$ ). U pozdních genotypů lze pozorovat ovlivnění výnosu velikostí kořenového aparátu i ve fázi metání (Tab. 1). Vyšší výnos zrna byl v roce 2015 na pokusné lokalitě v suché oblasti jižní Moravy statisticky průkazně spjat s větší velikostí kořenového systému rostlin pšenice.

#### LITERATURA

- /1/ Bláha L., Šerá B.: Příspěvky k problematice zemědělského pokusnictví. Praha, VÚRV, v.v.i., 2014. 140 s.
- /2/ Chloupek, O.: The relationship between electric capacitance and some other parameters of plant roots. *Biologia Plantarum*, 14, 1972: 227-230.
- /3/ Ullmannová K. Genetická kontrola vitality obilí ječmene. Doktorská disertační práce. Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, 2013. 121 s.
- /4/ Rebetzke R.J., Richards G.A.: Genetic improvement of early vigour in wheat. *Australian Journal of Agricultural Research*, 50, 1999: 291-302.
- /5/ Svačina P., Středa T., Chloupek O.: Uncommon selection by root system size increases barley yield. *Agronomy for Sustainable Development*, 34, 2014: 545-551.
- /6/ Heřmanská A., Středa T., Chloupek O.: Improved wheat grain yield by a new method of root selection. *Agronomy for Sustainable Development*, 35, 2015: 195-202.

#### Poděkování

Publikace vznikla na Mendelově univerzitě v Brně v rámci projektu IGA AF MENDELU č. TP 7/2015 podpořeného z prostředků účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum, kterou poskytlo MŠMT v roce 2015.

## EFEKTY PRACÍCH PROSTŘEDKŮ OBSAHUJÍCÍCH STŘÍBRO NA ŘASY

### *INFLUENCE OF DETERGENTS CONTAINING SILVER ON ALGAE*

Klára Kobetičová, Jakub Hudský

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav chemie ochrany prostředí, Technická 5, 166 28 Praha  
6 – Dejvice, Klara.Kob@seznam.cz

#### *Summary*

Nowadays households increasingly used products containing silver in “nanoform”. The presence of this metal increases the antimicrobial effect of the products it is therefore added into detergents. We does not know what effects they can have these products on non-target organisms. The goal of this study was therefore to test selected detergents on freshwater algae *Desmodesmus subspicatus*. The doses of detergent corresponding amount used per one cycle were tested. The detergents were tested after washing process and without it. The results showed negative effects of tested detergents containing silver on algal growth.

*Key words: detergents, silver, Desmodesmus subspicatus, ecotoxicity*

#### *Souhrn*

V dnešní době se v domácnostech stále více používají výrobky obsahující různé formy stříbra v tzv. nanoformě. Přítomnost stříbra zvyšuje antimikrobiální účinek přípravků, používá se proto do pracích prostředků. Neví se ale, jaké účinky mohou mít tyto výrobky na necílové organismy. Cílem této studie proto bylo otestovat vybrané prací prostředky na sladkovodní řase *Desmodesmus subspicatus*. Testovány byly dávky pracích prostředků odpovídající množství používaného na jeden prací cyklus. Přípravky byly testovány po pracím procesu i bez něj. Výsledky prokázaly negativní vliv testovaných přípravků obsahujících stříbro na růst řas.

*Klíčová slova: prací prostředky, stříbro, Desmodesmus subspicatus, ekotoxicita*

## ÚVOD

Nanočástice stříbra, které mají antimikrobiální účinky, se dnes hojně používají do textilních vláken (ponožky, sportovní oblečení, ručníky, apod.), kosmetiky a pracích prostředků. Stříbro se proto může dostávat do odpadních a povrchových vod. Stříbro, stejně jako jiné kovy není biodegradovatelné a může se tak hromadit v životním prostředí. Je proto třeba vědět, jestli tyto prostředky nemohou negativně ovlivňovat vodní prostředí.

Cílem této studie bylo otestovat tři vybrané tři prací prostředky na růst biomasy řasy *Desmodesmus subspicatus*. Prací prostředky byly podrobeny simulovanému pracímu procesu (30 °C, 20 minut). Pro každý prací prostředek byla testována koncentrace odpovídající množství prostředku používaného pro jeden prací cyklus (na 5 l vody). Všechny vybrané prací prostředky byly také testovány bez simulace praní.

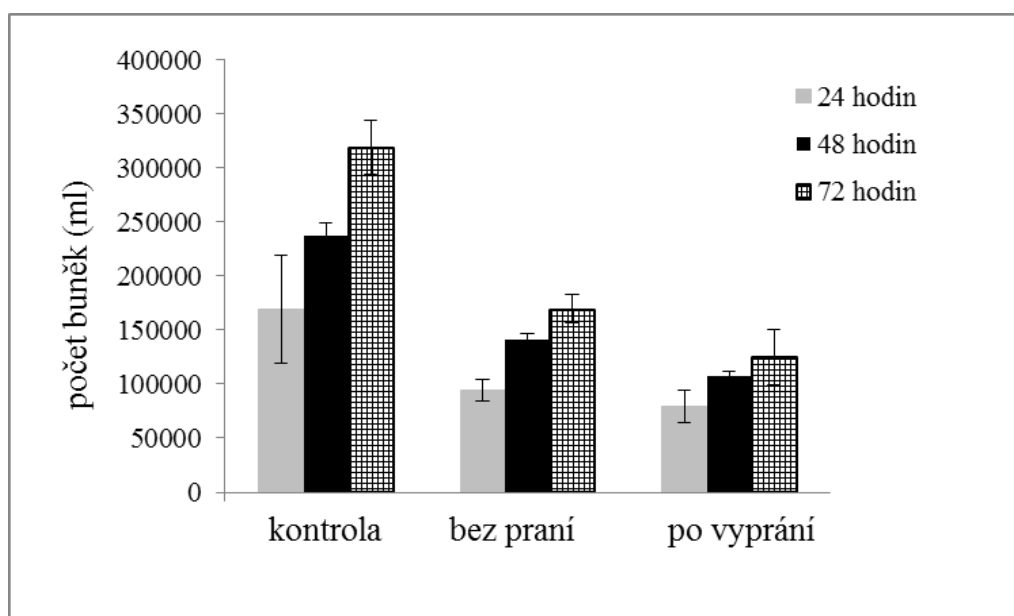
## MATERIÁL A METODY

Za modelový organismus byl vybrán druh sladkovodní řasy *Desmodesmus subspicatus*. Test s řasami byl prováděn a vyhodnocen dle platné metodiky /1/. Pro testování byly vybrány dva přípravky obsahující stříbro (aviváž a prací prášek od nejmenovaných firem) a jako kontrolní prací prostředek bez přídavku stříbra jádrové mýdlo. Vybrané přípravky byly rozpuštěny

v kultivačním médiu /1/. Polovina z připravených roztoků byla podrobena simulovanému pracímu procesu (30 °C, 20 minut). Prané i neprané roztoky byly obohaceny o řasovou kulturu (100 000 b/ml) a pipetovány na 24jankové mikrodestičky. Od kontroly, každé koncentrace a blanku (kultivační médium bez řas a bez testovaného přípravku) + samotných testovaných přípravků bez přídavku řas bylo připraveno po 4 opakováních. Test probíhal 72 hodin. Absorbance testovaných roztoků byla vyhodnocována každých 24 hodin na spektrofotometru Bio-tek při vlnové délce 670 nm /1/. Pro přepočítání řas z hodnot absorbancí byla použita kalibrační křivka /2/.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

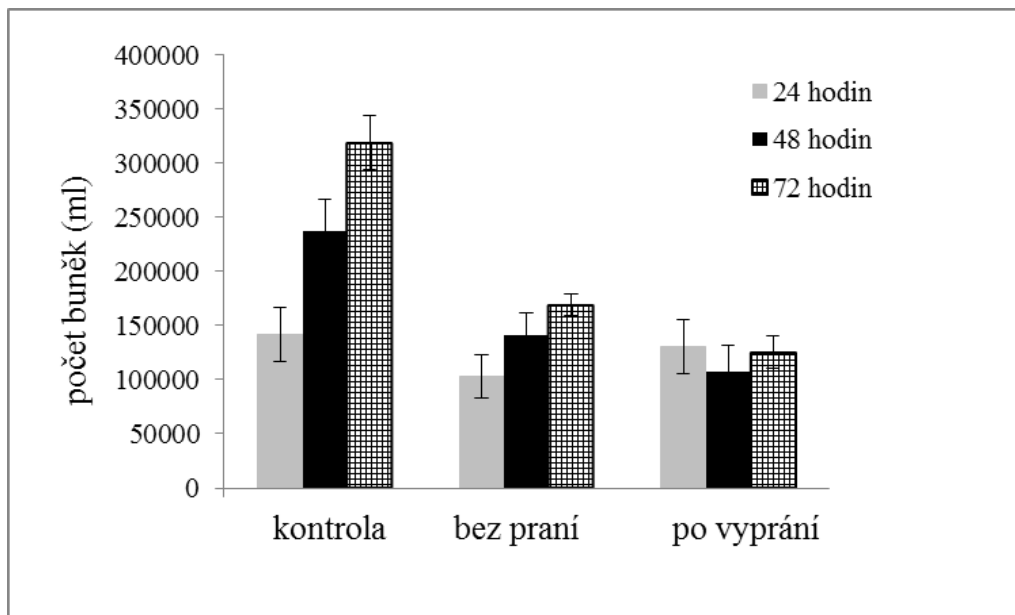
Výsledky naznačují, že prací prostředky obsahující dle výrobce stříbro, mají negativní vliv na růst řas. Přítomnost stříbra v testovaných přípravcích nebyla prokazována z důvodu přítomnosti velkého množství organických pěnivých látek, což by mohlo vést k poškození přístrojů primárně určených pro analytické stanovení kovů (AAS, ICP). V případě jádrového mýdla nebyl pozorován negativní vliv. Naopak, dle očekávání byla zaznamenána určitá míra stimulace. Do odpadních vod z domácností však množství pracích prostředků odchází v mnohem zředěnější formě a je otázka, zda obecně prací prostředky obsahující stříbro budou mít za reálných podmínek negativní vliv na mikroorganismy v čistírnách odpadních vod a na organismy v povrchových vodách. Pokud budou v budoucnu tyto antimikrobiální výrobky používány spotřebiteli ve větší míře, dá se to ale pravděpodobně očekávat.



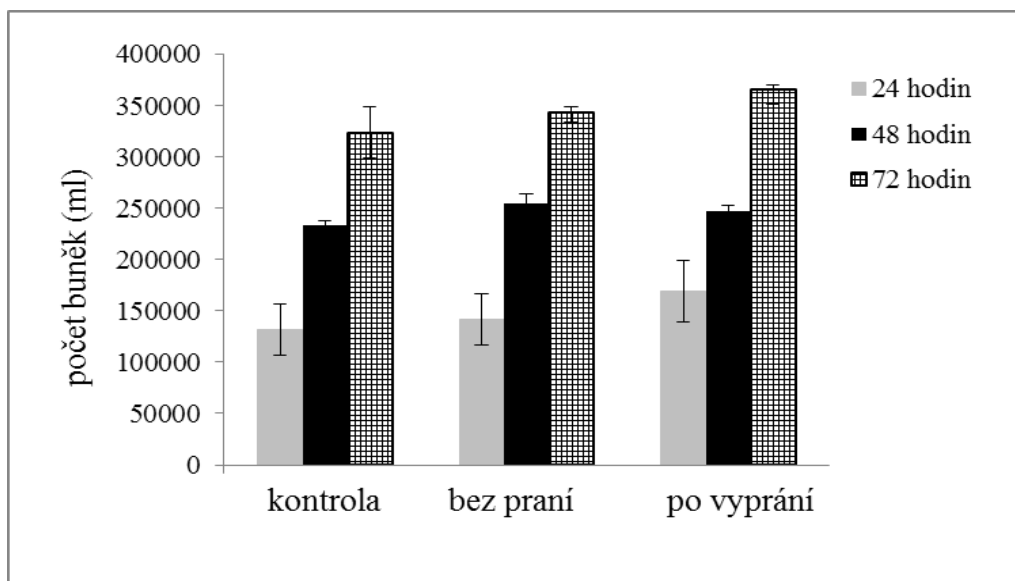
Graf 1: Biomasa řas v čase testu 24 až 72 hodin pro prací prášek v kontrole a v roztoku prostředku bez a po simulaci praní.

