

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

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

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



Česká zemědělská
univerzita v Praze

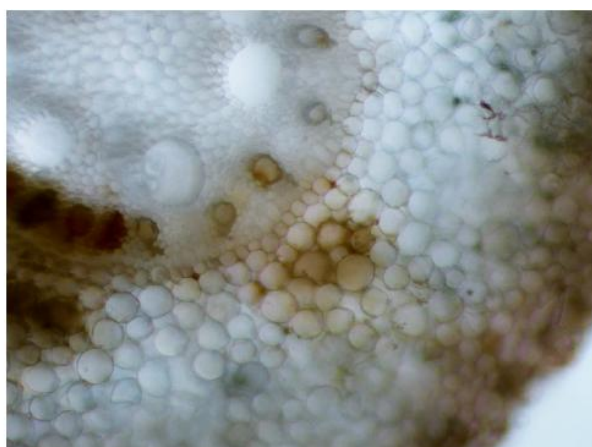
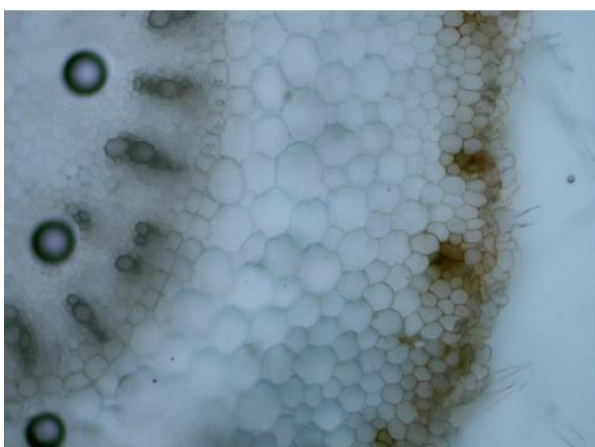


VLIV ABIOTICKÝCH A BIOTICKÝCH STRESORŮ NA VLASTNOSTI ROSTLIN 2026

(Sborník recenzovaných vědeckých prací)

**INFLUENCE OF ABIOTIC AND BIOTIC STRESSES
ON PROPERTIES OF PLANTS 2026**

(Proceedings of scientific articles)



**Česká zemědělská univerzita v Praze
Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied, v. v. i.**

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

Pořadatelé:

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů ČZU v Praze
Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied, v. v. i.

**VLIV ABIOTICKÝCH A BIOTICKÝCH
STRESORŮ NA VLASTNOSTI ROSTLIN 2026**
(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:

Faculty of Agrobiological Sciences, Food and Natural Resources
Institute of Forest Ecology SAS

**INFLUENCE OF ABIOTIC AND BIOTIC
STRESSES ON PROPERTIES OF PLANTS 2026**

(Proceedings of scientific articles)

This publication has not undergone language editing

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

Jazyková korektura: Texty příspěvků neprošly jazykovou úpravou

Foto na titulní straně: Vliv kontaminace APAP na anatomii kořenů kukuřice seté,
foto: Jana Česká

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

Odborní recenzenti: Mgr. Jana Šlégrová

Organizační výbor konference:

Ing. Margita Kuklová, CSc. (ÚEL)
Ing. Hana Húdoková, PhD. (ÚEL)
prof. Ing. František Hnilička, Ph.D. (ČZU v Praze)
Ing. Helena Hniličková, Ph.D. (ČZU v Praze)

© Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied, v. v. i., 2026

ISBN: 978 – 80 – 89408 – 41 – 2

EAN: 9788089408412

OBSAH

	Úvodní slovo	1
J. Ševčíková, F. Grešnerová, J. Tomaškin	Vplyv kompostov na obsah chlorofylu a tvorbu biomasy rajčiaka jedlého (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	3
M. Murgašová, J. Ševčíková, V. Krempaská, M. Vesteg	Porovnanie mikroorganizmov izolovaných z rizosféry rajčiaka jedlého (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) v závislosti od typu kompostu a rastovej fázy	14
R. Podlipná, Š. Petrová, P. Soudek	Alternativní způsoby pěstování rostlin v podmínkách měnícího se klimatu	20
A. Stachurska-Swakoń, J. Mitka, S. Gawroński, B. Barabasz-Krasny, A. Bojarczuk, Ł. Jelonekiewicz, R. Konieczny, K. Kustra, M. Libik-Konieczny, P. Osyczka, A. Rajwa-Kuligiewicz, M. Stolarczyk, M. Żelazny	Selected physiological parameters of <i>Thymus serpyllum</i> under the influence of different substrate types in the experimental system	27
K. Holeková, E. Labancová, M. Bajus, D. Kučerová, Z. Vivodová	The root cell wall modification of drought - stressed maize by plant growth-promoting yeast	29
D. Sáková, E. Labancová, M. Bajus, Z. Vivodová, D. Kučerová, K. Holeková, M. Ševcov, R. Vadkertiová, K. Kollárová	The effect of yeasts on growth of common wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) plants during drought stress	35
K. Vašková, J. Kochjarová	Dynamika rastlinných spoločenstiev Národnej prírodnej rezervácie Hranovnická dubina v kontexte zmien manažmentu a klimatickej zmeny	42
F. Hnilička, R. Sotolar, O. Sotolarová, T. Rýgl	Fyziologická odezva vybraných odrůd révy vinné na vodní	48
D. Motičáková, P. Mészáros, R. Beláček	Medziodrodová variabilita pšenice tvrdej (<i>Triticum durum</i> L.) v odpovedi na abiotický stres vyvolaný nadbytkom zinku	52
M. Padyšáková, M. Bajus, Z. Vivodová	Fyziologická odpoveď dvoch kultivarov petržlenu (<i>Petroselinum crispum</i> Mill.) na zasolenie	57
A. Kucab, M. T. To, J. Oliwa, A. Sołtys-Lelek, I. Turisová, B. Barabasz-Krasny	Investigation of allelopathic properties of <i>Puschkinia scilloides</i> Adams	62
Z. Hussain, M. Súhrada, Y. Omelchenko, J. Kováč, M. Vaculík	Interspecific and intraspecific variability of willows in response to a heavy metal mixture	68
M. Ghulam, B. Šerá, R. Mehrabifard, M. Molnárová, Z. Machala	Effect of plasma-activated water on growth of bush and climbing common bean varieties	75
M. Molnárová, M. Ghulam, R. Mehrabifard, P. Doshi, Z. Machala, B. Šerá	Influence of plasma-activated water on photosynthetic pigments, proteins, and thiol metabolism in beans	79

Z. Kovalíková, M. Komárková	Sodium benzoate mitigates cadmium-induced disruption of cortical microtubules in oilseed rape roots	84
L. Korčoková, J. Luptáková, E. Takáčová, V. Mačejovský, I. Horvát, M. Belko, H. Hybská	Zhodnotenie bezpečnosti použitia dreveného popola pri príprave substrátov z hľadiska obsahu ťažkých kovov a požiadaviek legislatívy Slovenskej republiky	90
J. Převlocký, Z. Kovalíková	<i>Methylobacterium symbioticum</i> jako náhrada minerálních hnojiv?	96
P. Soudek, Š. Petrová, P. Landa, D. Haisel, L. Langhansová, R. Podlipná, K. Mořková	Mechanismy příjmu aktinoidů rostlinami a jejich význam pro sanaci kontaminovaných stanovišť	102
P. Ferus, K. Trush, J. Konôpková, D. Galová, N. Klištincová, D. Pangallo	Screening of changes in the soil environment caused by invasive black locust (<i>Robinia pseudoacacia</i> L.)	105
F. Hnilička, L. Bláha, T. Rýgl	Reakce kořenového systému na abiotický stres: Od percepce stresu k adaptivní představě kořenové architektury	110
M. Libik-Konieczny, P. Supel, W. Dominik, K. Zieliński, M. Pilarska, E. Niewiadomska, M. Tuleja, M. Bibro, N. Hordyńska-Tomsia, Z. Mazur, A. Gerszberg, K. Hnatuszko-Konka, J. Kurczab, P. Waligórski, P. A. Rodziewicz	Deciphering the hidden potential of <i>Cannabis sativa</i> L. roots	117
H. Žarnovičan, J. Bokešová, M. Ghulam, B. Šerá	Prehľad metód používaných na prelomenie dormancie driená obyčajného (<i>Cornus mas</i> L.)	120
M. Ševcov, D. Kučerová	Microplastics as contaminants of plants	124
M. Súhrada, S.-L. Wang, M. Vaculík	Fyziologická odozva skorocelu kopijovitého na pôdne aditíva v metalurgickom odpadovom substrate	129
T. Rýgl, F. Hnilička	Biochemické reakce genotypů jabloní na opakované cykly sucha a rehydratace	135
F. Hnilička, P. Bahník, T. Rýgl	Vliv vodního deficitu a zasolení na fyziologicko-biochemické charakteristiky řepy cukrové	142
E. Labancová, Á. Feledi, Z. Vivodová, M. Bajus, R. Vadkertiová	The changes in plant growth-promoting properties and growth of the yeast <i>Papiliotrena terrestris</i> under various pH conditions	148
J. Lang	Laboratorní klíčivost slézu pižmového (<i>Malva moschata</i>) na základě termínu a technologie sklizně – pilotní studie	154
M. Kuklová, J. Kukla, K. Sládek, I. Mihál	Spalné teplo asimilačných orgánov rastlín vystavených Mg emisiám	159
R. Kuna, M. Melich, D. Frey, P. Boleček	Koreňový systém mladých rastlín slnečnice v odpovedi na kadmiovú záťaž v hydroponických podmienkach	164
B. Šerá, J. Skopal, J. Wagner, M. Šerý, M. Ghulam	Príspevek ke zvýšení energie klíčení laserovým ošetřením semen u cukrové řepy	171
T. Havel	Nabídka firmy Ekotechnika	176

<i>M. Barna, K. Sládeková</i>	Folia Oecologica		178
<i>E. Kárská, F. Hnilička</i>	Vědecké časopisy ČAZV		179

JMENNÝ REJSTŘÍK**B**

Barna		178
Bahník		142
Bajus		29, 35, 57, 148
Barabasz-Krasny		27, 62
Beláček		52
Belko		90
Bibro		117
Bláha		110
Bojarczuk		27
Bokešová		120
Boleček		164

D

Dominik		117
Doshi		79

F

Feledi		148
Ferus		105
Frey		164

G

Galová		105
Gawroński		37
Gerszberg		117
Ghulam		75, 79, 120, 171
Greschnerová		3

H

Haisel		102
Havel		176
Hnatuszko-Konka		117
Hnilička		48, 110, 135, 142, 179
Holeková		29, 35
Hordyńska-Tomsia		117
Horvát		90
Hussain		68
Hybská		90

J

Jelonkiewicz		27
--------------	-------	----

K

Kárská		179
Klišťincová		105
Kochjarová		42
Kollárová		35
Komárková		84
Konieczny		27
Konôpková		105
Korčoková		90
Kováč		68
Kovalíková		84, 90
Krempaská		14
Kucab		62
Kučerová		29, 35, 124
Kukla		159
Kuklová		159
Kuna		164
Kurczab		117
Kustra		27

L

Labancová		29, 35, 148
Landa		102
Lang		154
Langhansová		102
Libik-Konieczny		27, 117
Luptáková		90

M

Mačejovský		90
Machala		75, 79
Mazur		117
Mehrabifard		75, 79
Melich		164
Mészáros		52
Mihál		159
Mitka		27
Molnárová		75, 79
Motičáková		52

M

Motřková		102
Murgašová		14

N

Niewiadomska		117
--------------	-------	-----

O

Oliwa		62
Omelchenko		68
Osyczka		27

P

Padyšáková		57
Pangallo		105
Petrová		20, 102
Pilarska		117
Podlipná		20, 102
Převlocký		96

R

Rajwa-Kuligiewicz		27
Rodziwicz		117
Rýgl		48, 110, 135, 145

S

Sáková		35
Skopal		171
Sládeková		159, 178
Sołtys-Lelek		62
Sotolar		48
Sotolarová		48
Soudek		20, 102
Stachurska-Swakoń		27
Stolarczyk		27
Súhrada		68, 129
Supel		117

Š

Šerá		75, 79, 120, 171
Šerý		171
Ševcov		35, 124
Ševčíková		3, 14

T

Takáčová		62
To		3
Tomaškin		105
Trush		117
Tuleja		62

V

Vaculík		68, 129
Vadkertiová		35, 148
Vašková		42
Vesteg		14
Vivodová		29, 35, 57, 148

W

Wagner		171
Waligórski		117
Wang		129

Z

Zieliński		117
-----------	-------	-----

Ž

Žarnovičan		120
Želazny		27

ÚVODNÍ SLOVO

Vážení účastníci konference, milé kolegyně, milí kolegové,

setkáváme se již na 24. ročníku konference Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin. Dvacet čtyři ročníků představuje dostatečně dlouhou dobu na to, abychom mohli hovořit o tradici. Zároveň je však každý další ročník příležitostí podívat se na problematiku stresové fyziologie rostlin z trochu jiného úhlu. Velmi nás těší, že zájem o konferenci přetrvává a že se zde pravidelně setkávají nejen dlouholetí účastníci, ale také studenti, doktorandi a začínající vědečtí pracovníci.

V letošním roce jsme se rozhodli věnovat zvýšenou pozornost kořenovému systému rostlin a jeho úloze v reakci na abiotické a biotické stresory. Kořeny zůstávají našemu pohledu většinou skryté, jejich význam pro život rostliny je však zásadní. Právě kořenový systém je místem bezprostředního kontaktu rostliny s půdním prostředím, zajišťuje příjem vody a minerálních látek a současně představuje jeden z prvních senzorů změn vnějších podmínek.

Vodní deficit, vysoké či nízké teploty, zasolení, nedostatek nebo nadbytek živin, rizikové prvky, zhutnění půdy či nedostatek kyslíku vyvolávají změny nejen v růstu a architektuře kořenového systému, ale také v jeho anatomii, metabolismu a fyziologické aktivitě. Odezva kořenů se následně promítá do fungování celé rostliny. Změny kořenového systému proto nemůžeme posuzovat izolovaně od procesů probíhajících v nadzemních orgánech.

Stále více si také uvědomujeme, že kořen není v půdě osamoceným orgánem. Rhizosféra představuje mimořádně dynamické prostředí, v němž probíhají složité interakce mezi rostlinou, půdou a mikroorganismy. Mykorrhizní houby, bakterie podporující růst rostlin a další složky půdního mikrobiomu mohou významně ovlivňovat dostupnost živin a vody i schopnost rostlin vyrovnat se s nepříznivými podmínkami. Studium stresové odpovědi rostlin se proto stále více posouvá od hodnocení jednotlivých znaků k pochopení celého systému půda–kořen–mikroorganismy–rostlina.

Význam těchto otázek narůstá také v souvislosti se změnou klimatu. Delší období sucha a jejich střídání s intenzivními srážkami, vysoké teploty a další extrémní projevy počasí vytvářejí podmínky, na které musí rostliny reagovat velmi dynamicky. Nejde přitom pouze o to, jak rostlina stresové období přežije. Neméně důležitá je její schopnost regenerace po odeznění stresu a obnovení růstu, příjmu vody a živin, fotosyntetické aktivity a produkce biomasy. Právě schopnost zotavení může být jedním z významných znaků využitelných při hodnocení a výběru tolerantních genotypů.

Letošní zaměření na kořenový systém však neznamená, že bychom chtěli opustit tradiční šíři naší konference. Tak jako v předchozích letech budou prezentovány výsledky věnované různým abiotickým i biotickým stresorům, jejich vzájemným interakcím a možnostem zmírnění jejich negativních účinků. Prostor bude věnován rovněž novým metodickým přístupům. Moderní zobrazovací, analytické a molekulárně-biologické metody nám umožňují sledovat procesy, které byly ještě před několika lety obtížně zachytitelné. Současně však neztrácejí význam ani klasické fyziologické a biochemické metody. Teprve jejich vhodné propojení nám umožňuje získat komplexnější obraz o skutečné reakci rostliny na prostředí.

Jedním z dlouhodobých cílů konference je také vytvářet prostor pro setkávání různých generací vědeckých pracovníků a propojování pracovišť i odborných disciplín. Jsme proto velmi rádi, že se konference účastní studenti a mladí vědečtí pracovníci. Právě osobní diskuse nad výsledky, někdy i nad výsledky neočekávanými, může být počátkem nové spolupráce, experimentu nebo společného projektu.

Věříme, že také 24. ročník konference přinese nové poznatky, inspirativní diskuse a příležitosti ke spolupráci. A přestože se budeme zabývat stresem téměř ze všech možných pohledů, přejeme všem účastníkům, aby samotná konference proběhla v tradičně přátelské, podnětné a pokud možno nestresující

atmosféře.

Těšíme se na společná setkání, diskuse a nové podněty a přejeme všem účastníkům příjemný a inspirativní průběh konference.

Organizační výbor konference

VPLYV KOMPOSTOV NA OBSAH CHLOROFYLU A TVORBU BIOMASY RAJČIAKA JEDLÉHO (*SOLANUM LYCOPERSICUM* L.)

EFFECTS OF DIFFERENT COMPOSTS ON CHLOROPHYLL CONTENT AND BIOMASS PRODUCTION IN TOMATO (*SOLANUM LYCOPERSICUM* L.)

Janka Ševčíková¹, Frederika Greschnerová², Ján Tomaškin²

¹Univerzita Mateja Bela v Banskej Bystrici, Fakulta prírodných vied, Katedra techniky a technológií, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica,
janka.sevcikova@umb.sk

²Univerzita Mateja Bela v Banskej Bystrici, Fakulta prírodných vied, Katedra biológie a environmentálnych štúdií, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica,
jan.tomaskin@umb.sk

Summary

The aim of this study was to evaluate the effects of two types of compost (Bokashi – BK and home compost – DK) and a control treatment (KV) on the physiological status and production parameters of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in a pot experiment. Chlorophyll content (CCI), aboveground biomass weight, root system weight, and the root:shoot ratio (R:S) were evaluated. The results were statistically analysed using multifactor analysis of variance (ANOVA) followed by the LSD test. Statistical analysis revealed no significant differences in mean chlorophyll content (CCI) among the experimental treatments. The highest mean aboveground biomass weight was recorded in the BK treatment (72.69 g/plant), followed by KV, whereas the lowest value was observed in DK. The BK treatment also achieved the highest root system weight (4.12 g/plant), R:S ratio (0.057). The results indicate a beneficial effect of Bokashi compost on the growth, physiological status, and production potential of tomato plants.

Key words: tomato, Solanum lycopersicum L. compost, chlorophyll, root:shoot ratio (R:S)

Súhrn

Cieľom práce bolo zhodnotiť vplyv dvoch typov kompostov (Bokashi – BK a domáci kompost – DK) a kontrolného variantu (KV) na fyziologický stav a produkčné parametre rajčiaka jedlého (*Solanum lycopersicum* L.) vo vegetačnom črepníkovom pokuse. Hodnotený bol obsah chlorofylu (CCI), hmotnosť nadzemnej biomasy, hmotnosť koreňového systému a pomer R:S. Výsledky boli štatisticky vyhodnotené multifaktorovou analýzou variancie (ANOVA) s použitím LSD testu. Priemerný obsah chlorofylu (CCI) sa medzi jednotlivými variantmi štatisticky významne nelíšil. Najvyššia priemerná hmotnosť nadzemnej biomasy bola zaznamenaná pri variante s BK (72,69 g/rastlina), nasledovaná KV, zatiaľ čo najnižšia hodnota bola zistená pri DK. Variant BK dosiahol aj najvyššiu hmotnosť koreňového systému (4,12 g/rastlina), pomer R:S (0,057). Výsledky naznačujú priaznivý vplyv Bokashi kompostu na rast, fyziologický stav a produkčný potenciál rajčiaka jedlého.

Kľúčové slová: rajčiak jedlý, Solanum lycopersicum L. kompost, chlorofyl, pomer

R:S

ÚVOD

Rastúca produkcia odpadu predstavuje jeden z kľúčových environmentálnych problémov súčasnosti.

Tradičný lineárny model hospodárstva založený na princípe „vyrobiť – použiť – vyhodit“ vedie k nadmernému zaťaženiu prírodných zdrojov a k zvyšovaniu objemu odpadu ukladaného na skládky. V reakcii na tieto výzvy sa do popredia dostáva koncept obehového hospodárstva, ktorého cieľom je minimalizácia vzniku odpadu a jeho opätovné využitie v materiálových cykloch /1/.

Významnou zložkou komunálneho odpadu je biologicky rozložiteľný odpad (BRO), ktorý možno definovať ako materiál schopný rozkladu pôsobením mikroorganizmov /2/. Patrí sem najmä kuchynský a záhradný odpad a jeho skládokovanie predstavuje environmentálne riziko z dôvodu vzniku metánu – významný skleníkový plyn /3/. Naopak BRO predstavuje cenný zdroj surovín na výrobu kompostu a preto legislatíva Európskej únie aj Slovenskej republiky podporuje oddelený zber a biologické spracovanie biologicky rozložiteľného odpadu /4, 5/.

Kompostovanie patrí medzi najefektívnejšie metódy zhodnocovania biologicky rozložiteľného odpadu (BRO). Ide o biogénny proces, pri ktorom dochádza k premene organických materiálov na stabilizovaný humusovitý produkt – kompost /6, 7/. Proces prebieha za účasti mikroorganizmov, ktoré rozkladajú organickú hmotu za súčasného uvoľňovania tepla, oxidu uhličitého a vody. Výsledným produktom je kompost [8], ktorý predstavuje významný zdroj organickej hmoty a rastlinných živín. Jeho aplikácia do pôdy prispieva k zlepšeniu fyzikálnych, chemických aj biologických vlastností pôdného prostredia, čím podporuje úrodnosť pôdy a jej dlhodobú kvalitu. /9, 10/.

V praxi sa využívajú rôzne metódy kompostovania. Okrem tradičného aeróbného kompostovania sa uplatňujú aj alternatívne biologické postupy, ako je vermikompostovanie, založené na aktivite dážďoviek /11/, alebo technológia Bokashi, využívajúca anaeróbnu fermentáciu organického materiálu pomocou efektívnych mikroorganizmov. Výhodou tejto technológie je možnosť spracovania nielen rastlinných zvyškov, ale aj živočíšnych odpadov, tepelne upravených potravín a mliečnych výrobkov. Bokashi kompostovanie je považované za perspektívnu metódu najmä v mestskom prostredí a v systémoch ekologického poľnohospodárstva, pričom po ukončení fermentačného procesu je potrebné materiál zapracovať do pôdy, kde prebieha jeho následné dozrievanie /12/. Komposty pripravené rôznymi technologickými postupmi sa môžu navzájom líšiť obsahom, dostupnosťou živín, rýchlosťou ich uvoľňovania, chemickým aj biologickým zložením. Tieto rozdiely môžu následne ovplyvniť rast, vývoj a fyziologický stav rastlín vrátane intenzity fotosyntézy, tvorby biomasy a celkovej produkcie /12/.

Z fyziologického hľadiska je rast rajčiaka jedlého úzko spätý s dostatočnou dostupnosťou dusíka, ktorý je nevyhnutným prvkom pri syntéze chlorofylu, tvorbe fotosyntetického aparátu a zabezpečení efektívnej fotosyntetickej aktivity rastlín /13, 14/. Rajčiak sa zaraďuje medzi plodiny prvej trate, ktoré sa vyznačujú vysokými nárokmi na zásobenie živinami, a preto výrazne reagujú na organické hnojenie. Súčasný poznatky poukazujú na to, že pestovateľské podmienky a agronomické zásahy významne ovplyvňujú nielen výšku a kvalitu úrody, ale aj nutričnú hodnotu plodov, pričom jednotlivé faktory prostredia a pestovateľské

opatrenia môžu pôsobiť synergicky/15/.

Z hľadiska fyziológie rastlín a produkčných charakteristík možno okrem samotného výnosu plodov hodnotiť viaceré dôležité parametre, ako sú obsah chlorofylu, podzemná a nadzemná biomasa, ako aj ich vzájomný pomer root:shoot ratio (R:S). V užšom zmysle predstavuje R:S pomer sušiny koreňového systému k sušine nadzemnej časti rastliny (RW:SW). Tento parameter je významným ukazovateľom alokácie biomasy medzi koreňový systém a nadzemné orgány a často sa využíva pri hodnotení produkčného potenciálu a fyziologickej odozvy rastlín na pestovateľské podmienky. V poľnohospodárskej praxi úzko súvisí s efektívnosťou príjmu vody a živín, toleranciou voči suchu a schopnosťou alokovať asimiláty do hospodársky významných orgánov vrátane plodov /16/. Vyššie hodnoty R:S spravidla naznačujú väčšiu investíciu do rozvoja koreňového systému, zatiaľ čo nižšie hodnoty poukazujú na preferenčný rast nadzemnej biomasy, typický najmä pri optimálnych pestovateľských podmienkach /17/. Hodnotenie obsahu chlorofylu v listoch je významným indikátorom fyziologického a výživového stavu rastlín, keďže jeho koncentrácia úzko súvisí s dostupnosťou dusíka a intenzitou fotosyntézy /18, 19/. Neinvazívne meranie obsahu chlorofylu sa preto bežne využíva na hodnotenie reakcie rastlín na výživové podmienky a pestovateľské zásahy /18, 20/.

V kontexte udržateľného poľnohospodárstva je opodstatnené skúmať vplyv rôznych typov kompostov na rast a fyziologické parametre rastlín, keďže ich zloženie môže významne ovplyvniť dostupnosť živín a rastovú odpoveď rastlín /21, 22/. Porovnanie jednotlivých kompostov v kontrolovaných podmienkach umožňuje posúdiť ich potenciál ako alternatívu ku konvenčnému hnojeniu.

MATERIÁL A METÓDA

Hlavným biologickým materiálom experimentu bol vybraný zástupca čeľade ľuľkovité (*Solanaceae*), konkrétne rajčiak jedlý (*Solanum lycopersicum* L.). Na účely výskumu bola zvolená hybridná odroda Harzfeuer F1, skorý až poloskorý hybrid s vysokým úrodovým potenciálom a dobrou odolnosťou voči nepriaznivým podmienkam prostredia.

Experiment bol koncipovaný ako nádobový vegetačný pokus, realizovaný na troch pestovateľských variantoch v priestoroch Fakulty prírodných vied Univerzity Mateja Bela v Banskej Bystrici (GPS: 48.7419458 N, 19.1229633 E), v presklenom átriu počas vegetačného obdobia od mája 2025 (výsadba priesad) do septembra 2025. Tento priestor poskytoval optimálne svetelné podmienky pre rast teplomilných plodín a vďaka otvorenej vrchnej časti umožňoval prirodzené pôsobenie klimatických faktorov, pričom zároveň zmierňoval vplyv extrémnych výkyvov počasia.

Experiment bol založený v troch variantoch, pričom každý variant bol zastúpený tromi opakovaniami ($n = 3$) v nádobách s celkovým objemom 10 l:

1. Variant KV (kontrolný variant): predstavoval kontrolnú skupinu bez aplikácie kompostu alebo iných organických hnojív, s hodnotou pH pôdneho výluhu 7,44. Slúžil na porovnanie prirodzeného produkčného potenciálu pôdy a sledovanie dynamiky rastu rastlín v pôvodných podmienkach.

2. Variant BK (Bokashi kompost): do základnej fluvizeme bol zapracovaný Bokashi kompost v objemovom pomere 1 : 9 (kompost : pôda). Materiál bol pripravený v domácich podmienkach procesom anaeróbnej fermentácie kuchynského bioodpadu, vrátane varených mäsových jedál, sezónnych šupiek ovocia a zeleniny. Vzhľadom na fermentačný charakter materiálu a nameranú hodnotu pH výluhu 4,87 bol zvolený nižší objemový pomer

kompostu k pôde.

3. Variant DK (domáci kompost): zahrňal aplikáciu klasického aeróbného kompostu v pomere 2 : 8 (kompost : pôda). Tento kompost s hodnotou pH výluhu 7,28, pochádzajúci z lokality Horná Strehová (okres Veľký Krtíš), predstavoval rastlinný kompost zložený z tráv, listia a zvyškov ovocia a zeleniny, obohatený o vaječné škrupiny.

Porovnanie týchto dvoch typov kompostov (fermentovaného kompostu s obsahom mäsovej zložky a klasického zeleného kompostu) umožnilo sledovať rozdielnú odozvu rastlín na rôzne zdroje živín a ich rozdielnú dynamiku uvoľňovania.

Stanovenie obsahu chlorofylu

Obsah chlorofylu bol stanovený neinvazívnou metódou pomocou prenosného chlorofylmetra CCM-200plus (Opti-Sciences, USA), ktorý umožňuje rýchle a nedeštruktívne meranie relatívneho obsahu chlorofylu v listoch na základe merania absorbancie svetla pri dvoch vlnových dĺžkach pomocou LED svetelných zdrojov. Výsledky sú vyjadrené v bezrozmerných jednotkách CCI (Chlorophyll Content Index), ktoré predstavujú relatívny index obsahu chlorofylu v listovom pletive. Hodnota CCI je úmerná koncentrácii chlorofylu a je vhodná na porovnanie medzi variantmi aj na sledovanie zmien v čase /23/.

Merania sa uskutočňovali každé dva týždne počas sledovaného vegetačného obdobia (od 28. mája 2025 do 23. septembra 2025). Hodnoty boli zaznamenávané na plne vyvinutých listoch nachádzajúcich sa v strednej až hornej časti rastliny.

Na každej rastline bolo vykonaných desať po sebe nasledujúcich meraní na tom istom liste, pričom jednotlivé hodnoty CCI boli zaznamenané na rôznych častiach listovej plochy s cieľom minimalizovať vplyv lokálnej variability. Z nameraných hodnôt bol vypočítaný aritmetický priemer, ktorý predstavoval výslednú hodnotu obsahu chlorofylu pre danú rastlinu v konkrétnom termíne merania.

Pri získavaní údajov boli zohľadnené aktuálne podmienky prostredia. Merania sa nevykonávali počas priameho slnečného žiarenia dopadajúceho na listovú plochu ani počas zrážok, aby sa minimalizovalo možné ovplyvnenie výsledkov.

Stanovenie vybraných parametrov vegetatívnych orgánov

Rastlinný materiál (listy a plody) bol odoberaný priebežne počas celého experimentu v závislosti od fyziologického stavu rastlín a potrieb experimentu. Celková analýza fytomasy bola ukončená po skončení experimentu v októbri 2025. Všetok odobratý materiál (listy, stonky, plody a koreňová sústava) bol sušený pri kontrolovanej izbovej teplote do dosiahnutia konštantnej hmotnosti.

V rámci analýzy bola hodnotená nadzemná biomasa, predstavujúca súčet hmotnosti listov, stoniek a plodov. Keďže listy a plody boli odoberané priebežne, výsledná hodnota predstavuje kumulatívnu hmotnosť sušiny vytvorenej počas celého vegetačného obdobia, vyjadrenú pre každú rastlinu v gramoch (g). Stanovenie sušiny vegetatívnych orgánov a plodov umožnilo objektívne vyhodnotiť produkciu biomasy nezávisle od obsahu vody v pletivách /24, 25/.

Pomer R:S (Root-to-Shoot ratio)

Index alokácie biomasy bol vypočítaný ako pomer hmotnosti podzemnej časti rastliny (koreňov) k hmotnosti nadzemnej časti (listov, stoniek a plodov). Tento ukazovateľ slúžil na hodnotenie alokácie biomasy medzi koreňový systém a

nadzemné orgány rastliny, pričom odráža stratégiu rozdeľovania zdrojov medzi príjmom vody a živín prostredníctvom koreňov a tvorbu fotosynteticky aktívnej biomasy /26/.

Štatistické spracovanie dát

Získané experimentálne výsledky fyziologických (obsah chlorofylu) a produkčných parametrov (hmotnosť sušiny nadzemnej biomasy, hmotnosť sušiny koreňovej sústavy a pomer R:S) boli štatisticky vyhodnotené multifaktorovou analýzou variancie (ANOVA) s použitím LSD testu na 95 %, resp. 99 % hladine preukaznosti rozdielov (software Statgraphics, verzia 5.0). V rámci štatistického modelu boli ako hlavné faktory variability hodnotené tri experimentálne varianty: kontrolný variant (KV), variant s aplikáciou Bokashi kompostu (BK) a variant s aplikáciou domáceho kompostu (DK), pričom každý variant bol zastúpený tromi opakovaniami ($n = 3$).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri interpretácii výsledkov je potrebné zohľadniť, že varianty BK a DK sa líšili nielen typom a spôsobom prípravy kompostu, ale aj aplikačným pomerom a hodnotou pH. Vzhľadom na fermentačný charakter Bokashi kompostu a jeho nízke pH (4,87) bol pri variante BK zvolený nižší aplikačný pomer (1 : 9) s cieľom minimalizovať riziko nepriaznivého pôsobenia substrátu na rastliny v počiatočnom štádiu rastu. Napriek nižšiemu podielu kompostu dosahoval variant BK priaznivejšie hodnoty viacerých sledovaných parametrov ako variant DK aplikovaný v pomere 2 : 8 (pH 7,28).

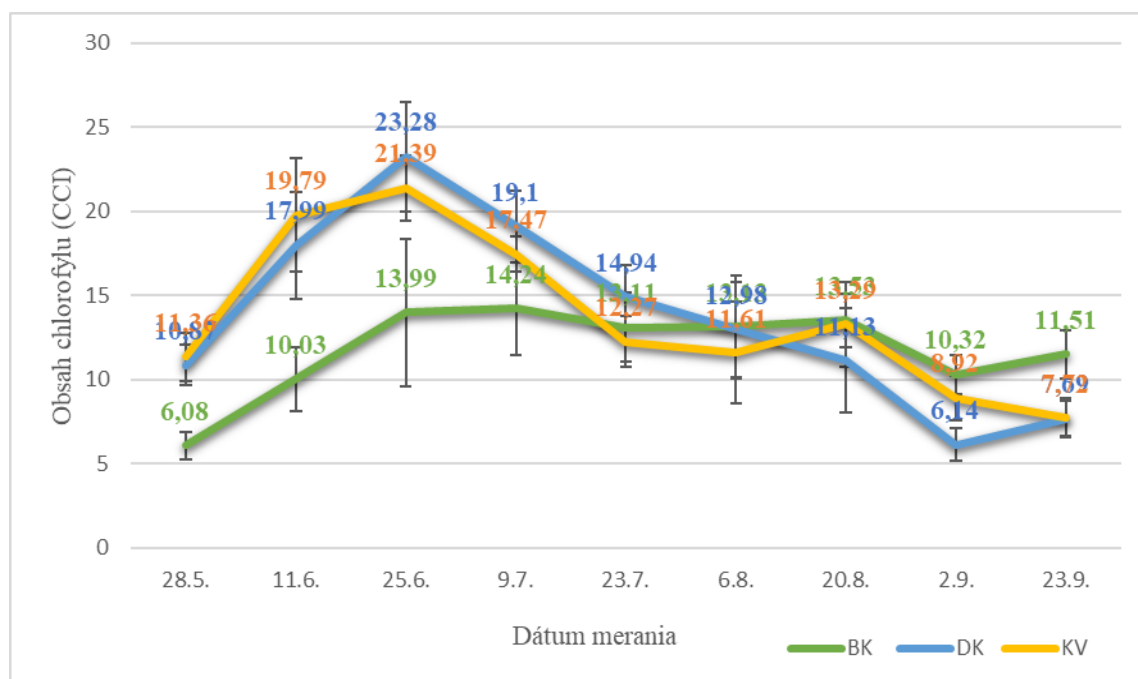
Dynamika zmien obsahu chlorofylu počas vegetačného obdobia, znázornená na grafe 1, poukazuje na odlišný priebeh medzi jednotlivými variantmi. Zatiaľ čo varianty KV a DK dosiahli maximálne hodnoty v prvej polovici sledovaného obdobia a následne vykazovali klesajúcu tendenciu, variant BK si udržal relatívne stabilnú hladinu chlorofylu s postupným nárastom v záverečnej fáze meraní. Pri variante DK bol v závere sledovaného obdobia zaznamenaný mierny nárast hodnôt, ktorý môže súvisieť s postupným uvoľňovaním živín z kompostu.