V dostupných studiích je většinou hodnocen vliv čistého stříbra v nanoformě na růst a přežívání mikroorganismů /např. 3/ či bezobratlých v akvatickém /např. 4, 5/ či půdním uspořádání /6/. Efektivní koncentrace jsou v těchto studiích velmi variabilní a pohybují se řádově od setin mg/l až po tisíce mg/l či mg/kg a výsledný efekt závisí na velikosti testovaných částic a designu experimentu. Akutní toxicita pro řasy je uváděna jako  $EC_{50} = 0,23$  mg/l /6/. Studie, která by se zabývala směsí obsahující i nanostříbro na vodní organismy, není ovšem dostupná.

V každém případě je vhodné doporučit provedení dalších testů ekotoxicity na organismech, jako jsou např. vodní makrofyta, bezobratlí a obratlovci při delší expozici a při nižších, ekologicky relevantnějších koncentracích, pro otestování různých pracích přípravků antimikrobiální či jiné přídatné složky.



Graf 2: Biomasa řas v čase testu 24 až 72 hodin pro aviváž v kontrole a v roztoku prostředku bez a po simulaci praní.



Graf 3: Biomasa řas v čase testu 24 až 72 hodin pro jádrové mýdlo v kontrole a v roztoku prostředku bez a po simulaci praní.

## LITERATURA

- /1/ OECD (2011): Test No. 201: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test.
- /2/ Hudský, J. (2016): Ekotoxické účinky pracích prostředků obsahujících stříbro. Bakalářská práce, VŠCHT Praha.
- /3/ Chairuangkitti, P., Lawanprasert, S., Roytrakul, S., Aueviriyavit, S., Phummiratch, D., Kulthong, K., Chanvorachote, P., Maniratanachote, R.: Silver nanoparticles induce toxicity in A549 cells via ROS-dependent and ROS-independent pathways, *Toxicology in Vitro*, 2013, 27:330-338.
- /4/ Lapiéd, E., Moudilou, E. Exbrayat, M., Oughton, D.H., Joner, E.J.: Silver nanoparticle exposure causes apoptotic response in the earthworm *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta), *Nanomedicine* 2010, 5:975-984.



- /5/ Lim, D., Roh, J.Y., Eom, H.J., Choi, J.Y., Hyun, J., Choi, J.: Oxidative stress-related PMK-1 P38 MAPK activation as a mechanism for toxicity of silver nanoparticles to reproduction in the nematode *Caenorhabditis elegans*, *Environmental Toxicology and Chemistry* 2012, 31:585-592.
- /6/ Shoults-Wilson, W. A., Reinsch, B.C., Tsyusko, O.V., Bertsch, P.M., Lowry, G.W., Unrine, J.E.: Effect of silver nanoparticle surface coating on bioaccumulation and reproductive toxicity in earthworms (*Eisenia fetida*), *Nanotoxicology* 2010, 5:432-44.
- /7/ Nohavica, D.: Rizika nanotechnologií a nanomateriálů pro lidské zdraví a životní prostředí, staženo dne 28.6.2016: (<http://www.ufe.cz/sites/default/files/Media/nohavica-rizika-nanomaterialu-2011.pdf>).

### **Poděkování**

Uvedená práce vznikla za finanční podpory VŠCHT Praha.

## DYNAMIKA KONCENTRÁCIE FOSFORU V NADZEMNEJ BIOMASE DRUHU *CAREX PILOSA* SCOP. V SUBMONTÁNEJ BUČINE

### ***DYNAMICS OF THE PHOSPHORUS CONCENTRATION IN THE ABOVEGROUND BIOMASS OF CAREX PILOSA SCOP. SPECIES IN A SUBMOUNTAIN BEECH FOREST***

Martin Kubov, Branislav Schieber, Rastislav Janík

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

#### **Summary**

Paper presents the analysis of the concentration of a phosphorus in the aboveground biomass of *Carex pilosa* Scop. species in relation to both phenological phases and environmental conditions. Research was carried out in the growing season of 2014 in a different environmental conditions within a submountain beech forest. The concentration of phosphorus was analyzed in clearly defined periods associated with selected vegetative and generative phenophases of this species. Based on the results we can state that there is evident temporal and spatial variation. Minimum values were observed in a phenophase of fully yellow plant ( $0.21 \text{ g.kg}^{-1}$ ). On the other hand, maximum was reached during the phenophase of young shoots ( $1.53 \text{ g.kg}^{-1}$ ). Also different ecological conditions affected both concentration of phosphorus and its temporal dynamics in a biomass of *Carex pilosa* species.

**Key words:** *Carex pilosa* Scop., phenology, phosphorus

#### **Súhrn**

Predkladaná práca sa zaoberá analýzou koncentrácie fosforu v nadzemnej biomase druhu *Carex pilosa* Scop vo vzťahu k vybraným fenologickým fázam a rozdielnym podmienkam prostredia. Výskum sa vykonával vo vegetačnom období roka 2014 v rozdielnych fyto-klimatických podmienkach v prostredí submontánnej bučiny. Na základe získaných výsledkov môžeme konštatovať, že koncentrácia fosforu v nadzemnej biomase uvedeného druhu sa dynamicky mení počas vegetačného obdobia v závislosti od konkrétnej fenologickej fázy. Najnižšie hodnoty boli zistené vo fenofáze úplného zožltnutia rastliny ( $0,21 \text{ g.kg}^{-1}$ ). Naopak, maximálne hodnoty boli pozorované vo fenofáze mladých odnoží ( $1,53 \text{ g.kg}^{-1}$ ). Na koncentráciu a časovú dynamiku uvedeného prvku mali zároveň vplyv aj fyto-klimatické podmienky, v ktorých sledovaný druh rastie.

**Kľúčové slová:** *Carex pilosa* Scop., fenológia, fosfor

## **ÚVOD**

V podmienkach Slovenska patrí do rodu *Carex* okolo 80 druhov. Jedným z hlavných a významne rozšírených druhov je aj ostrica chlpatá (*Carex pilosa* Scop.). Táto tmavozelená trváca bylina (hemikryptofyt), rastie hlavne v bukových a s bukom zmiešaných lesoch. Je to rastlina s klonálnym rastom, ktorá sa rozmnožuje hlavne vegetatívne /1/. Ako každá rastlina, aj *Carex pilosa* v priebehu roka vykazuje určité periódy pokoja a rastu, kedy hovoríme o tzv. fenologickom, resp. sezónnom rytme rastliny. V podmienkach, kde sú letné a zimné obdobia veľmi výrazné, rastliny odpovedajú zmenami svojej fyziologickej aktivity /4/. A práve fenológia resp. fenologické pozorovania opisujú a analyzujú časový nástup a priebeh základných životných prejavov rastlín vo vzťahu k podmienkam vonkajšieho prostredia. Ekologické faktory, predovšetkým teplota a množstvo zrážok, výrazne ovplyvňujú príjem a distribúciu živín rastlín v priebehu vegetačného obdobia /2/. Procesy, ktoré prebiehajú v rastlinných organizmoch sú v prevažnej miere viazané na tzv. esenciálne (nevyhnutné) prvky. Jedným z najdôležitejších

esenciálních prvků je aj fosfor (P), který sa v rastline podieľa na významných energetických a stavebných procesoch (proces fotosyntézy, dýchania, metabolismu cukrov a bielkovín), buduje základnú hmotu rastlín. Je dôležitou súčasťou nukleových kyselín, fosfolipidov, koenzýmů NAD a NADP a veľmi dôležitý ako zložka ATP. Fosfor prijímajú rastliny koreňmi z pôdy vo forme  $H_2PO_4^{2-}$  a  $HPO_4$ . Minerálne zlúčeniny P majú v pôde v závislosti od pH rozdielnú rozpustnosť a preto je rozdielna aj ich prístupnosť pre rastliny.

Údaje o obsahu a dynamike P ako esenciálneho prvku v jednotlivých vývojových (fenologických) fázach počas vegetačného obdobia nie sú u druhu *Carex pilosa* Scop. dostatočne známe. Hlavným cieľom príspevku je analýza obsahu P počas jednotlivých fenologických fáz uvedeného druhu v rozdielnych fyto-klimatických podmienkach submontánnej bučiny.

## MATERIÁL A METÓDY

Výskum sa vykonával na Ekologickom experimentálnom stacionári (EES), ktorý sa nachádza v JV časti pohoria Kremnické vrchy v lokalite Suchá dolina (48 ° 38' SZŠ a 19 ° 04' VZD). EES je tvorený pravidelným svahom so sklonom 5 až 15°, prevládajúcou expozíciou Z až JZ. Výškovo je relatívne málo diferencovaný (450–520 m n.m.). EES patrí do medzinárodnej siete LTER (Long-Term Ecosystem Research: <http://www.lter-europe.net/networks>). Prírodné a vegetačné pomery sú podrobne opísané aj v prácach /3–7/.

Výskum prebiehal na 2 plochách, predstavujúcich rozdielne fyto-klimatické podmienky. Plochu „K“ (kontrolná plocha) reprezentuje pôvodný 115-ročný bukový porast so zakmenením 1.0. Plocha „M“ reprezentuje segment porastu, v ktorom rubný zásah v roku 1989 znížil zakmenenie z pôvodnej hodnoty 0,9 na hodnotu 0,7. V roku 2004 došlo opätovne k zníženiu zakmenenia na hodnotu 0,5 a na jar 2009 sa dožatím materský porast úplne odstránil.

Fenologické pozorovania prebiehali od začiatku vegetácie na jar 2014 v pravidelných týždenných intervaloch. Metodika pozorovaní vychádzala z Metodického predpisu pre fenologické pozorovanie, štandardne používaného v rámci fenologického monitoringu SHMÚ /8/. V rámci populácie *Carex pilosa* boli hodnotené vybrané fenologické fázy uvedené v tab. 1.

Tab.1 : Hodnotené fenologické fázy druhu *Carex pilosa*

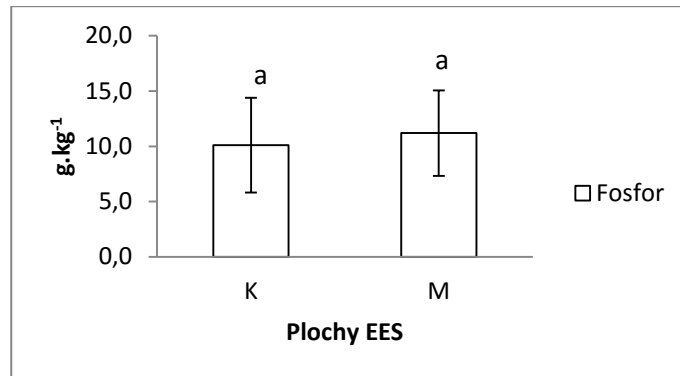
| <b>Sterilná populácia</b>        | skratka fázy | dátum odberu |
|----------------------------------|--------------|--------------|
| fáza pred uvoľnením listov       | PUL          | 18.3.        |
| fáza uvoľnené listy              | UL           | 1.4.         |
| fáza úplne vyvinutých listov     | ÚVL          | 26.5.        |
| Fáza jesenná nekrotizácia listov | JNL          | 24.10.       |
| fáza mladých odnoží              | MO           | 24.10.       |
| fáza prezimujúcej rastliny       | PR           | 14.3.        |
| fáza úplného zožltnutia          | ÚZ           | 15.5.        |
| <b>Fertilná populácia</b>        |              |              |
| fáza pred kvitnutím              | PK           | 18.3.        |
| fáza všeobecné kvitnutie         | VK           | 1.4.         |
| fáza žltnutie                    | ŽL           | 24.6.        |

Pri hodnotení fenologických fáz sme osobitne hodnotili populácie sterilných a fertílých výhonkov. V rámci komplexnosti výskumu sme na porovnávaných plochách odobrali jednorázovo aj sériu reprezentatívnych vzoriek pôd z minerálnych vrstiev 0–10 cm. Tie sme vysušili na vzduchu, preosiali cez 2 mm sito, pomleli na achátovom mlyne na púder a následne sa pomocou metódy ŠPP 19 na prístroji AES-ICP stanovil obsah P v pôdnej vzorke. Na chemickú analýzu sa

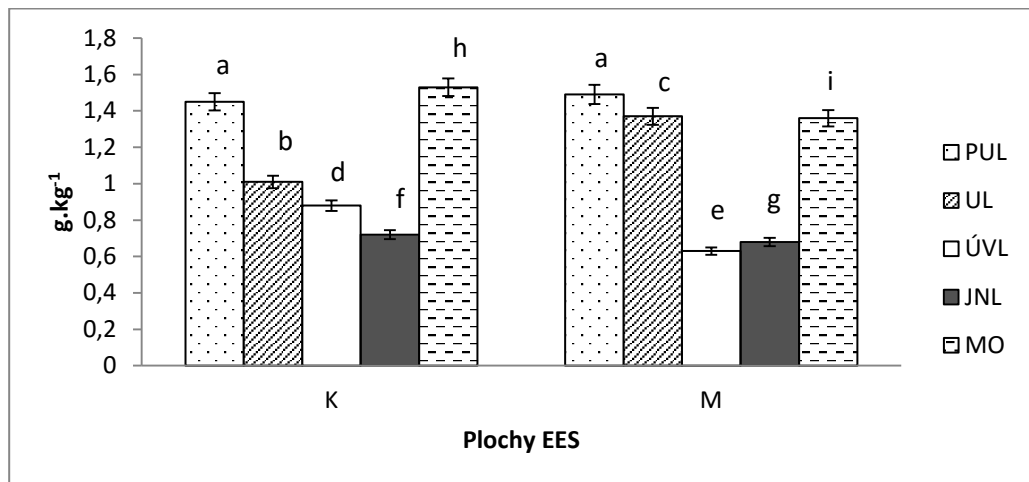
rastlinný materiál odoberal v čase jednotlivých fenofáz. Pre zistenie obsahu P u sledovaného taxónu *Carex pilosa* Scop. sa použila deštruktívna metóda nepriameho odberu, ktorú uvádza /9/. V laboratórne upravených vzorkách nadzemnej biomasy sa celkový obsah P stanovil metódou ŠPP 6 (ISO 11885) na prístroji AES-ICP. Významnosť rozdielov obsahu P v rastlinnej biomase sa vyhodnotila pomocou ANOVA a Fischer LSD-test (Statistica 10 software).

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z grafu 1 je zrejmé, že koncentrácia P v pôde nevykazovala štatisticky významný rozdiel medzi porovnávanými plochami. Priemerná hodnota na kontrolnej ploche K s materským porastom dosahovala  $10,1 \text{ g.kg}^{-1}$ , zatiaľ čo na ploche bez materského porastu M  $11,2 \text{ g.kg}^{-1}$ .



Graf 1: Koncentrácia fosforu v pôde na dvoch porovnávaných plochách EES ( $\pm$  SD s Fisherovým LSD testom, kde  $p \leq 0,05$ )

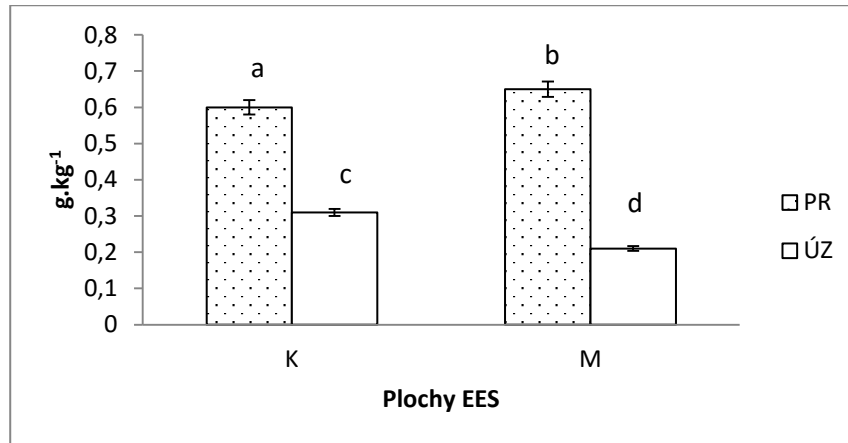


Graf 2: Dynamika koncentrácie fosforu k vybraným fenofázam juvenilnej sterilnej populácie druhu *Carex pilosa* Scop. na plochách EES ( $\pm$  SD s Fisherovým LSD testom, kde  $p \leq 0,05$ )

V nadzemnej biomase študovaného druhu bol rozdiel v koncentrácii fosforu štatisticky významný nielen medzi jednotlivými fenologickými fázami, ale aj medzi plochami. V rámci sterilnej populácie (grafy 2 a 3) sme zaznamenali najväčšiu koncentráciu P vo fenologickej fáze „MO“ na kontrolnej ploche (K) s priemerným obsahom  $1,53 \text{ g.kg}^{-1}$ . Na ploche M populácia dosiahla v danej fenologickej fáze nižšie priemerné koncentrácie P s hodnotou  $1,36 \text{ g.kg}^{-1}$ . /10/ uvádza, že rastlina vo fáze klíčenia až tvorby odnoží potrebuje významné množstvo P na celkový rast. V prípade nedostatku P v tejto fáze rastlina obmedzí rast, hlavne nadzemnej časti. Štatisticky podobné hodnoty sa preukázali len vo fenologickej fáze „PUL“, kde sme zaznamenali priemerné hodnoty  $1,45 \text{ g.kg}^{-1}$  na ploche K, resp.  $1,49 \text{ g.kg}^{-1}$  na ploche M. Priemerné koncentrácie P v ďalších

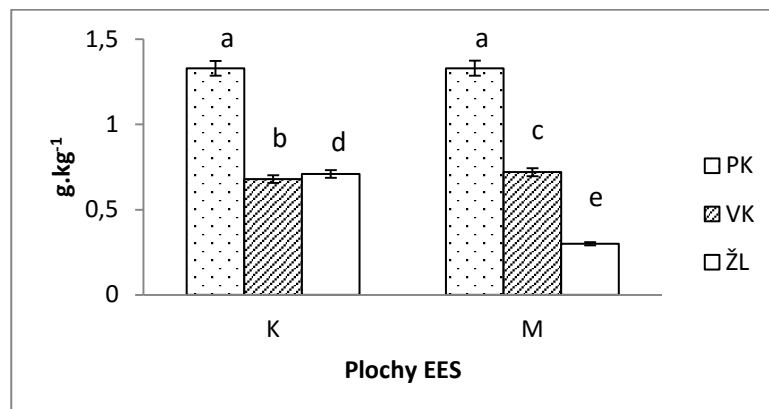
fenofázach vykazujú vo všeobecnosti klesajúci trend na oboch plochách a to nasledovne: Plocha K – UL / ÚVL / JNL – 1,01 g.kg<sup>-1</sup> / 0,88 g.kg<sup>-1</sup> / 0,72 g.kg<sup>-1</sup>, resp. plocha M – UL / ÚVL / JNL – 1,37 g.kg<sup>-1</sup> / 0,63 g.kg<sup>-1</sup> / 0,68 g.kg<sup>-1</sup>.

Je známe, že v populáciách druhu *Carex pilosa* existuje časové prekrývanie (cca október až jún) juvenilných a seniorných vývinových štádií. V rámci analýzy koncentrácie P v biomase seniornej populácie (graf 3) sme zaznamenali nasledovné hodnoty: na ploche K – PR / ÚZ – 0,6 g.kg<sup>-1</sup> / 0,31 g.kg<sup>-1</sup>, resp. na ploche M – PR / ÚZ – 0,65 g.kg<sup>-1</sup> / 0,21 g.kg<sup>-1</sup>. Z uvedeného je zrejmé, že obsah a koncentrácia sledovaného prvku v biomase seniornej populácie postupne klesá, dochádza k degradácii rastlinných pletív a úhynu nadzemnej časti.



Graf 3: Dynamika koncentrácie fosforu k vybraným fenofázam seniornej strilnej populácie druhu *Carex pilosa* Scop. na plochách EES ( $\pm$  SD s Fisherovým LSD testom, kde  $p \leq 0,05$ )

Dynamika koncentrácie fosforu v rámci fertílnej populácie je znázornená v grafe 4. Vo fenologickej fáze „PK“, sme na oboch plochách zaznamenali rovnaké priemerné hodnoty (1,33 g.kg<sup>-1</sup>). V ďalších dvoch fenologických fázach bol zistený značný pokles priemernej koncentrácie prvku s hodnotami 0,68 g.kg<sup>-1</sup> na ploche K a 0,72 g.kg<sup>-1</sup> na ploche M vo fenofáze „VK“, resp. 0,71 g.kg<sup>-1</sup> na ploche K a 0,3 g.kg<sup>-1</sup> na ploche M vo fenologickej fáze „ŽL“. V literatúre sa uvádza, že fosfor sa najčastejšie hromadí v reprodukčných orgánoch rastlín (napr. kvety, peľové zrná a pod.) /11/. Pritom je zaujímavé naše zistenie, že vyššie hodnoty koncentrácie fosforu boli zistené na oboch plochách v období pred rozkvitnutím sledovaného druhu, nie v čase jeho všeobecného kvitnutia.



Graf 4: Dynamika koncentrácie fosforu k vybraným fenofázam fertílnej populácie druhu *Carex pilosa* Scop. na plochách EES ( $\pm$  SD s Fisherovým LSD testom, kde  $p \leq 0,05$ )

Obsah přístupného fosforu je podľa /12/ důležitým ukazovateľom stavu výživy rastlín. Nami zistená koncentrácia fosforu v pôde nevykazovala významné rozdiely medzi porovnávanými plochami. Na druhej strane sme ale zistili, že obsah fosforu v nadzemnej biomase uvedeného druhu sa dynamicky mení počas vegetačného obdobia v závislosti od konkrétnej fenologickej fázy. Najnižšie hodnoty boli zistené vo fenofáze úplného zožltnutia rastliny, teda na konci životného cyklu kým maximálne hodnoty obsahu boli pozorované vo fenofáze mladých odnoží, teda na začiatku životného cyklu. Na koncentráciu a časovú dynamiku uvedeného prvku mali zároveň vplyv aj fyto-klimatické podmienky, v ktorých sledovaný druh rastie.

#### LITERATÚRA

- /1/ Eliáš, P.: 1996: Koncepcia stresu vo fyziologickej ekológii. In - Zborník z medzinárodnej konferencie „Rastlina v podmienkach stresu“, Račková dolina, 6-12.
- /2/ Kozłowski, T.T., Kramer, P.J., Pallardy, G.S.: The physiological ecology of woody plants. New York:Academic Press. p. 657.
- /3/ Kontriš, J., Kontrišová, O., Gregor, J.: Dynamics of the phytocoenoses development of the submountain beech forest stands I. Phytocoenoses. Ekológia, 12, 1993: 417–428.
- /4/ Kubov, M., Schieber, B., Janík, R.: Analýza vybraných eko-produkčných parametrov a fenológia druhu *Carex pilosa* Scop. v rozdielnych fyto-klimatických podmienkach. Ekologické štúdie, 1, 2015:19–26.
- /5/ Schieber, B., Kubov, M., Pavelka, M., Janík, R.: Vegetation dynamics of herb layer in managed submountain beech forest. Folia Oecologica, 12/1, 2015:35–45.
- /6/ Barna, M.: Produktivita a fungovanie bukoveho ekosystému: Ekologický experimentálny stacionár - Kremnické vrchy (Západné Karpaty). Lesnícky časopis - Forestry Journal, 61/4. 2015: 252–261.
- /7/ Schieber, B., Kubov, M.: Phenology of selected broad-leaved forest trees in a submountain beech forest: two decades analysis. In Zprávy lesnického výzkumu – Reports of Forestry Research. 2016 - in press
- /8/ Braslavská, O., Kamenský, L.: Fenologické pozorovanie lesných rastlín. Metodický predpis. SHMÚ, Bratislava, 1966: 22.
- /9/ Kubíček, F.: Metódy štúdia produktivity rastlín. Acta Ecologica, 16, 1977: 8–30.
- /10/ Vaňková, R., Přerostová, S., Gaudinová, A., Knirsch, V., Balin, M., Dobrev, P.: Vliv nedostatku fosfátu na hladiny cytokininů. In – Hnilička, F. (ed): Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2015. Sborník recenzovaných příspěvků. ÚEL SAV, ČZU, Praha, 109–111.
- /11/ Bedrna, Z.: Starostlivost' o pôdu v záhradách. VEDA, 2009:250.
- /12/ Kobza, J.: Pedológia (vo svetle novších poznatkov). Belianum, 2013:172.