Štatistická analýza pomocou LSD testu potvrdila, že pri kontrolnom variante (KV) boli rozdiely vysoko signifikantné na oboch hladinách preukaznosti, zatiaľ čo pri variante BK bola preukaznosť rozdielov nižšia pri prísnejšom kritériu hodnotenia. Faktor opakovania sa nepreukázal ako štatisticky významný, čo naznačuje dobrú reprodukovateľnosť experimentu a porovnateľnosť podmienok medzi jednotlivými opakovaniami. Súhrn výsledkov obsahu chlorofylu je uvedený v tabuľke 1.

Štatistická analýza pomocou LSD testu potvrdila, že pri kontrolnom variante (KV) boli rozdiely vysoko signifikantné na oboch hladinách preukaznosti, zatiaľ čo pri variante BK bola preukaznosť rozdielov nižšia pri prísnejšom kritériu hodnotenia. Faktor opakovania sa nepreukázal ako štatisticky významný, čo naznačuje dobrú reprodukovateľnosť experimentu a porovnateľnosť podmienok medzi jednotlivými opakovaniami. Súhrn výsledkov obsahu chlorofylu je uvedený v tabuľke 1.

Štatistická metóda: multifaktorová analýza variancie (ANOVA) s použitím LSD testu na hladine významnosti $\alpha = 0,05$ (95 %) a $\alpha = 0,01$ (99 %). Hodnoty v rovnakom stĺpci označené odlišnými písmenami sa štatisticky významne líšia na hladine $p < 0,05$, resp. $p < 0,01$, zatiaľ čo medzi hodnotami označenými rovnakými písmenami neboli zistené štatisticky významné rozdiely. Malé písmená označujú hladinu významnosti $\alpha = 0,05$ a veľké písmená hladinu významnosti $\alpha =$

0,01.



Graf 1: Dynamika zmien obsahu chlorofylu (hodnoty CCI) v listoch rajčiaka jedlého (*Solanum lycopersicum* L.) v závislosti od variantu hnojenia počas vegetačného obdobia. Vertikálne úsečky vyjadrujú smerodajnú odchýlku ($\pm$ SD).

Tab.1: Obsah chlorofylu (CCI) v listoch

		Obsah chlorofylu (CCI)	LSD α 0.05	LSD α 0.01
Varianty	BK	14,62	b	AB
	DK	11,96	a	A
	KV	16,37	b	B
LSD α 0.05			2,33	
LSD α 0.01				3,86
Opakovania	1	14,33	a	A
	2	14,59	a	A
	3	14,02	a	A
LSD α 0.05			2,33	
LSD α 0.01				3,86

Hoci kontrolný variant vykazoval v počiatočnej fáze merania (28. 5. 2025) takmer dvojnásobne vyšší obsah chlorofylu (11,36 CCI) v porovnaní s variantom BK (6,08 CCI), tento rozdiel sa postupne znižoval. Kontrolný variant dosiahol maximálnu hodnotu v júni (21,39 CCI), následne však obsah chlorofylu výrazne klesal až na 7,72 CCI v septembri (23. 9. 2025). Naopak, pri variante BK bol zaznamenaný postupný nárast obsahu chlorofylu, pričom od konca júla dosahoval vyššie hodnoty ako kontrolný variant a na konci sledovaného obdobia dosiahol hodnotu 11,51 CCI. Tento priebeh naznačuje, že hoci kontrolný variant dokázal v úvode sezóny rýchlo mobilizovať chlorofyl, nedokázal si túto hladinu udržať. Práve prudký pokles obsahu chlorofylu v závere leta pri variante KV korešponduje s pozorovanou vysokou mierou poškodenia plodov a výraznou fyziologickou kučeravosťou listov. Podľa Ghosha et al. [27] vysoké hodnoty chlorofylu automaticky negarantujú vyššiu úrodu, ak nie sú v rovnováhe s ostatnými faktormi prostredia. Naopak, nižší, ale stabilne stúpajúci trend

chlorofylu pri variante BK môže poukazovať na vyrovnanejší nutričný stav rastlín, čo sa v konečnom dôsledku prejavilo lepším zdravotným stavom a vyššou vitalitou rastlín.

Tento jav možno interpretovať ako možný prejav tzv. vegetatívnej dominancie, pri ktorej mohla nadmerná vegetatívna aktivita obmedziť efektívnu alokáciu asimilátov do plodov /24, 28/. Jedným z možných vysvetlení je nerovnováha vo výžive rastlín, najmä medzi dusíkom a draslíkom, ktorá podľa literárnych údajov môže viesť k zhoršenému transportu asimilátov, hromadeniu sacharidov v listoch a následným zmenám ich fyziologického stavu /24, 28/.

V ďalšej časti uvádzame výsledky produkčných parametrov. Najvyššia priemerná hmotnosť koreňového systému bola zaznamenaná pri variante BK (4,12 g/rastlinu), nasledovanom variantmi KV (3,32 g/rastlinu) a DK (2,69 g/rastlinu). Napriek pozorovaným rozdielom štatistická analýza nepreukázala významný vplyv variantu na hmotnosť koreňového systému. Na základe LSD testu boli všetky varianty (BK, DK a KV) zaradené do rovnakej štatistickej skupiny, pričom rozdiely medzi nimi neboli štatisticky významné na hladine významnosti $\alpha = 0,05$ ani $\alpha = 0,01$. Štatisticky významný vplyv nebol preukázaný ani pri faktore opakovania.

Tab. 2: Hmotnosť koreňového systému (g/rastlina)

		Hmotnosť koreňa (g)	LSD $\alpha 0.05$	LSD $\alpha 0.01$
Varianty	BK	4,12	a	A
	DK	2,69	a	A
	KV	3,32	a	A
LSD $\alpha 0.05$			1,90	
LSD $\alpha 0.01$				3,15
Opakovania	1	3,21	a	A
	2	2,86	a	A
	3	4,04	a	A
LSD $\alpha 0.05$			1,90	
LSD $\alpha 0.01$				3,15

Štatistická metóda: multifaktorová analýza variancie (ANOVA) s použitím LSD testu na hladine významnosti $\alpha = 0,05$ (95 %) a $\alpha = 0,01$ (99 %). Hodnoty v rovnakom stĺpci označené odlišnými písmenami sa štatisticky významne líšia na hladine $p < 0,05$, resp. $p < 0,01$, zatiaľ čo medzi hodnotami označenými rovnakými písmenami neboli zistené štatisticky významné rozdiely. Malé písmená označujú hladinu významnosti $\alpha = 0,05$ a veľké písmená hladinu významnosti $\alpha = 0,01$.

Pri hodnotení hmotnosti sušiny nadzemnej biomasy rajčiaka jedlého boli medzi jednotlivými variantmi hnojenia preukázané štatisticky významné rozdiely (tab. 3). Najvyššiu priemernú hmotnosť sušiny nadzemnej biomasy dosiahol variant s aplikáciou BK (72,69 g/rastlina), nasledovaný KV (68,02 g /rastlina). Najnižšia hodnota bola zaznamenaná pri variante s aplikáciou DK (49,61 g/rastlina). Štatistická analýza potvrdila významný vplyv variantu hnojenia na tvorbu nadzemnej biomasy. Rozdiely medzi jednotlivými variantmi boli následne vyhodnotené pomocou LSD testu na hladinách významnosti $\alpha = 0,05$ a $\alpha = 0,01$. Faktor opakovania nemal na hodnotený parameter štatisticky významný vplyv.

Tab. 3: Hmotnosť nadzemnej biomasy (g/rastlina).

		Hmotnosť nadzemnej biomasy (g)	LSD _{α 0.05}	LSD _{α 0.01}
Varianty	BK	72,69	b	B
	DK	49,61	a	A
	KV	68,02	b	AB
LSD _{α 0.05}			13,14	
LSD _{α 0.01}				21,77
Opakovania	1	60,03	a	A
	2	62,85	a	A
	3	67,43	a	A
LSD _{α 0.05}			13,14	
LSD _{α 0.01}				21,7733

Štatistická metóda: multifaktorová analýza variancie (ANOVA) s použitím LSD testu na hladine významnosti $\alpha = 0,05$ (95 %) a $\alpha = 0,01$ (99 %). Hodnoty v rovnakom stĺpci označené odlišnými písmenami sa štatisticky významne líšia na hladine $p < 0,05$, resp. $p < 0,01$, zatiaľ čo medzi hodnotami označenými rovnakými písmenami neboli zistené štatisticky významné rozdiely. Malé písmená označujú hladinu významnosti $\alpha = 0,05$ a veľké písmená hladinu významnosti $\alpha = 0,01$.

Tab.4: Pomer koreňovej a nadzemnej biomasy (root:shoot; R:S)

		R:S	LSD _{α 0.05}	LSD _{α 0.01}
Varianty	BK	0,057	a	A
	DK	0,055	a	A
	KV	0,048	a	A
LSD _{α 0.05}			0,024	
LSD _{α 0.01}				0,039
Opakovania	1	0,055	a	A
	2	0,044	a	A
	3	0,059	a	A
LSD _{α 0.05}			0,024	
LSD _{α 0.01}				0,039

Ďalším hodnoteným parametrom bol pomer koreňového systému k nadzemnej biomase (R:S) s cieľom posúdiť zmeny v alokácii biomasy rastlín v závislosti od výživy. Najnižšiu priemernú hodnotu pomeru sme zaznamenali pri KV (0,048). Pri variantoch s aplikáciou kompostov boli zaznamenané vyššie hodnoty, 0,055 pri variante DK a 0,057 pri variante BK. Najvyšší pomer R:S bol teda dosiahnutý pri variante BK, čo môže naznačovať vyššiu alokáciu biomasy do koreňového systému v porovnaní s ostatnými variantmi. Podľa Poortera et al. /26/ je schopnosť rastliny alokovať biomasu do koreňového systému významným adaptačným mechanizmom pri prekonávaní environmentálneho stresu. Napriek pozorovaným rozdielom štatistická analýza nepreukázala významný vplyv experimentálnych variantov na pomer R:S. Získané výsledky naznačujú, že v podmienkach nášho experimentu aplikácia kompostov nevedla k štatisticky preukaznej zmene pomeru biomasy koreňového systému a nadzemnej časti rastliny. Štatisticky významný vplyv sa nepotvrdil ani pri faktore opakovania, čo

naznačuje dobrú reprodukovateľnosť experimentu a porovnateľnosť výsledkov medzi jednotlivými opakovaniami. Podrobné výsledky sú zhrnuté v tabuľke 4.

Štatistická metóda: multifaktorová ANOVA — 95,0 % LSD test ($\alpha = 0,05$) a 99,0% LSD test ($\alpha = 0,01$). Hodnoty v rovnakom stĺpci s odlišnými písmenami sa líšia štatisticky významne na úrovni $p < 0,05$, resp. $P < 0,01$; medzi hodnotami s rovnakými písmenami nie sú žiadne významné rozdiely. Malé písmená označujú hladinu významnosti $\alpha = 0,05$ a veľké písmená hladinu $\alpha = 0,01$.

Variant KV poukázal na riziká pestovania bez organického obohatenia substrátu, najmä z hľadiska nižšej stability vodného a nutričného režimu rastlín. Tieto riziká mohli súvisieť aj s nižším pomerom R:S. Variant KV vykazoval najnižší pomer R:S (0,048), čo podľa Poortera et al. /26/ môže predstavovať limitujúci faktor pre zásobovanie rastliny vodou počas období zvýšeného výparu. Relatívne malý koreňový systém v porovnaní s veľkou listovou plochou a vysokým obsahom chlorofylu zaznamenaným v júni mohol znížovať schopnosť rastlín zabezpečiť dostatočný príjem vody počas období s vysokými teplotami (33,5 °C v júli) a nižšími zrážkami (48,3 mm v septembri), čo sa mohlo prejaviť fyziologickým stresom. Naopak, vyššia hodnota pomeru R:S pri variante BK (0,057) naznačuje, že rastliny investovali relatívne viac biomasy do budovania koreňového systému, čo mohlo prispieť k efektívnejšiemu príjmu vody počas suchších období a k udržaniu stabilnejšieho obsahu chlorofylu až do záveru vegetácie.

Variant s domácim kompostom (DK) vykazoval odlišnú odozvu, pričom sa prejavil skôr ako stabilizátor pôdneho prostredia než ako účinný zdroj živín. Jeho nižšia účinnosť mohla súvisieť s nevyváženým zložením, v ktorom dominovala pokosená tráva s nízkym zastúpením uhlíkatých materiálov, čo mohlo viesť k nevhodnému pomeru C:N. Aplikácia takéhoto materiálu, ako uvádza Bernal et al. /29/, môže vyvolať dusíkovú imobilizáciu, pri ktorej mikroorganizmy využívajú dostupný dusík na vlastný metabolizmus. V dôsledku toho môže dôjsť k jeho dočasne nižšej dostupnosti pre rastliny s vysokými nárokmi na živiny, akým je aj rajčiak jedlý. Namerané nízke hodnoty hmotnosti nadzemnej biomasy môžu naznačovať nižšiu biologickú kvalitu kompostu. Okrem toho mohla byť nižšia intenzita rastu ovplyvnená aj prítomnosťou fytotoxických látok vznikajúcich pri nedostatočnom rozklade organickej hmoty /29/. Zaujímavým zistením bol vysoký stupeň kvetnatosti pri variante DK, ktorý však kontrastoval s minimálnou produkciou plodov. Tento jav môže naznačovať stresovú reakciu rastlín smerujúcu k zabezpečeniu reprodukcie v nepriaznivých podmienkach, pričom limitujúcim faktorom mohol byť nedostatok dostupných zdrojov potrebných na úspešný vývoj plodov /30/.

Variant BK sa ukázal ako najefektívnejší vo všetkých sledovaných parametroch. Jeho pozitívny účinok možno vysvetliť riadeným procesom anaeróbnej fermentácie, ktorý podporuje transformáciu organickej hmoty a postupné uvoľňovanie živín /31/. K priaznivému účinku mohlo prispieť aj špecifické mikrobiálne spoločenstvo efektívnych mikroorganizmov, ktoré podporuje rozklad komplexných organických zlúčenín a zlepšuje dostupnosť živín pre rastliny v porovnaní s klasickým aeróbnym kompostovaním.

ZÁVER

Výsledky realizovaného vegetačného črepníkového pokusu preukázali, že jednotlivé typy kompostov rozdielne ovplyvnili fyziologický stav a produkčné parametre rajčiaka jedlého (*Solanum lycopersicum* L.). Variant s aplikáciou BK dosiahol najvyššie hodnoty sušiny koreňového systému, nadzemnej biomasy a

pomeru R:S, pričom počas vegetácie vykazoval stabilnejší obsah chlorofylu v porovnaní s ostatnými variantmi. Tieto výsledky naznačujú priaznivý vplyv BK na rast a vývoj rastlín.

Kontrolný variant vykazoval v druhej polovici vegetácie pokles obsahu chlorofylu a nižší pomer R:S, zatiaľ čo pri variante s DK boli zaznamenané najnižšie hodnoty nadzemnej biomasy a produkčných parametrov. Získané výsledky poukazujú na význam kvality a stupňa vyzretosti kompostu pri pestovaní rajčiaka jedlého a naznačujú potenciál technológie Bokashi ako vhodného spôsobu zhodnocovania biologicky rozložiteľného odpadu a jeho využitia v udržateľnom pestovaní zeleniny.

LITERATÚRA

- /1/ Kirchherr, J., Reike, D., Hekkert, M.: Conceptualizing the circular economy: An analysis of 114 definitions. *Resources, Conservation and Recycling*, 127, 2017: 221–232.
- /2/ Díaz, L. F., De Bertoldi, M., Bidlingmaier, W., Stentiford, E.: *Compost Science and Technology*. Amsterdam: Elsevier, 2007: 380 s. ISBN 978-0-08-043960-0.
- /3/ Európska únia: Smernica Rady 1999/31/ES z 26. apríla 1999 o skládkach odpadov. Úradný vestník Európskej únie, L 182, 1999: 1–19.
- /4/ Slovensko: Zákon č. 79/2015 Z. z. o odpadoch a o zmene a doplnení niektorých zákonov v znení neskorších predpisov. Bratislava: NR SR, 2015.
- /5/ Ministerstvo životného prostredia SR: Zelenšie Slovensko – Stratégia environmentálnej politiky Slovenskej republiky do roku 2030. Bratislava: MŽP SR, 2019.
- /6/ Cooperband, L. R.: *The art and science of composting: A resource for farmers and compost producers*. Madison: University of Wisconsin–Madison, 2002.
- /7/ Cornell Waste Management Institute: *The science of composting: Chapter 1 – Introduction to the composting process*. Ithaca: Cornell University, 2015.
- /8/ Chen, L., De Haro Marti, M. E., Moore, A., Falen, C.: *Dairy compost production and use in Idaho*. Moscow, ID: University of Idaho Extension, 2011.
- /9/ Mathur, S. P.: *Composting processes*. In: Martin, A. M.: *Bioconversion of Waste Materials to Industrial Products*. Boston, MA: Springer, 1998: 154–193.
- /10/ Sun, W., Shahrajabian, M. H., Cheng, Q.: Organic waste utilization and urban food waste composting strategies in China – A review. *Notulae Scientia Biologicae*, 13, 2021: 10881.
- /11/ Dohaish, E. J. A. B.: Vermicomposting of Organic Waste with *Eisenia fetida* Increases the Content of Exchangeable Nutrients in Soil. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 23, 2020: 501–509.
- /12/ Olle, M.: Review: Bokashi technology as a promising technology for crop. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 96, 2021: 145–152.
- /13/ Jones, J. B.: *Tomato Plant Culture: In the Field, Greenhouse, and Home Garden*. 2. vyd. Boca Raton: CRC Press, 2007: 424 s.
- /14/ Rao, A. V., Rao, L. G.: Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*, 55, 2007: 207–216.
- /15/ Erba, D., Casiraghi, M. C., Ribas-Agustí, A. et al.: Nutritional value of tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) grown in greenhouse by different agronomic techniques. *Journal of Food Composition and Analysis*, 31, 2013: 245–251.
- /16/ Šerá, B.: Jak funguje poměr „root:shoot“. In: Bláha, L., Šerá, B. (eds.): *Význam celistvosti rostliny ve výzkumu, šlechtění a produkci*. Praha: Powerprint, 2013: 66–74.
- /17/ Agren, G. I., Franklin, O.: Root:Shoot Ratios, Optimization and Nitrogen Productivity. *Annals of Botany*, 92, 2003: 795–800.
- /18/ Kalaji, H. M., Bába, W., Gediga, K. et al.: Chlorophyll fluorescence as a tool for nutrient status identification in rapeseed plants. *Photosynthesis Research*, 136, 2018: 329–343.
- /19/ Chen, X. et al.: Effects of Nitrogen Deficiency on Photosynthesis and Chlorophyll Content in *Oryza sativa*. *International Journal of Molecular Sciences*, 25, 2024: 10409.
- /20/ Uddling, J., Gelang-Alfredsson, J., Pikki, K., Pleijel, H.: Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 metrics. *Photosynthesis Research*, 91, 2007: 37–46.
- /21/ Nevien, M. et al.: Impacts of Different Compost Types Application on Soil Fertility and Plant Growth. *Journal of High Institute of Public Health*, 38, 2008: 633–648.
- /22/ Szűcsné Szolomájer, J. et al.: The effect of various composts on vegetable green mass on two soil types. *Acta Agraria Debreceniensis*, 72, 2017: 179–183.

- /23/ Opti-Sciences: CCM-200plus Chlorophyll Content Meter: Product Brochure. Hudson, NH, USA: Opti-Sciences, Inc., 2022. Dostupné z: https://opti-sciences.com/wp-content/uploads/2022/11/ccm-200plus_brochure.pdf (přístup: 21. 2. 2026).
- /24/ Heuvelink, E. (ed.): Tomatoes. 2. vyd. Oxfordshire: CABI Publishing, 2018: 384 s.
- /25/ Liu, W., Liu, K., Chen, D. et al.: *Solanum lycopersicum*, a Model Plant for the Studies in Developmental Biology, Stress Biology and Food Science. *Foods*, 11, 2022: 2402.
- /26/ Poorter, H., Niklas, K. J., Reich, P. B. et al.: Biomass allocation to leaves, stems and roots: Meta-analyses of interspecific variation and environmental control. *New Phytologist*, 193, 2012: 30–50.
- /27/ Ghosh, M., Swain, D. K., Jha, M. K. et al.: Optimizing chlorophyll meter (SPAD) reading to allow efficient nitrogen use in rice and wheat under rice-wheat cropping system in eastern India. *Plant Production Science*, 23, 2020: 270–285.
- /28/ Ganeshamurthy, A., Rupa, T. R., Kalaivanan, D. et al.: Potassium Nutrition of Fruit Crops: Comparative Evaluation of Potassic Fertilizers. In: *Potassium in Soils and Plants*. Singapore: Springer, 2023: 204–219.
- /29/ Bernal, M. P., Albuquerque, J. A., Moral, R.: Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review. *Bioresource Technology*, 100, 2009: 5444–5453.
- /30/ Sato, S., Peet, M. M., Thomas, J. F.: Physiological factors limit fruit set of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) under chronic, mild heat stress. *Plant, Cell & Environment*, 23, 2000: 719–726.
- /31/ Gao, F., Li, H., Mu, X. et al.: Effects of Organic Fertilizer Application on Tomato Yield and Quality: A Meta-Analysis. *Applied Sciences*, 13, 2023: 2184.

Pod'akovanie

Uvedená vedecko-výskumná práca bola podporená projektom KEGA 015UMB-4/2025 Komplexný prehľad a inovatívne prístupy k riadeniu komunálnych odpadov: Integrácia vedy, legislatívy a praktických skúseností.

POROVNANIE MIKROORGANIZMOV IZOLOVANÝCH Z RIZOSFÉRY RAJČIAKA JEDLÉHO (*SOLANUM LYCOPERSICUM* L.) V ZÁVISLOSTI OD TYPU KOMPOSTU A RASTOVEJ FÁZY

COMPARISON OF MICROORGANISMS ISOLATED FROM THE RHIZOSPHERE OF TOMATO (*SOLANUM LYCOPERSICUM* L.) AS AFFECTED BY COMPOSTTYPE AND GROWTH STAGE

Michaela Murgašová¹, Janka Ševčíková², Vladimíra Krempaská¹, Matej Vesteg¹

¹Univerzita Mateja Bela v Banskej Bystrici, Fakulta prírodných vied, Katedra
biológie a environmentálnych štúdií, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica,
mmurgasova@umb.sk

²Univerzita Mateja Bela v Banskej Bystrici, Fakulta prírodných vied, Katedra
techniky a technológií, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica

Summary

The rhizosphere of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) hosts diverse bacterial communities that influence plant growth and health. This study identified bacteria isolated from the tomato rhizosphere in two types of compost during different growth stages. The most frequently identified isolates belonged to the genera *Pseudomonas* and *Bacillus*. According to the literature, these genera may promote plant growth and well-being. The results contribute to knowledge of tomato rhizosphere microbial diversity and provide a basis for further evaluation of the biochemical and growth-promoting properties of the identified isolates and their potential use in agriculture.

Key words: tomato (Solanum lycopersicum L.), rhizosphere, culturable microorganisms, compost, growth stages

Súhrn

Rizosféra rajčiaka jedlého (*Solanum lycopersicum* L.) je prostredím s rozmanitými bakteriálnymi spoločenstvami, ktoré ovplyvňujú rast a zdravotný stav rastlín. Cieľom štúdie bola identifikácia baktérií izolovaných z rizosféry rajčiaka jedlého pestovaného v dvoch typoch kompostu počas rôznych rastových fáz. Najčastejšie identifikované izoláty patrili do rodov *Pseudomonas* a *Bacillus*. Podľa dostupnej literatúry môžu tieto rody podporovať rast a zdravotný stav rastlín. Výsledky prispievajú k poznaniu diverzity mikrobiálnych spoločenstiev rizosféry rajčiaka a poskytujú základ pre ďalšie hodnotenie biochemických a rast podporujúcich vlastností identifikovaných izolátov a ich potenciálneho využitia v poľnohospodárstve.

Kľúčové slová: rajčiak jedlý (Solanum lycopersicum L.), rizosféra, kultivovateľné mikroorganizmy, kompost, rastové fázy

ÚVOD

Rajčiak jedlý (*Solanum lycopersicum* L.) je považovaný za jednu z hospodársky najvýznamnejších plodín na svete [1]. Rast a zdravotný stav rajčiaka

sú podmienené nielen genetickými vlastnosťami rastliny či podmienkami prostredia /2, 3/, ale aj komplexnými interakciami s pôdnou mikrobiotou v rizosfére /4/. Rastliny produkujú široké spektrum metabolitov, ktoré plnia rôzne biologické a ekologické funkcie. Mnohé z týchto metabolitov slúžia ako zdroje živín alebo signálne molekuly pre mikroorganizmy prítomné v rizosfére. Organické kyseliny, ako kyselina jablčná a citrónová, slúžia ako atraktanty pre zástupcov z rodu *Bacillus* a *Pseudomonas*, významné baktérie podporujúce rast rastlín /5/. Zloženie rizosférickej mikrobioty je dynamické a mení sa počas ontogenézy rastliny /6/. Významným faktorom formujúcim mikrobiálne spoločenstvá rizosféry je aj aplikácia organických hnojív, najmä kompostov. Kompost predstavuje stabilizovaný produkt rozkladu organickej hmoty za prístupu kyslíka, ktorý obohacuje pôdu o organické látky a živiny /7/.

MATERIÁL A METODY

V polovici marca 2026 (12. 3. 2026) boli semená rajčiaka jedlého vysiate do plastových nádob s výsevným substrátom. Následne po 2 – 3 týždňoch po výsadbe, boli prepikírované do väčších nádob. V druhej polovici mája (21. 5. 2026) prebiehalo založenie vegetačného črepníkového experimentu a presadenie rastlín do plastových nádob o objeme 10 l v troch rôznych variantoch. Prvý kontrolný variant tvorila kambizem odobraná lokálne z priestorov fakulty (BPEJ: 0765232, 48°44'32.83"N, 19°7'17.56"E) a ďalšie dva varianty pozostávali z komerčne dostupných kompostov (priemyselného a vermikompostu), ktoré boli zmiešané s pôdou v pomere 8:2 (pôda:kompost). Rozdiel medzi skúmanými kompostami spočíval vo vstupných materiáloch – priemyselný kompost tvoril najmä kuchynský a zelený odpad, zatiaľ čo vermikompost pozostával prevažne zo zvyškov ovocia a zeleniny (surovej aj varenej), vaječných škrupín, čajových vrecúšok a kávovej usadeniny. Pokusným materiálom bol rajčiak jedlý (*Solanum lycopersicum* L.) – odroda Sláva Porýní. Mikrobiálna diverzita rizosféry bola sledovaná v dvoch rastových fázach rastlín – vegetatívnej a kvitnúcej – s cieľom charakterizovať jej dynamiku v priebehu rastu rastlín. Orientačne bolo mikrobiálne zastúpenie stanovené aj v rizosfére klíčiacych rastlín pestovaných vo výsevnom substráte pred založením vegetačného črepníkového experimentu.

Z rizosféry jednotlivých rastlín bolo za sterilných podmienok odoberáť 10 g pôdy, ktoré boli následne rozsuspendované v 20 ml sterilného fyziologického roztoku (0,9 % NaCl). Pripravené suspenzie boli inkubované v teplovzdušnej trepačke počas 24 – 48 hodín pri teplote 27 °C a 170 rpm. Následne bolo pripravené desaťnásobné sériové riedenie v rozsahu 10^{-1} až 10^{-7} . Z vybraných riedení bolo 200 µl suspenzie naočkovaných rozterom na Petriho misky s TSA médiom. Kultivácia prebiehala pri teplote 27 °C počas 24 – 48 hodín. Na identifikáciu kultivovateľných mikroorganizmov bola použitá metóda hmotnostnej spektrometrie MALDI-TOF MS. Spôsob prípravy vzoriek prebiehal prostredníctvom extrakcie proteínov. Do eppendorfovej skúmavky bolo pridaných 300 µl sterilnej, destilovanej vody, v ktorej bol suspendovaný bakteriálny materiál. Do suspenzie bolo pridaných 900 µl etanolu. Následne bola vzorka scentrifugovaná pri maximálnych otáčkach 14 000 rpm na 2 min. Vzniknutý pelet bol vysušený pri laboratórnej teplote a v závislosti od jeho množstva bolo pridaných 10 – 40 µl 70 % kyseliny mravčej. Následne bol pridaný rovnaký objem 100 % acetonitrilu a vzorka bola opätovne centrifugovaná. Na oceľovú doštičku MALDI bol aplikovaný 1 µl supernatantu, ktorý sa prekryl 1 µl roztoku MALDI matrice (kyselina α -kyano-4-hydroxyškoricová). Po skryštalizovaní vzorky s matricou bola doštička vložená do prístroja MALDI-TOF MS a vzorky boli

následne analyzované.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Z doposiaľ spracovaných fáz sa nám podarilo identifikovať bohaté spektrum kultivovateľných mikroorganizmov. Tabuľka 1 dokumentuje identifikované izoláty z klíčiacej fázy. Tabuľka 2 zobrazuje kultivovateľné mikroorganizmy zachytené vo vegetatívnej fáze. Tabuľka 3 uvádza identifikované izoláty zachytené v kvitnúcej fáze. Súčasťou tabuliek je aj skóre zhody našej vzorky s referenčnou databázou prístroja.

Výsledky naznačujú, že v rizosfére rajčiaka pestovaného v substrátoch s prídavkom oboch analyzovaných kompostov bolo v skúmaných rastových fázach zaznamenané vyššie zastúpenie kultivovateľných mikroorganizmov v porovnaní s kontrolným variantom obsahujúcim čistú pôdu. Tento trend môže súvisieť s aplikáciou kompostov, ktorá vo všeobecnosti podporuje abundanciu pôdnych mikroorganizmov, čo je v súlade s výsledkami iných štúdií [8, 9]. Najčastejšie identifikovanými izolátmi v našom príspevku boli zástupcovia rodov *Pseudomonas* (*P. citronellolis*, *P. brassicacearum*, *P. chlororaphis*, *P. koreensis*, *P. putida*, *P. monteilii*) a *Bacillus* (*B. licheniformis*, *B. mycoides*, *B. cereus*). Tieto rody sú podľa literatúry najčastejšie izolované ako z priemyselného kompostu, tak aj z vermikompostu [10, 11, 12, 13].

Tab. 1: Identifikované izoláty z rizosféry rajčiaka jedlého počas klíčenia. Skóre získané prostredníctvom MALDI analýzy indikuje spoľahlivosť určenia izolátu

Typ substrátu	Rastová fáza	Skóre	Identifikovaný izolát
Výsevný substrát	Klíčiaca	2.02	<i>Bacillus licheniformis</i>
Výsevný substrát	Klíčiaca	2.18	<i>Brevundimonas vesicularis</i>
Výsevný substrát	Klíčiaca	1.70	<i>Castellaniella defragrans</i>
Výsevný substrát	Klíčiaca	2.17	<i>Corynebacterium ammoniagenes</i>
Výsevný substrát	Klíčiaca	1.86	<i>Metabacillus niabensis</i>
Výsevný substrát	Klíčiaca	2.45	<i>Micrococcus luteus</i>
Výsevný substrát	Klíčiaca	2.05	<i>Novosphingobium resinovorum</i>
Výsevný substrát	Klíčiaca	1.78	<i>Ochrobactrum intermedium</i>
Výsevný substrát	Klíčiaca	2.02	<i>Ochrobactrum tritici</i>
Výsevný substrát	Klíčiaca	1.91	<i>Peribacillus simplex</i>
Výsevný substrát	Klíčiaca	2.31	<i>Pseudomonas citronellolis</i>
Výsevný substrát	Klíčiaca	1.84	<i>Rhodococcus globerulus</i>

Tab. 2: Identifikované izoláty z rizosféry rajčiaka jedlého počas vegetatívnej fázy. Skóre získané prostredníctvom MALDI analýzy indikuje spoľahlivosť určenia izolátu

Typ substrátu	Rastová fáza	Skóre	Identifikovaný izolát
Priemyselný kompost	Vegetatívna	2.23	<i>Aeromonas encheleia</i>
Priemyselný kompost	Vegetatívna	2.05	<i>Aeromonas eucenophila</i>
Priemyselný kompost	Vegetatívna	2.02	<i>Mesobacillus zeae</i>
Priemyselný kompost	Vegetatívna	1.96	<i>Pseudomonas brassicacearum</i>
Priemyselný kompost	Vegetatívna	2.35	<i>Pseudomonas citronellolis</i>
Priemyselný kompost	Vegetatívna	2.29	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
Priemyselný kompost	Vegetatívna	2.25	<i>Pseudomonas koreensis</i>
Vermikompost	Vegetatívna	1.74	<i>Aeromonas veronii</i>
Vermikompost	Vegetatívna	2.23	<i>Bacillus mycoides</i>
Vermikompost	Vegetatívna	2.38	<i>Exiguobacterium artemiae</i>
Vermikompost	Vegetatívna	2.21	<i>Novosphingobium resinovorum</i>
Vermikompost	Vegetatívna	2.20	<i>Pseudomonas putida</i>
Kontrola (kambizem)	Vegetatívna	2.08	<i>Bacillus cereus</i>
Kontrola (kambizem)	Vegetatívna	2.09	<i>Pseudomonas monteilii</i>

Tab. 3: Identifikované izoláty z rizosféry rajčiaka jedlého počas kvitnutia. Skóre získané prostredníctvom MALDI analýzy indikuje spoľahlivosť určenia izolátu

Typ substrátu	Rastová fáza	Skóre	Identifikovaný izolát
Priemyselný kompost	Kvitnúca	2.27	<i>Agromyces mediolanus</i>
Priemyselný kompost	Kvitnúca	2.10	<i>Bacillus cereus</i>
Priemyselný kompost	Kvitnúca	1.97	<i>Cytobacillus horneckiae</i>
Priemyselný kompost	Kvitnúca	2.05	<i>Metabacillus idriensis</i>
Priemyselný kompost	Kvitnúca	2.31	<i>Micrococcus luteus</i>
Priemyselný kompost	Kvitnúca	2.03	<i>Solibacillus silvestris</i>
Priemyselný kompost	Kvitnúca	1.72	<i>Pseudarthrobacter scleromae</i>
Vermikompost	Kvitnúca	1.86	<i>Cytobacillus kochii</i>
Vermikompost	Kvitnúca	1.81	<i>Rheinheimera soli</i>
Kontrola (kambizem)	Kvitnúca	2.28	<i>Comamonas terrigena</i>
Kontrola (kambizem)	Kvitnúca	1.70	<i>Pseudomonas agarici</i>

Pre rast a vývin rajčiaka jedlého sú najdôležitejšie makroprvky ako dusík, fosfor a draslík, vápnik, horčík. Dusík je nevyhnutný pre silný vegetatívny rast, je kľúčovou zložkou enzýmov, vitamínov a chlorofylu. Taktiež podporuje skorý rast, napomáha vývoju kvetov a zabezpečuje plné dozrievanie plodov. Fosfor podporuje rast koreňov rajčiaka a tým prispieva k rýchlemu zakoreneniu rastliny bezprostredne po presadení alebo výseve. Draslík je nevyhnutný pre udržanie iónovej rovnováhy a vodného režimu v rastline. Prispieva k rýchlemu rastu paradajok a stimuluje skoré kvitnutie a tvorbu plodov. Vápnik je kľúčovou zložkou bunkovej štruktúry, je nevyhnutný pri prevencii hniloby plodov a zabezpečení ich správneho vývoja. Horčík je dôležitý pre fotosyntézu, podporuje syntézu chlorofylu a prenos energie /14, 15/.