#### Pod'akovanie

Autori ďakujú agentúre VEGA za finančnú podporu pri riešení projektu č. 2/0041/13, v rámci ktorého vznikol prezentovaný príspevok.

## VPLYV VODNÉHO EXTRAKTU LÁSKAVCA NA RAST A OBSAH FOTOSYNTETICKÝCH PIGMENTOV REPY CUKROVEJ

### *EFFECT OF WATER EXTRACTS OF GLOSSY LEAVED ORACHE ON GROWTH AND PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS CONTENT OF SUGAR BEET*

Beáta Piršelová, Veronika Kližanová, Libuša Lengyelová

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

#### *Summary*

Despite the wide range of weeds growing on the sugar beet fields, there is rather limited knowledge about the allelopathic effects of weeds on the growth of this crop. The aim of the research was to evaluate the tolerance of the tested sugar beet variety (*Beta vulgaris* cv. Tatry) to allelopathic effects of water extracts of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*). Water extract of the shoots of glossy-leaved orache of two concentrations (10 and 20 mg/kg of soil) were applied to the soil substrate during the growing of sugar beet. Dry weight (DW) content was dependent on the applied concentration of extracts, the weaker extract caused increase of DW of roots by 40.82 % and the stronger extract caused increase of DW of shoots by 48,76 %. The leaf area was increased by 22% and 61% respectively. In case of application of the stronger extract of pigweed, the content of Chl *a* decreased by 20.7 %, Chl *b* by 22.04 % and carotenoids by 23.69 %, while the ratio of Chl*a*/Chl*b* was not changed.

*Key words:* sugar beet, glossy leaved orache, allelopathy, growth, weed kontrol

#### *Súhrn*

Napriek bohatému spektru burín v cukrovej repe existuje pomerne málo poznatkov o alelopatických účinkoch burín na rast tejto plodiny. Cieľom výskumu bolo zhodnotiť toleranciu testovanej odrody repy cukrovej (*Beta vulgaris* cv. Tatry) voči alelopatickým účinkom vodného extraktu láskavca ohnutého (*Amaranthus retroflexus*). Vodné výluhy výhonkov láskavca v dvoch koncentráciách (10 a 20 g/kg pôdy) boli aplikované do pôdneho substrátu počas rastu repy cukrovej. Vplyvom slabšieho extraktu láskavca došlo k nárastu obsahu sušiny v koreňoch o 40,82 %. V prípade výhonku nastal nárast obsahu sušiny o 48,76 % vplyvom vyššej dávky extraktu. Vplyvom oboch testovaných koncentrácií extraktu láskavca došlo k zväčšeniu listovej plochy (o 22 % a 61 %). Výsledkom aplikácie silnejšieho extraktu láskavca bol pokles obsahu Chl *a* o 20,7 %, Chl *b* o 22,04 % a karotenoidov o 23,69 %.

*Kľúčové slová:* kovy; repa, láskavec, alelopatia, kontrola zaburinenosti

## ÚVOD

Zaburinenosť a jej obmedzovanie sú pri pestovaní repy cukrovej prvoradá a spojené s relatívne vysokými výrobnými nákladmi /1/. Jednou z možností zvýšenia produktivity repy cukrovej je využitie vzájomných interakčných vzťahov medzi rastlinami, známych pod pojmom alelopatia. Alelopatiou je všeobecne označovaný špecifický vplyv jedného druhu rastlín na klíčenie, rast a vývoj iného druhu prostredníctvom tzv. alelochemikálií /2/.

Alelopatická inhibícia je komplexná a zahŕňa interakciu rôznych chemických látok, pričom ich účinok je zvyčajne nešpecifický: nízka koncentrácia a krátkodobý účinok stimuluje všetky procesy, pri vyššej koncentrácii a dlhšom pôsobení je životná aktivita potlačená, až zastavená. Alelopatiu ako prostriedok súťaživosti využíva mnoho rastlín s cieľom získať výhody

v kompetenčných vzťahoch, pričom alelopatické účinky sa často prejavujú aj na necielených druhoch /2/.

Výsledky štúdií vplyvu alelopatických účinkov burín na rast rastlín sú často kontroverzné, nakoľko konečný efekt alelopatie závisí od množstva pôsobiacich alelochemikálií a tiež od aktuálnych podmienok prostredia (napr. vlhkosť a zloženie pôdy, hustota porastu, množstvo svetla atď.) a tiež od vývinového štádia akceptorovej rastliny /3/.

Cieľom našich analýz bolo zhodnotiť vplyv vodného extraktu láskavca na obsah sušiny a fotosyntetických pigmentov v repe cukrovej.

## MATERIÁL A METÓDA

Experiment bol koncipovaný ako nádobový. Semená (celkom 20/nádoba) repy cukrovej (*Beta vulgaris* cv. Tatry) boli zasiate do pôdneho substrátu (pH 4,5-6,5). Vodné výluhy výhonkov láskavca ohnutého (*Amaranthus retroflexus*) boli aplikované do pôdy v dvoch dávkach: 10 g/kg pôdy a 20 g/kg pôdy. Extrakty z výhonkov láskavca (La) boli získané 24 hodinovou extrakciou v destilovanej vode. Kontrolný variant experimentu predstavoval rastliny pestované v pôdnom substráte bez aplikácie výluhov burín.

Rastliny boli pestované v rastovej komore (22 °C, 12 hodín svetlo/12 h tma, osvetlenie 400 lux a relatívna vlhkosť 60 – 70 %) a boli zalievané každý tretí deň, pričom zálievka predstavovala 60 % sorpčnej kapacity pôdy. Po 45 dňoch rastu boli korene oddelené od výhonkov a stanovený obsah sušiny. Listová plocha bola stanovená gravimetricky. Pokus bol opakovaný 3x, pričom celkovo bolo podrobených analýze 10-12 rastlín v každom variante experimentu.

Obsah fotosyntetických pigmentov (chlorofyl *a*, chlorofyl *b* a karotenoidy) bol stanovený spektrofotometricky v plne vyvinutom asimilačnom liste podľa Lichtenthaler a Wellburn /4/. Pigmenty boli stanovené v šiestich opakovaníach v každom variante experimentu.

Získané údaje boli štatisticky spracované pomocou MS EXCEL. Rozdiely medzi súbormi dát boli hodnotené Studentovým t-testom pri hladine  $\alpha < 0,05$ .

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

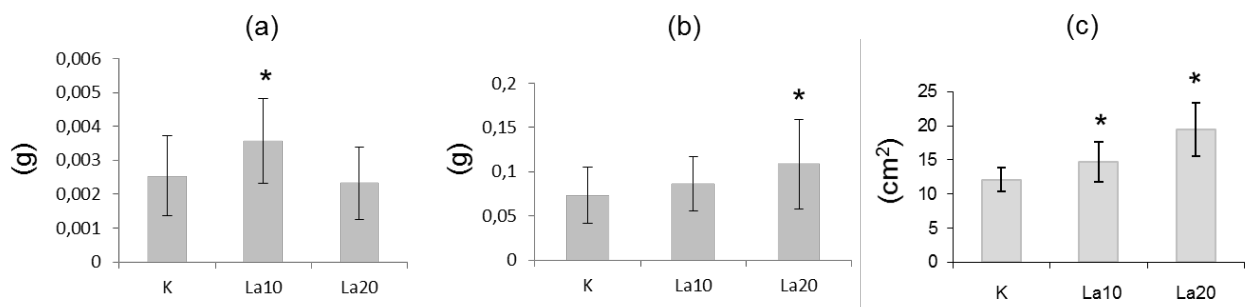
Použité extrakty láskavca pôsobili na obsah sušiny v koreňoch a výhonkoch rôzne. Kým vplyvom nižšej koncentrácie extraktu došlo ku štatisticky zvýšenému nárastu obsahu sušiny (o 40,82%) v koreňoch, vyššia koncentrácia nemala vplyv na daný parameter. V prípade výhonku však naopak nárast obsahu sušiny o 48,76 % nastal vplyvom vyššej dávky extraktu (Obr. 1). Vplyvom oboch testovaných koncentrácií extraktu láskavca došlo k zväčšeniu listovej plochy (o 22% a 61%) (Obr. 1). Stimulačný vplyv dvoch druhov láskavca (25% vodný výluh) bol tiež potvrdený pri sledovaní rastu žeruchy siatej /5/. Viaceré štúdie však poukazujú na 40-50% inhibíciu rastu plodín vplyvom láskavca /6-8/. Nižší výnos cukrovej repy o 31 % bol napr. zaznamenaný pri hustote porastu láskavca 1,5 rastliny.m<sup>-2</sup> /9/. Extrakty z láskavca znižujú tiež klíčivosť cukrovej repy až o 53,4 % /10/.

Inhibícia akumulácie chlorofylov vplyvom alelochemikálií môže byť priamo dôsledkom inhibície biosyntézy chlorofylov alebo stimulácie ich degradácie /11/. Znížená fotosyntetická aktivita vplyvom alelochemikálií sa tiež pripisuje zníženému príjmu živín významných z hľadiska fotosyntézy (dusík, voda a CO<sub>2</sub>) /12/.

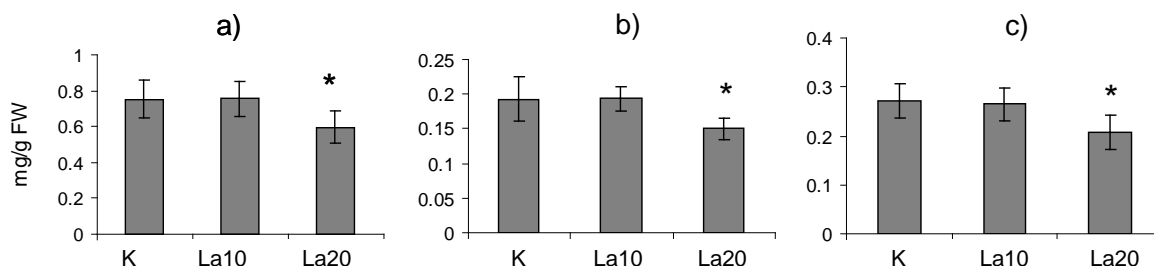
V prípade aplikácie silnejšieho extraktu láskavca (La20) došlo k poklesu obsahu chlorofylu *a* o 20,7 %, chlorofylu *b* o 22,04 % a karotenoidov o 23,69 % (Obr. 2).

Vplyv alelochemikálií na fotosyntetickú aktivitu sa môže meniť v závislosti od koncentrácie extraktu a od druhu rastliny z ktorej bol extrakt získaný. Znížený obsah fotosyntetických pigmentov bol napr. preukázaný v listoch cícera a hrachu vplyvom *Chenopodium murale* /13/, 25% a 50% vodné roztoky tejto buriny však pôsobia stimulačne na fotosyntetickú aktivitu listov jačmeňa /14/. Na druhej strane fotosyntetická aktivita listov jačmeňa je inhibovaná vodnými extraktmi (25 % a 50 %) *Malva parviflora* /14/.