Mnohí zástupcovia rodov *Bacillus* a *Pseudomonas* sú v odbornej literatúre spájaní s mechanizmami zvyšujúcimi dostupnosť živín v rizosfére, vrátane dusíka a draslíka, a tým môžu nepriamo podporovať rast a výživu rastlín /16, 17/.

Konkrétné *Pseudomonas putida*, *Bacillus licheniformis* a *Bacillus cereus* sú často uvádzané ako baktérie schopné solubilizovať draslík. Pri niektorých kmeňoch *B. cereus* bol zároveň zaznamenaný priaznivý vplyv na obsah dusíka, fosforu a draslíka v rastlinných pletivách /18, 19/.

ZÁVER

V rámci tohto príspevku sa nám podarilo pomocou metódy MALDI TOF MS identifikovať niekoľko zaujímavých izolátov z rizosféry rajčiaka jedlého, ktoré majú potenciál napomáhať rastu rastlín. Ide najmä o baktérie z rodu *Bacillus* a *Pseudomonas*. Tieto rody sa radia medzi najrozsiahlejšie študované prospešné mikroorganizmy, prítomné v rizosfére vďaka ich schopnosti produkovať metabolity podporujúce rast rastlín. K týmto vlastnostiam možno zaradiť produkciu fytohormónov, ako je kyselina indol-3-octová (IAA), rozpúšťanie fosfátov, produkciu siderofórov, ktoré zlepšujú príjem železa, a potláčanie fytopatogénov. Ich efektívna kolonizácia rizosféry a príspevok ku kolobehu živín ďalej podporujú vývoj rastlín a toleranciu voči stresu. Tieto poznatky poukazujú na potenciálny význam identifikovaných izolátov z hľadiska výživy rastlín; ich konkrétne rast podporujúce vlastnosti je však potrebné overiť ďalšími funkčnými analýzami.

LITERATÚRA

- /1/ Nicotra, D., Mosca, A., Dimaria, G., Tessitori, M., Vetukuri, R., Catara, V.: Temporal dynamics of the tomato rhizosphere microbiome in response to synthetic communities of plant growth-promoting rhizobacteria. *Scientific Reports*, 16, 2026: 7829
- /2/ Swamy, K.R.M.: Origin, Distribution, Taxonomy, Botanical Description, Genetic Diversity and Breeding of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *International Journal of Development Research*, 13, 2023: 62364–62387
- /3/ Ge, P., Zhang Y.: Genes, Genetics and Breeding of Tomato. *Horticulturae*, 9, 2023: 1208
- /4/ Cheng, Z., Lei, S., Li, Y., Huang, W., Ma, R., Xiong, J., Zhang, T., Jin, L., Ul Haq, H., Xu, X., Tian, B.: Revealing the variation and stability of bacterial communities in tomato rhizosphere microbiota. *Microorganisms*, 8, 2020: 170
- /5/ Nakayasu, M., Takamatsu, K., Yazaki, K., Sugiyama, A.: Plant specialized metabolites in the rhizosphere of tomatoes: secretion and effects on microorganisms. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 87, 2023: 13–20
- /6/ Cordovez, V., Rotoni, C., Dini-Andreote, F., Oyserman, B., Carrión, V., Raaijmakers, J. Successive plant growth amplifies genotype-specific assembly of the tomato rhizosphere microbiome, 772, 2021: 144825
- /7/ Yu, Y., Zhang, Q., Kang, J., Xu, N., Zhang, Z., Deng, Y., Gillings, M., Lu, T., Qian, H. Effects of organic fertilizers on plant growth and the rhizosphere microbiome. *Applied and Environmental Microbiology*, 90, 2024: 1–14
- /8/ LeBlanc, N. R., Harrigan, F.C.: Green Waste Compost Impacts Microbial Functions Related to Carbohydrate Use and Active Dispersal in Plant Pathogen-Infested Soil. *Microbial Ecology*, 87, 2024: 44
- /9/ Llimós, M., Segarra, G., Sancho-Adamson, M., Trillas, M., Romanyà, J.: Impact of Olive Saplings and Organic Amendments on Soil Microbial Communities and Effects of Mineral Fertilization. *Frontiers in Microbiology*, 12, 2021: 653027
- /10/ Mejia, G., Jara-Servin, A., Hernández-Álvarez, C., Romero-Chora, L., Peimbert, M., Cruz-Ortega, R., Alcaraz, L.: Rhizosphere microbiome influence on tomato growth under low-nutrient settings. *FEMS Microbiology Ecology*, 101, 2025: 1–13
- /11/ Vaikuntapu, P., Dutta, S., Samudrala, R., Rao, V., Kalam, S., Podile, A.: Preferential Promotion of *Lycopersicon esculentum* (Tomato) Growth by Plant Growth Promoting Bacteria Associated with Tomato. *Indian Journal of Microbiology*, 54, 2014: 403–412
- /12/ Partanen, P., Hultman, J., Paulin, L., Auvinen, P., Romantschuk, M.: Bacterial diversity at different stages of the composting process. *BMC Microbiology*, 10, 2010: 94

- /13/ Kováčik, P., Slamka, P., Varga, L., Kmeťová, M., Šalamún, P.: Vermikompostovanie, vermikompost a použitie vermikompostu samostatne a spolu s minerálnymi N hnojivami. *Agrochémia*, 2, 2018: 37–45
- /14/ Sainju, U., Dris, R., Singh, B.: Minerál nutrition of tomato. Agricultural Research Station, 2003
- /15/ Korob, S.: Role of Nutrients by Tomato Growth Stage. Tampa, FL, USA: YARA International ASA: 2026. <https://www.yara.us/crop-nutrition/tomato/role-of-nutrients-growth-stage/> (prístup: 6.8.2026).
- /16/ Dong, C., Wang, L., Li, Q., Shang, Q.: Bacterial communities in the rhizosphere, phyllosphere and endosphere of tomato plants. *PLoS ONE*, 14, 2019: 1–17
- /17/ Mekonnen, H., Kibret, M., Assefa, F., Kabtamer, N.: Potential of plant growth promoting rhizobacteria for enhancement of tomato growth. *Agrosystems, Geosciences and Environment*, 8, 2025: 1–10
- /18/ Nawaz, A., Qamar, Z., Marghoob, M., Imtiaz, M., Imran, A., Mubeen F.: Contribution of potassium solubilizing bacteria in improved potassium assimilation and cytosolic K⁺/Na⁺ ratio in rice (*Oryza sativa* L.) under saline-sodic conditions. *Frontiers in Microbiology*, 14, 2023: 1196024
- /19/ Raji, M., Thangavelu, M.: Isolation and screening of potassium solubilizing bacteria from saxicolous habitat and their impact on tomato growth in different soil types. *Archives of Microbiology*, 203, 2021: 3147–3161

Pod'akovanie

Táto práca bola podporená Univerzitnou grantovou agentúrou Univerzity Mateja Bela v Banskej Bystrici v rámci projektu UGA-06-DS-2026 : „Vplyv kompostov na bakteriálne spoločenstvá a produkciu kyseliny indol-3-octovej (IAA) v rizosfére rajčiaka jedlého (*Solanum lycopersicum* L.)“ a Agentúrou pre kultúru a vzdelávanie Slovenskej republiky (KEGA) v rámci projektu č. 015UMB-4/2025.

ALTERNATIVNÍ ZPŮSOBY PĚSTOVÁNÍ ROSTLIN V PODMÍNKÁCH MĚNÍCÍHO SE KLIMATU

ALTERNATIVE METHODS OF CROP CULTIVATION IN A CHANGING CLIMATE

Radka Podlipná, Šárka Petrová, Petr Soudek

Ústav experimentální botaniky AVČR v.v.i. Rozvojová 263, Praha 6

Summary

Hydroponic cultivation enables precise control of plant nutrition, while the composition of the nutrient solution can substantially affect plant growth and physiological characteristics. The aim of this study was to compare the effects of two nutrient solutions on the growth and selected physiological parameters of six lettuce cultivars (*Lactuca sativa* L.) cultivated in the Urbi hydroponic system. Two successive cultivation experiments were performed. In the first experiment (F1), a standard fertilizer mixture based on Numazon Base and Numazon G1 was used, whereas in the second experiment (F2), a seaweed-based fertilizer (Liquid Seaweed) was applied. Fresh weight of leaves and roots, mineral element composition, chlorophyll fluorescence, and photosynthetic pigment contents were evaluated. Plants grown in F2 exhibited markedly lower leaf and root biomass than plants grown in F1. The nutrient solution used in F2 contained lower concentrations of several essential nutrients, particularly micronutrients, while substantially higher concentrations of sodium and phosphorus were detected. Chlorophyll fluorescence values were similar between the two treatments, although both groups showed values below the level considered optimal for unstressed plants. In contrast, plants grown in F1 exhibited higher concentrations of chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids. The results indicate that the composition of the nutrient solution strongly affected lettuce growth and pigment content and highlight the importance of balanced nutrient composition in hydroponic cultivation.

Key words: hydroponics, nutrient solution, lettuce, seaweed fertilizer, plant growth, chlorophyll fluorescence

Souhrn

Hydroponické pěstování umožňuje přesnou regulaci výživy rostlin, přičemž složení živného roztoku může výrazně ovlivnit růst rostlin a jejich fyziologické vlastnosti. Cílem této studie bylo porovnat vliv dvou živných roztoků na růst a vybrané fyziologické parametry šesti odrůd salátu (*Lactuca sativa* L.) pěstovaných v hydroponickém systému Urbi. Byly provedeny dva po sobě jdoucí pěstitelské experimenty. V prvním experimentu (F1) byla použita standardní směs hnojiv na bázi přípravků Numazon Base a Numazon G1, zatímco ve druhém experimentu (F2) bylo použito hnojivo na bázi mořských řas (Liquid Seaweed). Byla hodnocena čerstvá hmotnost listů a kořenů, složení minerálních prvků, fluorescence chlorofylu a obsah fotosyntetických pigmentů. Rostliny pěstované v F2 vykazovaly výrazně nižší biomasu listů a kořenů než rostliny pěstované v F1. Živný roztok použitý v F2 obsahoval nižší koncentrace několika esenciálních živin, zejména mikroživin, zatímco byly zjištěny podstatně vyšší koncentrace sodíku a fosforu. Hodnoty fluorescence chlorofylu byly u obou ošetření podobné, ačkoli obě skupiny vykazovaly hodnoty pod úrovní považovanou za opti-

mální pro rostliny bez stresu. Naopak rostliny pěstované v F1 vykazovaly vyšší koncentrace chlorofylu a, chlorofylu b a karotenoidů. Výsledky naznačují, že složení živného roztoku mělo výrazný vliv na růst salátu a obsah pigmentů, a zdůrazňují význam vyváženého složení živin v hydroponickém pěstování.

Klíčová slova: hydroponie, živný roztok, salát, hnojivo z mořských řas, růst rostlin, fluorescence chlorofylu

ÚVOD

Hydroponie představuje způsob pěstování rostlin bez půdy, při kterém jsou rostlinám potřebné živiny dodávány prostřednictvím vodného živného roztoku. Rostliny mohou být pěstovány přímo v živném roztoku nebo v bezpůdním pěstebním médiu, které zajišťuje mechanickou oporu kořenového systému. Hydroponické a další bezpůdní systémy umožňují přesnější kontrolu dostupnosti vody a minerálních živin a poskytují možnost regulovat podmínky v kořenové zóně nezávisle na vlastnostech půdy /1,2/.

Hydroponické systémy lze podle způsobu nakládání s živným roztokem rozdělit na otevřené (necirkulační) a uzavřené (cirkulační) systémy. V otevřených systémech není živný roztok po průchodu kořenovou zónou znovu využíván, zatímco v uzavřených systémech je zachycován, upravován a recirkulován zpět k rostlinám. Recirkulace může významně zvyšovat efektivitu využití vody a živin a současně omezovat jejich ztráty do prostředí. Na druhou stranu vyžaduje průběžné sledování a regulaci složení živného roztoku, protože jednotlivé živiny jsou rostlinami přijímány v rozdílné míře a jejich koncentrace i vzájemné poměry se během kultivace mění.

Významnou předností hydroponie je možnost pěstovat plodiny v kontrolovaném prostředí s efektivním využitím prostoru, vody a živin. Tyto vlastnosti podporují využití hydroponických systémů zejména pro produkci zeleniny, bylin a dalších plodin s krátkým produkčním cyklem. Současně umožňuje kontrolované pěstební prostředí regulovat podmínky ovlivňující růst, výnos a kvalitu produkce. Hydroponie proto představuje významnou technologii bezpůdního pěstování, zejména v oblastech charakterizovaných omezenou dostupností zemědělské půdy nebo vody

Základem hydroponického systému je živný roztok, který musí poskytovat rostlinám všechny esenciální minerální prvky v odpovídajících koncentracích a chemických formách. Mezi makroelementy patří dusík (N), fosfor (P), draslík (K), vápník (Ca), hořčík (Mg) a síra (S), zatímco železo (Fe), mangan (Mn), zinek (Zn), měď (Cu), bór (B), molybden (Mo), chlor (Cl) a nikl (Ni) jsou potřebné v menších množstvích. Dostupnost jednotlivých prvků však není určena pouze jejich celkovou koncentrací, ale také chemickými procesy probíhajícími v živném roztoku, zejména rozpouštěním a precipitací, dále pH, chemickou formou prvků a jejich vzájemnými interakcemi a kompeticí při příjmu rostlinou /3/.

Složení a stabilita živného roztoku proto představují klíčové faktory ovlivňující růst, vývoj a kvalitu hydroponicky pěstovaných rostlin. Tradiční kontrola živného roztoku založená především na měření elektrické vodivosti nemusí vždy přesně odrážet koncentrace jednotlivých iontů, protože různé živiny jsou rostlinami rozdílnou rychlostí. Moderní přístupy proto využívají také sledování jednotlivých iontů, modelování spotřeby živin a senzorové technologie s cílem optimalizovat dávkování živin a prodlužovat dobu

efektivní recirkulace živného roztoku /4/.

Přes své výhody však hydroponické systémy představují také specifické pěstitelské výzvy. Vzhledem k přímému kontaktu kořenů s živným roztokem mohou změny jeho chemických a fyzikálních vlastností rychle ovlivnit dostupnost živin a fyziologický stav rostlin. Zvláštní pozornost proto vyžaduje kontrola pH, koncentrace živin, elektrické vodivosti, teploty a okysličení kořenové zóny. V recirkulačních systémech navíc mohou změny koncentrací jednotlivých iontů, jejich vzájemné interakce a případné hromadění některých složek ovlivňovat nutriční rovnováhu systému. Efektivní řízení živného roztoku je proto zásadní pro stabilitu kořenového prostředí, optimální příjem živin a dosažení vysoké produktivity a kvality produkce /5/.

MATERIÁL A METODA

Experimentálně Hydroponický systém Urbi firmy GreenVille Tech s.r.o. byl instalován v Laboratoři rostlinných biotechnologií ÚEB AV ČR na konci srpna 2025. Jedná se o cirkulační hydroponický systém typu Deep Water Culture (DWC), v němž jsou kořeny rostlin ponořeny v provzdušňovaném živném roztoku. Výška zařízení je 188,8 cm, šířka 160,6 cm a hloubka 81,6 cm. Pěstební plocha je rozdělena do 6 polic s 39 otvory pro usazení grodanů se semeny. Systém obsahuje šest pěstebních polic a celkový objem cirkulujícího živného roztoku je přibližně 260 l. Rostliny byly pěstovány pod LED osvětlením. V experimentu bylo použito šest odrůd hlávkového salátu (*Lactuca sativa* L.) – Scamander, Kimani, Lamarre, Bonarda, Sungari a Gibbard (Obr.1).



Obr. 1. Hydroponický systém Urbi firmy GreenVille Tech s.r.o.

Experiment zahrnoval dvě po sobě následující výsadby. První experiment (FARMA 1) byl založen 29. 8. 2025 a rostliny byly sklizeny 13. 10. 2025. Druhý experiment (FARMA 2)

byl založen 23. 10. 2025 a sklizeň proběhla 9. 12. 2025.

V experimentu „FARMA 1“ byla použita standardní směs hnojiv Numazon Base a Numazon G1 běžně používaná v hydroponických systémech firmy GreenVille Tech s.r.o. V experimentu „FARMA2“ bylo použito hnojivo Liquid Seaweed na bázi extraktu z mořských řas. Obě hnojiva byla poskytnuta společně s hydroponickým systémem.

U rostlin byly hodnoceny parametry růstu, minerální složení, fluorescence chlorofylu a obsah fotosynteticky aktivních pigmentů. Po sklizni byla stanovena čerstvá hmotnost listů a kořenů. Následně byly vzorky lyofilizovány a zváženy.

Fotosyntetická aktivita byla hodnocena pomocí fluorescence chlorofylu přístrojem FluorPen 100. Jako indikátor funkčního stavu fotosystému II byla sledována hodnota F_v/F_m .

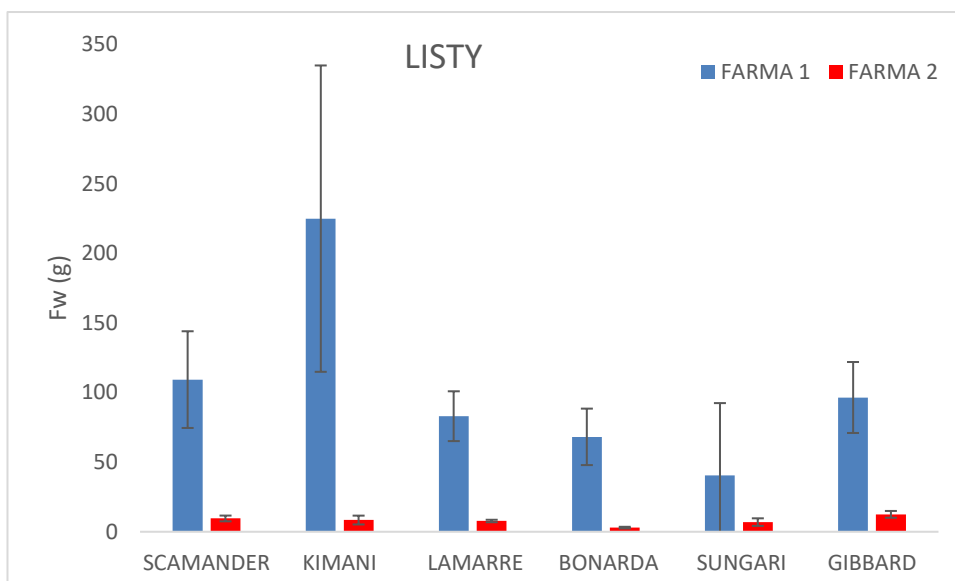
Obsah chlorofylu a, chlorofylu b a karotenoidů byl stanoven spektrofotometricky dle [6].

Prvkové složení jak živného roztoku, tak rostlinného materiálu, bylo analyzováno pomocí ICP-OES. Mineralizace rostlinných vzorků probíhala v mikrovlnném rozkladném systému Anthon PAAR Multiwave PRO35.

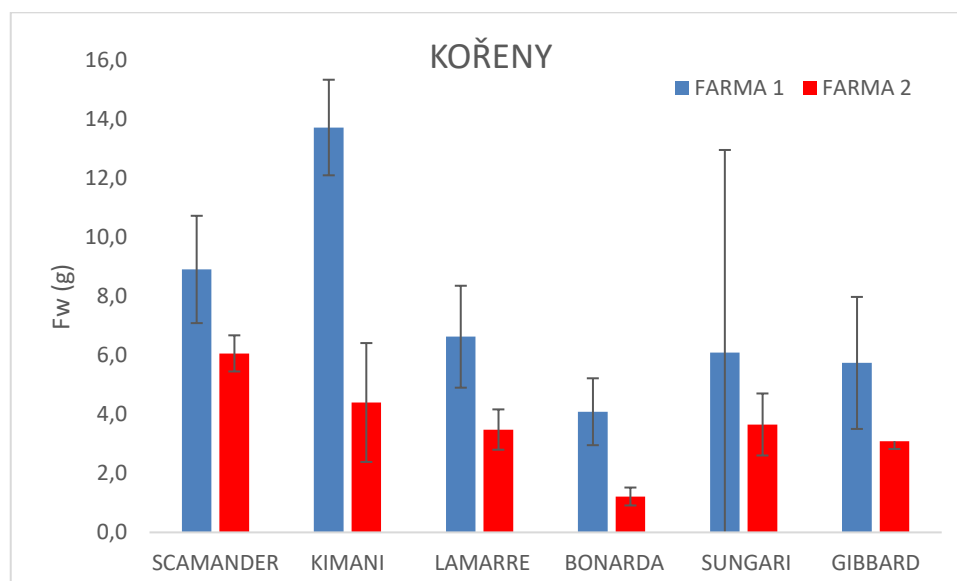
VÝSLEDKY A DISKUSE

Růst rostlin

Použitý typ živného roztoku výrazně ovlivnil růst rostlin. Průměrná čerstvá hmotnost listů byla u rostlin v podmínkách FARMA 2 (F2) výrazně nižší než u rostlin z FARMA 1 (F1). Rozdíl byl patrný u všech sledovaných odrůd. Hmotnost kořenů vykazovala mezi experimenty menší rozdíl, přesto byla v F1 přibližně dvojnásobná oproti F2 (Obr. 2). Výsledky tak naznačují výrazně negativní vliv hnojiva Liquid Seaweed na produkci listové biomasy.



Obr. 2. Průměrná čerstvá hmotnost rostlin (FW) po skončení experimentu (6 týdnů).



Obr. 2. Průměrná čerstvá hmotnost rostlin (FW) po skončení experimentu (6 týdn)

Minerální složení živných roztoků

Výrazné rozdíly mezi oběma variantami byly zjištěny ve složení živných roztoků. Zatímco průměrná koncentrace většiny makroprvků v F1 odpovídala doporučeným hodnotám, u F2 byly koncentrace řady esenciálních živin výrazně nižší (Tab.1). Výrazný rozdíl byl pozorován také u mikroprvků, zejména u železa, jehož koncentrace byla v F1 podstatně vyšší než v F2. Současně byly v F2 zaznamenány výrazně vyšší koncentrace sodíku a fosforu. Nízká dostupnost některých esenciálních prvků (Fe), zejména mikroprvků (Cu, Zn, Mn), se projevila i v jejich obsahu v listech (Tab. 2) a přispěla tak k omezenému růstu rostlin F2. Také neobvykle vysoké koncentrace sodíku v médiu vedly k narušení iontové rovnováhy a k sníženému příjmu draslíku (Tab. 2). Na a K mají podobné fyzikálně-chemické vlastnosti a při zvýšené koncentraci Na může docházet k omezení příjmu K, poruchám regulace průduchů, následnému snížení fotosyntézy a růstu [7].

Tab. 1. Průměrná hodnota obsahu (z 10 odběrů během pěstebního cyklu) jednotlivých prvků v živném roztoku ve srovnání s doporučenými hodnotami.

mg/L	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	S	Zn
Doporučená hodnota (mg/l)	150–180	0,05	2,0–3,0	200–250	40–50	0,5	0–20	30–40	50–70	0,05–0,1
FARMA 1	132.14	0.13	3.04	124.06	33.59	0.32	18.69	32.33	79.49	0.35
FARMA 2	58.65	0.02	0.08	116.56	23.71	0.02	51.33	81.54	39.04	0.04

Fluorescence chlorofylu

Průměrné hodnoty fluorescence chlorofylu Fv/Fm byly v obou experimentech podobné a nižší než hodnota přibližně 0,83 uváděná pro optimálně fungující fotosystém II. Obě skupiny rostlin tedy vykazovaly známky mírného stresu, avšak mezi použitými živnými roztoky nebyl v tomto parametru výrazný rozdíl.

Tab. 2 Obsah minerálních prvků v listech (mg/g DW)

FARMA 1

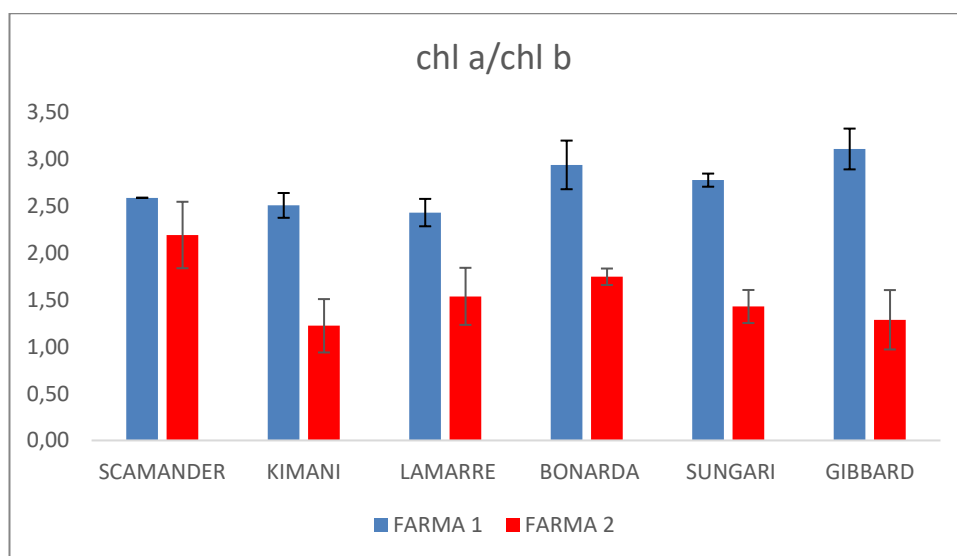
	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	S	Zn
SCAMANDER	7.818	0.019	0.114	39.955	2.286	0.231	0.917	9.176	2.953	0.071
KIMANI	10.623	0.020	0.120	43.940	3.082	0.174	1.043	10.973	3.177	0.077
LAMARRE	14.773	0.020	0.160	33.699	4.273	0.238	1.080	10.126	3.268	0.068
BONARDA	10.306	0.016	0.147	38.178	2.905	0.138	0.797	12.236	3.204	0.072
SUNGARI	10.110	0.016	0.129	52.745	2.778	0.198	0.745	9.172	2.793	0.051
GIBBARD	7.616	0.015	0.111	56.055	2.668	0.145	0.558	13.039	3.388	0.059
průměr	10.208	0.018	0.130	44.096	2.999	0.187	0.857	10.787	3.130	0.066

FARMA 2

	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	S	Zn
SCAMANDER	11.910	0.012	0.084	31.465	2.343	0.164	3.340	5.599	1.347	0.089
KIMANI	8.833	0.012	0.055	21.877	1.967	0.110	2.526	4.106	0.983	0.054
LAMARRE	11.523	0.012	0.077	23.329	2.581	0.108	3.428	4.655	1.187	0.056
BONARDA	8.373	0.011	0.089	22.906	1.385	0.061	3.197	3.400	1.086	0.031
SUNGARI	8.836	0.011	0.086	32.498	2.051	0.083	3.093	4.639	1.110	0.047
GIBBARD	6.279	0.012	0.084	21.398	1.236	0.056	2.181	4.113	1.020	0.030
průměr	9.292	0.012	0.079	25.579	1.927	0.097	2.961	4.419	1.122	0.051

Fotosyntetické pigmenty

Na rozdíl od fluorescence chlorofylu byly mezi variantami zjištěny výrazné rozdíly v obsahu fotosynteticky aktivních pigmentů. Rostliny pěstované v F1 vykazovaly vyšší koncentrace chlorofylu a, chlorofylu b i karotenoidů než rostliny v F2. Nejvýraznější rozdíl byl pozorován u karotenoidů. Zhoršený fyziologický stav rostlin v experimentu F2 je velmi dobře patrný z poměru chlorofylu a ku chlorofylu b (Obr. 3). Výsledky tak ukazují, že složení živného roztoku mohlo významně ovlivnit pigmentové složení listů, přestože rozdíly ve fluorescenci chlorofylu byly mezi oběma variantami relativně malé.



Obr. 3. Poměr chlorofylu a ku chlorofylu b jako indikátor fyziologického stavu rostlin.

ZÁVĚR

Výsledky ukázaly, že složení živného roztoku výrazně ovlivnilo růst a některé fyziologické charakteristiky hydroponicky pěstovaného salátu. Standardní minerální hnojivo

použité v F1 poskytovalo vhodnější podmínky pro tvorbu listové a kořenové biomasy a bylo spojeno s vyšším obsahem chlorofylu a a b a karotenoidů. Naproti tomu hnojivo na bázi mořských řas použité v F2 se vyznačovalo nízkými koncentracemi řady esenciálních živin a současně zvýšeným obsahem sodíku. Fluorescence chlorofylu však mezi oběma variantami nevykazovala výrazné rozdíly. Výsledky tak potvrzují význam komplexního hodnocení živného roztoku, protože samotná celková koncentrace živin nebo jediný indikátor fyziologického stavu nemusí dostatečně charakterizovat vhodnost živného roztoku pro hydroponickou produkci.

LITERATURA

- /1/ Sambo, P., C. Nicoletto, A. Giro, Y. Pii, F. Valentinuzzi, T. Mimmo, P. Lugli, G. Orzes, F. Mazzetto, S. Astolfi, R. Terzano and S. Cesco (2019). "Hydroponic Solutions for Soilless Production Systems: Issues and Opportunities in a Smart Agriculture Perspective." *FRONTIERS IN PLANT SCIENCE* **10**.
- /2/ Phornvillay, S., S. Yodsarn, J. Oonsrithong, V. Srilaong and N. Pongprasert (2022). "A Novel Technique Using Advanced Oxidation Process (UV-C/H₂O₂) Combined with Micro-Nano Bubbles on Decontamination, Seed Viability, and Enhancing Phytonutrients of Roselle Microgreens." *HORTICULTURAE* **8**(1).
- /3/ Rajaseger, G., K. L. Chan, K. Yee Tan, S. Ramasamy, M. C. Khin, A. Amaladoss and P. Kadamb Haribhai (2023). "Hydroponics: current trends in sustainable crop production." *Bioinformation* **19**(9): 925-938.
- /4/ Fathidarehnijeh, E., M. Nadeem, M. Cheema, R. Thomas, M. Krishnapillai and L. Galagedara (2024). "Current perspective on nutrient solution management strategies to improve the nutrient and water use efficiency in hydroponic systems." *CANADIAN JOURNAL OF PLANT SCIENCE* **104**(2): 88-102.
- /5/ Abdelhamid, M., S. Mahmoud, M. El-Nasr, Z. Zhang and Z. Hendy (2025). "Sustainable hydroponic production using solar energy and treated greywater within the water-energy-food-environment nexus." *SCIENTIFIC REPORTS* **15**(1).
- /6/ Lichtenthaler, H. K. (1987). "CHLOROPHYLLS AND CAROTENOIDS - PIGMENTS OF PHOTOSYNTHETIC BIOMEMBRANES." *Methods in Enzymology* **148**: 350-382.
- /7/ Adams, E. and R. Shin (2014). "Transport, signaling, and homeostasis of potassium and sodium in plants." *JOURNAL OF INTEGRATIVE PLANT BIOLOGY* **56**(3): 231-249.

Poděkování

Tato práce vznikla za podpory grantu MŠMT INTER-COST No. LUC25047v rámci projektu COST Action CA22157. Poděkování patří též firmě GreenVille Tech s.r.o.za poskytnutí hydroponického systému k vědeckým účelům.

SELECTED PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF *THYMUS SERPYLLUM* UNDER THE INFLUENCE OF DIFFERENT SUBSTRATE TYPES IN THE EXPERIMENTAL SYSTEM

FYZIOLOGICKÁ ODEZVA *THYMUS SERPYLLUM* NA RŮZNÉ TYPY PĚSTEBNÍCH SUBSTRÁTŮ

Alina Stachurska-Swakoń¹, Józef Mitka¹, Stefan Gawroński¹, Beata Barabasz-Krasny⁴, Anna Bojarczuk², Łukasz Jelonkiewicz², Robert Konieczny¹, Katarzyna Kustra¹, Marta Libik-Konieczny³, Piotr Osyczka¹, Agnieszka Rajwa-Kuligiewicz², Mateusz Stolarczyk², Mirosław Żelazny²

¹ Jagiellonian University, Faculty of Biology, Institute of Botany, Kraków, Poland, e-mail: alina.stachurska-swakon@uj.edu.pl

² Jagiellonian University, Faculty of Geography and Geology, Institute of Geography and Spatial Management, Kraków, Poland

³ The Franciszek Górski Institute of Plant Physiology, Polish Academy of Sciences, Kraków, Poland

⁴ University of the National Education Commission, Kraków, Poland

Summary

Thymus serpyllum L. (*Lamiaceae*) is a low, prostrate subshrub native to Europe and Siberia. It is a characteristic species of *Koelerio-Corynephoretea psammophilous* grasslands. It is also found in open pine and birch forests, as well as on dry, sandy slopes and roadsides. This small shrub can form dense mats reaching heights of 10–30 cm. Its tiny, two-lipped flowers form dense, head-like inflorescences ranging in color from pink to lilac. It is also characterized by a relatively long flowering period, blooming in July and August. Due to its ease of cultivation, it is recommended for home gardens, serving effectively as a groundcover and a plant that attracts pollinators. Given its wide range of potential uses, selected physiological parameters associated with cultivating *Thymus serpyllum* on various substrates were investigated. Under controlled laboratory conditions - maintaining constant lighting and watering - different growing substrates based on marble, brick, and expanded clay were tested. Plant condition was assessed by measuring selected indicators of photosynthetic activity (content of photosynthetic pigments, selected Chlorophyll a fluorescence parameters characterizing PSII functionality) and oxidative stress (e.g., 2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl, malondialdehyde, H₂O₂) as well as mineral content (in both plants and substrates) and biomass allocation. Our results indicate that *Thymus serpyllum* exhibits high physiological plasticity linked to high photosystem efficiency. Flavonoid and anthocyanin production plays only a minor role in the plant's response to environmental stress. Among the parameters studied, MDA proved to be the best indicator of stress for wild thyme. Based on our research, *Thymus serpyllum* can be recommended for home gardens planting due to its low maintenance requirements and high adaptability.

Keywords: wild thyme; growing substrate; physiological plasticity; chlorophyll, fluorescence; oxidative stress; malondialdehyde

Souhrn

Thymus serpyllum L. (*Lamiaceae*) je nízký, poléhavý polokeř původem z Evropy a Sibiře. Je

charakteristickým druhem psamofilních trávníků třídy *Koelerio-Coryneporetea*. Vyskytuje se také ve světlých borových a březových lesích, na suchých písčitých svazích a podél cest. Tento drobný polokeř může vytvářet husté porosty dosahující výšky 10–30 cm. Drobné, dvoupyské květy vytvářejí hustá, hlávkovitá květenství růžové až šeríkové barvy. Druh se vyznačuje také poměrně dlouhou dobou kvetení, která připadá na červenec a srpen. Vzhledem ke snadnému pěstování je doporučován pro výsadby v zahradách, kde může sloužit jako půdopokryvná rostlina a současně jako rostlina atraktivní pro opylovače. Vzhledem k širokým možnostem využití byly hodnoceny vybrané fyziologické parametry související s pěstováním *Thymus serpyllum* na různých typech substrátů. V kontrolovaných laboratorních podmínkách, při konstantním osvětlení a závlaze, byly testovány různé pěstební substráty na bázi mramoru, cihelného materiálu a keramzitu. Stav rostlin byl hodnocen na základě vybraných ukazatelů fotosyntetické aktivity (obsahu fotosyntetických pigmentů a vybraných parametrů fluorescence chlorofylu a charakterizujících funkci fotosystému II – PSII), ukazatelů oxidačního stresu (např. 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl – DPPH, malondialdehyd – MDA a H_2O_2), obsahu minerálních prvků v rostlinách i substrátech a distribuce biomasy. Výsledky ukazují, že *Thymus serpyllum* vykazuje vysokou fyziologickou plasticitu spojenou s vysokou účinností fotosystému. Produkce flavonoidů a antokyanů hraje v reakci rostlin na environmentální stres pouze menší úlohu. Ze sledovaných parametrů se jako nejvhodnější indikátor stresu u mateřídoušky úzkolisté ukázal obsah MDA. Na základě získaných výsledků lze *Thymus serpyllum* doporučit pro výsadby v zahradách vzhledem k nízkým nárokům na péči a vysoké adaptační schopnosti.

Klíčová slova: Thymus serpyllum; pěstební substrát; fyziologická plasticita; fluorescence chlorofylu a; oxidační stres; malondialdehyd

Acknowledgements

The research has been supported by a grant from the Priority Research Area (Campus Living Lab. Useful Research HUB) under the Strategic Programme Excellence Initiative at the Jagiellonian University.

THE ROOT CELL WALL MODIFICATION OF DROUGHT-STRESSED MAIZE BY PLANT GROWTH-PROMOTING YEAST

MODIFIKÁCIA BUNKOVEJ STENY KUKURICE STRESOVANEJ SUCHOM POMOCOU RAST PODPORUJÚCICH KVASINIEK

Kristína Holeková, Eva Labancová, Marko Bajus, Danica Kučerová, Zuzana Vivodová
Department of Glycobiotechnology, Institute of Chemistry of Slovak Academy of Sciences,
Dúbravská cesta 5807/9, 845 38 Bratislava, Slovakia, kristina.siposova@savba.sk

Summary

Plant growth-promoting yeasts (PGPY) are promising biostimulants that enhance plant growth and improve tolerance to abiotic stress. The plant cell wall plays a significant role in drought adaptation through structural and compositional modifications that help maintain cellular integrity. This study focuses on the effects of PGPY on cell wall modifications in drought-stressed maize (*Zea mays* L.) grown in soil for 21 days. We found that the total carbohydrate content was higher in drought-stressed plants than in control plants, whereas it decreased in the yeast + drought treatment. Next, the lignin content was elevated in all treatments compared to the control. The protein content did not change across treatments, whereas both drought stress and yeast application affected calcium content. Understanding these interactions may help develop sustainable biostimulant-based strategies to improve crop resilience under water-deficit conditions.

Key words: biostimulant, cell wall, drought, maize, yeast

Souhrn

Kvasinky podporujúce rast rastlín (z angl. PGPY) sa javia ako perspektívne biostimulanty, ktoré zlepšujú rast rastlín a zvyšujú ich odolnosť voči stresu. Bunková stena zohráva dôležitú úlohu pri adaptácii rastlín na stres zo sucha, a to prostredníctvom zmien v jej štruktúre a zložení, ktoré prispievajú k zachovaniu bunkovej integrity. V práci sa zameriavame na vplyv PGPY na zmeny bunkovej steny kukurice satej (*Zea mays* L.) pestovanej v pôde 21 dní a vystavenej suchu. Celkový obsah sacharidov sa zvýšil v rastlinách vystavených suchu v porovnaní s kontrolou, zatiaľ čo kvasinka + sucho ho znížili. Obsah lignínu sa zvýšil vo všetkých variantoch v porovnaní s kontrolou. V obsahu proteínov sme nezistili preukazné zmeny, avšak sucho aj aplikácia kvasinky ovplyvnili obsah vápnika (Ca). Objasnenie týchto interakcií môže prispieť k rozvoju udržateľných stratégií poľnohospodárstva s využitím biostimulantov, ktoré by mohli zlepšiť odolnosť rastlín voči stresu zo sucha.

Kľúčové slová: bunková stena, biostimulant, kukurica, kvasinka, sucho

INTRODUCTION

Drought stress is one of the most severe environmental constraints limiting agricultural productivity. The increasing frequency and intensity of drought events, driven by climate change and irregular precipitation patterns, pose a major threat to global food safety /1/. Water deficit adversely affects plant growth, development, and metabolism, leading to significant reductions in crop yield and quality. In agronomic systems, drought stress disrupts physiological processes, including photosynthesis, nutrient uptake, stomatal regulation, and cellular homeostasis, impairing plant performance during critical developmental stages /2/.

In recent years, the application of plant growth-promoting microorganisms (PGPM) has emerged as a promising, eco-friendly approach to mitigate abiotic stress in crops. These beneficial microorganisms enhance plant growth and stress tolerance through multiple

mechanisms, including phytohormone production, nutrient solubilization, osmolyte accumulation, activation of antioxidant systems, and modulation of stress-responsive pathways /3/. While bacterial and fungal biostimulants have been extensively studied, increasing attention has been directed toward plant growth-promoting yeasts (PGPY) due to their adaptability, metabolic diversity, and ability to colonise plant-associated environments. Yeasts can produce biologically active compounds, such as indole-3-acetic acid, siderophores, and volatile organic compounds, which enhance plant growth and improve tolerance to environmental stresses, including drought. Moreover, yeast-based biostimulants represent a sustainable alternative to chemical inputs and are currently gaining importance in climate-smart agriculture /4/.

One of the critical targets of drought-induced damage and adaptation in plants is the cell wall. The plant cell wall is a dynamic, highly organised structure composed primarily of cellulose, hemicelluloses, pectins, structural proteins, and lignin. Beyond providing mechanical support and maintaining cell shape, the cell wall plays a significant role in stress perception, signalling, water regulation, and cellular protection under adverse environmental conditions /5/. Drought stress can alter cell wall composition, architecture, and mechanical properties, thereby influencing cell expansion, tissue elasticity, and plant survival. Alterations such as increased lignification and changes in pectin methylation, remodelling of hemicellulose networks, and modifications in cellulose organisation are considered important adaptive responses that help maintain cellular integrity during water deficit /6/.

Understanding cell wall modifications under drought stress is essential for elucidating the mechanisms of plant adaptation and resilience. Furthermore, interactions between plants and beneficial microorganisms may influence cell wall remodelling processes, thereby enhancing drought tolerance. Despite growing interest in microbial biostimulants, the effects of PGPY on maize cell wall dynamics under drought conditions remain unknown.

The present study focuses on the cell wall modifications in drought-stressed maize plants grown in soil for 21 days in response to treatment with PGPY. By examining structural and compositional changes in maize cell walls under drought stress, this work aims to contribute to a deeper understanding of yeast-mediated drought-adaptation mechanisms and their potential application in sustainable agriculture.

MATERIALS AND METHODS

The maize grains (*Zea mays* L., hybrid Luciana) were surface sterilised in ethanol and rinsed under running distilled water. Next, the grains were immersed in a yeast suspension at the selected concentration, chosen based on our unpublished results (the yeast genus and concentration used are unspecified due to the patent-protected material). The yeast strain was obtained from the Culture Collection of Yeasts (CCY) at the Institute of Chemistry, SAS, Bratislava, Slovakia. The grains were placed in a standard horticultural substrate with precisely defined field water capacity and subjected to control and drought conditions. The conditions of cultivation were as follows: temperature of 25/20 °C, photoperiod of 16 h light/8 h dark, photosynthetic photon flux of 350 photons $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, and 40% air humidity. The plants were either well-watered (70% field water capacity – optimal water content for maize /7/) or watered to simulate drought (35% of field water capacity). The drought treatments were regularly monitored by a gravimetric method. The pots were irrigated to a constant weight corresponding to the monitoring treatments (control, drought, control + yeast, drought + yeast), and after 21 days of cultivation, the roots were harvested and thoroughly cleaned of soil. Afterwards, the roots were dried at 50 °C for 3 days. The dried roots (10 g) were hydrated in distilled water and homogenised using an X-press (at -40 °C, 100 kPa). The material was then filtered through Miracloth and lyophilised. The crude cell walls were cleared from long fatty acids in the Soxhlet apparatus using chloroform:methanol (ratio 2:1, 4 h), then suspended in 50 mM phosphate buffer containing 0.5% α -amylase (at ambient

temperature, 24 h). The next day, for the deactivation of α -amylase, the suspension was heated to 100 °C (10 min) and filtered through glass Frit S4. The material was then dialysed and lyophilised again. The crude cell walls were characterised by total carbohydrate content, Klason lignin content, insoluble protein content, and calcium (Ca) content. The completed method of cell wall isolation and purification, as well as methods for cell wall characterisation, is illustrated in our previously published papers [8,9]. The obtained data were evaluated for differences among individual experimental groups using one-way ANOVA followed by Tukey's test.

RESULTS AND DISCUSSION

The drought stress, as well as yeast application, significantly affected the total carbohydrate content in maize root cell walls (Fig. 1). In drought-stressed plants, the content was increased by 29.7% when compared to control plants. However, in the drought + yeast treatment, it decreased by 18.3% compared with drought stress alone. No significant differences were observed between yeast treatment and control plants. The increase in total carbohydrate content under drought stress may be explained by the accumulation of soluble sugars and structural carbohydrates as part of the plant defence response. Under water deficit, maize plants often accumulate carbohydrates that function as osmoprotectants, helping to maintain cell turgor, stabilise membranes, and protect cellular structures against dehydration and oxidative damage [10]. In contrast, the decrease in total carbohydrate content after yeast application under drought stress indicates that the biostimulant alleviated the intensity of stress. Yeast treatment might improve water status, nutrient availability, and antioxidant defence, thereby reducing the need for excessive carbohydrate accumulation as an osmotic adjustment mechanism [11]. Furthermore, improved metabolic activity in yeast-treated plants could promote carbohydrate utilisation for growth and recovery rather than storage or stress protection.

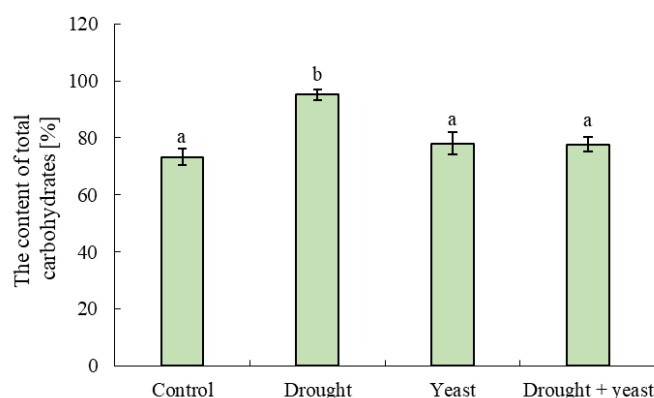


Fig. 1: The content of total carbohydrates in the maize (*Zea mays* L.) root cell walls. Different letters denote statistically significant differences between treatments at $p \leq 0.05$; values represent means $\pm$ standard errors.

The Klason lignin content increased in all treatments compared with control plants (Fig. 2). The largest increase was observed in drought-stressed plants (26.7%). In the treatment of drought + yeast, Klason lignin content decreased by 12.3% compared to drought-stressed plants. Enhanced lignification under drought stress is commonly associated with reduced cell wall permeability, increased mechanical stability, and protection against oxidative damage from reactive oxygen species [12]. Increased lignin deposition may help maintain cellular integrity under dehydration stress. These results are consistent with the study [13], which reported higher lignin accumulation, paralleled by increased peroxidase activity in wheat

(*Triticum aestivum* L.) exposed to drought. Also, lignin accumulation under stress conditions can improve the structural integrity and cell wall extensibility [14]. On the contrary, reduced lignin accumulation in the drought + yeast treatment may suggest that yeast-treated plants maintained more flexible cell walls and a more balanced allocation of carbon between structural and metabolic processes than drought-stressed plants.

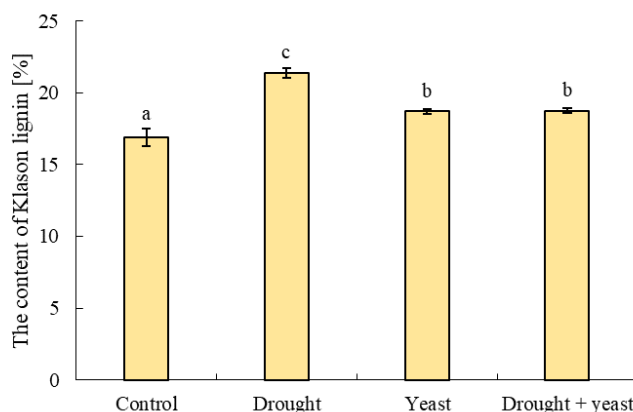


Fig. 2: The content of Klason lignin in the maize (*Zea mays* L.) root cell walls. Different letters denote statistically significant differences between treatments at $p \leq 0.05$; values represent means $\pm$ standard errors.

The protein content in maize cell walls was not affected by yeast treatment, drought stress, or their combination compared with the control plants (Fig. 3). In the cell walls of grasses and grains, structural proteins are less abundant than in dicots, and their function in relation to cell wall remodelling during abiotic stress is still relatively unknown. This issue might be due to the difficulty of isolating cell wall proteins without contamination by cytoplasmic proteins or proteins from other cell wall components [15].

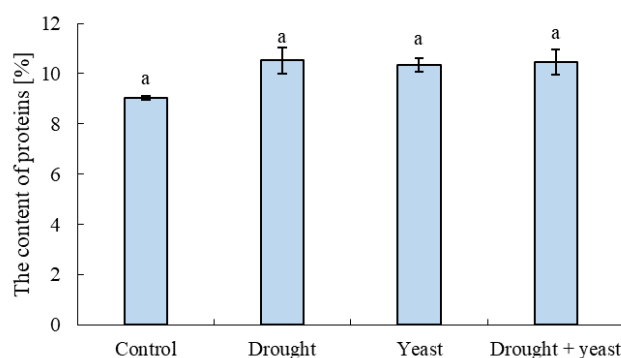


Fig. 3: The content of proteins in the maize (*Zea mays* L.) root cell walls. Different letters denote statistically significant differences between treatments at $p \leq 0.05$; values represent means $\pm$ standard errors.

The calcium (Ca) content varied across all treatments (Tab. 1). The drought treatment increased Ca content by 22.2% compared to the control. However, drought + yeast decreased Ca content by 21.1%. In cells, Ca acts as a secondary messenger, helping maintain cell wall integrity and membrane stability [16]. Increased Ca content in the cell wall during stress might be linked to increased cross-links between Ca and homogalacturonan (pectin), thereby

strengthening the wall structure and reducing its permeability. The lower Ca content observed in the drought + yeast treatment compared with drought stress alone may indicate that yeast application alleviated the negative effects of drought and reduced the need for stress-induced Ca accumulation in the cell wall.

Tab. 1: The content of calcium (Ca) in the maize (Zea mays L.) root cell walls. Different letters denote statistically significant differences between treatments at $p \leq 0.05$; values represent means $\pm$ standard errors.

	Ca [$\mu\text{g/g}$]
Control	1465 $\pm$ 2.89 ^b
Drought	1820 $\pm$ 5.77 ^d
Yeast	1520 $\pm$ 5.77 ^c
Drought + yeast	1435 $\pm$ 8.66 ^a

CONCLUSION

To this day, there is still limited information on cell wall changes after the application of PGMs to plants under non-stress or stress conditions. Our results indicated that the cell wall remodelling involves modification in lignin, as evidenced by the largest change in its content, followed by changes in total saccharides. These modifications in the crude cell walls of drought-stressed maize plants described above constitute the first part of this study. The protein content was not affected, whereas Ca content increased in drought-stressed plants. Next steps will include isolating polysaccharide fractions comprising pectin, hemicellulose, and the lignocellulose complex, with more detailed analyses.

REFERENCES

- /1/ Duchenne-Moutien, R. A., Neetoo, H.: Climate change and emerging food safety issues: A Review. Journal of Food Protection, 84, 2021: 1884–1897.
- /2/ Farooq, M., et al.: Recent advances in plant drought tolerance. Journal of Plant Growth Regulation, 43, 2024: 3337–3369.
- /3/ Yaghoubian, I., Modarres-Sanavy, S. A. M., Smith, D. L.: Plant growth promoting microorganisms (PGPM) as an eco-friendly option to mitigate water deficit in soybean (Glycine max L.): Growth, physio-biochemical properties and oil content. Plant Physiology and Biochemistry, 191, 2022: 55–66.
- /4/ Marqués, A. R. et al.: Plant growth-promoting traits of yeasts isolated from the tank bromeliad Vriesea minarum L.B. Smith and the effectiveness of Carlosrosaea vrieseae for promoting bromeliad growth. Brazilian Journal of Microbiology, 52, 2021: 1417–1429.
- /5/ Novaković, L. et al.: Hitting the wall – sensing and signaling pathways involved in plant cell wall remodeling in response to abiotic stress. Plants, 7, 2018: Article 89.
- /6/ Le Gall, H. et al.: Cell wall metabolism in response to abiotic stress. Plants, 4, 2015: 112–166.
- /7/ Grzesiak, M. T. et al.: Interspecific differences in root architecture among maize and triticale genotypes grown under drought, waterlogging and soil compaction. Acta Physiologiae Plantarum, 36, 2014: 3249–3261.
- /8/ Šípošová, K. et al.: The effects of IBA on the composition of maize root cell walls. Journal of Plant Physiology, 239, 2019: 10–17.
- /9/ Šípošová, K. et al.: The changes in the maize root cell walls after exogenous application of auxin in the presence of cadmium. Environmental Science and Pollution Research, 30, 2023: 87102–87177.
- /10/ Ozturuk, M. et al: Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. Physiologia plantarum, 172, 2020: 1321–1335.
- /11/ Hammad, S. A. R., Ali, O. A. M.: Physiological and biochemical studies on drought tolerance of wheat plants by application of amino acids and yeast extract. Annals of Agricultural Sciences, 59, 2014: 133–145.
- /12/ Shim, J. S.: Modulation of lignin biosynthesis for drought tolerance in plants. Frontiers in Plant Sciences, 14, 2023: 1116426.

- /13/ Bala, S., Asthir, B., Bains, N. S.: Activities of cell wall peroxidases in relation to lignification in six wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes under heat and drought stress. *Journal of Experimental Biology*, 37, 2016: 437.
- /14/ Lee, B. R. et al.: Peroxidases and lignification in relation to the intensity of water-deficit stress in white clover (*Trifolium repens* L.). *Journal of Experimental Botany*, 58, 2007: 1271–1279.
- /15/ Ghahremani, M., Stigter, K. A., Plaxton, W.: Extraction and characterization of extracellular proteins and their post-translational modifications from *Arabidopsis thaliana* suspension cell cultures and seedlings: a critical review. *Proteomes*, 4, 2016: 25.
- /16/ Thor, K.: Calcium—Nutrient and Messenger. *Frontiers in Plant Sciences*, 10, 2019: 440.

Acknowledgements

This work was funded by the grant scheme of the Slovak Academy of Sciences, PostdokGrant, number APD0138 – “Can yeast application modify the cell wall composition of maize plants exposed to drought stress?”.

THE EFFECT OF YEASTS ON GROWTH OF COMMON WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.) PLANTS DURING DROUGHT STRESS

VPLYV KVASINIEK NA RAST RASTLÍN PŠENICE SIATEJ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) POČAS STRESU ZO SUCHA ANALÝZAMI

Dáša Sáková¹, Eva Labancová¹, Marko Bajus¹, Zuzana Vivodová¹, Danica Kučerová¹,
Kristína Holeková¹, Martin Ševcov¹, Renáta Vadkertiová², Karin Kollárová¹

¹Department of Glycobiotechnology, Institute of Chemistry of the Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 5807/9, 845 38 Bratislava, Slovakia

²Culture Collection of Yeasts, Institute of Chemistry of the Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 5807/9, 845 38 Bratislava, Slovakia
dasa.sakova@savba.sk

Summary

The aim of this study was to explore the effect of different yeasts on wheat plants under drought conditions and to select the yeast that has a positive effect on plant growth. The yeast strains *Vishniacozyma tephrensensis* (CCY 17-34-1), *Cystofilobasidium macerans* (CCY 10-1-17), and *Filobasidium magnum* (CCY 17-16-14) were used in experiments. The grains were imbibed in yeast suspensions of various concentrations. After sowing, the plants were cultivated for 5 weeks in a growth chamber. The number of leaves and tillers, the fresh and dry weights of the above-ground parts and roots, were compared between the yeast-treated and untreated plants. Our results suggested a positive effect of the yeast strain *Filobasidium magnum* on wheat growth under drought conditions. It increased the number of tillers and leaves, the biomass was not significantly increased.

Key words: drought, fresh and dry weight, leaves, tillers, wheat, yeasts

Súhrn

Cieľom tejto štúdie bolo preskúmať vplyv rôznych kvasiniek na rastliny pšenice v podmienkach sucha a vybrať kvasinky, ktoré majú pozitívny vplyv na rast rastlín. V experimentoch boli použité kmene kvasiniek *Vishniacozyma tephrensensis* (CCY 17-34-1), *Cystofilobasidium macerans* (CCY 10-1-17) a *Filobasidium magnum* (CCY 17-16-14). Zrná boli imbibované v suspenziách kvasiniek rôznych koncentrácií. Po zasiatí boli rastliny kultivované 5 týždňov v kultivačnej komore. Porovnávali sme počet listov a odnoží, čerstvú a suchú hmotnosť nadzemných častí a koreňov medzi rastlinami ošetrovanými a neošetrovanými kvasinkami. Naše výsledky naznačujú pozitívny efekt kmeňa kvasiniek *Filobasidium magnum* na rast rastlín pšenice v podmienkach sucha. Táto kvasinka zvýšila počet odnoží a listov, biomasa nebola štatisticky preukazne ovplyvnená.

Kľúčové slová: čerstvá a suchá hmotnosť, kvasinky, listy, odnože, pšenica, sucho

INTRODUCTION

Drought is an important abiotic factor that slows plant growth and reduces fruit formation by disrupting water uptake by plants and water retention in the soil /1/. Plants can defend themselves against drought stress, for example, by reaching deeper into the soil with roots, by osmotic regulation, increasing the production of some phytohormones (e.g., ABA) and changing their transport, and by modifying gene expression and secondary metabolite production /2,3/. In addition, various biostimulants are used to improve the plant growth in drought stress, e.g. soil microorganisms /4,5/.

In recent years, plant growth-promoting yeasts have become an important group of eco-friendly plant stimulants for agriculture /6,7/. Yeasts are most commonly found in the rhizosphere and have positive effects on plant growth by producing phytohormones, increasing water and nutrient uptake by roots, solubilising phosphorus and its compounds, and by secreting enzymes or chelating agents. They also help plants improve growth and increase biomass under various stress conditions /6,8/.

Here, the yeasts *Vishniacozyma tephrensis* (CCY 17-34-1), *Cystofilobasidium macerans* (CCY 10-1-17), and *Filobasidium magnum* (CCY 17-16-14) were used in the experiment. These yeast strains were selected for their isolation sites and roles in the plant microbiome. They could potentially help plants survive drought stress and improve their growth under stress conditions. *Vishniacozyma tephrensis* was found in the wheat phyllosphere and can inhibit the growth of the fungal pathogen *Fusarium graminearum* /9/. *Filobasidium* spp. yeasts were identified in wheat grains /10/, while *F. magnum* produces enzymes (lipase, protease, pectinase, β -glucosidase, cellulase, and amylase) that improve nutrient availability for microorganisms and plants in soil /11/. The species *C. macerans* produce carotenoid pigments, which have protective function in cells under stress conditions /12,13/. Furthermore, *C. macerans* strain WUT145 is able to synthesise lipases and has a proteolytic activity /13/.

MATERIALS AND METHODS

In our experiments, we used wheat plants (*Triticum aestivum* L., cultivar Lennox). The grains were surface decontaminated in ethanol (95%, for 5 min) and subsequently washed in distilled water. Then, we imbibed the grains in distilled water (control and drought) or yeast suspensions, *Vishniacozyma tephrensis* (CCY 17-34-1), *Cystofilobasidium macerans* (CCY 10-1-17), and *Filobasidium magnum* (CCY 17-16-14), of various concentrations (104 cells ml⁻¹, 105 cells ml⁻¹, 106 cells ml⁻¹, 107 cells ml⁻¹, 108 cells ml⁻¹, 109 cells ml⁻¹) for 3 hours in the dark. The yeast strains were obtained from the Culture Collection of Yeasts at the Institute of Chemistry of the Slovak Academy of Sciences. Subsequently, grains were sown in horticultural substrate in pots and cultivated for 5 weeks at 19 °C, 40% humidity, and a 16h/8h photoperiod. The yeast-untreated plants (control) were cultivated in optimal watering (80% of field water capacity), and treatments in drought (with or without yeasts) were cultivated in the soil with 40% of field water capacity. The number of leaves and tillers of individual plants and the fresh and dry weight of the above-ground parts and roots were determined after 5 weeks of cultivation. The number of biological replicates was 15. Statistical differences were evaluated using a post hoc Tukey test following a one-way analysis of variance (ANOVA) utilising the Statistica software (StatSoft).

RESULTS AND DISCUSSION

Our results confirmed the negative impact of water stress on plants. The drought decreased the number of tillers (from 61% to 73%) and leaves (from 57% to 60%) in plants as well as the fresh and dry weight of the above-ground parts (from 64% to 76% and from 62 % to 64%, respectively) and roots (from 53% to 56% and from 31 % to 51%, respectively) compared to the control (Figures 1, 2, 3).

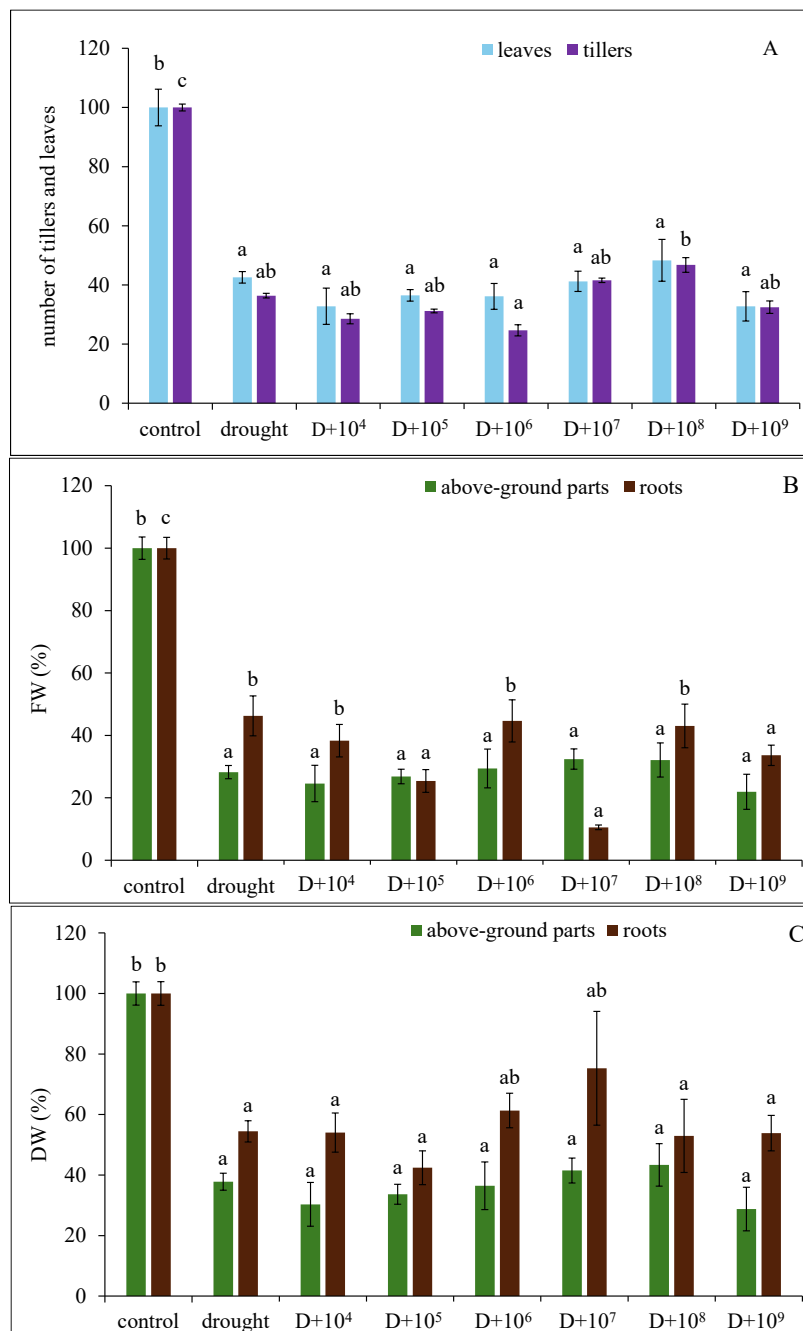


Figure 1: Number of tillers and leaves (A), fresh weight (B) and dry weight (C) of above-ground parts and roots of wheat plants cultivated in control or drought conditions after application of the yeast *Vishniacozyma tephrensii* at different concentrations. Different letters indicate statistically significant differences between the treatments at $p < 0.05$. D+10⁴ – drought + yeast suspension at concentration of 104 cell ml⁻¹; D+10⁵ – drought + yeast suspension at concentration of 105 cell ml⁻¹; D+10⁶ – drought + yeast suspension at concentration of 106 cell ml⁻¹; D+10⁷ – drought + yeast suspension at concentration of 107 cell ml⁻¹; D+10⁸ – drought + yeast suspension at concentration of 108 cell ml⁻¹; D+10⁹ – drought + yeast suspension at concentration of 109 cell ml⁻¹.

The growth parameters of wheat plants after application of *V. tephrensis* were not changed in drought conditions (Fig. 1). In addition, the fresh weight of roots decreased after application of the yeast strain *V. tephrensis* in a concentration of 10^7 cells ml⁻¹ by 77% compared to the drought. The positive effects of microorganisms on plants are not guaranteed even though they might have high potential. For example, *Meyerozyma guilliermondii* (strains Mg-11 and Mg-62) promoted tobacco seedling growth, whereas *Saccharomyces cerevisiae* (strain Cs-4 and Sc-45) inhibited tobacco seedling growth [14].

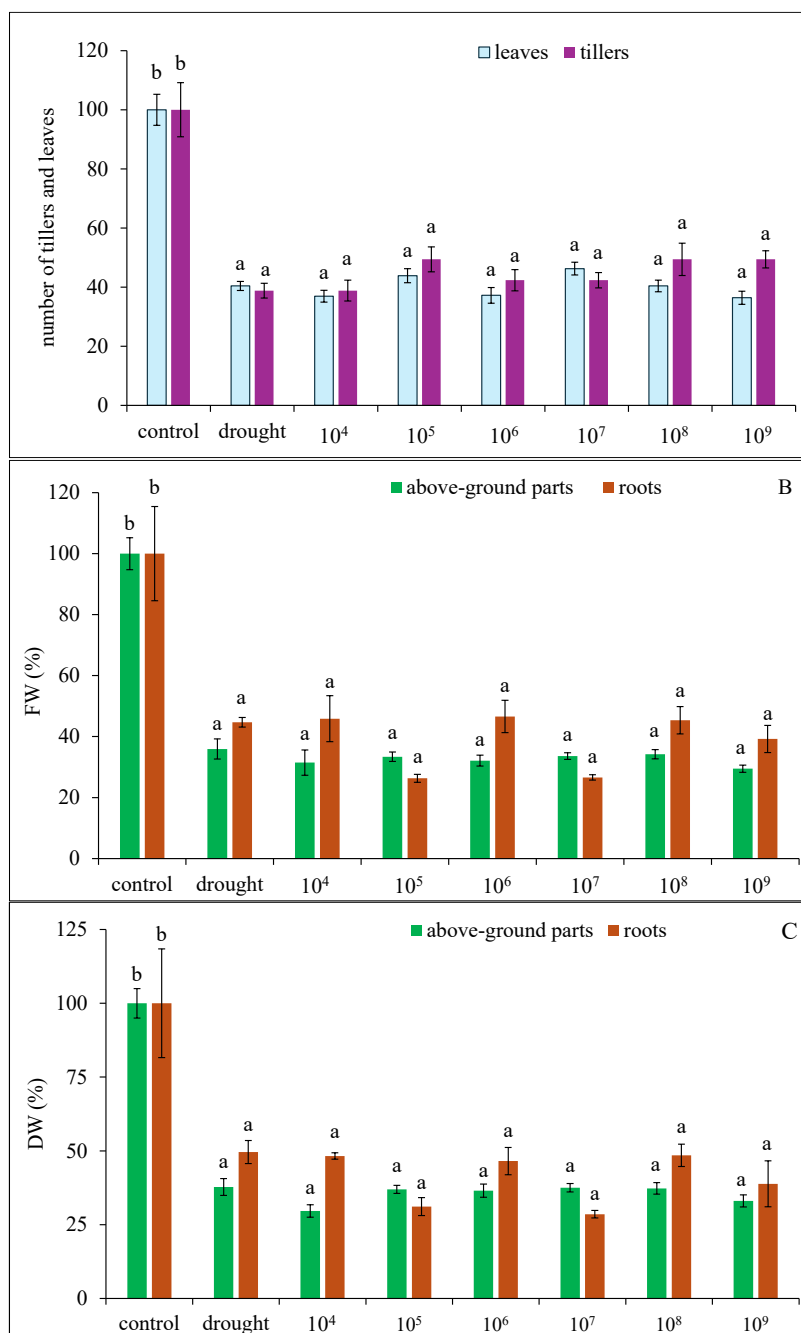


Figure 2: Number of tillers and leaves (A), fresh weight (B) and dry weight (C) of above-ground parts and roots of wheat plants cultivated in control or drought conditions after application of the yeast *Cystofilobasidium macerans* at different concentrations. Different letters indicate statistically significant differences between the treatments at $p < 0.05$. An explanation of the treatment designations is in Fig. 1.

The yeast *C. macerans* did not have a positive effect at any of the used concentrations. The number of tillers, the number of leaves, the fresh and dry weight of the above-ground parts and roots were not different from the drought (Fig. 2). Similarly, yeasts *Candida apicola* (strain Ca-40), *Hanseniaspora uvarum* (strain Hu-25), *S. cerevisiae* (strain Cs-4 and Sc-45) had no effect on maize growth /14/.