Obr. 1. Vplyv extraktov láskavca na rastové parametre: obsah sušiny koreňov (a), obsah sušiny výhonkov (b) a veľkosť listovej plochy (c). Extrakt burín boli aplikované v dávkach 10 a 20 g/kg pôdy (La10, La20). K – kontrola. \* Štatisticky významné rozdiely pri hladine  $\alpha < 0,05$ .



Obr. 2 Vplyv extraktov láskavca na obsah chlorofylu a (a), chlorofylu b (b) a karotenoidov (c) v listoch repy cukrovej. Extrakt burín boli aplikované v dávkach 10 a 20 g/kg pôdy (La 10, La20). K – kontrola. \* Štatisticky významné rozdiely pri hladine  $\alpha < 0,05$ .

## LITERATÚRA

- /1/ Smatana, J., Macák, M., Demjanová, E.: Regulácia zaburinenosti repy cukrovej v agroklimatických podmienkach juhozápadného Slovenska. Listy cukrov. řepář., 127, 2011, 132-137
- /2/ Rice, E.L.: *Allelopathy*. 2nd Edn. Orlando, Florida, USA: Academic Press. 1984, s. 422
- /3/ Dávid, I., Radócz, L.: Az olasz szertbővis allelopátiajának vizsgálata cukorrépa tesztnövényeken. Agrártudományi Közlemények, 16, 2005, 74-77
- /4/ Lichtenthaler, H. K., Wellburn, A.R.: Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochem Society Transactions 11, 1983, 591–592.
- /5/ Mlakar, S.G., Jakop, M., Bavec, M., Bavec, F.: Allelopathic effects of *Amaranthus retroflexus* and *Amaranthus cruentus* extracts on germination of garden cress. Afr. J. Agric. Res., 7, 2012, 1492-1497
- /6/ Qasem, J.R.: The allelopathic effect of three *Amaranthus* spp. (pigweeds) on wheat (*Triticum durum*). Weed Res., 35, 1994, 41-49
- /7/ Qasem, J.R.: Allelopathic effects of *Amaranthus retroflexus* and *Chenopodium murale* on vegetable crops. Allelopathy Journal, 2, 1995, 49-66
- /8/ Namdari, T., Amini, R., Sanayei, S., Alavi-Kia, S., Mohammadi-Nasab, A.D.: Allelopathic effects of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus* L.) root exudates on common bean seedling growth. Int. Res. J. Appl. Bas. Sci., 3, 2012, 1230-1234.
- /9/ Stabbing, J.A., Wilson, R.G.; Martin, A.R.; Smith, J.A.: Rowspacing, redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) density, and sugar beet (*Beta vulgaris*) cultivar effects on sugar beet development. J. Sugar Beet Res., 37, 2000, s. 11-31
- /10/ Anaya, L., Ramos, L., Cruz, R., Hernández, J.G., Nava, V.: Perspectives on allelopathy in Mexican traditional agroecosystems: A case study in Taxcala. J. Chem. Ecol., 13, 1987, s. 2083-2101.
- /11/ Yang, C.M., Lee, C.N., Chou, C.H.: Effects of three allelopathic phenolics on chlorophyll accumulation of rice (*Oryza sativa*) seedlings: I. Inhibition of supply-orientation. Bot. Bull. Acad. Sin., 43, 2002, 299-304
- /12/ Zhou Y.H., Yu J.Q.: *Allelochemicals and photosynthesis*. In: Reigosa Mj, Pedrol N, González L, editors. Allelopathy: a physiological process with ecological implications. Dordrecht, The Netherlands: Springer Publishers; 2006, 127–139
- /13/ Daizy, R., Harminder, P.S., Nipunika, R., Ravinder, K.K.: Assessment of allelopathic interference of *Chenopodium album* through its leachates, debris extracts rhizosphere and amended soil. Arch. Agron. Soil Sci., 52, 2006, 705-715

/14/ Al-Johani N.S., Aytah, A.A., Boutraa, T.: Allelopathic impact of two weeds, *Chenopodium murale* and *Malva parviflora* on growth and photosynthesis of barley (*Hordeum vulgare*). Pak. J. Bot., 44, 2012, 1865–1872

### **Pod'akovanie**

Práca bola podporená projektom VEGA 1/0061/15 a výskumným zámerom Európskeho spoločenstva v rámci projektu: Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“, projekt číslo 26220220180.

## RŮSTOVÉ A VÝVOJOVÉ PROJEVY POLNÍCH PLODIN V DLOUHODOBÉM MĚŘÍTKU

### ***GROWTH AND DEVELOPMENTAL MANIFESTATIONS OF FIELD CROPS IN THE LONG-RUN***

Eva Stehnová, Adéla Svejková, Hana Středová

Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Ústav aplikované a krajinné ekologie,  
Zemědělská 1/1665, 613 00 Brno

#### ***Summary***

This contribution is dedicated to the phenology of spring barley (*Hordeum vulgare* L.) in long-term observations on phenological station Švábenice. Within the article are compared onset of phenophases (sowing, emergence, heading, harvest) for the periods 1931-1960 and 1961-1990. When comparing these two periods, it can be stated that there is a change in the length of the growing season (GS). GS was extended by nine days in the years 1961-1990. In this period also occurs at the earlier sowing of spring barley. The analysis shows also that the length of intervals between phenophases has been changing. In the period 1961-1990 interval between phenophases of emergence–heading and heading–harvest was prolonged. At the sowing–emergence was found of shortening of the interval. Furthermore, detailed trend analysis of the phenological stages onset for the period 1961-1990 was carry out.

*Key words: spring barley, phenophase, phenological observations*

#### ***Souhrn***

Tento příspěvek se věnuje fenologii ječmene jarního (*Hordeum vulgare* L.) v dlouhodobých pozorováních na fenologické stanici Švábenice. V rámci článku jsou porovnány nástupy fenofází (setí, vzcházení, metání, sklizeň) pro období 1931-1960 a 1961-1990. Při porovnání těchto dvou období je možné konstatovat, že dochází ke změně délky vegetačního období (VO). V letech 1961-1990 došlo k prodloužení VO o 9 dnů. V tomto období dochází i k dřívějšímu výsevu ječmene jarního. Z analýzy také vyplývá, že se mění délka intervalů mezi jednotlivými fenofázemi. V období 1961-1990 došlo k prodloužení intervalu mezi fenofázemi vzcházení–metání a metání–sklizeň. Naopak u setí a vzcházení došlo ke zkrácení intervalu. Dále byla provedena detailní trendová analýza nástupu fenofází pro období 1961-1990.

*Klíčová slova: ječmen jarní, fenofáze, fenologická pozorování*

## **ÚVOD**

Vývoj a růst polních plodin je závislý především na biotických a abiotických faktorech např. voda, sluneční záření, vítr, fytofágové atd. Studium růstových fází a vývojem plodin se zabývá fenologie. /3/ uvádí: „fenologie se zabývá studiem časového průběhu periodicky se opakujících projevů rostlin a živočichů.“ Tyto projevy jsou závislé především na podnebí, počasí a i na půdních poměrech /3/. Data získaná z fenologických pozorování jsou velmi cennými údaji pro posouzení přírodních podmínek /7/. Fenologická pozorování mají v České republice dlouholetou tradici /1/. Od roku 1940 provozuje fenologická pozorování Český hydrometeorologický ústav (ČHMÚ) /6/. V rámci fenologických pozorování dochází k sledování fenologických fází (fenofází). Fenofázi lze definovat, jako dobře rozpoznatelný a každoročně se opakující projev orgánů rostliny např. listů, květů, plodů atd. /5/. Na fenologických stanicích se provádí sledování

nástupu jednotlivých fenofází. Nástup fenofáze je kalendářní den během, kterého došlo k vývinu orgánu do stádia, který je popsán v metodickém předpisu pro danou rostlinu /5/.

## MATERIÁL A METODIKA

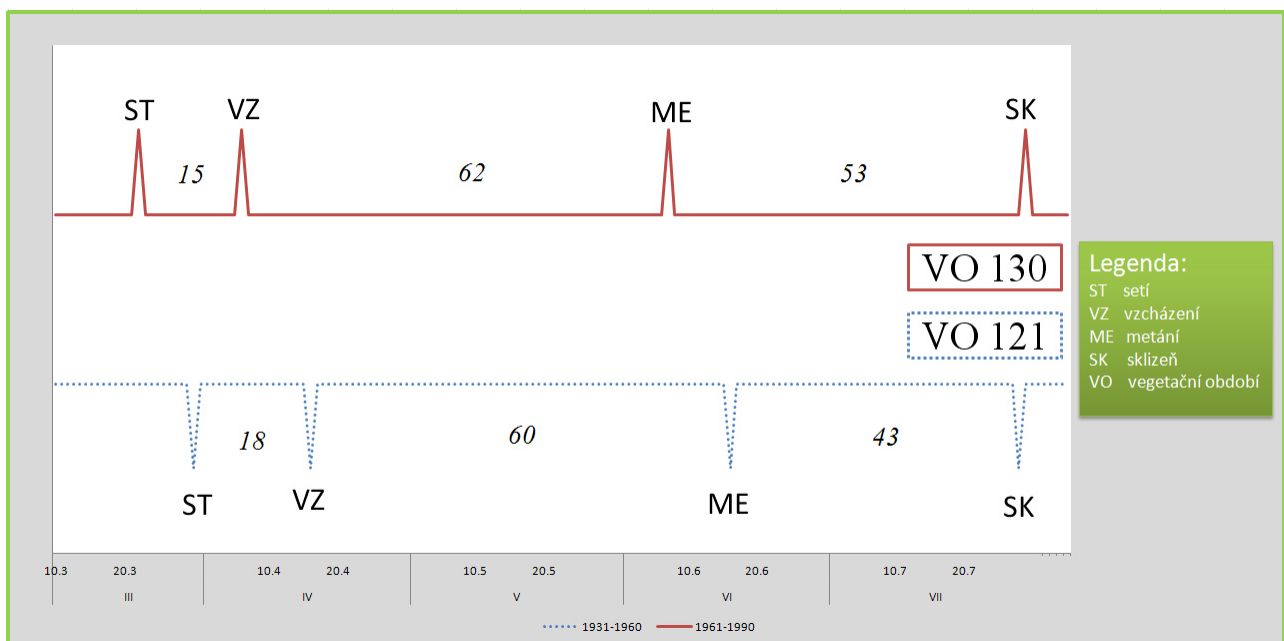
V rámci článku je provedena analýza fenofází ječmene jarního (*Hordeum vulgare* L.) pro dvě třicetiletí a to pro roky 1931-1960 a 1961-1990. Pro období 1931-1960 byly fenologická data získána z Agroklimatických podmínek ČSSR /4/ a pro období 1961-1990 byla získána od Českého hydrometeorologického ústavu. Analýzy vybraných fenofází jsou provedeny pro fenologickou stanici ve Švábenicích. Obec Švábenice se nachází v Jihomoravském kraji a leží v nadmořské výšce 250 m n. m. Průměrná teplota vzduchu je 8,4°C a průměrný úhrn srážek je 514 mm /4/.

V práci jsou analyzovány fenofáze setí (ST), vzcházení (VZ), metání (ME), plná zralost (PL) a sklizeň (SK). Fenofáze **setí** je den, kdy bylo vpraveno osivo dané plodiny na pokusnou plochu. **Vzcházení** nastává tehdy, pokud rostlina na poli začíná řádkovat. **Metání** je závěrečnou etapou při utváření a růstu stébla obilnin. Pro tuto fenofázi je charakteristické, že z pochvy posledního listu vyčnívá právě polovina květenství (klasu, laty). **Plná zralost** ječmene jarního nastává, jestliže jsou všechny listy rostliny již zcela odumřelé, kolénka mají hnědou barvu a jsou svaštělá. **Sklizeň** je termín, kdy bylo na pokusné ploše započato kosení rostlin /8/. Dále byla u vymezených období určena délka vegetačního období (VO). Délka vegetačního období je v rámci této práce chápána jako období od setí do sklizně plodiny.