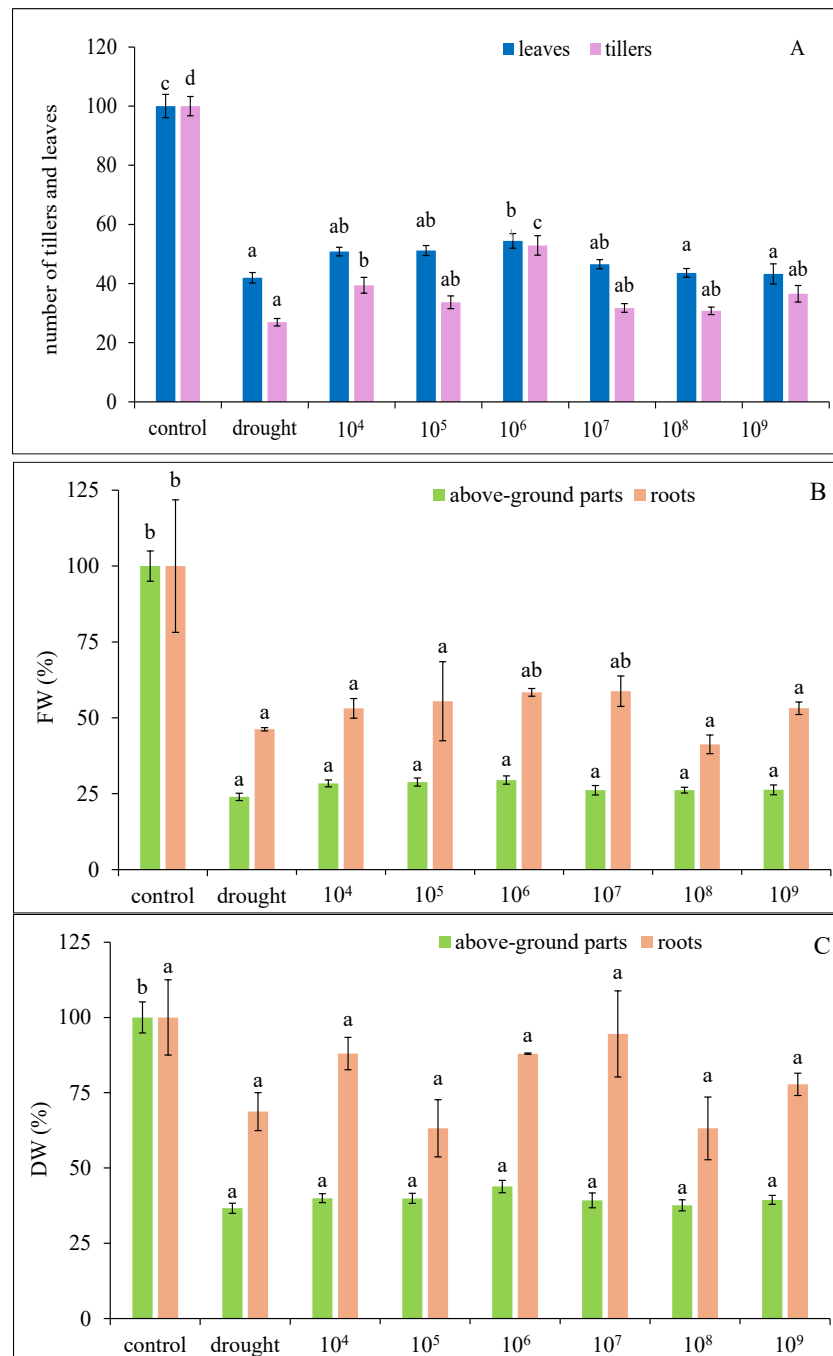


Figure 3: Number of tillers and leaves (A), fresh weight (B) and dry weight (C) of above-ground parts and roots of wheat plants cultivated in control or drought conditions after application of the yeast *Filobasidium magnum* at different concentrations. Different letters indicate statistically significant differences between the treatments at $p < 0.05$. An explanation of the treatment designations is in Fig. 1.

The yeast strain *F. magnum* improved the growth of wheat plants in drought (Fig. 3). The number of wheat tillers (Fig. 3A) and the number of leaves (Fig. 3B) increased in concentration of 106 cells ml⁻¹ compared to the drought.

The fresh and dry weights of roots and above-ground plant parts were not affected by the yeast strain *F. magnum* at any of the concentrations used (Fig. 3C, D).

Similarly, Gagné-Bourque et al. /15/ reported that *Brachypodium distachyon* treated with *Bacillus subtilis* (strain B26) showed an increase in number of leaves, shoot and root dry weights, when compared with non-inoculated plants in drought conditions. The consortium of five *Bacillus* strains improved maize growth under drought conditions, as reflected in increased shoot and root dry biomass /16/. The addition of bakery yeast powder to the irrigation water increased the maize growth in drought stress (plant height and dry mass) /17/.

CONCLUSION

We found that despite of their biostimulant potential, selected yeast strains affected the wheat growing under drought stress differently. The yeast strains *C. macerans* (CCY 10-1-17) and *V. tephrensensis* (17-34-1) had no positive or slightly negative (*V. tephrensensis*) impact on wheat growth parameters. However, the potential of the yeast strain *F. magnum* (CCY 17-16-14) was also determined after its application to wheat plants. The number of tillers and leaves increased after grain imbibition in a yeast suspension at the concentration of 106 cells ml⁻¹. The differences among the yeasts might be attributed to their possible affinity for wheat, temperature, or specific drought conditions.

REFERENCES

- /1/ Lindh, M., Zhang, L., Falster, D., Franklin, O., and Brännström, Å.: Plant diversity and drought: The role of deep roots. *Ecological Modelling*, 290, 2014: 85–93.
- /2/ Xu, Y., Zhang, X., Wang, X., Hao, Z., Singh, VP., Hao, F.: Propagation from meteorological drought to hydrological drought under the impact of human activities: a case study in Northern China, *Journal of Hydrology*, 579, 2019: 124147.
- /3/ Zhang, T., Su, X., Zhang, G., Wu, H., Wang, G., Chu, J.: Evaluation of the impacts of human activities on propagation from meteorological drought to hydrological drought in the weihe river basin, China. *Science of the Total Environment*, 819, 2022, 153030.
- /4/ Devesa-Aranguren, I., González-Sanz, C., Gutiérrez-Manso, L., Lozano-Enguita, A., Morillas-Montávez, A., Torregrosa Gómez-Meana, I., C del Pozo, J., Caro, E., Cabrera, J.: Root and microbiome synergy in plant heat stress resilience: epigenetic regulation as a frontier for future research. *Journal of Experimental Botany*, 77, 2026: 4057–4070.
- /5/ Feka, M., Tsiouri, O., Manresa, M., Vasileiadis, S., Flors, V., Papadopoulou, KK.: Priming plants to withstand drought tolerance: Systemic responses of tomato plants mediated by a root-residing fungal endophyte. *Plant Physiology and Biochemistry*, 231, 2026.
- /6/ Nimsi, KA., Manjusha, K., Kathiresan, K., Arya, H.: Plant growth-promoting yeasts (PGPY), the latest entrant for use in sustainable agriculture: a review. *Journal of Applied Microbiology*, 134, 2023: 1xac088.
- /7/ Sharma, S., Nagrale, DT., Chaurasia, A. et al.: The emerging roles of yeasts as plant growth promoters: mechanisms, benefits, and agricultural applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 42, 2026: 224.
- /8/ Alori, ET., Glick, BR., Babalola, OO.: Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2017: 971.
- /9/ Gouka, L., Vogels, C., Hansen, LH., Raaijmakers, JM., and Cordovez, V.: Genetic, phenotypic and metabolic diversity of yeasts from wheat flag leaves. *Frontiers in Plant Science*, 13, 2020: 908628.
- /10/ Solanki, MK., Abdelfattah, A., Sadhasivam, S., Zakin, V., Wisniewski, M., Droby, S., Sionov, E.: Analysis of stored wheat grain-associated microbiota reveals biocontrol activity among microorganisms against mycotoxigenic fungi. *Journal of Fungi*, 7, 2021: 781.
- /11/ Ferluga, M., Avesani, M., Lorenzini, M. et al.: Assessing variability among culturable phylloplane basidiomycetous yeasts from Italian agroecosystems. *World Journal of Microbiology and*

- Biotechnology, 40, 2024: 335.
- /12/ Sampaio, JP.: *Cystofilobasidium* Oberwinkler & Bandoni (1983) in Kurtzman, CP., Fell, JW., Boekhout, T. (Eds.), *The Yeasts: A Taxonomic Study*, Edition 5, Elsevier, ISBN 978-0-123-84868-0, Chapter 111, Vol. 3, pp. 1423-1432.
- /13/ Chreptowicz, K., Mierzejewska, J., Tkáčová, J., Młynek, M., Čertík, M.: Carotenoid-producing yeasts: Identification and characteristics of environmental isolates with a valuable extracellular enzymatic activity. *Microorganisms*, 7, 2019: 653.
- /14/ Fernandez-San Millan, A., Farran, I., Larraya, L., Ancin, M., Arregui, LM., Veramendi, J.: Plant growth-promoting traits of yeasts isolated from Spanish vineyards: benefits for seedling development. *Microbiological Research*, 237, 2020: 126480.
- /15/ Gagné-Bourque, F., Mayer, BF., Charron, J-B., Vali, H., Bertrand, A., Jabaji, S.: Accelerated growth rate and increased drought stress resilience of the model grass *Brachypodium distachyon* colonized by *Bacillus subtilis* B26. *PLoS One*, 10, 2015: e0130456.
- /16/ Lephatsi, M., Nephali, L., Meyer, V., Piater, LA., Buthelezi, N., Dubery, IA., Opperman, H., Brand, M., Huyser, J., Tugizimana, F.: Molecular mechanisms associated with microbial biostimulant-mediated growth enhancement, priming and drought stress tolerance in maize plants. *Scientific Reports*, 12, 2022: 10450.
- /17/ Alzandi, AA., Naguib, DM.: Effect of yeast application on soil health and root metabolic status of corn seedlings under drought stress. *Archives of Microbiology*, 204, 2022: 233./3/ Wu, Y.; Liu, J.; Zhao, L.; Wu, H.; Zhu, Y.; Ahmad, I.; Zhou, G. Abiotic Stress Responses in Crop Plants: A Multi-Scale Approach. *Journal of Integrative Agriculture* 2024,

Acknowledgment

This work was funded by the Slovak Research and Development Agency No. APVV-24-0367. We also acknowledge the contribution of COST Action CA22142 ROOT-BENEFIT (European Cooperation in Science and Technology) for providing the exchange of knowledge and new information.

DYNAMIKA RASTLINNÝCH SPOLOČENSTIEV NÁRODNEJ PRÍRODNEJ REZERVÁCIE HRANOVNICKÁ DUBINA V KONTEXTE ZMIEN MANAŽMENTU A KLIMATICKEJ ZMENY

DYNAMICS OF PLANT COMMUNITIES IN THE HRANOVNICKÁ DUBINA NATIONAL NATURE RESERVE IN THE CONTEXT OF MANAGEMENT CHANGES AND CLIMATE CHANGE

Kristína Vašková^{1,2}, Judita Kochjarová³

¹Ústav ekológie lesa, Slovenská akadémia vied, L. Štúra 2, 960 01 Zvolen, Slovensko

²Fakulta ekológie a environmentalistiky, Technická Univerzita vo Zvolene, T. G. Masaryka
24, 960 01 Zvolen, Slovensko

³Lesnícka fakulta, Technická Univerzita vo Zvolene, T.G. Masaryka 24, 960 01 Zvolen,
Slovensko

Summary

The Hranovnická dubina National Nature Reserve is one of the most important localities of natural oak forests in Slovakia. The aim of this paper is to evaluate the current state of vegetation and changes in habitats. A total of 13 phytosociological relevés were recorded in both forest and non-forest habitats within the reserve, and the floristic inventory was supplemented with more than 40 newly recorded taxa of vascular plants. The results confirmed the high diversity of vegetation, the pronounced habitat heterogeneity, and highlighted the importance of long-term monitoring and appropriate conservation management for maintaining the area's biodiversity.

Key words: vegetation dynamics, phytosociology, xerothermic species, oak forests, Western Carpathians

Súhrn

Národná prírodná rezervácia Hranovnická dubina patrí medzi najvýznamnejšie lokality prirodzených dubových lesov na Slovensku. Cieľom príspevku je zhodnotiť súčasný stav vegetácie a zmeny biotopov. Na území rezervácie bolo vyhotovených 13 fytocenologických zápisov v lesných aj nelesných biotopoch, pričom floristický zoznam bol doplnený o viac ako 40 novozistených taxónov cievnatých rastlín. Výsledky potvrdili vysokú diverzitu vegetácie, výraznú heterogenitu biotopov a poukázali na význam dlhodobého monitoringu a vhodného manažmentu ochrany pre zachovanie biodiverzity územia.

Kľúčové slová: dynamika vegetácie, Hranovnická dubina, xerothermné taxóny, dubové lesy

ÚVOD

Výživa Národná prírodná rezervácia Hranovnická dubina je známa najmä najsevernejším autochtónnym výskytom duba zimného (*Quercus petraea*) na Slovensku a výskytom teplomilných rastlinných spoločenstiev vo vyšších nadmorských výškach. Botanický význam lokality dokumentujú práce /5,17,19,20/. Na malej ploche sa tu striedajú dubové lesy, xerothermné trávnaté porasty, skalné biotopy, kroviny a ihličnaté lesy, čo vytvára pestrú mozaiku stanovišť s vysokou druhovou diverzitou. Výnimočnosť územia podčiarkuje aj výskyt európsky významného taxónu *Iris aphylla* subsp. *hungarica*.

Napriek dlhodobej ochrane vegetácia Hranovnickej dubiny podlieha prirodzeným aj antropicky podmieneným zmenám. Sukcesné procesy, zmeny v manažmente ochrany, ústup

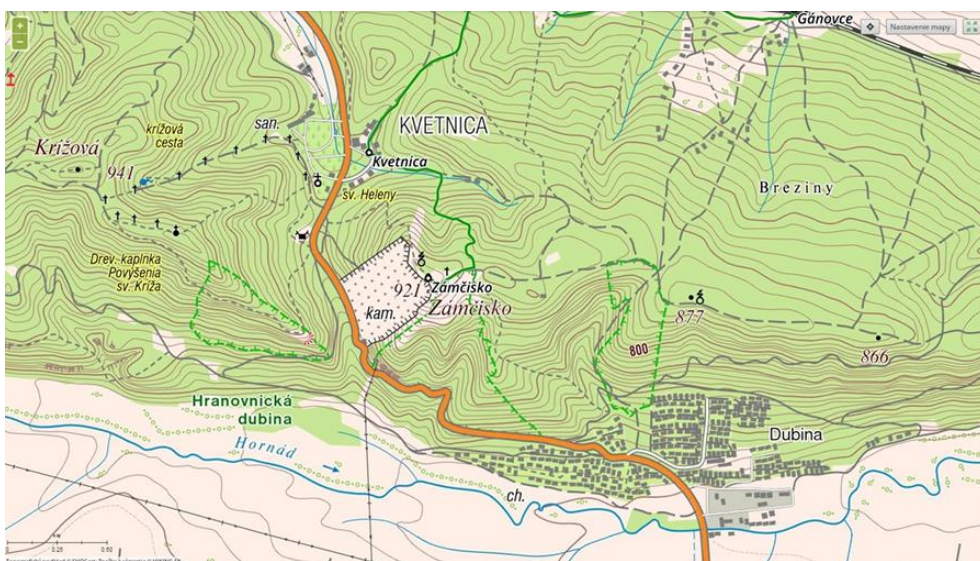
tradičného hospodárenia a klimatická zmena vo všeobecnosti ovplyvňujú štruktúru rastlinných spoločenstiev a podporujú rozširovanie krovinových porastov /2,4,6,10/. Podobné trendy boli zaznamenané aj v ďalších chránených územiach strednej Európy a Karpát /8,9,24/.

Súčasný výskyt xerothermných druhov spolu s druhmi viazanými na chladnejšie a vlhšie stanovišťa poukazuje na vysokú ekologickú heterogenitu územia, ktorá podporuje koexistenciu druhov s rozdielnymi ekologickými nárokmi /11,16,18/.

Predložený príspevok nadväzuje na predchádzajúci floristický výskum a hodnotí súčasný stav vegetácie, charakteristiku rastlinných spoločenstiev a zmeny biotopov so zameraním na sukcesné procesy dokumentované porovnaním historických a súčasných ortofotomáp. Zároveň poukazuje na význam dlhodobého monitorovania a aktívneho manažmentu ochrany pre zachovanie biologickej rozmanitosti územia /4,26 /

MATERIÁL A METODY

Výskum bol realizovaný v rokoch 2022–2024 na území Národnej prírodnej rezervácie Hranovnická dubina (Obr. 1). Časť výsledkov bola publikovaná v práci Vašková et al. (2026). Predložený príspevok sa zameriava na interpretáciu zmien vegetácie, sukcesných procesov a manažmentu územia. Zahŕňal floristický prieskum počas vegetačných období (apríl – august), zameraný na zachytenie druhového zloženia cievnatých rastlín a sezónnej dynamiky vegetácie, ako aj fytoecenologický výskum uskutočnený v roku 2024 podľa štandardnej metodiky Züriško-montpeliárskej školy. Súčasťou spracovania bola aj klasifikácia biotopov, excerpcia literárnych údajov a vyhodnotenie dostupných fytoecenologických zápisov. Celkovo bolo vyhotovených 13 fytoecenologických zápisov, z toho šesť v lesných a sedem v nelesných biotopoch. Veľkosť výskumných plôch bola prispôbená charakteru vegetácie – od 16 m² v trávinnobylinných spoločenstvách po 400 m² v lesných porastoch. Druhové zloženie bolo zaznamenané samostatne pre jednotlivé vegetačné etáže (machorasty, bylinné, krovinné a stromové poschodie) a pokryvnosť druhov bola hodnotená podľa upravenej Braun-Blanquetovej stupnice /1/. Na každej ploche boli zaznamenané aj základné stanovištné charakteristiky, ako geografická poloha, nadmorská výška, expozícia a sklon svahu.



Obr. 1: Lokalizácia skúmaného územia Národnej prírodnej rezervácie Hranovnická dubina. Zelenou prerušovanou čiarou sú vyznačené hranice troch častí rezervácie. Mierka 1 : 25 000. Zdroj: TuristickaMapa.sk.

Syntaxonomická interpretácia zápisov bola vykonaná expertným prístupom porovnaním druhového zloženia s aktuálnymi prehľadmi vegetácie Slovenska. Biotopy boli klasifikované podľa Katalógu biotopov Slovenska /23/. Nomenklatúra taxónov bola zjednotená podľa štandardných floristických zdrojov /13/. Legislatívna ochrana jednotlivých druhov bola

posudzovaná podľa platnej Vyhlášky MŽP SR č. 170/2021 Z. z. o chránených druhoch rastlín /25/. Kategórie ohrozenosti taxónov boli určené podľa Červeného zoznamu flóry Slovenska /3/ a hodnotenie nepôvodných druhov podľa Zoznamu nepôvodných druhov flóry Slovenska /14/.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na základe 13 fytocenologických zápisov bolo na území Národnej prírodnej rezervácie Hranovnická dubina identifikovaných 11 typov biotopov vrátane viacerých prechodných spoločenstiev. Dominantnú časť územia tvoria subkontinentálne teplomilné dubové lesy (*Quercion petraeae*) (Obr. 2), ktoré miestami plynulo prechádzajú do vápnomilných jedľových lesov (*Lonicero alpigenae-Fagion sylvaticae*) (Obr. 3). V nelesných častiach rezervácie prevládajú subpanónske travinno-bylinné porasty, xerothermné kroviny a teplomilné lemové spoločenstvá. Floristický výskum zároveň rozšíril doterajší zoznam cievnatých rastlín o 46 novozistených taxónov a potvrdil výskyt viacerých chránených a ohrozených druhov, ako sú *Iris aphylla* subsp. *hungarica*, *Lilium martagon* a *Dactylorhiza fuchsii*.

Najvýznamnejším zistením výskumu je vysoká ekologická heterogenita územia, kde sa na malej ploche striedajú teplomilné dubové lesy, xerothermné trávnaté porasty, krovinové spoločenstvá, sutinové lesy aj jedľové porasty. V dôsledku členitého reliéfu, geologického podložia a rozdielnych mikroklimatických podmienok sa tu v tesnom susedstve vyskytujú xerothermné aj mezofilné až horské druhy, čo predstavuje v podmienkach Slovenska pomerne ojedinelý jav, potvrdený už viacerými autormi a overený aj našim výskumom. Porovnanie so staršími botanickými prácami /12,15,21,22/ ukázalo, že napriek zachovaniu základného charakteru vegetácie dochádza k postupným zmenám v štruktúre biotopov.



Obr. 2: LES03.6 - Subkontinentálne teplomilné dubové lesy. Zdroj: vlastná galéria, rok 2024.



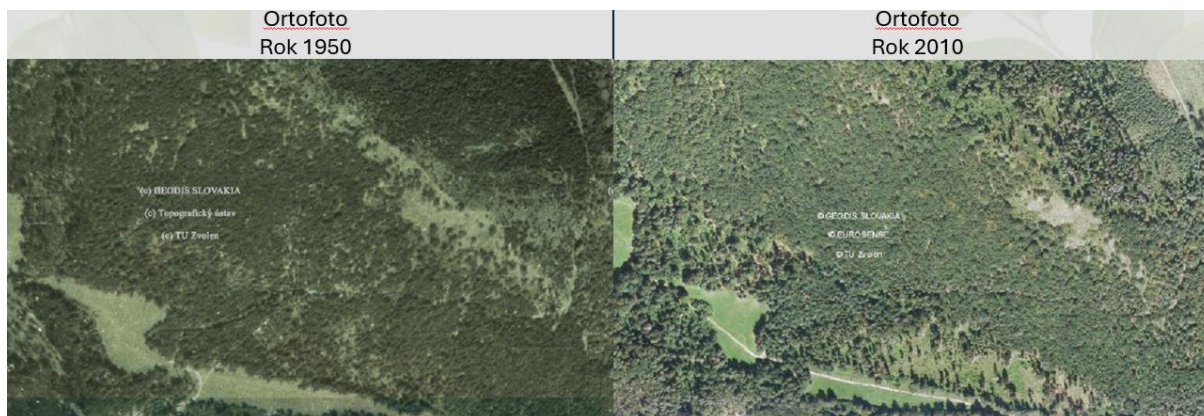
Obr. 3: Prechodný lesný biotop *Lonicero alpigenae*-*Fagion sylvaticae*. Zdroj: vlastná galéria, rok 2024.



Obr. 4: Xerothermné kroviny so *Spiraea media*. Zdroj: vlastná galéria, rok 2024.

Porovnanie historickej ortofotomapy z roku 1950 s ortofotomapou z roku 2010 poukazuje na výrazné rozšírenie krovinných porastov na úkor otvorených travinno-bylinných spoločenstiev s xerothermnou vegetáciou /6/ (Obr. 5). Samotné ortofotomapy neumožňujú jednoznačne určiť druhové zloženie týchto porastov, preto nemožno s istotou potvrdiť, že išlo o *Spiraea media* už v minulosti. Vzhľadom na súčasnú dominanciu tohto druhu v sukcesne zarastajúcich častiach rezervácie, jeho rozsiahly výskyt počas terénneho výskumu a charakter pozorovaných zmien sa však možno oprávnenne domnievať, že významnú časť expandujúcich krovinných porastov tvorí práve *Spiraea media*. Tento predpoklad podporujú aj obdobné výskumy zo strednej Európy, ktoré

dokumentujú sukcesné šírenie krovín po ústupe tradičného manažmentu a opúšťaní extenzívneho hospodárenia /9,24/. Dlhodobé zmeny krajinného pokryvu v chránených územiach zároveň poukazujú na všeobecný trend rozširovania lesných a krovínových porastov a extenzifikácie využívania krajiny /8/.



Obr. 5. Porovnanie historickej ortofotomapy (1950) a súčasnej ortofotomapy (2010) územia Národnej prírodnej rezervácie Hranovnická dubina, dokumentujúce zmeny vegetačného krytu v dôsledku sukcesných procesov. Zdroj: Historická ortofotomapa © GEODIS SLOVAKIA, s. r. o.; Historické LMS © Topografický ústav Banská Bystrica; Ortofotomapa © EUROSENSE, s. r. o. a GEODIS SLOVAKIA, s. r. o.; ZBGIS © GKÚ Bratislava; TU Zvolen.

ZÁVER

Výsledky poukazujú na potrebu dlhodobého monitorovania vegetácie a aktívneho manažmentu otvorených xerothermných biotopov. Napríklad mozaikovitité odstraňovanie krovínových porastov, aktuálne najmä *Spiraea media*, môže prispieť k zachovaniu subpanónskych travinno-bylinných porastov a populácií *Iris aphylla* subsp. *hungarica*. Hranovnická dubina tak predstavuje významnú modelovú lokalitu na sledovanie zmien vegetácie pod vplyvom sukcesie, zmien manažmentu a klimatickej zmeny.

LITERATÚRA

- /1/ Barkman, J. J., Doing, H. & Segal, S. 1964. Kritische Bemerkungen und Vorschläge zur quantitativen Vegetationsanalyse. Acta Bot. Neerl. 13: 394–419.
- /2/ Diviaková, A., Ollerová, H., Stašiov, S., Veverková, D. & Novikmec, M. 2024. Plant functional structure varies across different management regimes in submontane meadows. Nature Conservation 56: 71–95.
- /3/ Eliáš, P. ml., Dítě, D., Kliment, J., Hrivnák, R. & Feráková, V. 2015. Red list of ferns and flowering plants of Slovakia, 5th edition (October 2014). Biologia, Bratislava 70: 218–228.
- /4/ Elliott, T., Thompson, A. H., Klein, A., Albert, C., Eisenhauer, N., Jansen, F., Schneider, A. R., Sommer, M., Straka, T., Settele, J., Sporbert, M., Tanneberger, F. & Mupelepe, A. 2023. Abandoning grassland management negatively influences plant but not bird or insect biodiversity in Europe. Conservation Science and Practice 5: e13008.
- /5/ Fekete, L. & Blattny, T. 1913. Az erdészeti jelentőségű fák és cserjék elterjedése a Magyar Állam területén. 1: 793 pp.; 2: 150 pp. Selmechánya.
- /6/ GEODIS SLOVAKIA, s. r. o.; Topografický ústav Banská Bystrica; Geodetický a kartografický ústav Bratislava. Historické a súčasné ortofotomapy Slovenska prostredníctvom ZBGIS Mapového klienta [online]. Dostupné na: <https://zbgis.skgeodesy.sk/>.
- /7/ Hou, H., Yan, H., Bai, X., Zhang, Y., Guo, Y., Zhou, J. & Gao, S. 2025. A synthetic review of feedbacks and drivers of shrub–grass interaction in the process of grassland shrub encroachment. Plants 14: 605.
- /8/ Janík, T., Skokanová, H., Havlíček, M., Borovec, R. & Romportl, D. 2024. Landscape changes in Czech large protected areas 1950–2020: Two different landscape types on the same path. Journal for Nature Conservation 81: 126705.
- /9/ Klinkovská, K., Sperandii, M. G., Knollová, I., Danihelka, J., Hájek, M., Hájková, P., Hroudová, Z., Jiroušek, M., Lepš, J., Navrátilová, J., Peterka, T., Petřík, P., Prach, K., Řehounková, K., Rohel, J.,

- Sobotka, V., Vávra, M., Bruelheide, H. & Chytrý, M. 2025. Half a Century of Temperate Non-Forest Vegetation Changes: No Net Loss in Species Richness, but Considerable Shifts in Taxonomic and Functional Composition. *Global Change Biology* 31: e70030.
- /10/ Lepš, J. & Lisner, A. 2025. Resistance and resilience of species composition: Thirty years of experimental mismanagement and subsequent restoration in a species-rich meadow. *Ecology and Evolution* 15: e70923.
- /11/ Luo, M., Wang, S., Saavedra, S., Ebert, D. & Altermatt, F. 2022. Multispecies coexistence in fragmented landscapes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 119: e2201503119.
- /12/ Májovský, J. 1955. Asociácia *Festuca pseudodalmatica* – *Potentilla arenaria* na Východnom Slovensku. *Biológia (Bratislava)* 10: 659–677.
- /13/ Marhold, K. & Hindák, F. (eds.) 1998. Zoznam nižších a vyšších rastlín Slovenska. Veda, Bratislava. 688 pp.
- /14/ Medvecká, J., Kliment, J., Májeková, J., Halada, Ľ., Zaliberová, M., Gojdičová, E., Feráková, V. & Jarolímek, I. 2012. Inventory of the alien flora of Slovakia. *Preslia* 84: 257–309.
- /15/ Neuhäusl, R. & Neuhäuslová-Novotná, Z. 1968. Pokus o rekonstrukci přirozené vegetace popradské části Spišské kotliny. *Preslia* 40: 362–386.
- /16/ Padmanabha, P., Nicoletti, G., Bernardi, D., Suweis, S., Azaele, S., Rinaldo, A. & Maritan, A. 2024. Landscape and environmental heterogeneity support coexistence in competitive metacommunities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 121: e2410932121.
- /17/ Sagorski, E. & Schneider, G. 1891. Flora der Centralkarpathen. Station Hotel Blumenthal bei Poprad oder Bad Luscivna. p. 197–198.
- /18/ Sanches, F. H., De Grande, F. R., Costa, T. M. & Barreto, R. E. 2023. Sharing is living: The role of habitat heterogeneity in the coexistence of closely related species. *Ecology and Evolution* 13: e9930.
- /19/ Scherfel, A. W. 1879. Adalékok a Szepesi-Tátra alhavasi és havasi virányának ismeretéhez. *Magyarországi Kárpátgyelet Évkönyve* 6: 245–264.
- /20/ Scherfel, A. W. 1880. Adalékok a Szepesi-Tátra alhavasi és havasi virányának ismeretéhez. *Magyarországi Kárpátgyelet Évkönyve* 8: 300–321.
- /21/ Sillinger, P. 1931. Reliktní ostrovy teplomilné vegetace v Nízkých Tatrách. *Preslia* 10: 156–165.
- /22/ Šmarda, J. 1961. Vegetační poměry Spišské kotliny. Vydavateľstvo Slovenskej akadémie vied, Bratislava. 272 pp.
- /23/ Šuvada, R. (ed.) 2023. Katalóg biotopov Slovenska. 2. vyd. ŠOP SR, Banská Bystrica. 509 pp.
- /24/ Turtureanu, P. D., Bayle, A., Nicoud, B., Pușcaș, M. & Choler, P. 2025. Landscape-scale analysis of shrub encroachment unveils the complexity of greening in the Carpathian Mountains. *Environmental Research Letters* 20: 104056.
- /25/ Vyhláška Ministerstva životného prostredia Slovenskej republiky č. 170/2021 Z. z., Príloha č. 4: Zoznam chránených rastlín. Bratislava: Zbierka zákonov Slovenskej republiky.
- /26/ Winberg, J., Ekroos, J. & Smith, H. G. 2024. Abandonment or biomass production? Phytodiversity responses to land-use changes of semi-natural grasslands in northern Europe. *Biological Conservation* 299: 110632.

FYZIOLOGICKÁ ODEZVA VYBRANÝCH ODRŮD RÉVY VINNÉ NA VODNÍ DEFICIT

PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF SELECTED GRAPEVINE CULTIVARS TO WATER DEFICIT

František Hnilička¹, Radek Sotolar², Oldřiška Sotolarová³, Tomáš Rýgl¹

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

² Mendelova univerzita v Brně, Zahradnická fakulta, Ústav vinohradnictví a vinařství,
Valtická 337, 691 44 Lednice

³ Mendelova univerzita v Brně, Zahradnická fakulta, Ústav zelinářství a květinářství, Valtická
337, 691 44 Lednice

Summary

The physiological response to reduced water availability was evaluated in three grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.): Blue Portugal, Müller Thurgau and Sauvignon Blanc. Plants were grown in perlite under greenhouse conditions and exposed to five irrigation levels ranging from 120 to 15 mL per container. Pigment content, chlorophyll fluorescence, gas exchange and leaf water potential were monitored during six weekly measurements. Progressive reduction in irrigation generally decreased physiological performance. Müller Thurgau showed the strongest reduction in chlorophyll content and gas exchange and was the most sensitive cultivar. Blue Portugal maintained relatively stable pigment content and leaf water status, while Sauvignon Blanc showed an intermediate response with relatively high stomatal conductance. The results confirm marked cultivar-specific differences and demonstrate the value of combining gas exchange, pigment, fluorescence and water-status traits when assessing grapevine responses to water deficit.

Key words: Vitis vinifera, water deficit, cultivars, gas exchange, pigments, chlorophyll fluorescence, water potential

Souhrn

Fyziologická odezva na sníženou dostupnost vody byla hodnocena u tří odrůd révy vinné (*Vitis vinifera* L.): Modrý Portugal, Müller Thurgau a Sauvignon Blanc. Rostliny byly pěstovány v perlitu ve skleníkových podmínkách a vystaveny pěti úrovním závlahy od 120 do 15 ml na nádobu. V průběhu šesti týdnů měření byl sledován obsah fotosyntetických pigmentů, fluorescence chlorofylu, výměna plynů a vodní potenciál listů. Postupné omezení závlahy obecně vedlo ke snížení fyziologické výkonnosti. Nejvýraznější pokles obsahu chlorofylu a parametrů výměny plynů byl zjištěn u odrůdy Müller Thurgau, která se v experimentu jevila jako nejcitlivější. Modrý Portugal si při omezené dostupnosti vody udržoval relativně stabilní pigmentový aparát a vodní stav, zatímco Sauvignon Blanc vykazoval přechodný typ reakce a relativně vysokou průduchovou vodivost. Výsledky potvrzují výrazné odrůdové rozdíly a význam společného hodnocení výměny plynů, pigmentů, fluorescence a vodního režimu při posuzování reakce révy na vodní deficit.

Klíčová slova: Vitis vinifera, vodní deficit, odrůdy, výměna plynů, pigmenty, fluorescence chlorofylu, vodní potenciál

ÚVOD

Réva vinná je plodinou s výraznou genetickou variabilitou v reakci na nedostatek vody. Vodní deficit ovlivňuje růst, vodní režim, průduchovou regulaci, fotosyntézu a pigmentový aparát a při vyšší intenzitě může narušovat také fotochemické procesy fotosystému II. Jednotlivé odrůdy se přitom liší strategií hospodaření s vodou, což je významné jak pro výběr stanoviště, tak pro řízení závlahy v podmínkách rostoucí klimatické variability /1,2/.

Fyziologická charakterizace odrůd umožňuje zachytit rozdíly, které nemusí být patrné pouze z morfologického hodnocení. Kombinace parametrů výměny plynů, obsahu pigmentů, fluorescence chlorofylu a vodního potenciálu poskytuje komplexnější informaci o tom, zda rostlina při omezené dostupnosti vody především omezuje transpiraci, udržuje fotosyntetickou aktivitu nebo vykazuje známky poškození fotosyntetického aparátu. Cílem práce bylo porovnat reakci odrůd Modrý Portugal, Müller Thurgau a Sauvignon Blanc na gradient dostupnosti vody a identifikovat rozdíly v jejich fyziologické stabilitě. Příspěvek vychází z výsledků publikovaných /3/.

MATERIÁL A METODY

Pokus se uskutečnil ve skleníku České zemědělské univerzity v Praze. Dřevité řízky odrůd Sauvignon Blanc, Modrý Portugal a Müller Thurgau pocházely z Vinice sv. Kláry Botanické zahrady hl. m. Prahy. Rostliny byly pěstovány jednotlivě v nádobách o objemu 825 cm³ ve sterilním perlitu při denní/noční teplotě 25/19 °C, fotoperiodě 14/10 h a relativní vlhkosti vzduchu přibližně 66 %. Na začátku experimentu byl substrát zavlažen přibližně na 70 % objemové vlhkosti.

Následně bylo vytvořeno pět závlahových variant: kontrola 120 ml na nádobu a stresové varianty D1 = 90 ml, D2 = 60 ml, D3 = 30 ml a D4 = 15 ml. Dávky byly aplikovány opakovaně a představovaly gradient dostupnosti vody, nikoli absolutní úroveň půdního vodního deficitu. Objemová vlhkost substrátu byla kontinuálně sledována sondou ThetaProbe. Fyziologická měření probíhala v týdenních intervalech, celkem v šesti termínech, na mladých rostlinách ve vegetativní fázi BBCH 14–16.

Obsah fotosyntetických pigmentů byl stanoven po extrakci listových disků v dimethylformamidu /4/. Fluorescence chlorofylu včetně Fv/Fm byla měřena systémem iFL (ADC Bioscientific). Stejným přístrojem byly stanoveny čistá rychlost fotosyntézy (Pn), transpirace (E) a průduchová vodivost (gs) při hustotě toku fotonů 650 μmol m⁻² s⁻¹ a teplotě 25 °C. Vodní potenciál listů byl hodnocen přístrojem WP4C. Každá varianta měla čtyři biologická opakování. Data byla vyhodnocena faktorovou ANOVA s následným Tukeyovým HSD testem při $p \leq 0,05$ a doplněna analýzou hlavních komponent (PCA).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Snižování závlahové dávky vedlo k postupnému poklesu obsahu celkového chlorofylu, přičemž nejnižší hodnoty byly zaznamenány při nejsilnějším vodním deficitu D4. Nejvýraznější ztrátu chlorofylu vykazoval 'Müller Thurgau', zatímco 'Modrý Portugal' si udržoval relativně vyšší obsah pigmentů i při silném stresu. Pokles chlorofylu při nedostatku vody je spojován s oxidačním stresem, destabilizací tylakoidních membrán a urychlenou degradací pigmentů. Odrůdové rozdíly proto ukazují, že stabilita pigmentového aparátu je jednou ze složek rozdílné reakce révy na sucho. Naproti tomu obsah karotenoidů zůstával relativně stabilní nebo se při silném stresu zvyšoval. To odpovídá jejich fotoprotektivní úloze při disipaci přebytečné excitační energie a ochraně fotosyntetického aparátu před oxidačním poškozením /5/.

Fluorescenční parametr Fv/Fm se s rostoucím vodním deficitem snižoval, zejména ve variantě D4. Kontrolní rostliny dosahovaly hodnot odpovídajících dobře fungujícímu fotosystému II, zatímco silný stres vedl k poklesu maximální kvantové účinnosti PSII. Tento výsledek ukazuje, že při výrazném omezení vody již reakce nezůstává pouze na úrovni průduchové regulace, ale zasahuje také fotochemické procesy. Průměrné rozdíly mezi

odrůdami nebyly u Fv/Fm vždy statisticky průkazné, nicméně 'Sauvignon Blanc' vykazoval poněkud nižší hodnoty a 'Modrý Portugal' si zachovával stabilnější kombinaci fluorescence a pigmentů. V souvislosti s ostatními parametry to podporuje rozdílnou schopnost odrůd chránit fotosyntetický aparát při progresivním stresu.

Výraznou a časnou odezvu představovala průduchová vodivost. Hodnoty gs klesaly s omezením závlahy; mezi kontrolou a variantou D1 nebyl rozdíl výrazný, zatímco u D3 a D4 došlo k podstatnému omezení. Pokles gs odpovídá snaze rostlin snížit transpiraci při klesajícím vodním potenciálu listů. Současně však omezuje difuzi CO₂ a následně fotosyntézu. Tento mechanismus je u révy dobře znám a tvoří základ regulace vodního hospodářství při deficitní závlaze /1,2/. V našem experimentu měla nejvyšší průměrnou gs odrůda 'Sauvignon Blanc', zatímco nejnižší 'Müller Thurgau', což ukazuje na odlišnou intenzitu průduchové regulace mezi odrůdami.

Fotosyntéza a transpirace sledovaly změny dostupnosti vody a průduchové vodivosti, ale jejich odezva nebyla mezi odrůdami totožná. Při mírném stresu lze převládající omezení fotosyntézy spojovat především s uzavíráním průduchů, zatímco při silném vodním deficitu se pravděpodobně zvyšuje význam neprůduchových omezení, což odpovídá současnému poklesu Fv/Fm a chlorofylu /6/. 'Modrý Portugal' vykazoval relativně stabilní výměnu plynů spolu s lepším zachováním pigmentů, zatímco 'Müller Thurgau' reagoval výraznějším poklesem více sledovaných parametrů. 'Sauvignon Blanc' si udržoval relativně vysokou průduchovou vodivost a fotosyntetickou aktivitu i při zhoršujícím se vodním stavu, což ukazuje na odlišnou strategii hospodaření s vodou.

Vodní potenciál listů se s klesající závlahou postupně posouval k negativnějším hodnotám a u D4 dosahoval úrovně odpovídající střednímu až silnému vodnímu stresu. Přestože průměrné rozdíly mezi odrůdami nebyly statisticky průkazné, 'Modrý Portugal' měl tendenci udržovat méně negativní hodnoty než 'Sauvignon Blanc'. Vztah mezi vodním potenciálem a gs ukazuje, že hodnocené odrůdy nelze jednoduše rozdělit na striktně izohydrické a anizohydrické typy; vhodnější je chápat je jako různé pozice na kontinuu těchto strategií. 'Sauvignon Blanc' se v podmínkách experimentu projevoval spíše tendencí k anizohydrickému chování, zatímco 'Modrý Portugal' a 'Müller Thurgau' vykazovaly znaky silnější průduchové regulace. Takové odrůdové rozdíly jsou významné i při úvahách o řízené deficitní závlaze /1/.

PCA integrovala jednotlivé fyziologické ukazatele do společného obrazu. PC1 byla pozitivně spojena s fotosyntézou, gs, obsahem chlorofylu a Fv/Fm a vyjadřovala především gradient dostupnosti vody; kontrolní rostliny a silně stresované varianty D3-D4 se proto oddělovaly podél této osy. PC2 byla více ovlivněna karotenoidy a transpirací a zachycovala odrůdové rozdíly v pigmentové a vodní reakci. 'Modrý Portugal' se vyznačoval vyšším zastoupením znaků spojených se stabilitou pigmentů a vodního stavu. Multivariační výsledek tak potvrzuje, že odolnost k vodnímu deficitu nelze odvozovat z jediného parametru, ale z koordinované odezvy vodního režimu, výměny plynů a fotosyntetického aparátu.

Z praktického pohledu ukázal gradient pěti závlahových režimů, že mezi odrůdami existují rozdílné fyziologické strategie. 'Modrý Portugal' kombinoval relativně stabilní pigmentový aparát, výměnu plynů a vodní stav, 'Müller Thurgau' vykazoval výraznější pokles chlorofylu a dalších fyziologických charakteristik a 'Sauvignon Blanc' si při poklesu vodního potenciálu zachovával relativně vyšší gs, viz tab. 1. Výsledky proto podporují odrůdově diferencovaný přístup k hospodaření s vodou. U materiálů se stabilnější fyziologickou odezvou lze uvažovat o širším prostoru pro deficitní závlahu, zatímco u citlivějších odrůd je potřebné přesnější nastavení prahů, aby omezení vody nevedlo k výraznému útlumu fotosyntetické funkce.

Tab. 1: Zjednodušené srovnání fyziologické odezvy hodnocených odrůd révy vinné (upraveno podle /3/).

Odrůda	Charakteristická odezva v experimentu	Celkové hodnocení reakce
Modrý Portugal	Relativně stabilní pigmenty, vyšší karotenoidy a příznivější vodní stav; stabilnější výměna plynů	Vyšší fyziologická stabilita při omezené vodě
Müller Thurgau	Nejvýraznější pokles chlorofylu a parametrů výměny plynů	Nejvyšší citlivost v podmínkách experimentu
Sauvignon Blanc	Vyšší obsah chlorofylu a průduchová vodivost, proměnlivější fotochemická odezva	Přechodný/intermediární typ reakce

ZÁVĚR

Gradient omezené závlahy prokázal odrůdově specifické rozdíly ve fyziologické reakci révy vinné. Vodní deficit obecně snižoval fotosyntetickou aktivitu, průduchovou vodivost, transpiraci, obsah chlorofylu a vodní potenciál listů. V podmínkách experimentu vykazoval Modrý Portugal relativně stabilnější pigmentový aparát, výměnu plynů a vodní stav, zatímco Müller Thurgau reagoval výraznějším poklesem chlorofylu a parametrů výměny plynů. Sauvignon Blanc vykazoval intermediární strategii s relativně vysokou průduchovou vodivostí. Pro hodnocení reakce odrůd na vodní deficit je vhodné kombinovat více fyziologických parametrů a výsledky následně ověřovat v polních podmínkách.

LITERATURA

- /1/ Chaves, M.M., Zarrouk, O., Francisco, R., Costa, J.M., Santos, T., Regalado, A.P., Rodrigues, M.L., Lopes, C.M., 2010: Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Annals of Botany*, 105: 661–676.
- /2/ Gambetta, G.A., 2016: Water stress and grape physiology in the context of global climate change. *Journal of Wine Economics*, 11: 168–180.
- /3/ Hnilicka, F., Sotolar, R., Sotolarova, O., Rygl, T., Kodet, J.K., Zika, L., 2026: Cultivar-Specific Physiological Responses of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) to Water Deficit. *Horticulturae*, 12: 128.
- /4/ Porra, R.J., Thompson, W.A., Kriedemann, P.E., 1989: Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents. *Biochimica et Biophysica Acta*, 975: 384–394.
- /5/ Yang, X., Lu, M., Wang, Y., Wang, Y., Liu, Z., Chen, S., 2021: Response mechanism of plants to drought stress. *Horticulturae*, 7: 50.
- /6/ Manivannan, P., Jaleel, C.A., Somasundaram, R., Panneerselvam, R., 2008: Osmoregulation and antioxidant metabolism in drought-stressed *Helianthus annuus* under triadimefon drenching. *Comptes Rendus Biologies*, 331: 418–425.

Poděkování

Práce vznikla za finanční podpory projektu NAZV QK 210110178: Implementace ekosystémových služeb se zaměřením na vodní bilanci ve vinohradnické praxi.

MEDZIODRODOVÁ VARIABILITA PŠENICE TVRDEJ (*TRITICUM DURUM* L.) V ODPOVEDI NA ABIOTICKÝ STRES VYVOLANÝ NADBYTKOM ZINKU

INTER-CULTIVAR VARIABILITY OF DURUM WHEAT (*TRITICUM DURUM* L.) IN RESPONSE TO ABIOTIC STRESS INDUCED BY ZINC EXCESS

Daniela Motičáková, Patrik Mészáros, René Beláček

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

Summary

The aim of this study was to evaluate the tolerance and physiological response of 74 durum wheat cultivars (*Triticum durum* L.) exposed to a toxic concentration of 2.5 mM zinc under controlled conditions. Biometric parameters (shoot length and fresh biomass) as well as photosynthetic pigments and free proline content were analyzed. The tolerance index (TI) revealed significant inter-cultivar variability. While shoot length remained relatively stable, fresh biomass and proline content showed strong cultivar-dependent changes. Cultivar PI 264934 exhibited the highest overall tolerance based on fresh biomass (TI = 96.8 %), whereas cultivar Duromax showed the lowest biomass tolerance (TI = 50.6 %) and cultivar IWA8611094 was identified as the most sensitive genotype overall.

Key words: *Triticum durum* L., zinc toxicity, tolerance index, proline, photosynthetic pigments

Súhrn

Cieľom práce bolo zhodnotiť mieru tolerancie a fyziologickú odpoveď 74 odrôd pšenice tvrdej (*Triticum durum* L.) vystavených toxickej koncentrácii 2,5 mM zinku v riadených podmienkach. Hodnotili sa biometrické ukazovatele (dĺžka a čerstvá biomasa výhonkov) a obsah fotosyntetických pigmentov aj voľného prolínu. Vypočítaný index tolerancie (TI) preukázal významnú medziodrodovú variabilitu. Zatiaľ čo dĺžka výhonkov bola relatívne stabilná, biomasa a akumulácia prolínu vykazovali výrazné odrodové rozdiely. Odroda PI 264934 dosiahla najvyššiu toleranciu na základe biomasy (TI = 96,8 %), kým odroda Duromax vykazovala najnižšiu toleranciu biomasy (TI = 50,6 %) a odroda IWA8611094 bola vyhodnotená ako celkovo najcitlivejší genotyp.

Kľúčové slová: *Triticum durum* L., toxicita zinku, index tolerancie, prolín, fotosyntetické pigmenty

ÚVOD

Antropogénna činnosť, intenzifikácia poľnohospodárstva a nesprávne nakladanie s priemyselnými odpadmi vedú k postupnej kontaminácii poľnohospodárskych pôd ťažkými kovmi. Zinok (Zn) patrí medzi esenciálne mikroelementy zohrávajúce kľúčovú úlohu ako štruktúrny a katalytický kofaktor vo viac ako 300 enzýmoch /1/. Podieľa sa na syntéze proteínov, membránovej integrite a regulácii exprese génov /1/.

Ak však koncentrácia zinku v pôdnom roztoku prekročí kritickú hranicu, zinok sa stáva pre rastliny toxickým /2/. Nadmerný príjem Zn^{2+} iónov vedie k inhibícii delenia a predlžovania buniek, k narušeniu príjmu iných esenciálnych kationov a k vyvolaniu oxidačného stresu prostredníctvom nadmernej tvorby reaktívnych foriem kyslíka (ROS) /2, 3/. ROS následne indukujú peroxidáciu lipidov v bunkových membránach a degradáciu fotosyntetických pigmentov /3/.

Pšenica tvrdá (*Triticum durum* L.) patrí medzi kľúčové obilniny s vysokou technologickou hodnotou zrna, ktoré je primárnou surovinou na výrobu semoliny, krupice a cestovín. Pochopenie vnútrodrohovej variability a tolerančných mechanizmov pšenice tvrdej voči zinočnatému stresu je nevyhnutným predpokladom pre identifikáciu tolerantných genotypov. Rastliny si vyvinuli rôzne adaptívne mechanizmy na zmiernenie toxicity kovu, medzi ktoré patrí akumulácia kompatibilných osmolytov (ako napr. prolín), stimulácia antioxidantného systému a exklúzia kovu /4/.

Cieľom predloženej práce bolo posúdiť účinok toxickkej koncentrácie zinku (2,5 mM) na biometrické a fyziologicko-biochemické ukazovatele súboru 74 odrôd pšenice tvrdej, stanoviť index tolerancie a identifikovať genotypy s najvyššou a najnižšou odolnosťou.

MATERIÁL A METÓDY

V pokuse bolo hodnotených 74 odrôd pšenice tvrdej (*Triticum durum* L.) v troch biologických opakovaníach. Semená boli povrchovo sterilizované v 0,25 % (v/v) roztoku chlórnanu sodného (SAVO) počas 15 minút za stáleho miešania a trikrát premyté destilovanou vodou. Po dvoch dňoch napúčania na sterilnom filtračnom papieri pri teplote 23 °C boli vyklíčené semená prenesené do polohydroponického systému v priehľadných kultivačných nádobách vystlaných buničitou vatou. Pestovanie prebiehalo v rastovej komore Fitotron HGC 1514 s riadenými podmienkami: fotoperiódá 16 h svetlo / 8 h tma, teplota 23/20 °C (deň/noc), rel. vlhkosť vzduchu 60 % a svetelná intenzita $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (cca 18 000 lux).

Pokus pozostával z dvoch variantov:

- Kontrolný variant (K): modifikovaný Hoaglandov živný roztok bez prídavku zinku /5/.
- Stresový variant (Zn): Hoaglandov živný roztok obohatený o 2,5 mM $ZnSO_4.7H_2O$.

Do oboch variantov bol pridaný fungicíd Magnicur Energy (1 ml.dm⁻¹). Expozícia zinku trvala 7 dní (odber na 10. deň od zahájenia cyklu).

Po ukončení expozície sa odmerala dĺžka výhonkov (SL) a stanovila čerstvá biomasa (FW) na analytických váhach KERN AEJ-200-4NM. Miera odolnosti bola vyjadrená pomocou Indexu tolerancie (TI).

Obsah chlorofylu a, chlorofylu b a celkových karotenoidov bol stanovený spektrofotometricky (RayLeigh UV-2601) po homogenizácii biomasy (0,1 g) v 80 % acetóne za prítomnosti 0,5 g $MgCO_3$ podľa Lichtenthalera a Wellburna (1983) /6/. Obsah voľného prolínu bol stanovený spektrofotometricky z čerstvej biomasy (0,2 g) po extrakcii v 3 % kyseline sulfosalicylovej a reakcii s kyslým ninhydrínovým činidlom a toluénom pri 520 nm podľa Batesa et al. (1973) /7/.

Štatistické vyhodnotenie nameraných dát bolo realizované v programe MS Excel s využitím Studentovho t-testu. Celková tolerancia odrôd bola posudzovaná komplexným vyhodnotením všetkých šiestich ukazovateľov (SL, FW, chlorofyl a, b, karotenoidy, prolín). Ako celkovo tolerantné boli definované genotypy vykazujúce vysoké hodnoty TI rastových

parametrov súbežne so stabilitou asimilačných pigmentov a aktívnou akumuláciou prolínu; citlivé genotypy vykazovali paralelné zhoršenie vo všetkých sledovaných parametroch.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Kultivácia 74 odrôd pšenice tvrdej (*Triticum durum* L.) v prostredí s toxickou koncentráciou zinku (2,5 mM $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) odhalila štatisticky významné medziodrodové rozdiely v morfológických aj fyziologicko-biochemických parametroch.

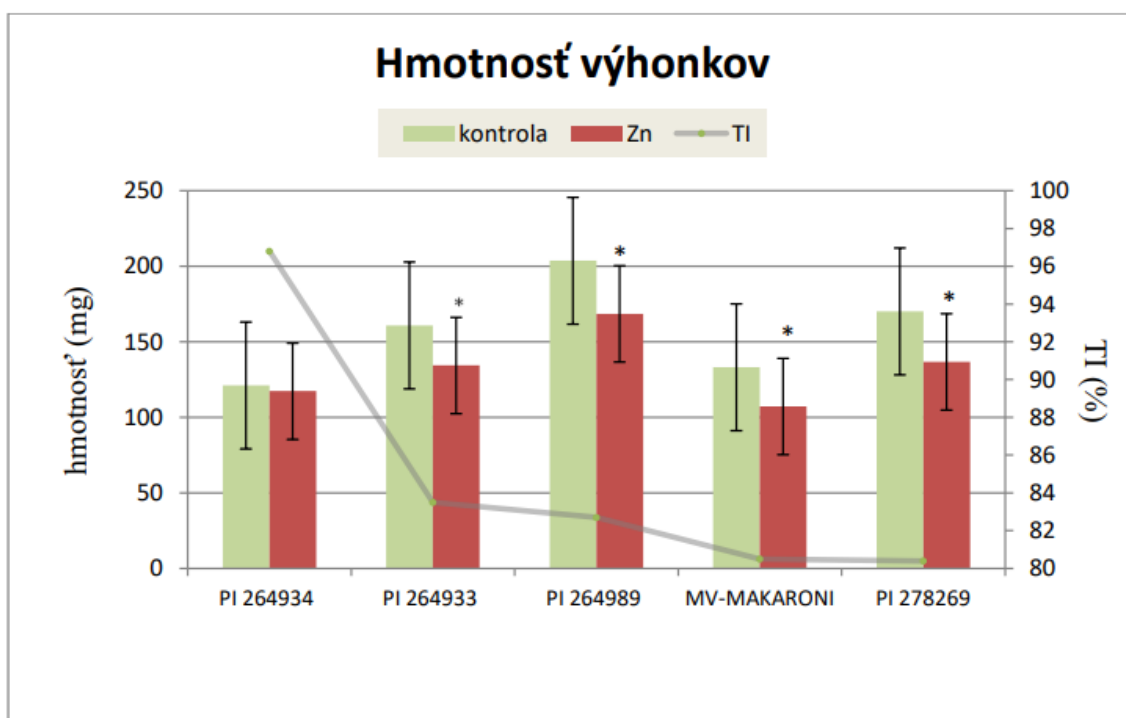
Sledovanie biometrických ukazovateľov ukázalo, že dĺžka nadzemnej časti výhonkov vykazovala v podmienkach zinočnatého stresu pomerne vysokú mieru stability. Hodnoty Indexu tolerancie (TI) pre dĺžku výhonkov sa pohybovali v rozmedzí 74,0 % až 100,8 %, pričom väčšina hodnotených odrôd nevykazovala výraznú inhibíciu predlžovacieho rastu. Najtolerantnejšou odrodou z pohľadu dĺžky výhonku bola PI 264934 s hodnotou TI = 100,8 %, pri ktorej nedošlo k žiadnemu skráteniu výhonku v porovnaní s kontrolou. Naopak, najvýraznejšiu inhibíciu a najnižší index tolerancie dĺžky vykazovala odroda MVTD12-22 (TI=74,0 %), pri ktorej sa dĺžka výhonkov znížila v priemere o 26,0 % oproti kontrolnému variantu.

Hmotnosť čerstvej biomasy výhonkov sa v porovnaní s ich dĺžkou ukázala ako výrazne citlivejší a variabilnejší ukazovateľ účinku zinku. U všetkých stresovaných odrôd bol zaznamenaný pokles biomasy, pričom hodnoty TI pre hmotnosť sa pohybovali v širšom rozpätí od 50,6 % do 96,8 %. Najvyššiu toleranciu biomasy dosiahla odroda PI 264934 (TI = 96,8 %), pri ktorej pokles hmotnosti predstavoval iba 3,23 % v porovnaní s kontrolnými rastlinami (Graf 1). Najvýraznejší negatívny účinok nadbytku zinku na biomasu sa preukázal pri odrode Duromax, ktorá vykazovala najnižšiu toleranciu s hodnotou TI=50,6 %, čo zodpovedá takmer polovičnému poklesu biomasy (o 49,36 %) (Graf 2). Získané výsledky potvrdzujú, že stanovenie hmotnosti biomasy lepšie odzrkadľuje fyziologické narušenie buniek vyvolané toxicitou ťažkého kovu než samotný lineárny rast rastliny.

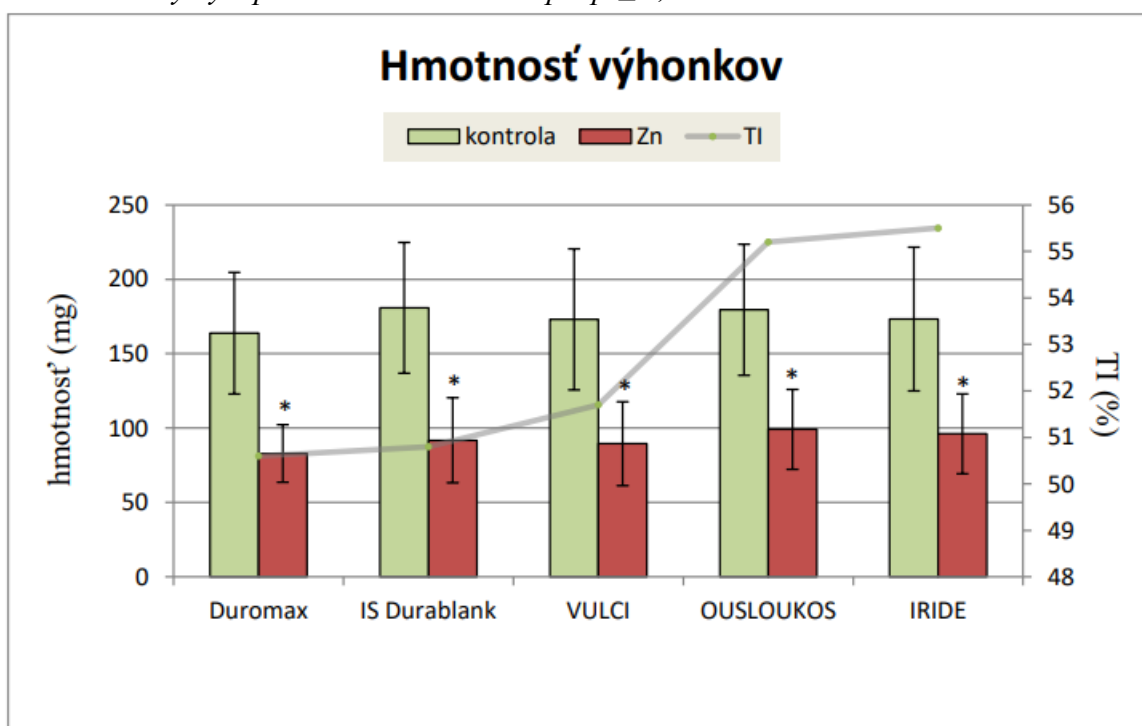
Obsah fotosyntetických pigmentov reagoval na aplikáciu zinku pomerne stabilne a neboli pozorované žiadne zreteľné vizuálne symptómy toxicity. Pri chlorofyle a bol u 52 odrôd zaznamenaný mierny pokles a u 18 odrôd nárast jeho obsahu, pričom štatisticky významné zmeny sa potvrdili len pri odrodách MV-VEKADUR (nárast o 12,75 %) a MAAMOUR (pokles o 12,98 %). Chlorofyl b a karotenoidy vykazovali vysokú mieru stability u prevažnej väčšiny hodnotených odrôd. Zachovanie stabilnej hladiny karotenoidov je dôležitým ochranným mechanizmom, nakoľko karotenoidy pôsobia ako neenzymatické antioxidanty chrániace fotosyntetický aparát pred fotooxidáciou vyvolanou reaktívnymi formami kyslíka (ROS).

Akumulácia voľného prolínu vykazovala v teste výraznú variabilitu. Po navodení zinočnatého stresu bolo u 38 odrôd zaznamenané zvýšenie jeho obsahu, zatiaľ čo u zvyšných odrôd dochádzalo k jeho poklesu. Výrazný a štatisticky významný nárast akumulácie prolínu bol zaznamenaný pri odrodách 1211 ($p=0,014$) a Cv. Alaska ($p=0,024$), čo naznačuje aktívne zapojenie prolínu do osmoregulácie a zhasňania voľných radikálov. Najvyššiu absolútnu

hodnotu prolínu v stresovanom variante dosiahla odroda AURADUR (72,25 μM), najnižšiu odroda MVTD16-21 (9,58 μM).



Graf 1: Namerané hodnoty hmotnosti výhonkov (mg) a indexu tolerancie – TI (%) vybraných tolerantných odrôd pšenice v závislosti od variantu pokusu. Legenda: kontrola = neexponované rastliny; Zn = rastliny vystavené 2,5 mM Zn; TI = index tolerancie (%). Stĺpce grafu zobrazujú priemerné hodnoty $\pm$ STDEV. Hviezdičkou (*) sú označené štatisticky významné odchýlky v porovnaní s kontrolou pri $p \leq 0,05$.



Graf 2: Namerané hodnoty hmotnosti výhonkov (mg) a indexu tolerancie – TI (%) vybraných citlivých odrôd pšenice v závislosti od variantu pokusu. Legenda: kontrola = neexponované rastliny; Zn = rastliny vystavené 2,5 mM Zn; TI = index tolerancie (%). Stĺpce grafu zobrazujú priemerné hodnoty $\pm$ STDEV. Hviezdičkou (*) sú označené štatisticky významné odchýlky v porovnaní s kontrolou pri $p \leq 0,05$.

Na základe komplexného vyhodnotenia všetkých šiestich ukazovateľov bola odroda PI 264934 identifikovaná ako celkovo najtolerantnejšia. Vyznačovala sa mimoriadnou rastovou stabilitou (TISL = 100,8 %, TIFW = 96,8 %), zachovaním asimilačných pigmentov a výrazným nárastom prolínu. Naopak, najcitlivejšia odroda IWA8611094 vykazovala paralelné zhoršenie vo všetkých sledovaných parametroch – popri redukcii rastu u nej došlo k hlbkej degradácii chlorofylu a (pokles o 4,82 mg.g-1 FW), chlorofylu b (pokles o 1,76 mg.g-1 FW) a karotenoidov (pokles o 1,89 mg.g-1 FW) v dôsledku nedostatočnej aktivácie detoxikačných mechanizmov.

ZÁVER

Výsledky potvrdili existenciu výraznej vnútrodruhovej variability v reakcii pšenice tvrdej (*Triticum durum* L.) na toxické koncentrácie zinku. Biomasa výhonkov a akumulácia voľného prolínu sa ukázali ako najcitlivejšie indikátory tolerance. Odroda PI 264934 preukázala vysokú schopnosť osmoregulácie a udržania biomasy, vďaka čomu predstavuje cenný genetický zdroj pre šľachtiteľské programy zamerané na zvýšenie odolnosti plodín.

LITERATÚRA

- /1/ Marschner, H.: Marschner's mineral nutrition of higher plants. 3rd edition. London : Academic Press, 2012: 651 p.
- /2/ Alloway, B. J.: Zinc in soils and crop nutrition. 2nd edition. Brussels and Paris : IZA and IFA, 2008: 139 p.
- /3/ Cakmak, I.: Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. New Phytologist, 146, 2000: 185–205.
- /4/ Sharma, S. S., Dietz, K. J.: The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. Journal of Experimental Botany, 57, 2006: 711–726.
- /5/ Hoagland, D. R., Arnon, D. I.: The water-culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station Circular, 347, 1950: 1–32.
- /6/ Lichtenthaler, H. K., Wellburn, A. R.: Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions, 11, 1983: 591–592.
- /7/ Bates, L. S., Waldren, R. P., Teare, I. D.: Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39, 1973: 205–207.

Pod'akovanie

Práca vznikla za finančnej a materiállovej podpory Katedry botaniky a genetiky FPVaI UKF v Nitre.

FYZIOLOGICKÁ ODPOVEĎ DVOCH KULTIVAROV PETRŽLENU (*PETROSELINUM CRISPUM* MILL.) NA ZASOLENIE

PHYSIOLOGICAL RESPONSE OF TWO CULTIVARS OF PARSLEY (*Petroselinum crispum* Mill.) TO SALINITY

Mária Padyšáková, Marko Bajus, Zuzana Vivodová
Department of Glycobiotechnology, Institute of Chemistry of Slovak
Academy of Sciences, Dúbravská cesta 9, 845 38 Bratislava, Slovakia

Summary

The aim of this study was to determine the effect of salinity stress on two cultivars of parsley (*Petroselinum crispum* Mill.). We assessed the influence on shoot growth, early stress markers such as abscisic acid concentration and electrolyte leakage, and on the concentration of selected secondary metabolites (phenolics, flavonoids). Plants were grown for three months in the cultivation chamber. We observed a detrimental effect on shoot growth in both cultivars, with higher sensitivity showcased by the curly-leaved cultivar. We have also observed comparable heightened stress response (ABA concentration, electrolyte leakage) in both cultivars. The effect of salinity on secondary metabolites was dependent on the cultivar used, as both displayed different responses.

Key words: flavonoids, parsley, phenolic secondary metabolites, salinity, stress response

Súhrn

Cieľom štúdie bolo preskúmať vplyv zasolenia na dva kultivary petržľenu záhradného (*Petroselinum crispum* Mill.). Zamerali sme sa na vplyv na rast nadzemnej časti, skoré markery stresovej odpovede, ako napríklad koncentrácia kyseliny abscisovej a výtok elektrolytov, ako aj na vplyv zasolenia na vybrané sekundárne metabolity (fenolové látky a flavonoidy). Rastliny sme pestovali po dobu troch mesiacov v kultivačnej komore. Pozorovali sme nepriaznivý účinok zasolenia na rast nadzemnej časti v oboch kultivároch, pričom kučeravý kultivar reagoval citlivejšie. Zaznamenali sme porovnateľne zvýšenú stresovú odpoveď (ABA, výtok elektrolytov) v prípade oboch kultivarov. Vplyv zasolenia na koncentráciu sekundárnych metabolitov závisel od konkrétneho kultivaru, pričom oba reagovali rozdielne.

Kľúčové slová: fenolové látky, flavonoidy, odpoveď na stres, petržlen, zasolenie

INTRODUCTION

Global demand for crop production increases along with the growing population. The productivity of agriculture grows more slowly than the global demand, which is mostly caused by various biotic or abiotic stressors. Among the factors most detrimental to plant productivity is salinity, which is caused by increased salt content in the soil. Although saline soil is a natural phenomenon in certain areas, there is no doubt that agricultural practices, such as increased irrigation during the warm weather and other human activities, substantially

contribute to further salinization /1/. Salinity leads to impaired nutrient uptake and disrupted ion homeostasis, mainly by increasing concentrations of ions in the soil, which results in ionic stress.

Physiological drought, another symptom of salinity, is a state in which a plant cannot absorb water from the substrate due to osmotic stress. Both effects reduce crop growth and productivity, posing a challenge to efforts to meet global agricultural demands. Moreover, prolonged exposure to excessive salt concentrations may result in ion accumulation in tissues, leading to oxidative stress and further disruption of the plant metabolism /2/.

Parsley is an economically important aromatic herb used both in culinary and medicinal practices. It is recognized for numerous bioactive compounds it contains, including phenolic compounds, flavonoids and vitamin C, which contribute to its antioxidant capacity. There are numerous cultivars of parsley, grown either for the root or for the stems and leaves. These cultivars vary vastly in the presence and abundance of their secondary metabolites. This can have an influence on the stress acclimation of the given cultivar /3/. The aim of this study was to evaluate the effect of salinity on physiological and biochemical parameters of two parsley cultivars differing in shoot morphology.

MATERIALS AND METHODS

Two cultivars of parsley – curly-leaved (*Petroselinum crispum* Mill. var. *crispum*) and plain-leaved (*Petroselinum crispum* Mill. var. *neapolitanum*) – were grown for three months under controlled conditions (temperature 25/20 °C, photoperiod 16 h/8 h, light intensity 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 60% air humidity). Plants comprising our treatment group were treated with potassium salt (KCl) at a concentration of 5 g/150 ml (0.45 M) once a week as an aqueous solution. The control group was watered with regular water. The treatment groups were as follows: CC – curly-leaf control, CS – curly-leaf saline stress, PC – plain-leaf control, PS – plain-leaf saline stress. We measured the shoot length of the plants every two weeks throughout the experiment, starting on the 17th day of cultivation. After three months, the plant material was harvested for further analyses, including electrolyte leakage, abscisic acid (ABA) concentration, total phenolic content (TPC), and flavonoid concentration in the tissue. The leakage of electrolytes was determined according to Lutts et al. /4/ using the OK-104 conductometer, and TPC was determined according to Thaipong et al. /5/. Abscisic acid concentration was determined using an ELISA kit – enzyme-linked immunosorbent assay and according to Bajus et al. /6/. Both TPC and ABA concentration were measured using a Mithras2 LB 943 Multimode reader. Statistical analyses to assess differences between the experimental groups (one-way analysis of variance (ANOVA) at $p < 0.05$ followed by Tukey's test) were performed using the software Statistica (StatSoft, Tulsa, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

The cultivars are of different morphologies, and their heights vary. We therefore assessed the effect of salinity on the progressive growth of each cultivar to observe the possible relationship between salinity and shoot growth. Salinity stress affected the growth of both cultivars (Fig. 1). In curly-leaved plants we observed the first differences between treated and control plants on the 31st day of the experiment, with statistically significant differences observed at the 45-day mark. At the end of the experiment the height of the control group averaged 22.3 cm, while the shoots of the treatment group averaged only 16.8 cm. We therefore observed 25% growth inhibition. The plain-leaved cultivar has shown a delayed response to salinity compared to the curly-leaved cultivar. Significantly shorter shoot length was observed during the last measurement on the 93rd day of the experiment. The shoots grown under control conditions were 31.8 cm long on average, whereas shoots of the treated plants were only 25.3 cm long. We therefore observed 20% inhibition. A similar trend was reported in three cultivars of rice (*Oryza sativa* L.) grown under saline conditions /7/, as well as on salt-sensitive and salt-tolerant cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.) /8/.