Dále následuje detailní analýza trendů vybraných fenofází (ST, VZ, ME, PL a SK) pro období 1961-1990.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

1. Analýza vybraných fenofází ječmene jarního (*Hordeum vulgare* L.) pro období 1931-1960 a 1961-1990



Obr. 1 Rozbor průměrných termínů nástupu vybraných fenofází

Z obr. 1 je patrné, že v **období 1931-1960** byl průměrný termín setí ječmene jarního 30. března. Termín vzcházení byl v průměru 16. dubna. Doba mezi setím a vzcházením byla v průměru 18 dnů. Fenofáze metání nastávala v průměru 16. června a sklizeň byla prováděna v průměru 28. července. Interval mezi fenofázemi vzcházení a metání je 60 dnů. Sklizeň byla

v průměru prováděna 53 dnů po fenofázi metání. V letech 1931-1960 byla délka VO v průměru 121 dnů.

V analyzovaném **období 1961-1990** byl průměrný termín setí 22. března. Fenofáze vzcházení byla v průměru identifikována 6. dubna. K metání ječmene jarního docházelo v průměru 7. června. Termín sklizně byl v tomto období v průměru 29. července. Mezi fenofázemi setí a vzcházení byla zjištěna délka meziobdobí v průměru 15 dnů. Interval mezi vzcházením a metáním byl 62 dnů a mezi metáním a sklizní 53 dnů. Délka vegetačního období v období 1961-1990 byla v průměru 130 dnů.

Při porovnání dvou datových řad na obr. 1 vyplývá, že v období 1961-1990 docházelo k dřívějšímu výsevu ječmene jarního a to v průměru o 8 dnů. Tento dřívější výsev může naznačovat dřívější nástup jara. Na toto poukazuje i ve své práci /2/, který uvádí, že může v Evropě dojít k dřívějšímu nástupu jara. Toto může způsobit posun vegetačního období. Dále bylo zjištěno, že dochází ke zkrácení intervalu mezi setím a vzcházením a to o 3 dny. Interval mezi vzcházením a metáním se v porovnání s roky 1931-1960 prodloužil o 2 dny. Mezi fenofázemi metání a sklizeň v letech 1961-1990 bylo zjištěno prodloužení o 10 dnů. Při porovnání délky VO došlo v období 1961-1990 k prodloužení a to o 9 dnů. /2/ dále uvádí, že může dojít k prodloužení VO, což ukazuje i tato analýza.

Díky dřívějšímu výsevu může při vzcházení ječmene jarního docházet k poškození porostu jarními mrazíky. Z analýzy dále vyplývá, že dochází i k prodlužování vegetačního období. Na základě delšího vegetačního období mohou porost zásadně ovlivnit i extrémní projevy počasí např. sucho. Na základě těchto stresových faktorů může dojít ke snížení výnosů, napadení rostlin chorobami, devastace porostu suchem atd. Extrémní projevy počasí jsou pro Českou republiku čím dál častější. Tyto extrémní projevy souvisí se změnou klimatu. Ječmen jarní je citlivý na některé abiotické a biotické stresy. Výše zmíněné stresové faktory se mohou projevit na výnosech, na kvalitě zrna, náchylnosti porostu k patogenům atd. Může dojít k poškození porostu.

## 2. Analýza trendů nástupu fenofází pro ječmen jarní (*Hordeum vulgare* L.) pro období 1961-1990



Obr. 2 Detailní analýza trendů nástupu vybraných fenofází pro období 1961-1990

Dále byla na obr. 2 provedena podrobná analýza vybraných fenofází pro období 1961-1990. Hodnoty korelačních koeficientů (r) pro fenofáze jsou následující: setí -0,361; vzcházení -0,281; metání -0,317; plná zralost 0,046; sklizeň 0,232. Z těchto údajů vyplývá, že statisticky průkazný trend v období 1961-1990 byl identifikován pouze u fenofáze setí.

Z analyzovaných dat je možné vymezit extrémní nástupy vybraných fenofází pro období 1961-1990. V roce 1990 bylo setí prováděno dříve a to 9. února. Nejpozdější termín setí byl 20. dubna v roce 1964. Fenofáze vzcházení nastala z analyzovaných roků nejdříve v roce 1974 a to 9. března. Naopak nejpozdější termín vzcházení byl zjištěn 28. dubna 1964. Brzký nástup metání byl zjištěn v roce 1968 a 1986, kdy tato fenofáze nastala 25. května. Nejčasnější termín plné zralosti ječmene jarního byl dosažen 11. července 1961. Opakem byl rok 1980, kdy došlo k nástupu této fenofáze až 16. srpna. Nejdříve byla sklizeň provedena 14. července a to v roce 1961. Nejpozději byla fenofáze sklizně identifikována 18. srpna 1980.

#### LITERATURA

- /1/ Hájková, L., Kožnarová, V., Možný M.: History and present of phenological observations or phenology at the crossroad. In Mendel and bioklimatology, International conference [CD]. Brno, Česká bioklimatologická společnost, 2014: 108-120.
- /2/ Chmielewski, F.M., Rötzer, T.: Response of tree phenology to climate change across Europe. *Agricultural and Forest Meteorology*, 108, 2001: 101-112.
- /3/ Krška, K.: Fenologie jako nauka, metoda a prostředek. In Fenologická odezva proměnlivosti podnebí, Brno 22.3.2006 [CD]. Praha, Český hydrometeorologický ústav, 2006.
- /4/ Kurpelová, M., Coufal, L., Čulík, J.: Agroklimatické podmienky ČSSR. Bratislava, Hydrometeorologický ústav, 1974: 444.
- /5/ Metodický předpis č. 2 pro činnost fenologických stanic - Polní plodiny. Praha, Český hydrometeorologický ústav, 2009: 84.
- /6/ Nekovář, J., Rožnovský J.: Fenologická služba Českého hydrometeorologického ústavu. In Fenologická odezva proměnlivosti podnebí, Brno 22.3.2006 [CD]. Praha, Český hydrometeorologický ústav, 2006.
- /7/ Tolasz, R.: Atlas podnebí Česka. Praha, Olomouc, Český hydrometeorologický ústav, Univerzita Palackého v Olomouci, 2007: 255.
- /8/ Valter, J.: Metodický předpis č. 2 Návod pro činnost fenologických stanic - Polní plodiny. Praha, Český hydrometeorologický ústav, 1982: 78.

#### Poděkování

Tato práce vznikla za finanční podpory Interní grantové agentury Agronomické fakulty Mendelovy univerzity v Brně IP\_25/2015 „Změny fenologických fází u polních plodin v historickém měřítku a jejich vliv na erozi půdy.“

# VPLYV ŤAŽBY STAVEBNÉHO KAMEŇA NA CHEMIZMUS ASIMILAČNÝCH ORGÁNOV LESNÝCH DREVÍN A ZDRAVOTNÝ STAV LESA

## *IMPACT OF LIMESTONE QUARRYING ON CHEMISTRY OF ASSIMILATORY ORGANS OF FOREST TREE SPECIES AND FOREST HEALTH CONDITION*

Andrea Diviaková<sup>1</sup>, Hana Ollerová<sup>2</sup>, Andrea Zacharová<sup>2</sup>, Andrej Kunca<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Technická univerzita vo Zvolene, FEE, Katedra UNESCO pre ekologické vedomie a TUR, T. G. Masaryka 24, 960 53 Zvolen, diviakova@tuzvo.sk

<sup>2</sup> Technická univerzita vo Zvolene, FEE, Katedra environmentálneho inžinierstva, T. G. Masaryka 24, 960 53 Zvolen, ollerova@tuzvo.sk; andrea.zacharova@tuzvo.sk

<sup>3</sup> Národné lesnícke centrum – Lesnícky výskumný ústav Zvolen, Stredisko lesníckej ochrannárskej služby, Lesnícka 11, 969 23 Banská Štiavnica, kunca@nlcsk.org

### *Summary*

The paper is focused on evaluation of quarrying limestone on forest communities, especially the assessment and comparison of changes in the forest health conditions and the chemistry of assimilation organs of tree species at selected sites, those in the close vicinity of the limestone quarry as well as at sites further from the quarry. Based on the results it can be concluded that the impact of limestone mining activity on forests can not be considered as sufficient to endanger the forest existence or damage them.

*Key words: limestone quarrying, forest health condition, macro elements, assimilation organs*

### *Súhrn*

Cieľom príspevku je posúdiť vplyv ťažby vápenca na lesné spoločenstvá, a to posúdením a porovnaním zmien v zdravotnom stave lesných porastov a v chemizme asimilačných orgánov drevín na vybraných lokalitách v bezprostrednej blízkosti dobývacieho priestoru a na lokalitách vzdialenejších od dobývacieho priestoru. Na základe výsledkov možno konštatovať, že vplyv ťažby vápenca na lesné porasty nemožno považovať za tak významný, aby ohrozoval existenciu lesov, alebo ich značne poškodzoval.

*Kľúčové slová: ťažba vápenca, zdravotný stav lesov, makroelementy, asimilačné orgány*

## **ÚVOD**

Ťažba vápenca v území dobývacieho priestoru Beluša je spôsobom využitia daného priestoru v krajine. Krajina je ovplyvnená touto činnosťou už od roku 1955, kedy začala prevádzka dobývacieho priestoru. Predpokladaná životnosť ložiska je pri ročnom objeme ťažby 400 kt (154 tis.m<sup>3</sup>) cca 34 rokov. Ložisko je otvorené povrchovým lomom Mojtiín. Na ložisku sa nachádzajú vápence s vyšším obsahom CaCO<sub>3</sub> kvalitatívnej triedy II - IV podľa STN 72 1217 /1/ – akosť, čo umožňuje ich použitie aj v chemickom priemysle, v cukrovaroch, pri výrobe širšej škály aditív pre odsírovacie procesy v energetických zariadeniach a pod. Ťažobné práce v lome sú plne mechanizované. Nutné je preto pripomenúť neúnosnú mieru prašnosti pri súčasnom spôsobe využitia krajinného priestoru. To má za následok negatívne vplyvy na zdravotný stav okolitých lesných porastov, rastlinných spoločenstiev a vytlačanie živočíšnych druhov zo zóny nadmernej prašnosti do okolitého prostredia alebo vôbec z územia /2, 3/. Hodnotenie zdravotného stavu okolitých lesných porastov ako aj posúdenie zmien chemizmu v asimilačných orgánoch rastlín patria medzi vhodné metódy stanovenia degradácie lesných ekosystémov v okolí dobývacích priestorov.

Cieľom výskumu bolo hodnotenie zdravotného stavu lesných porastov na vybraných lokalitách a ich porovnanie, posúdenie zmien v chemizme asimilačných orgánoch drevín na vybraných lokalitách a ich porovnanie a vyslovenie prognózy zmien v zdravotnom stave a v chemizme drevín vplyvom zvýšenia ťažby vápenca v DP Beluša.

## MATERIÁL A METÓDA

Terénny prieskum bol realizovaný v júli 2013 a bol vykonaný na troch lokalitách. Prvé dve boli zvolené tak, aby bolo možné porovnať zdravotný stav lesných porastov a posúdiť zmeny v chemizme asimilačných orgánov drevín, a to v lesnom poraste bezprostredne ovplyvneného ťažbou kameňa v DP (lokalita 1) a v lesnom poraste vzdialeného od DP približne 5 km SZ smerom, teda ťažbou kameňa neovplyvneného (lokalita 2 - kontrolná). Boli to lokality s podobnými vlastnosťami, týkajúce sa sklonu svahu, expozície, veku a drevinového zloženia. V daných lesných porastoch boli založené výskumné plochy, cca o veľkosti 50x50 m, na ktorých bol hodnotený zdravotný stav drevín a boli odobraté vzorky asimilačných orgánov drevín určené pre chemické analýzy. Základná charakteristika lokalít výskumu (vybraných lesných dielcov) je uvedená v tab. 1. Pre komplexnejšie posúdenie zmien v chemizme rastlín boli navyše odobraté vzorky z lokality 1 – les – ide o identickú plochu, avšak vzorky boli odobrané z opačného okraja vytýčenej plochy, približne 100 m od odberového miesta lokalita 1, hlbšie v lesnom poraste. Kvôli hodnoteniu vplyvu prašnosti z transportu stavebného kameňa na obydlia v bezprostrednej blízkosti prístupovej cesty k lomu, boli odobraté ešte vzorky aj z lokality 3. Lokalita je umiestnená pozdĺž prístupovej cesty k lomu.