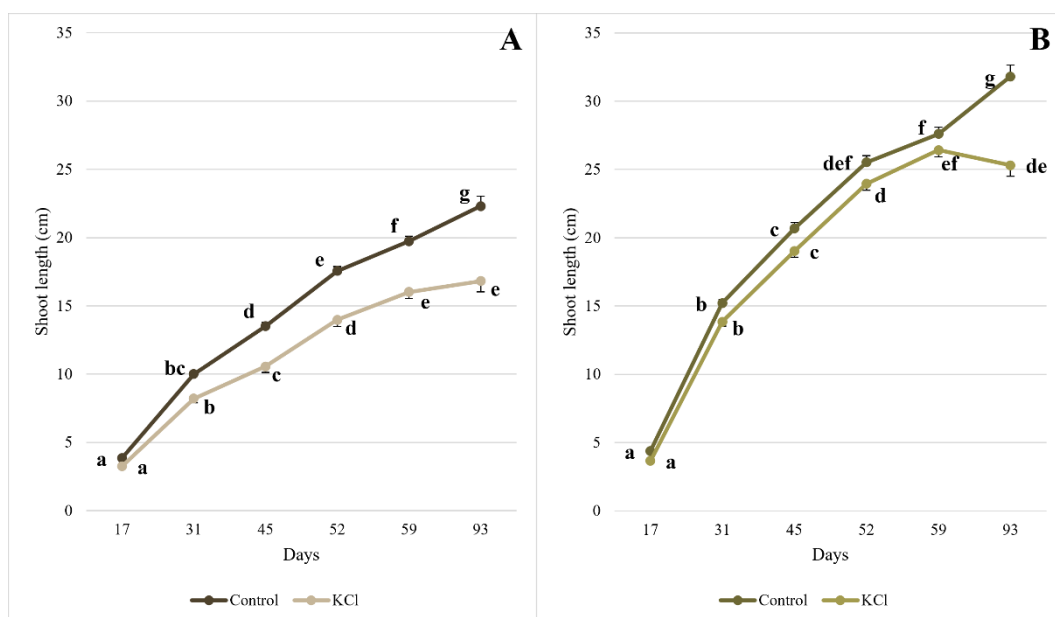


Fig. 1: Shoot length of curly-leaved parsley plants (A) and plain-leaved parsley plants (B) over 93 days. The values are expressed as means $\pm$ SE (standard error). Different letters denote statistically significant differences between individual treatments at $p < 0.05$.

Abscisic acid (ABA) is one of the early markers of stress in plants. It mediates drought responses by closing stomata and reducing transpiration, thus conserving water. We have observed an increase in ABA concentration in both cultivars (Fig. 2A), with a 44% increase in the curly-leaved cultivar and a 39% increase in the plain-leaved cultivar. We have not observed significant differences in the increase in ABA content between the two cultivars. An increase in ABA as a response to dehydration is well documented across many plant species. Similar results were noted in two grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.) /9/. Activation of ABA signaling and a subsequent increase in its concentration were also observed in wheat /10/.

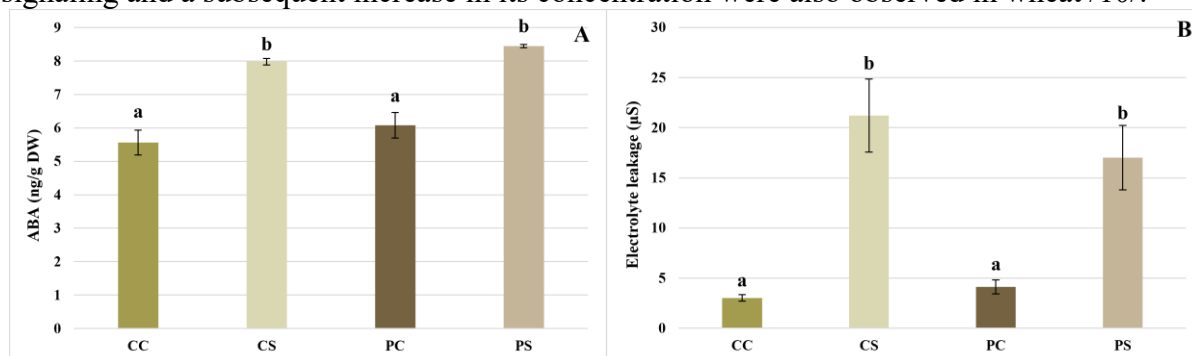


Fig. 2: Concentration of abscisic acid (A) and the electrolyte leakage (B) of parsley plants. CC – curly-leaved cultivar, control. CS – curly-leaved cultivar, saline stress. PC – plain-leaved cultivar, control. PS – plain-leaved cultivar, saline stress. The values are expressed as means $\pm$ SE (standard error). Different letters denote statistically significant differences between individual treatments at $p < 0.05$.

Electrolyte leakage is a typical response of a plant cell to a stressor. The main cause is the efflux of K^+ and anions out of the cell due to stress exposure. There are multiple ways through which the efflux is facilitated, such as mechanical damage to the membrane or

passive efflux through K^+ -permeable channels. Quantification of this leakage is used as a method to measure the tolerance of a given plant to a stressor, which we utilized during our experiment /11/. We observed an increase in the leakage of electrolytes in both cultivars (Fig.

2B). In the curly-leaved cultivar, we observed a 7-fold increase, while in the plain-leaved cultivar the increase was approximately 4.1-fold. We have not observed significant differences between the cultivars. Similar increase due to salinity was observed in lettuce (*Lactuca sativa* L.), New Zealand spinach (*Tetragonia tetragonoides* Pall.) and common purslane (*Portulaca oleracea* L.) /12/, as well as in durum wheat (*Triticum turgidum* subsp. *durum* Desf.) /13/.

We observed no significant differences in the total content of phenolic secondary metabolites (TPC) between the cultivars grown under control conditions (Fig. 3A). We have, however, observed a statistically significant increase due to salinity in the curly-leaved cultivar (by 19.6%), while we observed a decrease in TPC in the plain-leaved cultivar (by 24.2%). An increasing trend was observed in sea milkwort (*Lysimachia maritima* L.), whereas no changes in TPC were observed in salt sandspurry (*Spergularia marina* L.) plants /14/. A similar trend was reported in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) under increased salinity and exposure times up to 7 days /15/. A study on artichoke (*Cynara scolymus* L.), however, reported that while mild salinity can increase TPC, severe salinity can drastically decrease the content /16/.

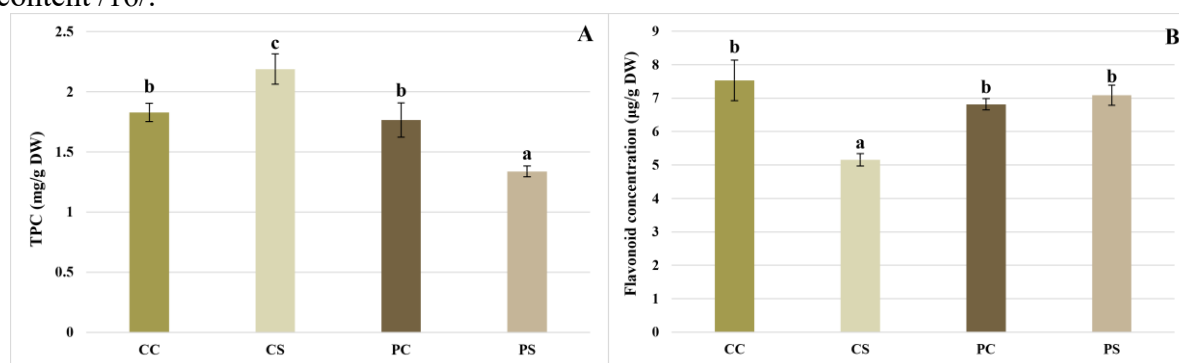


Figure 3. Total phenolic content (TPC) (A) and the flavonoid concentration (B) of parsley plants. CC – curly-leaved cultivar, control. CS – curly-leaved cultivar, saline stress. PC – plain-leaved cultivar, control. PS – plain-leaved cultivar, saline stress. The values are expressed as means $\pm$ SE (standard error). Different letters denote statistically significant differences between individual treatments at $p < 0.05$.

Similarly, we observed different trends in flavonoid concentration (Fig. 3B). We found no significant differences in concentrations under control conditions. We have, however, observed a decrease in their concentration in the curly-leaved cultivar (by 31.5%) due to salinity, while observing no change in the plain-leaved cultivar. No changes due to salinity stress were observed in *S. marina* L. either /14/. A study carried out on Spanish sage (*Salvia lavandulifolia* L.) has reported decreasing concentrations of flavonoids at moderate salinity levels, but increasing concentrations at higher salinity /17/. Another study using two hybrids of princess tree (*Paulownia tomentosa* L.) has reported a rising concentration of flavonoids under high salinity after 10 days, but an unchanged concentration at the 25-day mark when compared to the control group /18/.

CONCLUSION

We can conclude that salinity stress has a significant effect on numerous characteristics of a growing plant, quantitative or qualitative. Ultimately, both cultivars have shown a certain degree of sensitivity to higher salinity levels, especially under prolonged exposure, with a more visible detrimental effect on the curly-leaved cultivar. We observed a similar increasing trend in both cultivars in terms of ABA concentration and electrolyte leakage. We also observed various results and trends in terms of the phenolic secondary metabolites. It is important to note that the production and accumulation of phenolic secondary metabolites, including flavonoids, is strongly affected by numerous factors such as genetics, duration and

intensity of stress. To have a conclusive answer as to why we have observed such results, a series of additional experiments needs to be carried out. Our results therefore serve as preliminary evidence, possibly usable as a basis for further research into phenylpropanoid metabolism of aromatic plants under saline stress, along with the ability of these plants to tolerate and adjust to suboptimal conditions.

REFERENCES

- /1/ Parihar P, Singh S, Singh R, Singh VP, Prasad SM. 2015. Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 4056–4075.
- /2/ Badavath H, Saski CA. 2026. Plant Adaptation to Salinity: Physiological Pathways and Prospects for Crop Improvement—A Review. *Genes* 17, 253.
- /3/ Liberal Á, Fernandes Â, Polyzos N, Petropoulos SA, Dias MI, Pinela J, Petrović J, Soković M, Ferreira ICFR, Barros L. 2020. Bioactive Properties and Phenolic Compound Profiles of Turnip-Rooted, Plain-Leafed and Curly-Leafed Parsley Cultivars. *Molecules* 25, 5606.
- /4/ Lutts S. 1996. NaCl-induced Senescence in Leaves of Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars Differing in Salinity Resistance. *Annals of Botany* 78, 389–398.
- /5/ Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Hawkins Byrne D. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis* 19, 669–675.
- /6/ Bajus M, Vivodová Z, Bačovčinová M, Labancová E, Kučerová D, Horváthová Á, Holeková K, Hačkuličová D, Vadkertiová R, Kollárová K. 2025. The yeast *Papiliotrema laurentii* alleviates drought-induced stress in maize and affects oxidative status, LEA genes, hormone concentrations, and fatty acid allocation. *Current Plant Biology* 44, 100542.
- /7/ Santhalingam P, Sivaguru M. 2018. Effect of Salinity on Plant Height, Shoot and Root Dry Weight of Selected Rice Cultivars. *Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Sciences* 4, 126–131.
- /8/ Sun X, Tan Y, Zhang Y, Guo W, Li X, Golub N, Zhang L, Wang H. 2025. Effects of salinity stress on morphological structure, physiology, and mRNA expression in different wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Frontiers in Genetics* 16, 1535610.
- /9/ Álvarez-Méndez SJ, Urbano-Gálvez A, Vives-Peris V, Pérez-Clemente RM, Gómez-Cadenas A, Mahouachi J. 2021. Effects of salt stress on plant growth, abscisic acid and salicylic acid in own-rooted cultivars of *Vitis vinifera* L. *Spanish Journal of Agricultural Research* 19, e0803.
- /10/ Zou Z, Khan A, Khan A, Tao Z, Zhang S, Long Q, Lin J, Luo S. 2024. Activation of ABA Signaling Pathway and Up-Regulation of Salt-Responsive Genes Confer Salt Stress Tolerance of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Seedlings. *Agronomy* 14, 2095.
- /11/ Demidchik V, Straltsova D, Medvedev SS, Pozhvanov GA, Sokolik A, Yurin V. 2014. Stress-induced electrolyte leakage: the role of K⁺-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. *Journal of Experimental Botany* 65, 1259–1270.
- /12/ Hnilíčková H, Hnilíčka F, Orsák M, Hejtník V. 2019. Effect of salt stress on growth, electrolyte leakage, Na⁺ and K⁺ content in selected plant species. *Plant, Soil and Environment* 65, 90–96.
- /13/ Pastuszak J, Dziurka M, Hornyák M, Szczerba A, Kopeć P, Płazek A. 2022. Physiological and Biochemical Parameters of Salinity Resistance of Three Durum Wheat Genotypes. *International Journal of Molecular Sciences* 23, 8397.
- /14/ Pungin A, Lartseva L, Loskutnikova V, Shakhov V, Popova E, Skrypnik L, Krol O. 2023. Effect of Salinity Stress on Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in Halophytes *Spergularia marina* (L.) Griseb. and *Glaux maritima* L. Cultured In Vitro. *Plants* 12, 1905.
- /15/ Lim J-H, Park K-J, Kim B-K, Jeong J-W, Kim H-J. 2012. Effect of salinity stress on phenolic compounds and carotenoids in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) sprout. *Food Chemistry* 135, 1065–1070.
- /16/ Rezazadeh A, Ghasemnezh A, Barani M, Telmadarre T. 2012. Effect of Salinity on Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) Leaves. *Research Journal of Medicinal Plant* 6, 245–252.
- /17/ Bayat H, Shafie F, Shahraki B. 2022. Salinity effects on growth, chlorophyll content, total phenols, and antioxidant activity in *Salvia lavandulifolia* Vahl. *Advances in Horticultural Science* 36, 145–153.
- /18/ Stefanov M, Yotsova E, Gesheva E, Dimitrova V, Markovska Y, Doncheva S, Apostolova EL. 2021. Role of flavonoids and proline in the protection of photosynthetic apparatus in *Paulownia* under salt stress. *South African Journal of Botany* 139, 246–253.

Acknowledgements

This work was funded by COST CA22144-Sustainable use of salt-affected lands (SUSTAIN).

INVESTIGATION OF ALLELOPATHIC PROPERTIES OF *PUSCHKINIA SCILLOIDES* ADAMS

ZKOUMÁNÍ ALELOPATICKÝCH VLASTNOSTÍ *PUSCHKINIA SCILLOIDES* ADAMS

Anna Kucab¹, Minh Tu To¹, Jakub Oliwa¹, Anna Sołtys-Lelek², Ingrid Turisová³, Beata Barabasz-Krasny¹

¹ Department of Botany, Institute of Biology and Earth Science, University of the National Education Commission, Podchorążych 2 St., 30-084 Kraków, Poland

² Ojców National Park, 32-045 Sułoszowa, Poland

³ Department of Biology and Environmental Studies, Faculty of Natural Sciences, Matej Bel University in Banská Bystrica, Tajovského 40, Banská Bystrica 974 01, Slovakia

Summary

Puschkinia scilloides Adams, an ornamental species native to the Caucasus and Asia Minor, was evaluated for its allelopathic effects on *Sinapis alba* L. and *Festuca arundinacea* Schreb. Aqueous extracts (0.5%, 1%, and 2%) from flowers with pedicels, leaves, and bulbs were tested using a Petri dish assay. Germination, seedling growth, biomass, and electrolyte leakage were assessed. The extracts inhibited germination and seedling growth in both species, with stronger effects at higher concentrations, confirming the allelopathic potential of *P. scilloides*.

Key words: allelopathy, aqueous extracts, seed germination, seedling growth, Sinapis alba, striped squill, Festuca arundinacea

Souhrn

Puschkinia scilloides Adams, okrasný druh pocházející z Kavkazu a Malé Asie, byl hodnocen z hlediska alelopatických účinků na *Sinapis alba* L. a *Festuca arundinacea* Schreb. Vodné extrakty (0,5 %, 1 % a 2 %) z květů se stopkami, listů a cibulí byly testovány pomocí Petriho misek. Hodnotila se klíčivost, růst a biomasa semenáčků a únik elektrolytů. Extrakty inhibovaly klíčení a růst semenáčků u obou druhů, přičemž účinky byly výraznější při vyšších koncentracích. Výsledky potvrzují alelopatický potenciál *P. scilloides*.

Klíčová slova: alelopatie, vodné extrakty, klíčení semen, růst sazenic, Sinapis alba, puškinie ladoňkovitá, Festuca arundinacea

INTRODUCTION

Allelopathy is an important mechanism of plant–plant interaction in which biologically active substances released by plants can affect the germination, growth, and development of neighbouring species. Allelopathic compounds can be released from different plant organs, and their effects depend, among other factors, on their concentration and the sensitivity of the recipient species. Allelopathic interactions may therefore influence plant competition and community structure and are also considered one of the traits contributing to the success of some invasive plant species [5, 7].

Puschkinia scilloides Adams (*Asparagaceae* Juss.), commonly known as striped squill,

is a bulbous geophyte native to southeastern Türkiye, the Caucasus, and northwestern Iran. It is also cultivated as an ornamental plant and has been introduced into several regions of Europe /6, 10, 11/. Despite its botanical and horticultural importance, its allelopathic potential has not yet been sufficiently investigated.

The present study aimed to assess the allelopathic potential of *P. scilloides* using aqueous extracts obtained from flowers with pedicels, leaves, and bulbs. Their effects on seed germination and early seedling growth were assessed using *Sinapis alba* L. as a representative dicotyledonous species and *Festuca arundinacea* Schreb. as a representative monocotyledonous species.

MATERIALS AND METHODS

Flowers with pedicels, leaves, and bulbs of *Puschkinia scilloides* were dried at room temperature in the shade, ground, and used to prepare aqueous extracts at concentrations of 0.5%, 1%, and 2%. The extracts were left for 24 h, filtered, and stored at approximately 8 °C.

Seeds of *Sinapis alba* and *Festuca arundinacea* were sterilised for 1 min in 1% acetone and rinsed three times with distilled water. Twenty-five seeds were placed on sterile Petri dishes lined with filter paper moistened with the appropriate extract or distilled water (control). The dishes were incubated in the shade at approximately 21 °C. Germination was recorded every 24 h for 7 days (*S. alba*) or 14 days (*F. arundinacea*). Each treatment was performed in triplicate. Germination percentage (GP) was calculated as the ratio of the number of germinated seeds to the total number of seeds used, expressed as a percentage.

After the incubation period, seedling length, fresh and dry mass, and water content were determined. Seedlings were divided into aboveground and belowground parts, measured to the nearest 0.1 cm, weighed, and dried at 105 °C for 24 h. The inhibition percentage (IP) was calculated as: $IP (\%) = [1 - (LE/LC)] \times 100$, where LE is the seedling length in the extract treatment and LC is the seedling length in the control. Water content (WC) was calculated as: $WC (\%) = 100 - [(DM \times 100)/FM]$, where DM is dry mass and FM is fresh mass.

Electrolyte leakage was measured in five replicates per treatment using a conductometer. Seedlings were placed in Falcon tubes containing 30 mL of distilled water and shaken before measuring electrolyte leakage. The samples were then frozen at -25 °C for 24 h, thawed, and measured again to determine total electrolyte leakage. The percentage of electrolyte leakage (EL) was calculated as: $EL (\%) = (E1/E2) \times 100$, where E1 is the electrolyte leakage from living seedlings and E2 is the total leakage measured after freezing.

The effects of the treatments on seedling length, mass, and electrolyte leakage were analysed using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test at $p \leq 0.05$. Statistical analyses were performed using STATISTICA 13.1 (StatSoft Inc., Poland, 2018).

RESULTS AND DISCUSSION

An experiment was conducted to Aqueous extracts of *Puschkinia scilloides* organs affected seed germination in both tested species, with the magnitude of the effect depending on the plant organ and extract concentration. In *Sinapis alba*, the strongest inhibition was observed for leaf extracts, particularly at concentrations of 1% and 2% (Fig. 1B), whereas bulb extracts had a relatively weak effect (Fig. 1C). Flower extracts caused moderate inhibition, particularly at the highest concentration (Fig. 1A). *Festuca arundinacea* showed a stronger inhibitory response to the extracts. Flower and leaf extracts clearly reduced germination in a concentration-dependent manner, with the strongest inhibition observed at a

concentration of 2% (Fig. 1D–E). Bulb extracts showed considerably weaker effects (Fig. 1F).

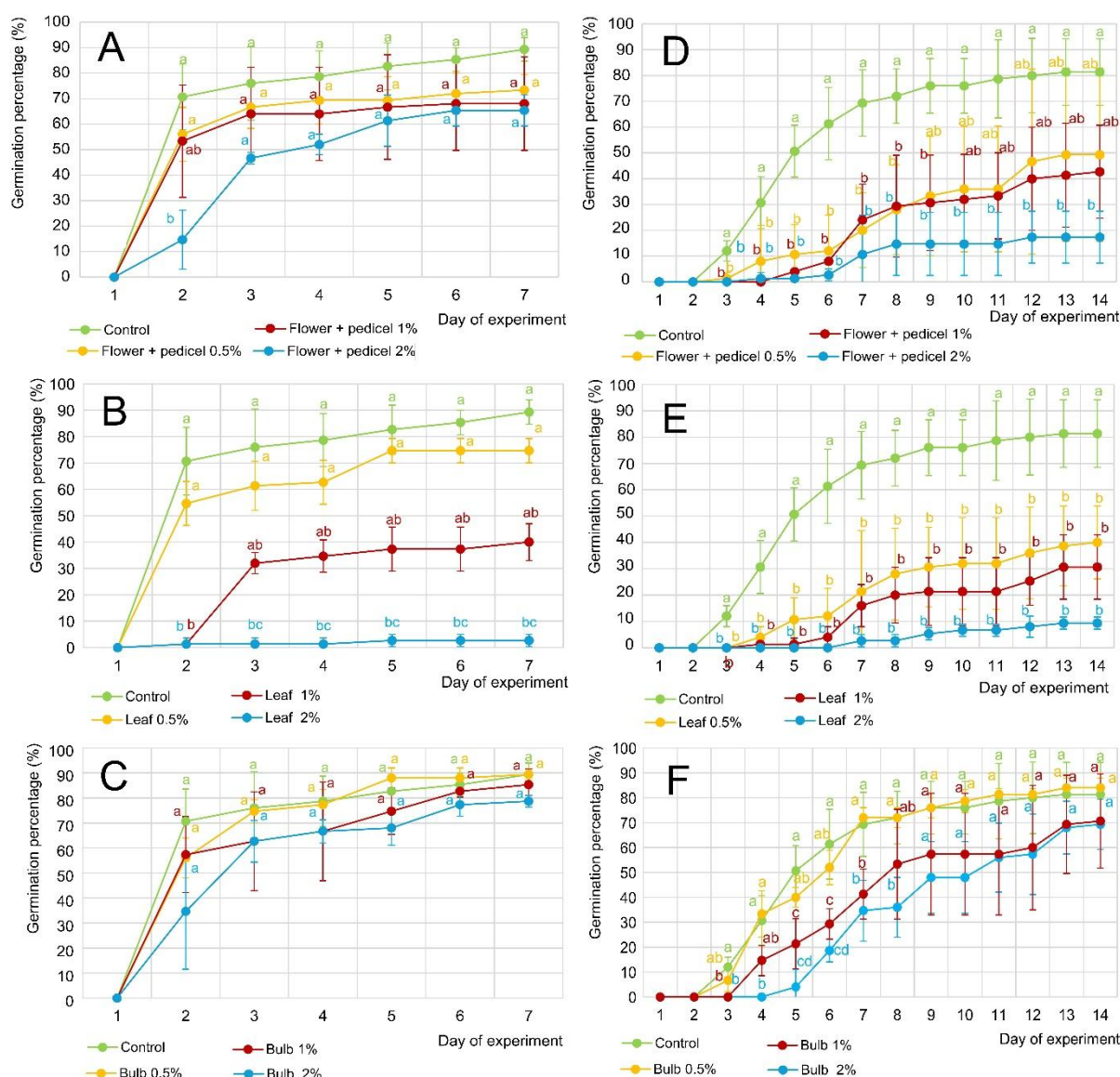


Fig. 1: Germination of *Sinapis alba* (A, B, C) and *Festuca arundinaceae* (D, E, F) on aqueous extracts of flowers with pedicels (A, D), leaves (B, E), and bulbs (C, F) of *Puschkinia scilloides* at concentrations 0.5%, 1% and 2% during 7 and 14 days of the experiment; mean values ($n = 3$) marked with different letters differ statistically according to the Tukey test at $p \leq 0.05$.

Concentration-dependent responses are commonly observed in allelopathic bioassays, although their intensity may vary depending on the donor and recipient species [4, 9]. The stronger inhibitory effects observed for leaf extracts may indicate differences in the amount or composition of biologically active compounds among *P. scilloides* organs. Differences in allelopathic activity among plant organs have also been demonstrated in other species, with leaves showing the strongest activity in some plant taxa [1, 9].

Aqueous extracts of *P. scilloides* affected seedling growth and biomass in both tested species, with the response depending on the plant organ and extract concentration (Tab. 1–2). In *S. alba*, the strongest inhibitory effects were observed with leaf extracts, particularly at concentrations of 1% and 2%. Flower extracts also inhibited seedling growth, whereas bulb extracts generally showed weaker effects and, in some cases, resulted in seedling lengths

comparable to or higher than those of the control (Tab. 1). *F. arundinacea* showed a stronger response to flower and leaf extracts, particularly at higher concentrations. This may indicate species-specific sensitivity to the compounds present in the extracts. Allelochemicals can affect plants through different physiological processes, and their effects may vary depending on the interacting species /4/.

Tab. 1: Comparison of seedling length (cm) of *Sinapis alba* (A) and *Festuca arundinacea* (B) watered with aqueous extracts of the organs of *Puschkinia scilloides* at concentrations of 0.5%, 1%, and 2%, and germination inhibition index (IP, %); mean values ($n = 3$) followed by different letters are significantly different according to Tukey's test at $p \leq 0.05$.

Type of extract (%)	Aboveground part (cm)		Underground part (cm)		Whole seedling (cm)		IP (%) above-ground part		IP (%) underground part	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Flower and pedicel										
Control	4.48 a ±1.24	6.76 a ±0.94	10.66 a ±1.82	4.70 a ±0.68	15.14 a ±2.98	11.46 a ±1.33	0	0	0	0
0.5	1.52 b ±0.58	6.36 a ±3.10	0.52 b ±0.48	1.56 b ±1.82	2.04 b ±1.04	7.92 ab ±4.89	66.07	5.92	95.12	66.81
1	0.90 b ±0.16	4.80 a ±2.40	0.24 b ±0.15	0.14 b ±0.15	1.14 b ±0.19	4.94 ab ±2.46	79.91	28.99	97.75	97.02
2	0.98 b ±0.27	4.10 a ±2.55	0.16 b ±0.05	0.10 b ±0.00	1.14 b ±0.28	4.20 b ±2.55	78.13	39.35	98.50	97.87
Leaf										
Control	4.48 a ±1.24	6.76 ab ±0.94	10.66 a ±1.82	4.70 a ±0.68	15.14 a ±2.98	11.46 a ±1.33	0	0	0	0
0.5	1.46 b ±0.27	7.98 a ±1.59	0.18 b ±0.08	1.26 b ±0.61	1.64 b ±0.30	9.24 ab ±1.80	67.41	+18.05	98.31	73.19
1	0.90 b ±0.16	5.80 ab ±1.56	0.12 b ±0.04	0.45 b ±0.21	1.02 b ±0.15	6.25 c ±1.34	79.91	14.20	98.87	90.43
2		3.95 b ±1.77		0.05 b ±0.07		4.00 cd ±1.84		41.57		98.94
Bulb										
Control	4.48 a ±1.24	6.76 b ±0.94	10.66 a ±1.82	4.70 a ±0.68	15.14 a ±2.98	11.46 a ±1.33	0	0	0	0
0.5	5.86 a ±0.42	8.72 a ±0.66 ab	8.70 a ±2.59	4.38 a ±1.32	14.56 a ±2.56	13.10 a ±1.55	+30.80	+28.99	18.39	6.81
1	5.84 a ±0.50	7.26 ±0.94	2.58 b ±0.91	4.42 a ±0.75	8.42 b ±1.08	11.68 a ±1.30	+30.36	+7.40	75.80	5.96
2	6.12 a ±1.23	8.68 a ±1.00	3.30 b ±1.53	4.14 a ±0.43	9.42 b ±1.54	12.82 a ±0.89	+36.61	+28.40	69.04	11.91

Note: The plus sign and grey colour indicate values that stimulate rather than inhibit the growth of seedlings in length.

Leaf and flower extracts also reduced seedling biomass compared with the control group, whereas bulb extracts generally had weaker effects and, in some cases, stimulated seedling biomass (Tab. 2). Similar contrasting responses have been observed in allelopathic assays, including stimulation at lower concentrations and inhibition at higher concentrations /9/.

Increased electrolyte leakage was observed particularly following treatment with leaf and flower extracts, whereas bulb extracts generally did not increase electrolyte leakage compared with the control. Electrolyte leakage is associated with plant responses to various stresses and is largely related to the efflux of ions from plant cells, particularly K^+ /2/. Therefore, the increased leakage observed in the present study may indicate alterations in cellular ion homeostasis and plasma membrane function, suggesting that leaf and flower

extracts induced greater physiological stress than bulb extracts.

Tab. 2: Fresh mass (FM), dry mass (DM), and total water content (WC) in seedlings of *Sinapis alba* (A) and *Festuca arundinacea* (B) watered with aqueous extracts of the organs of *Puschkinia scilloides* at concentrations of 0.5%, 1%, and 2%; mean values ($n = 5$) followed by different letters are significantly different according to Tukey's test at $p \leq 0.05$.

Type of extract (%)	FM (g)		DM (g)		DM (%)		WC (%)	
	A	B	A	B	A	B	A	B
Flower and pedicel								
Control	0.044 a ± 0.014	0.010 a ± 0.002	0.004 a ± 0.002	0.001 a ± 0.001	8.22 a ± 2.75	13.57 a ± 5.79	91.78 a ± 2.75	86.43 a ± 5.79
0.5	0.018 b ± 0.004	0.013 a ± 0.003	0.001 b ± 0.000	0.002 a ± 0.001	5.83 a ± 1.15	18.56 a ± 2.69	94.17 a ± 1.15	81.44 a ± 2.69
1	0.012 b ± 0.003	0.010 a ± 0.002	0.001 b ± 0.001	0.002 a ± 0.001	11.29 a ± 4.29	18.63 a ± 6.29	88.71 a ± 4.29	81.37 a ± 6.29
2	0.015 b ± 0.003	0.011 a ± 0.003	0.002 ab ± 0.001	0.002 a ± 0.000	11.72 a ± 6.66	19.69 a ± 0.44	88.28 a ± 6.66	80.31 a ± 0.44
Leaf								
Control	0.044 a ± 0.014	0.010 a ± 0.002	0.004 a ± 0.002	0.001 a ± 0.001	8.22 a ± 2.75	13.57 a ± 5.79	91.78 a ± 2.75	86.43 a ± 5.79
0.5	0.026 b ± 0.008	0.013 a ± 0.002	0.002 a ± 0.001	0.002 a ± 0.001	8.20 a ± 3.01	17.81 a ± 8.33	91.80 a ± 3.01	82.19 a ± 8.33
1	0.030 ab ± 0.007	0.013 a ± 0.002	0.002 a ± 0.001	0.002 a ± 0.000	5.00 a ± 1.68	17.94 a 1.15	95.00 a ± 1.68	82.06 a 1.15
2		0.013 a ± 0.003		0.002 a ± 0.000		15.41 a ± 3.31		84.59 a ± 3.31
Bulb								
Control	0.044 a ± 0.014	0.010 b ± 0.002	0.004 a ± 0.002	0.001 a ± 0.001	8.22 a ± 2.75	13.57 a ± 5.79	91.78 a ± 2.75	86.43 a ± 5.79
0.5	0.050 a ± 0.007	0.015 a ± 0.003	0.003 a ± 0.001	0.002 a ± 0.001	5.29 a ± 1.10	13.96 a ± 1.68	94.71 a ± 1.10	86.04 a ± 1.68
1	0.057 a ± 0.004	0.014 ab ± 0.003	0.003 a ± 0.001	0.002 a ± 0.000	4.59 a ± 1.59	15.88 a ± 2.06	95.41 a ± 1.59	84.12 a ± 2.06
2	0.051 a ± 0.005	0.016 a ± 0.002	0.003 a ± 0.001	0.002 a ± 0.000	6.08 a ± 2.45	13.69 a ± 1.11	93.92 a ± 2.45	86.31 a ± 1.11

The allelopathic potential of *P. scilloides* depends on both the plant organ and extract concentration. The leaves showed the strongest inhibitory effects, followed by the flowers with pedicels, whereas the bulbs generally showed the weakest effects. Although other species belonging to the same family have demonstrated confirmed allelopathic properties [3], laboratory results obtained using aqueous extracts cannot be directly extrapolated to natural habitats. In soil, allelopathic compounds interact with soil components and microorganisms, which may modify their availability and phytotoxicity [8]. Therefore, further chemical analyses and field studies are necessary to determine the ecological significance of the allelopathic potential of *P. scilloides*.

CONCLUSION

The results showed that aqueous extracts from the organs of *Puschkinia scilloides* Adams inhibited the germination and seedling growth of both tested species, *Sinapis alba* L. and *Festuca arundinacea* Schreb. Higher extract concentrations intensified the allelopathic effects, primarily by reducing seedling growth. Leaf and flower extracts reduced seedling biomass compared with the control, whereas bulb extracts increased this parameter. Among

the organs investigated, the leaves of striped squill showed the strongest allelopathic activity, while the bulbs had the weakest effect. Some extracts adversely affected the seedlings of the tested species, causing damage to cell membranes. Increased electrolyte leakage indicated cellular membrane damage and stress induced by extracts from striped squill organs. Overall, the results suggest that *P. scilloides* has allelopathic potential, which may contribute to its competitive interactions with other plant species, particularly under environmental conditions favorable to its growth. However, the Petri dish assay results cannot be directly extrapolated to natural habitats.