Tab. 1: Základná charakteristika lokalít výskumu – hodnotených lesných porastov v LHC Ilava, Lesný celok Ilava – II

| Loka-<br>lita | Súradnice                         | JPRL  | Vek | Zakmeň. | HSLT | Expozíc. | Sklon<br>% | Nadmor.<br>výška (m) | Stupeň ochr.<br>prírody | DZ<br>(%)                       |  |
|---------------|-----------------------------------|---|-----|---------|------|----------|------------|----------------------|-------------------------|---------------------------------|--|
| 1             | 49°01'05.79''S/<br>18°21'34.98''V | 33  | 65  | 1,00    | 310  | JZ       | 30         | 385                  | 1                       | BK 70<br>DB 10<br>HB 20         |  |
| 2             | 49°01'41.43''S/<br>18°21'14.71''V | 30c   | 75  | 1,00    | 310  | S        | 30         | 379                  | 1                       | BK 70<br>BO 15<br>DB 5<br>HB 10 |  |
| 3             | 49° 1'48.74''S/<br>18°20'59.63''V | len odber vzoriek pre chemické analýzy,<br>lokalita pri cestnej komunikácii |     |         |      |          |            |                      | 305                     | 1                               |  |

### Hodnotenie zdravotného stavu lesov

V rámci vybraných lokalít bolo hodnotených 50 stromov na každej lokalite. Na lokalite 1 bolo hodnotených 36 jedincov buka lesného, po 5 jedincov hrabu obyčajného a duba zimného a 4 jedince javora horského. Na lokalite 2 bolo sledovaných 31 jedincov buka lesného, 10 jedincov hrabu obyčajného, 7 jedincov duba zimného a 2 jedince javora horského.

Na lokalitách bol zmeraný obvod každého kmeňa a 18 parametrov. Zisťované boli informácie o stave asimilačných orgánov (defoliácia, diskolorácia), vetiev, kmeňa, koreňových nábehoch v zmysle práce /4/ .

### Vyhodnotenie získaných údajov o zmenách na asimilačných orgánoch

Každý z hodnotených stromov bude mať stupeň defoliácie a stupeň zmeny sfarbenia. Vyhodnotí sa počet stromov v jednotlivých stupňoch defoliácie a stupňoch sfarbenia asimilačných orgánov.

### Znaky škodlivých činiteľov a príznaky poškodenia stromu

Zhodnotia sa znaky prítomnosti biotických škodlivých činiteľov (najmä hmyz a huby), príznaky poškodenia abiotickými a antropogénnymi škodlivými činiteľmi. Pôjde o kvalitatívne posúdenie ich prítomnosti na každom strome – na asimilačných orgánoch, vetvách,



kmeni a koreňových nábehoch. Význam hmyzu a húb ako škodlivých činiteľov lesných drevín bude posúdený v zmysle lesníckych publikácií /5, 6/.

### Chemické analýzy asimilačných orgánov drevín

Pri odbere rastlinných vzoriek sme vychádzali z normy STN 48 1001 /7/. Vzorky asimilačných orgánov sa odoberali z jedincov rastúcich na okraji porastu. Odobrané asimilačné orgány neboli pred analýzou oplachované, len vysušené pri laboratórnej teplote, zhomogenizované na guľovom mlyne 2 min. pri frekvencii 25 Hz a následne analyzované.

Hodnoty celkového pôdneho dusíka, uhlíka a síry boli stanovené na prístroji NCS Elementary FLASH 1112 (Thermo Finnigen) metódou plynovej chromatografie (GC). Stanovenie makroprvkov (Ca, K, Mg, P) sa uskutočnilo metódou hmotnostnej spektrometrie s indukčne viazanou plazmou (ICP – MS).

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Obidva lesné porasty, v ktorých bol vykonaný terénny prieskum a odber vzoriek predstavujú biotop Bukových a jedľovo-bukových kvetnatých lesov, s výskytom druhov charakteristických aj pre biotop Vápnomilných bukových lesov, klasifikovaných v zmysle práce /8/. Sú to mezotrofné porasty s prevahou buka lesného (*Fagus sylvatica*) a s primiešanými dubom zimným (*Quercus petraea*), hrabom obyčajným (*Carpinus betulus*), javorom horským (*Acer pseudoplatanus*), lipou veľkolistou (*Tilia platyphyllos*), na lokalite 2 aj s borovicou lesnou (*Pinus sylvestris*) a smrekom obyčajným (*Picea abies*). Porasty sú charakteristické vysokým zápojom drevín, na väčšine lokality s chýbajúcim, resp. slabo vyvinutým krovinným poschodím, pri hromadení bukového opadu aj typickou nízkou pokryvnosťou bylinnej vrstvy (do 20 %). Na obidvoch lokalitách bolo zaznamenané vysoké prirodzené zmladenie hlavne buka, ale aj ostatých druhov. V rámci inventarizačného prieskumu bolo zaznamenaných spolu na obidvoch lokalitách 49 druhov vyšších rastlín, z toho 13 druhov v etáži E<sub>3</sub> a E<sub>2</sub>, 36 druhov v etáži E<sub>1</sub>.

### Zdravotný stav lesných porastov

Priemerný obvod kmeňov hodnotených stromov bol 107,5 cm, na lokalite bližšie ku kameňolomu (33) 103,6 cm, na ploche ďalej od kameňolomu (30c) 111,3 cm (tab. 2).

Tab. 2: Obvod kmeňa, defoliácia a diskolorácia

| Lokalita     | Obvod kmeňa |                |     | Defoliácia |                |     | Diskolorácia |                |    |
|--------------|-------------|----------------|-----|------------|----------------|-----|--------------|----------------|----|
|              | x           | s <sub>x</sub> | n   | x          | s <sub>x</sub> | n   | x            | s <sub>x</sub> | n  |
| 1            | 103,6       | 38,0           | 50  | 28,0       | 18,5           | 50  | 6,4          | 9,6            | 21 |
| 2            | 111,3       | 37,5           | 50  | 14,9       | 10,2           | 50  | 11,1         | 4,0            | 14 |
| <b>Spolu</b> | 107,5       | 37,8           | 100 | 21,4       | 16,2           | 100 | 8,3          | 8,1            | 35 |

Pozn. x – priemerná hodnota; s<sub>x</sub> – smerodajná odchýlka; n – počet stromov

Priemerná defoliácia bola 21,4 %, na lokalite bližšie ku kameňolomu to bola vyššia defoliácia ako na lokalite ďalej od kameňolomu. Tento rozdiel bol štatisticky veľmi významný (p<0,01) (tab. 2). Najviac stromov sa vyskytovalo v prvej triede defoliácie, avšak v jednotlivých porastoch to nebolo rovnaké. V poraste pri kameňolome najviac stromov bolo v 3. triede, čo bol najvýraznejší rozdiel medzi oboma lokalitami (tab. 3).

Diskolorácia sa vyskytovala len u 35 stromov. Priemerná diskolorácia bola 8,3 %, vyššia bola u stromov vzdialenejších od súčasného kameňolomu, nižšia u stromov na lokalite pri kameňolome. Tento rozdiel bol štatisticky významný (p<0,05). Výsledok je opačný oproti defoliácii (tab. 2). Najviac stromov sa vyskytovalo v 1. triede diskolorácie, úplné chlorózy koruny sa nevyskytovali (tab. 3). Defoliácia a diskolorácia sú parametre, ktoré do určitej miery spolu

súvisia. Na jednej lokalite prevažovalo poškodenie defoliáciou, na druhej diskoloráciou. Vplyv kameňolomu na tieto parametre nie je teda tak jednoznačný.

Tab. 3: Defoliácia a diskolorácia podľa tried – početnosť stromov

| Triedy       | Percentuálne rozpätie defoliácie a diskolorácie | Defoliácia |        |       | Diskolorácia |        |       |
|--------------|---|------------|--------|-------|--------------|--------|-------|
|              |   | Lok. 1     | Lok. 2 | Spolu | Lok. 1       | Lok. 2 | Spolu |
| 1            | 0 až 10   | 13         | 25     | 38    | 43           | 48     | 91    |
| 2            | 11 až 25  | 14         | 19     | 33    | 5            | 2      | 7     |
| 3            | 26 až 60  | 19         | 6      | 25    | 2            | 0      | 2     |
| 4            | 61 až 99  | 4          | 0      | 4     | 0            | 0      | 0     |
| 5            | 100   | 0          | 0      | 0     | 0            | 0      | 0     |
| <b>Spolu</b> |   | 50         | 50     | 100   | 50           | 50     | 100   |

Tab. 4: Detaily všetkých hodnotených parametrov so štatistickou významnosťou rozdielov

| Parameter  | Lokalita |        | Štatistická významnosť |           |
|--|----------|--------|------------------------|-----------|
|  | 1        | 2      | *p<0,05                | ** p<0,01 |
| Obvod kmeňa [cm]   | 103,60   | 111,30 |                        |           |
| Defoliácia [%]   | 27,96    | 14,90  | **                     |           |
| Diskolorácia [%]   | 6,43     | 11,07  | *                      |           |
| Suché vetvy nad 10 cm [%]                                      | 10,00    | 10,00  |                        |           |
| Suché vetvy do 10 cm [%]                                       | 11,58    | 10,83  |                        |           |
| Suché 1 ročné výhonky [%]                                      | 12,86    | 13,33  |                        |           |
| Kmeň vlastný – mechanické poškodenie [%]                       | 12,50    | 17,50  |                        |           |
| Kmeň do 25 cm – mechanické poškodenie [%]                      | 15,16    | 15,36  |                        |           |
| Listožravce – počet napadnutých stromov [ks]                   | 31,00    | 33,00  |                        |           |
| <i>Cryptococcusfagisuga</i> - počet napadnutých stromov [ks]   | 25,00    | 28,00  |                        |           |
| <i>Ectoedemialiebwerdella</i> - počet napadnutých stromov [ks] | 4        | 5      |                        |           |
| <i>Rhynchaenusfagi</i> - počet napadnutých stromov [ks]        | 1        | 0      |                        |           |
| Mínovače - počet napadnutých stromov [ks]                      | 6        | 1      | *                      |           |
| Obal'ovače - počet napadnutých stromov [ks]                    | 1        | 0      |                        |           |
| <i>Trypodendromesticum</i> - počet napadnutých stromov [ks]    | 2        | 0      |                        |           |
| Múčnatky - počet napadnutých stromov [ks]                      | 1        | 0      |                        |           |
| Nekrózy listov - počet napadnutých stromov [ks]                | 4        | 0      | *                      |           |
| <i>Ascodiachaenarugosa</i> - počet napadnutých stromov [ks]    | 1        | 1      |                        |           |
| Zaprášené listy - počet napadnutých stromov [ks]               | 9        | 0      | **                     |           |

**Poznámka:** Svetlosivou farbou sú vyznačené parametre so štatisticky významným rozdielom v priemerných hodnotách medzi 2 plochami, pričom lepší zdravotný stav je na ploche ďalej od kameňolomu (plocha 30c), tmavosivou farbou je označený parameter s lepším zdravotným stavom pri kameňolome.

Štatisticky významné alebo veľmi významné rozdiely boli zistené okrem defoliácie a diskolorácie aj pri výskyte mínovačov listov, nekróze listov a prítomnosti zaprášenia na listoch (tab. 4). Z 5 parametrov s významnými rozdielmi boli 4 (defoliácia, mínovače, nekrózy listov a zaprášenosť listov) s horším zdravotným stavom na lokalite 1 (vedľa súčasného kameňolomu) a 1 horší v poraste ďalej od súčasného lomu. Výskyt škodlivých činiteľov (mínovače listov,

nekrózy listov) nebol však v takej početnosti, že by bolo možné hodnotiť začiatok kalamity biotických škodcov. Navyše, ochorenie listov u druhov, ktoré zhadzujú každoročne listy, nie je považované za výrazné poškodenie zdravotného stavu stromov. Výskyt zaprášených listov pri kameňolome je pochopiteľný, tieto stromy nemali ďalšie škodlivé činitele.

Očakávané bolo tiež zvýšené mechanické poškodenie kmeňov a koreňových nábehov na ploche pri kameňolome, kde je zvýšený pohyb ťažkých mechanizmov a zosúvanie uvoľnených kameňov rôznej veľkosti. Avšak kvôli spôsobu hospodárenia vo vzdialenejšom poraste, keď pri ťahaní kmeňov zo zapojeného porastu dochádza k poškodeniu kôry zostávajúcich stromov, neboli tieto rozdiely štatisticky významne rozdielne.

### Chemické analýzy asimilačných orgánov drevín

Tab. 5: Obsah makroprvkov (%) v asimilačných orgánoch buka lesného a hrabu obyčajného v DP Beluša

| Lokalita                 | Drevina                    | N    | C    | Ca   | K     | Mg    | P     | S     | sušina |
|--------------------------|----------------------------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|--------|
|                          |                            | %    | %    | %    | %     | %     | %     | %     | %      |
| Lokalita 1               | buk – asimilačné orgány    | 1,97 | 46,9 | 1,62 | 0,598 | 0,189 | 0,132 | 0,176 | 91,58  |
|                          | hrab – asimilačné orgány   | 2,67 | 46,6 | 2,75 | 0,661 | 0,243 | 0,143 | 0,254 | 92,16  |
| Lokalita 1 - les         | buk - asimilačné orgány    | 2,22 | 48,8 | 1,42 | 0,870 | 0,236 | 0,137 | 0,202 | 91,8   |
| Lokalita 2 - kontrolná   | buk – asimilačné orgány    | 2,15 | 49,1 | 1,19 | 0,882 | 0,142 | 0,112 | 0,198 | 92,09  |
|                          | hrab – asimilačné orgány   | 2,56 | 52,5 | 1,44 | 0,659 | 0,224 | 0,151 | 0,223 | 91,45  |
| Lokalita 3 - okraj cesty | hrab – asimilačné orgány   | 2,13 | 47,2 | 1,57 | 0,884 | 0,228 | 0,157 | 0,201 | 91,28  |
| Bublinec /10/            | buk – asimilačné orgány *  | 2,57 | 49,4 | 0,95 | 1,04  | 0,18  | 0,16  | 0,10  |        |
|                          | hrab – asimilačné orgány * | -    | -    | 1,63 | 1,01  | 0,31  | 0,30  | 0,13  |        |
| Maňkovská /9/            | buk – asimilačné orgány ** | 1,98 | -    | 1,35 | 0,95  | 0,19  | -     | 0,22  |        |

\* podľa Bublinec /10/

\*\* podľa Maňkovská /9/

Na základe nameraných výsledkov z chemických analýz môžeme konštatovať, že hodnoty prvkov na lokalitách 1 a 2 sú vyššie u hrabu obyčajného ako u buku lesného okrem draslíka na lokalite 2 (tab. 5). Hodnoty Ca (1,62 %), Mg (0,189 % - lokalita 1, 0,236 % - lokalita 1 - les) a P (0,132 % - lokalita 1, 0,137 % - lokalita 1 - les) v listoch buka sú na lokalite 1 vyššie ako na kontrolnej lokalite, čo súvisí s chemickým zložením ťaženej suroviny a zvýšenou prašnosťou pri ťažbe. Hodnoty N, C, K a S sú v listoch buka naopak vyššie na kontrolnej lokalite. V listoch hrabu sú hodnoty C a P vyššie na kontrolnej lokalite v porovnaní s lokalitou ovplyvnenou činnosťou lomu. Hodnoty N, Ca, K, Mg, S sú na lokalite 1 vyššie oproti kontrole. Vyššie hodnoty Ca a K v asimilačných orgánoch hrabu z lokality 3 súvisia so zvyšovaním prašnosti pri transporte stavebného kameňa.

Pri porovnávaní nameraných koncentrácií N a C s hodnotami v zmysle práce /10/ možno konštatovať, že rozdiely v listoch buka sú nepatrné a teda nevýznamné. Zistené koncentrácie na skúmaných lokalitách sú nižšie ako udáva práca /10/, naopak hodnoty vápnika sú v analyzovaných vzorkách vyššie. Množstvo vápnika v asimilačných orgánoch klesá v poradí lokalita 1 > lokalita 1-les > lokalita 2. Hodnoty draslíka sú nižšie v porovnaní s prácou /10/ a stúpajú v poradí lokalita 1 < lokalita 1 - les < lokalita 2. To platí aj pre P. Hodnoty horčíka sa na sledovaných lokalitách pohybujú okolo hodnoty udávanej v zmysle publikácie /10/. Hodnoty síry sú vyššie ako udáva práca /10/.

Práca /11/ udáva nasledovné hodnoty ako optimálne pre sledované prvky v asimilačných orgánoch buka: N: 1,9 – 2,6 %, Ca: 0,5 – 1,5 %, Mg: 0,1 – 0,3 %, K: 1,0 – 1,5 %, P: 0,15 – 0,3 %, S: 0,09 – 0,2 %. Namerané koncentrácie prvkov na sledovaných lokalitách v listoch buka spadajú do intervalov vymedzených v zmysle /11/, okrem P a K. Koncentrácie týchto dvoch prvkov sú trochu nižšie. Množstvo vápnika v asimilačných orgánoch buka je 0,12 % (lokalita 1) nad uvedeným rozsahom, čo možno považovať za dôsledok zvýšenej prašnosti. Takéto zvýšenie však nepredstavuje zvýšené riziko, môže mať však antagonistický vplyv na príjem a metabolizmus niektorých stopových prvkov. Tak isto aj v zmysle práce /9/ sme nezaznamenali pri porovnávaní výraznejšie odchýlky v koncentráciách sledovaných prvkov.

V listoch hrabu sú koncentrácie K, Mg a P nižšie ako udáva práca /12/, naopak koncentrácia síry je vyššia. Obsah vápnika je na lokalite 1 vyšší a na lokalite 2 a 3 zase nižší v porovnaní s Bublincom /12/.

Záverom možno konštatovať, že na základe štatistického vyhodnotenia 18 parametrov týkajúcich sa zdravotného stavu lesov a zhodnotenia významu týchto rozdielov na dvoch skúmaných lokalitách, nemožno považovať vplyv činnosti dobývacieho priestoru Beluša na zdravotný stav okolitých porastov za tak významný, aby ohrozoval existenciu týchto lesných porastov, alebo ich značne poškodzoval a ohrozoval tak ich zdravotný stav.

Zistené koncentrácie prvkov v asimilačných orgánoch drevín na troch výskumných plochách zodpovedajú priemerným hodnotám udávaných v zmysle /10/ a /9/ z územia Slovenska a výraznejšie sa od nich neodlišujú. Preto možno konštatovať, že dobývanie stavebného kameňa v lome Beluša nemá významný vplyv na chemizmus asimilačných orgánov.

## LITERATÚRA

- /1/ STN 721217. Vápenec, dolomit.
- /2/ Venglovský J., Hesek M., 2013: Rozptylová a hluková štúdia k zámeru „Rozšírenie ťažby stavebného kameňa v dobývacom priestore Beluša“
- /3/ Zámer „Rozšírenie ťažby stavebného kameňa v dobývacom priestore Beluša“
- /4/ Kunca, A. (ed), 2012: Výskyt škodlivých činiteľov v lesoch Slovenska za rok 2011 a ich prognóza na rok 2012. Národné lesnícke centrum - Lesnícky výskumný ústav Zvolen, Zvolen, 134 pp. ISBN 978-80-8093-165-0
- /5/ Zúbrik, M., Kunca, A., Csóka, G., (eds), 2013: Insects and diseases damaging trees and shrubs of Europe. N.A.P. Editions, 535 pp. ISBN 978-2-913688-18-6
- /6/ Zúbrik, M., Kunca, A., Novotný, J., 2008: Hmyz a huby: atlas poškodení lesných drevín. Národné lesnícke centrum – Lesnícky výskumný ústav Zvolen, Zvolen, 178 pp.
- /7/ STN 48 1001. Odber vzoriek asimilačných orgánov na zisťovanie zdravotného stavu lesa.
- /8/ Stanová, V., Valachovič, M. (eds.) 2002: Katalóg biotopov Slovenska. Daphne – Inštitút aplikovanej ekológie, Bratislava, 225 pp.
- /9/ Maňkovská, B., 1996. *Geochemical Atlas of Slovakia – forest biomass*. Bratislava: Geologická služba Slovenskej republiky. 87 s. ISBN 80-85314-517-7.
- /10/ Bublinec, E., 1994. Koncentrácia, akumulácia a kolobeh prvkov v bukovom a smrekovom ekosystéme. In *Acta Dendrologica*. Zvolen, 132 s. ISBN 80-224-0127-7.
- /11/ Bublinec, E., 1991. Ekoedafické kritériá pre tvorbu zelene. In Supuka, J., Benčať, f., Bublinec, E., Gáper, J., Hrubík, P., Juhásová, G., Maglocký, Š., Vreštiak, P.: *Ekologické princípy tvorby a ochrany zelene*. Bratislava: Veda – vydavateľstvo SAV, s. 51 -57. ISBN 80-224-0128-5.
- /12/ Bublinec, E., 1992. The content of biogenic elements in forest tree species. In *Lesn. Čas. - Forestry Journal* 38, č. 4, s. 365 - 375.

## Pod'akovanie

Príspevok bol podporený vedeckou grantovou agentúrou VEGA, projekt č. 1/0096/16.

## Sponzoři



Dodavatel přístrojů pro pedologii, hydrogeologii,  
meteorologii, výzkum rostlin a diagnostiku  
životního prostředí



**Dodáváme přístroje a certifikovaný spotřební materiál  
od světově uznávaných výrobců pro:**

- odběr porušených i neporušených vzorků půd
- odběr povrchových i podzemních vod
- odběr půdní vlhkosti a půdního vzduchu
- odběr sedimentů
- odběr odpadů a zvrstvených tekutin v nádržích a sudech
- odběr stavebních materiálů
- odběr tekutých, pastovitých a pevných odpadů
- měření vlhkosti půdy a sacího tlaku
- měření infiltrace a hydraulické vodivosti půdy
- měření teplot vzduchu, půdy a vody
- stanovení retenčních čar (pF křivek)
- stanovení čar zrnitosti
- stanovení vzdušné propustnosti půdy
- měření objemu (např. zm)
- instalaci monitorovacích vrtů
- výstroj monitorovacích vrtů (filtry, závitové pažnice PE, bentonit, hadice)
- měření hladin vody a průtoků
- měření pH, EC, T, rozpuštěného kyslíku a redox potenciálu
- sledování meteorologických jevů (meteostanice, čidla, datalogery)
- dálkový přenos dat
- výzkum rostlin (CO<sub>2</sub>, fotosyntéza, listová plocha atd.)

**dále dodáváme:**

- půdní penetrometry
- čerpadla pro odběr vzorků vody

**Ekotechnika spol. s r.o.**

Mokropeská 1832, 252 28 Černošice u Prahy, tel.: +420 251 640 511, fax: +420 251 640 512  
E-mail: info@ekotechnika.cz, www.ekotechnika.cz

Zástoupení pro SR

Ing. Viliam Bárek, CSc, tel.: +421 904 547 290, e-mail: vbarek@ekotechnika.cz

Název: Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2016

Editor: František Hnilička

Vydavatel: Česká zemědělská univerzita v Praze

Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied

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

Mgr. Jana Šlégrová

Tisk: Power Print

Náklad: 120 ks

Počet stran: 230

Vydání: první

Rok vydání: 2016

ISBN: 978-80-813-2681-1 (Česká zemědělská univerzita v Praze)

ISBN: 978-80-89408-25-2 (Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied)

Texty příspěvků neprošly jazykovou úpravou