REFERENCES

- /1/ Ciarka, D., Gawrońska, H., Szawlowska, U., Gawroński, S.W.: Allelopathic potential of sunflower. I. Effects of genotypes, organs and biomass partitioning. *Allelopathy Journal*, 23(1), 2009: 95–110.
- /2/ Demidchik, V., Straltsova, D., Medvedev, S.S., Pozhvanov, G. A., Sokolik, A., Yurin, V.: Stress-induced electrolyte leakage: the role of K⁺-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. *Journal of Experimental Botany*, 65(5), 2014: 1259–1270. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru004>
- /3/ Gonçalves Castro, J. W., Cavalcante Costa, N., Weverton Almeida-Bezerra, J., et al.: Chemical profile and allelopathic potential of *Asparagus setaceus* (Kunth) Jessop (Asparagaceae). *Environmental & Social Management Journal/Revista de Gestão Social e Ambiental*, 18(11), 2024: 1-20. <https://doi.org/10.24857/rgsa.v18n11-133>
- /4/ Inderjit, Duke, S.O.: Ecophysiological aspects of allelopathy. *Planta*, 217, 2003: 529–539. <https://doi.org/10.1007/s00425-003-1054-z>
- /5/ Kalisz, S., Kivlin, S.N., Bialic-Murphy, L.: Allelopathy is pervasive in invasive plants. *Biological Invasions*, 23, 2021: 367–371. <https://doi.org/10.1007/s10530-020-02383-6>
- /6/ POWO (Plants of the World Online), 2026: *Puschkinia scilloides* Adams. https://powo.science.kew.org/taxon/urn%3Aalsid%3Aipni.org%3Anames%3A540344-1?utm_source=chatgpt.com#distributions
- /7/ Rice, E.L.: *Allelopathy*. 2nd ed. Academic Press, Orlando, 1984.
- /8/ Scavo, A., Abbate, C., Mauromicale, G.: Plant allelochemicals: agronomic, nutritional and ecological relevance in the soil system. *Plant and Soil*, 442, 2019: 23–48. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04190-y>
- /9/ Wang, K., Wang, T., Ren, C., Dou, P., Miao, Z., Liu, X., Huang, D., Wang, K.: Aqueous extracts of three herbs allelopathically inhibit lettuce germination but promote seedling growth at low concentrations. *Plants*, 11, 2022: 486. <https://doi.org/10.3390/plants11040486>
- /10/ Yetişen, K., Yıldırım, H., Özdemir, C.: A comparative anatomical study of the genus *Puschkinia* Adams in Turkey. *Acta Botanica Croatica*, 79 (1), 2020: 0-0. <https://doi.org/10.37427/botcro-2020-005>
- /11/ Yıldırım, H.: Domestic distribution and species variation limits of *Puschkinia scilloides* Adams (Asparagaceae/Liliaceae) in Turkey. *Manas Journal of Agriculture and Life Sciences*, 3, 2013: 7–12. (in Turkish).

INTERSPECIFIC AND INTRASPECIFIC VARIABILITY OF WILLOWS IN RESPONSE TO A HEAVY METAL MIXTURE

MEDZIDRUHOVÁ A VNÚTRODRUHOVÁ VARIABILITA ODPOVEDÍ VRB NA KOMBINOVANÝ VPLYV ŤAŽKÝCH KOVŮ

Zahid Hussain¹, Marek Súhrada¹, Yuliia Omelchenko¹, Ján Kováč², Marek Vaculík^{1,3}

¹ Comenius University in Bratislava, Faculty of Natural Sciences, Department of Plant Physiology, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, Slovakia; *corresponding author: hussain24@uniba.sk

² Technical University in Zvolen, Faculty of Forestry, Department of Phytology, Ul. T. G. Masaryka 24, 960 01 Zvolen, Slovakia

³ Slovak Academy of Sciences, Plant Science and Biodiversity Centre, Institute of Botany, Dúbravská cesta 9, 845 23 Bratislava, Slovakia

Summary

The present study investigated the responses of seven willow (*Salix* sp.) genotypes to simultaneous exposure to five heavy metals in hydroponic culture. Willows are characterized by rapid growth, high biomass productivity, and considerable potential for the phytoremediation of contaminated soils. Exposure to the combined metal treatment generally reduced aboveground biomass and photosynthetic pigment concentrations and was accompanied by decreased chlorophyll fluorescence, indicating impairment of photosynthetic performance under metal stress. Differences within a species were as large as differences between species, so clone identity mattered as much as species identity. Based on biomass production under the applied treatment, the “Gabčíkovo” genotype appears to be a promising candidate for further assessment of its phytoremediation potential in metal-contaminated substrates.

Key words: fast growing trees; heavy metal contamination; willows (Salix sp.).

Súhrn

Táto štúdia sa zameriava na sledovanie reakcií siedmich genotypov vrb (*Salix* sp.) na súčasné vystavenie piatim ťažkým kovom v hydroponickom médiu. Vrb sa vyznačujú rýchlym rastom, vysokou produkciou biomasy a značným potenciálom pre fytoremediáciu kontaminovaných pôd. Vystavenie kombinovanému vplyvu kovom vo všeobecnosti znížilo produkciu nadzemnej biomasy a koncentrácie fotosyntetických pigmentov a bolo sprevádzané zníženou fluorescenciou chlorofylu, čo naznačuje zhoršenie fotosyntetického výkonu pri strese z kovov. Rozdiely v rámci druhu boli rovnako veľké ako rozdiely medzi druhmi, takže identita klonu bola rovnako dôležitá ako identita druhu. Na základe produkcie biomasy sa genotyp „Gabčíkovo“ javí ako sľubný kandidát na ďalšie posúdenie jeho fytoremediálneho potenciálu v substrátoch kontaminovaných kovmi.

Kľúčové slová: kontaminácia ťažkými kovmi; rýchlorastúce stromy; vrb (Salix sp.).

INTRODUCTION

Soil contamination resulting from historical mining activities represents a significant environmental risk for organisms inhabiting affected areas /1,2/. Mine tailings, waste heaps, and other deposits of mining residues often contain elevated concentrations of potentially toxic elements. Through environmental processes such as erosion, microbial activity, and wind action, these elements may be released into the surrounding environment in bioavailable forms and dispersed over wider areas, where they typically occur as mixtures of several elements rather than singly /3-5/.

One potential approach to the management of contaminated sites is the application of fast-growing woody species in phytoremediation. Owing to their high biomass productivity, these plants can contribute to soil surface stabilization, reduce erosion, and reinforce the soil profile /6/, thereby limiting the dispersal of potentially toxic elements through wind and precipitation. Furthermore, appropriate selection of tree species or genotypes may minimize the transfer of contaminants into plant tissues, potentially allowing the subsequent energetic utilization of woody biomass /7-9/.

In the present experiment, we evaluated the effects of simultaneous exposure to five heavy metals on seven *Salix* genotypes. By comparing biomass production, photosynthetic pigment concentrations, and chlorophyll fluorescence parameters, the objective was to identify suitable willow genotypes for future assessment of their phytoremediation potential using naturally contaminated substrates originating from mining-affected sites in Slovakia.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

Seven willow genotypes (*Salix* sp.) were included in the experiment: Torhild (*S. viminalis* × *S. schwerinii*), Olof (*S. viminalis* × *S. schwerinii*), Gabčíkovo (*S. viminalis*), Corvinus (*S. alba*), Sven (*S. viminalis* × *S. schwerinii*), Yord (*S. viminalis* × *S. schwerinii*), and TH (*S. alba*).

The genus *Salix* was selected because of its rapid growth, high biomass productivity, adaptability to diverse environmental conditions, and widespread application in studies focused on metal uptake, transport, tolerance, and phytoremediation. Plant material was obtained from the National Forest Centre, Research Station Gabčíkovo, Slovakia.

Plant cultivation and experimental design

Stem cuttings approximately 15 cm in length and 1 cm in diameter were initially cultivated hydroponically for three weeks in modified Hoagland nutrient solution without metal addition to allow acclimation and root development. Subsequently, plants were exposed for an additional three weeks to one of two treatments: (i) control conditions (modified Hoagland solution (10)) and (ii) the same solution supplemented with a mixture of Cd, Cu, Ni, Zn and Pb (MIX). Each metal in the MIX treatment was applied in the concentration and the form as indicated here: 5 µM Cd(NO₃)₂ · 4H₂O, 5 µM CuSO₄ · 5H₂O, 25 µM NiCl₂ · 6H₂O, 50 µM ZnSO₄ · 7H₂O and 5 µM Pb(NO₃)₂.

Plants were cultivated in 7-L opaque plastic containers to prevent light exposure of the root system. Cuttings were maintained vertically in the container lids. Three containers were used per treatment, each containing two plants of each genotype. The nutrient solution was replaced weekly.

Growth conditions were maintained at 25/23 °C (day/night), 60% relative humidity, a 16-h photoperiod, and a photosynthetic photon flux density of 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Biomass determination

At the end of the experiment, the fresh biomass of the aboveground plant parts was determined. Samples were subsequently dried at 70 °C for three days in a laboratory drying oven (Ventiline 105, VWR) until constant weight, after which dry biomass was determined.

Chlorophyll fluorescence measurements

Chlorophyll fluorescence was measured at the end of the three-week exposure period using a portable fluorometer (Fluorpen FP110-LM/S, PSI, Czech Republic). Prior to measurement, plants were dark-adapted for 60 min to ensure complete adaptation to dark conditions. Minimum fluorescence (F_v) and maximum fluorescence (F_m) were subsequently recorded, and the maximum quantum yield of photosystem II (QY) was calculated as $QY = (F_m - F_v)/F_m$.

Measurements were performed on the central portion of the leaf blade of the third leaf from the plant apex. Three measurements were conducted per plant and averaged before analysis.

Spectrophotometric determination of photosynthetic pigments

Chlorophyll and carotenoid concentrations were determined using the third fully developed leaf from the apex. Leaves from a minimum of four plants were used to prepare composite samples weighing 0.02-0.05 g. The plant material was homogenized with sea sand and MgCO_3 in the presence of 80% acetone.

Samples were centrifuged for 6 min at 6,000 rpm and 4 °C (Centrifuge Mega Star 1.6R, VWR). The resulting supernatant was analysed spectrophotometrically using a 6705 UV/Vis spectrophotometer (Jenway). Absorbance was measured at 663.2 nm for chlorophyll a, 646.8 nm for chlorophyll b, and 470 nm for carotenoids. An 80% acetone solution was used as a reference. Pigment concentrations were calculated according to Lichtenthaler /11/.

Statistical analysis

Data were tested for normality and homogeneity of variance before analysis. Differences between control and metal-treated plants within each genotype were then evaluated by one-way analysis of variance, followed by a multiple range test at $P \leq 0.05$. All calculations were performed in Statgraphics Centurion XV. Values in the figures are means of six plants per genotype and treatment, and error bars show standard deviation.

RESULTS AND DISCUSSION

Soil Biomass production

Comparison of biomass production revealed substantial differences among the studied genotypes. Under control conditions, the highest aboveground biomass production was observed in “Torhild” and “Gabčíkovo”, whereas the lowest production was recorded in “TH”.

Under simultaneous exposure to the metal mixture, “Gabčíkovo” produced the highest aboveground dry biomass. In contrast, “Torhild” responded negatively to metal exposure and

exhibited lower dry biomass production compared with the control. Interestingly, the “Yord” genotype showed an opposite response, with the presence of metals stimulating aboveground biomass production (Fig. 1). This increase was statistically significant. An increase in growth under mild stress is often described as hormesis, in which a low dose of a toxic element stimulates growth before toxicity becomes dominant. Of the seven genotypes, only Torhild and Yord differed significantly between treatments. In the remaining five, aboveground biomass under the metal mixture did not differ from the control, which indicates that biomass alone is not a sensitive indicator of metal stress in willows over six weeks. Chlorophyll fluorescence separated the treatments in every genotype (Fig. 2).

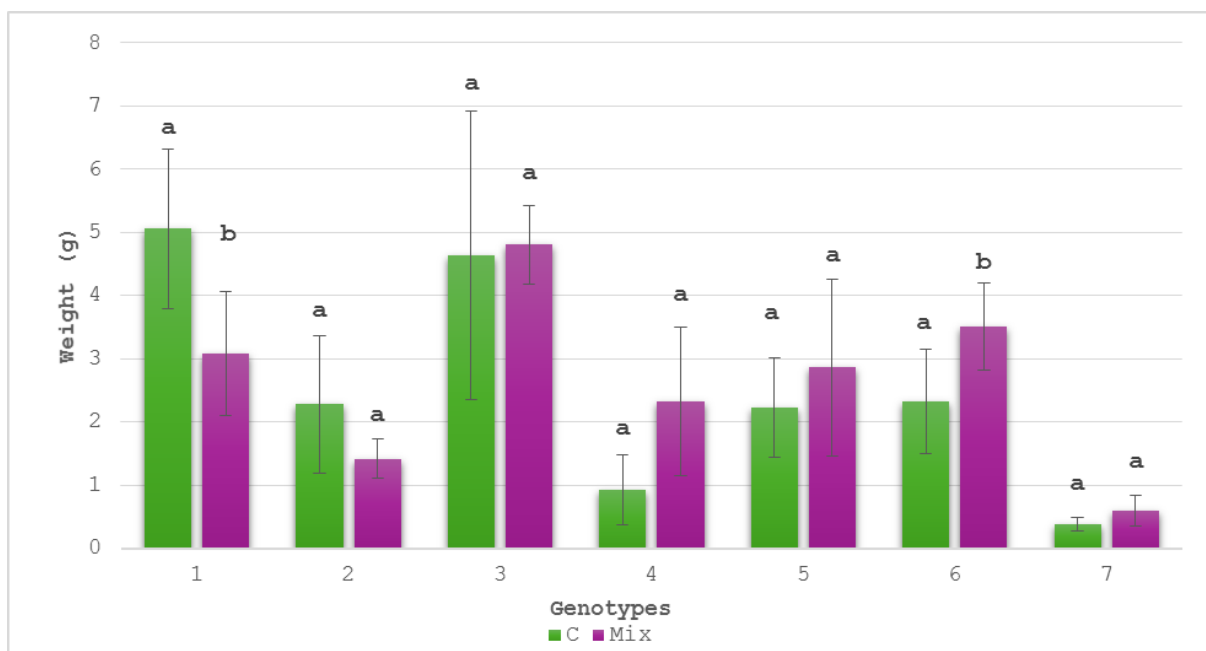


Fig. 1. Dry weight of aboveground biomass of *Salix* plants. Genotypes: Torhild (1), Olof (2), Gabčíkovo (3), Corvinus (4), Sven (5), Yord (6), and TH (7). Values represent means of six plants (two plants in each of three containers), and error bars show standard deviation. Different letters above the bars indicate a significant difference between control and metal-treated plants within a genotype at $P \leq 0.05$.

Chlorophyll fluorescence

Chlorophyll fluorescence measurements revealed significant differences in the response of the photosynthetic apparatus to the applied metal treatment. All willow genotypes cultivated under metal stress exhibited reduced QY values (0.70–0.75), indicating impairment of photosynthetic performance, with the greatest decrease observed in the “Sven” genotype.

Similar reductions in chlorophyll fluorescence following exposure to a combination of Pb, Cd, and Ni in *Salix* plants were reported by Pajević et al. /12/, who recorded QY values of approximately 0.69. In contrast, control plants showed QY values equal to or higher than 0.81, with the highest fluorescence value recorded in “Gabčíkovo”. According to Maxwell and Johnson /13/, these values are within the range characteristic of non-photoinhibited plants, indicating that photosynthetic processes were not substantially impaired under control conditions (Fig. 2). Each metal in the mixture was applied at half the concentration used in the corresponding single-element treatment, so the reduction in QY occurred at doses lower than

those applied to any metal individually.

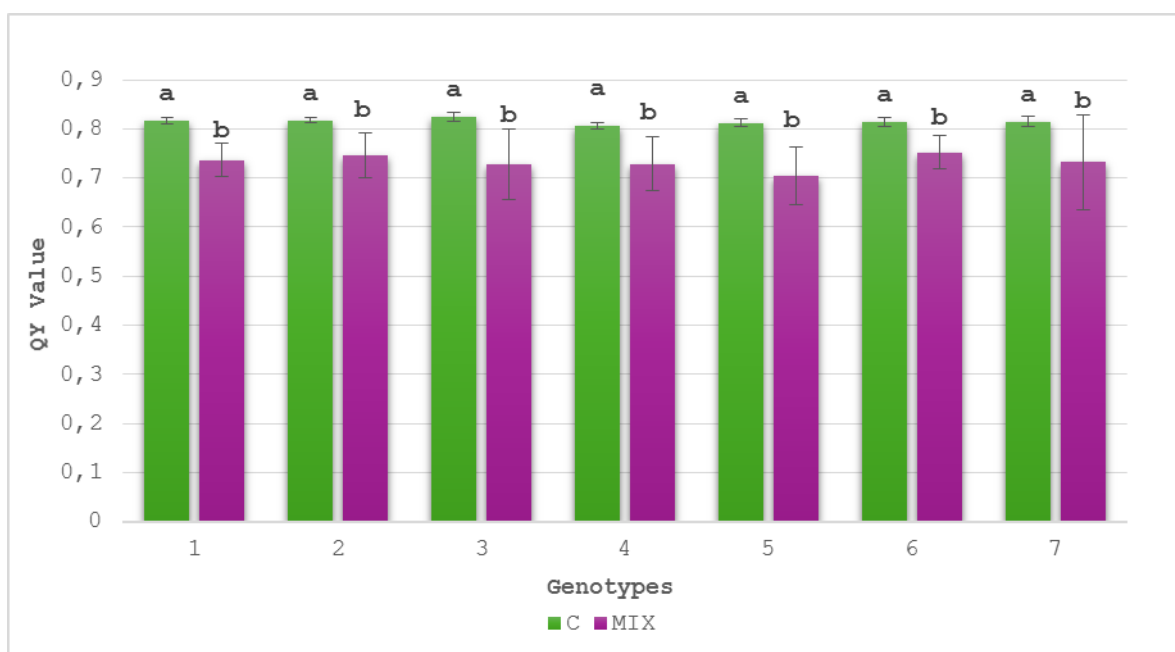


Fig. 2. Chlorophyll fluorescence values in leaves of *Salix* plants. Genotypes: Torhild (1), Olof (2), Gabčíkovo (3), Corvinus (4), Sven (5), Yord (6), and TH (7). Values represent means of six plants (two plants in each of three containers), and error bars show standard deviation. Different letters above the bars indicate a significant difference between control and metal-treated plants within a genotype at $P \leq 0.05$.

Photosynthetic pigment concentrations

Spectrophotometric analysis revealed differences in photosynthetic pigment concentrations among the studied genotypes. However, exposure to the combined metal treatment resulted in a significant reduction in chlorophyll concentrations in all genotypes compared with control plants. Similar inhibitory effects of heavy metals on chlorophyll accumulation in willow leaves have previously been reported by Sirgedaitė-Šėžienė et al. /14/ and Nikolić et al. /15/.

The observed reduction in pigment concentrations corresponded with visible symptoms of leaf chlorosis and was consistent with the chlorophyll fluorescence data. Carotenoid concentrations were also significantly reduced following metal exposure in all studied genotypes.

Interspecific and intraspecific variability

The genotypes studied here allow both an interspecific and an intraspecific comparison. Corvinus and TH belong to *S. alba*, Gabčíkovo to *S. viminalis*, and Torhild, Olof, Sven and Yord are hybrids of *S. viminalis* and *S. schwerinii*. Variation within a single group was at least as pronounced as variation between groups. TH produced the lowest aboveground biomass under control conditions, while the second *S. alba* clone did not. Torhild and Yord share the same parentage, yet they responded to the metal mixture in opposite directions. Clone identity therefore appears to matter as much as species identity when willows are screened for phytoremediation.

CONCLUSION

The studied willow genotypes exhibited substantial variability in the evaluated parameters under control conditions, likely reflecting differences in their genetic background. Simultaneous exposure to the combined metal treatment generally resulted in reduced aboveground biomass production and decreased concentrations of photosynthetic pigments, accompanied by lower chlorophyll fluorescence parameters, indicating metal-induced impairment of photosynthetic performance.

Based on its biomass production under multi-metal stress, the “Gabčíkovo” genotype appears to be a suitable candidate for further assessment of its phytoremediation potential in metal-contaminated substrates. However, a comprehensive evaluation of its suitability will require further investigation of metal accumulation and translocation characteristics. Two limitations should also be kept in mind. The plants were grown hydroponically, so metal availability differed from that in real mine substrates. High biomass production under metal stress also indicates tolerance rather than removal efficiency.

REFERENCES

- /1/ Okerefor, U., Makhatha, M., Mekuto, L., Uche-Okerefor, N., Sebola, T., & Mavumengwana, V. (2020). Toxic metal implications on agricultural soils, plants, animals, aquatic life and human health. *International journal of environmental research and public health*, 17(7), 2204.
- /2/ Sánchez-Castro, I., Molina, L., Prieto-Fernández, M. Á., & Segura, A. (2023). Past, present and future trends in the remediation of heavy-metal contaminated soil-Remediation techniques applied in real soil-contamination events. *Heliyon*, 9(6).
- /3/ Molnárová, M., Ružicková, J., Lehotská, B., Takáčová, A., & Fargašová, A. (2018). Determining As, Cd, Cu, Pb, Sb, and Zn in leaves of trees collected near mining locations of Male Karpaty Mts. in the Slovak
- /4/ Wang, F., Yang, L., Zhao, Y., Zhao, Z., Oh, K., & He, C. (2022). Response of castor seedling roots to combined pollution of Cd and Zn in soils. *Sustainability*, 14(17), 10702.
- /5/ Nieder, R., & Benbi, D. K. (2024). Potentially toxic elements in the environment—a review of sources, sinks, pathways and mitigation measures. *Reviews on Environmental Health*, 39(3), 561.
- /6/ Ghadge, S. A., & Trivedi, P. (2026). Evaluation on the biological aspect of plant, contaminant types and application of phytoremediation for environmental and economical sustainability. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, 29(1), 75-95.
- /7/ Vidican, R., Mihăiescu, T., Pleșa, A., & Crișan, I. (2020). Opportunities for the utilization of phytoremediation biomass rich in heavy metals. *ProEnvironment Promediu*, 13(43), 77-81.
- /8/ Shen, X., Dai, M., Yang, J., Sun, L., Tan, X., Peng, C., ... & Naz, I. (2022). A critical review on the phytoremediation of heavy metals from environment: Performance and challenges. *Chemosphere*, 291, 132979.
- /9/ Subbulakshmi, G., Thiruneelakandan, R., & Priya, G. P. (2023). Phytoremediation: sustainable and organic technology for the removal of heavy metal contaminants. In *Phytoremediation: Management of Environmental Contaminants*, Volume 7 (pp. 69-74). Cham: Springer International Publishing.
- /10/ Hoagland, D. R. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. *Circular. California agricultural experiment station*, 347, 1.
- /11/ Lichtenthaler, H. K. (1987). [34] Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In *Methods in enzymology* (Vol. 148, pp. 350-382). Academic Press.
- /12/ Pajević, S., Borišev, M., Nikolić, N., Krstić, B., Pilipović, A., & Orlović, S. (2009). Phytoremediation capacity of poplar (*Populus* spp.) and willow (*Salix* spp.) clones in relation to photosynthesis. *Archives of Biological Sciences*, 61(2), 239-247.
- /13/ Maxwell, K., & Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of experimental botany*, 51(345), 659-668.
- /14/ Sirgedaitė-Šežienė, V., Striganavičiūtė, G., Šilanskienė, M., Kniūpytė, I., Praspaliauskas, M., Vaškevičienė, I., ... & Vaitiekūnaitė, D. (2025). Evaluating *Populus tremula* L. and *Salix caprea* L. for phytoremediation: growth, metal uptake, and biochemical responses under arsenic, cadmium, and lead stress. *Frontiers in plant science*, 16, 1617432.
- /15/ Nikolić, N. P., Borišev, M. K., Pajević, S. P., Arsenov, D. D., Župunski, M. D., Orlović, S. S., & Pilipović, A. R. (2015). Photosynthetic response and tolerance of three willow species to cadmium exposure in hydroponic culture. *Archives of Biological Sciences*, 67(4), 1411-1420.

Acknowledgements

This work was supported by the Slovak Research and Development Agency under projects APVV-23-0318 and APVV SK-TW-24-0008, and by the Scientific Grant Agency of the Ministry of Education, Research, Development and Youth of the Slovak Republic and the Slovak Academy of Sciences under project VEGA 2/0047/25. The authors thank Ing. Martin Bartko, PhD., from the National Forest Centre, Research Station Gabčíkovo, for providing the plant material.

EFFECT OF PLASMA-ACTIVATED WATER ON GROWTH OF BUSH AND CLIMBING COMMON BEAN VARIETIES

VLIV PLAZMOU AKTIVOVANÉ VODY NA RŮST KEŘÍČKOVÝCH A POPÍNAVÝCH ODRŮD FAZOLE OBECNÉ

Mustafa Ghulam¹, Božena Šerá¹, Ramin Mehrabifard², Marianna Molnárová¹, Zdenko Machala²

¹ Department of Environmental Ecology and Landscape Management, Faculty of Natural Sciences, Comenius University Bratislava, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, SK-842 15 Bratislava, Slovak Republic, mustafa.ghulam@uniba.sk

² Division of Environmental Physics, Faculty of Mathematics, Physics and Informatics, Comenius University Bratislava, Mlynská dolina, SK-842 48 Bratislava, Slovak Republic

Summary

Plasma-activated water (PAW) positively affected the growth of common bean; however, its effectiveness depended on both plant growth habit and application method. In the climbing bean variety, seed priming proved to be the most effective treatment, significantly increasing plant length and biomass accumulation. In contrast, foliar spraying produced the strongest growth-promoting effects in the bush bean variety, whereas seed priming primarily enhanced seedling emergence. The combined application of seed priming and foliar spraying did not provide greater benefits than the most effective individual treatment. These findings indicate that the optimal use of PAW is dependent on plant growth habit and should be tailored accordingly.

Keywords: *plasma-activated water; Phaseolus vulgaris; seed priming; foliar spraying; growth habit; plant morphology*

Souhrn

Plazmou aktivovaná voda (PAW) pozitivně ovlivnila růst fazole obecné, avšak účinek závisel na habitatu rostliny a způsobu aplikace. U popínavé fazole byl nejúčinnější PAW-priming semen, který výrazně zvýšil délku rostlin i biomasu. U keříčkové fazole přinesl nejlepší výsledky PAW postřik na list, zatímco PAW-priming zlepšil vzcházivost semen. Kombinace obou aplikací nebyla účinnější než nejlepší samostatné ošetření. Výsledky naznačují, že optimální využití PAW závisí na růstovém habitu rostliny.

Klíčová slova: *plasma-activated water; Phaseolus vulgaris; seed priming; foliar spraying; growth habit; plant morphology*

INTRODUCTION

Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is an important grain legume cultivated for its nutritional value and wide adaptability. Two main growth habits are recognized: determinate bush types and indeterminate climbing types, which differ in architecture, biomass allocation and environmental responses [1-3].

Plasma-activated water (PAW) contains reactive oxygen and nitrogen species generated by cold plasma treatment of water and has emerged as an environmentally friendly biostimulant [4,5]. PAW contains a significant amount of hydrogen peroxide (H₂O₂), which is generated during the activation process by cold plasma treatment of water. This potent

oxidizing agent is one of the key active components responsible for the biological effects of PAW on plants /6/.

Previous studies demonstrated beneficial effects of PAW on germination and growth in several crops, while responses vary among species, genotypes and application methods /7-9/. The aim of this study was to compare the responses of climbing and bush common bean varieties to PAW applied as seed priming, foliar spraying, or their combination under outdoor conditions.

MATERIALS AND METHODS

Experiment 1: Climbing bean

An outdoor pot experiment was conducted in Bratislava during summer 2024 using an indeterminate climbing bean variety. Four treatments were compared: control, PAW seed priming, PAW foliar spraying, and priming combined with spraying. Seeds were primed in freshly prepared PAW for 6 h. Foliar applications were performed repeatedly during vegetative growth. Emergence, shoot growth and biomass parameters were evaluated at harvest. Detailed information on PAW preparation, seed treatment, cultivation procedures, and data collection is available in Ghulam et al. /10/.

Experiment 2: Bush bean

A similar outdoor pot experiment was conducted in summer 2025 using the determinate cultivar Casablanka 10103. The same four treatments and cultivation procedures were applied. Emergence traits, shoot growth, root and shoot morphology, and plant biomass were assessed. All obtained data were analysed by one-way ANOVA followed by appropriate post hoc tests at $p < 0.05$.

RESULTS

Experiment 1: Climbing bean

Seedling emergence was not significantly affected by treatments. However, PAW seed priming significantly increased shoot length (+35%), dry shoot biomass (+52%), fresh root biomass (+55%) and dry root biomass (+76%) compared with the control. The combined treatment improved plant growth but did not exceed priming alone.

Experiment 2: Bush bean

Seed priming improved emergence, increasing final emergence from 69.0% to 86.9% and reducing T50 from 6.78 to 5.90 days. Foliar spraying produced the strongest vegetative response, increasing plant length by 54%, fresh weight by 60% and dry weight by 52% relative to the control. The combined treatment showed no advantage over the best individual treatment.

DISCUSSION

The results indicate that PAW effectiveness depends on both plant growth habit and application method. Climbing bean responded most strongly to seed priming, whereas bush bean benefited primarily from foliar spraying. Similar positive effects of PAW on growth and establishment have been reported in pea, lettuce, maize and rice /8, 11-13/.

The absence of additional benefits from combined priming and spraying suggests that PAW responses may reach saturation after a single effective treatment. Similar variability of responses to repeated PAW applications has been reported previously and is influenced by species, genotype and treatment regime /13-15/.

One of the most interesting findings is the increased activity of antioxidant enzymes (climbing beans). Specifically, these are the enzymes SOD (superoxide dismutase), G-POX (guaiacol peroxidase), CAT (catalase), APX (ascorbate peroxidase) and GR (glutathione

reductase), which all exhibited significantly higher activity in plants treated with PAW /10/. The positive effects of PAW are associated with the presence of reactive oxygen and nitrogen species in this activated water. The research tested three application methods: PAW priming, PAW spraying and their combination. The findings obtained suggest that PAW increases growth and physiological parameters of beans, making it a promising agent for practical agricultural applications.

Differences between growth habits may reflect variation in plant architecture and developmental patterns. Although the experiments were conducted in different growing seasons, the identical experimental design provides support for the conclusion that growth habit influences the optimal PAW application strategy.

CONCLUSION

PAW enhanced common bean growth, but the optimal application method depended on growth habit. Seed priming was most effective in the climbing variety, whereas foliar spraying produced the strongest growth stimulation in the bush cultivar. Combined application did not improve performance beyond the best individual treatment. These findings suggest that PAW application strategies should be tailored to plant growth habit and genotype.

REFERENCES

- /1/ Clark, E.A., Francis, C.A. (1985). Bean-maize intercrops: a comparison of bush and climbing bean growth habits. *Field Crops Research*, 10, 151-166.
- /2/ Kelly, J.D. (2001). Remaking bean plant architecture for efficient production. *Advances in Agronomy*, 71, 109-143.
- /3/ Beagley, C.J., Vander Schoor, J.K., Butler, J.B., Weller, J.L. (2025). Genetic control of stem elongation in common bean and the influence of age and flowering time. *Theoretical and Applied Genetics*, 138.
- /4/ Thirumdas, R., Kothakota, A., Annature, U. et al. (2018). Plasma activated water (PAW): chemistry, physico-chemical properties, applications in food and agriculture. *Trends in Food Science & Technology*, 77, 21-31.
- /5/ Guo, D., Liu, H., Zhou, J., Xie, J., He, C. (2021). Plasma-activated water production and its application in agriculture. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101, 4891-4899.
- /6/ Scholtz, V., Jirešová, J., Lokajová, E., Měřínská, T., Thonová, L., Šerá, B. (2025). Is plasma activated water really magical? A reflection on the phenomenon. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 45, 1337–1351.
- /7/ Kučerová, K., Henselová, M., Slováková, L., Hensel, K. (2019). Effects of plasma activated water on wheat. *Plasma Processes and Polymers*, 16, 1800131.
- /8/ Ndiffio Yemeli, G.B., Janda, M., Machala, Z. (2022). Non-thermal plasma as a priming tool to improve the yield of pea in outdoor conditions. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 42, 1143-1168.
- /9/ Okruhlicová, Z., Lukačová, Z., Hensel, K. (2025). Optimising plasma-activated water applications for enhanced growth and antioxidant capacity in maize hybrids. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 58, 225202.
- /10/ Ghulam, M., Mehrabifard, R., Mišúthová, A., Cai, X., Machala, Z., Šerá, B.: Growth of *Phaseolus vulgaris* in response to seed priming with plasma-activated water in a laboratory screening and outdoor pot trial. *Plasma Processes and Polymers*, 2025, e70103. DOI: 10.1002/ppap.70103.
- /11/ Stoleru, V., Burlica, R., Mihalache, G. et al. (2020). Plant growth promotion effect of plasma activated water on *Lactuca sativa* L. *Scientific Reports*, 10, 20920.
- /12/ Škarpa, P., Klofáč, D., Krčma, F., Šimečková, J., Kozáková, Z. (2020). Effect of plasma activated water foliar application on selected growth parameters of maize. *Water*, 12, 3545
- /13/ Rashid, M., Rashid, M.M., Reza, M.A., Talukder, M.R. (2021). Combined effects of air plasma seed treatment and foliar application of plasma activated water on enhanced paddy plant growth and yield. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 41, 1081-1099.
- /14/ Cai, X., Šerá, B. (2026). Multifaceted impacts of plasma-activated water on seed germination and plant development with implications for ecological innovations in agriculture. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 46.
- /15/ Guragain, R.P., Guragain, D.P., Baniya, H.B., Subedi, D.P. (2025). Synergistic effects of non-thermal plasma and plasma-activated water on germination, water uptake, and early growth of diverse crop seeds. *Results in Engineering*, 27, 106045.

Acknowledgments

The research was supported by the EU NextGenerationEU through the Recovery and Resilience Plan for Slovakia under the projects No. 09I03-03-V02-00036 and No. 09I03-03-V03 00033 and by a grant from the Slovak Research and Development Agency APVV-22-0247.

INFLUENCE OF PLASMA-ACTIVATED WATER ON PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS, PROTEINS, AND THIOL METABOLISM IN BEANS

VPLYV PLASMOU AKTIVOVANEJ VODY NA FOTOSYNTETICKÉ PIGMENTY, PROTEÍNY A METABOLIZMUS TIOLOV VO FAZULI ZÁHRADNEJ

Marianna Molnárová¹, Mustafa Ghulam¹, Ramin Mehrabifard², Pratik Doshi¹, Zdenko Machala², Božena Šerá¹

¹ Department of Environmental Ecology and Landscape Management, Faculty of Natural Sciences, Comenius University Bratislava, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, SK-842 15 Bratislava, Slovak Republic,

² Division of Environmental Physics, Faculty of Mathematics, Physics and Informatics, Comenius University Bratislava, Mlynská dolina, SK-842 48 Bratislava, Slovak Republic, marianna.molnarova@uniba.sk, mustafa.ghulam@uniba.sk, mehrabifard1@uniba.sk, pratik.doshi@uniba.sk, Zdenko.Machala@fmph.uniba.sk, bozena.sera@uniba.sk

Summary

The application of plasma-activated water (PAW) during the vegetative growth of crops appears to be a promising method to improve the establishment of the stand. This study aimed to compare the following treatments: PAW seed priming (P), repeated PAW foliar spraying (S), and their combination (PS) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L. 'Casablanka 10103') grown in outdoor pots. Priming treatment alone increased chlorophyll b levels, suggesting improved light-harvesting adaptation in dense canopies. This PAW application also increased the levels of its precursor (chlorophyll a) and total carotenoids. The total carotenoid content in the PS group was lower than in the control group (0.602 vs. 0.626 mg/mg DM). Although total proteins and protein thiol groups were higher than in the control, only higher protein thiol group content was statistically significant for priming seeds, indicating a higher level of oxidative stress. Therefore, the foliar application of PAW appears to be the most effective method because of its easy integration into mechanized spraying systems, whereas seed priming could also be suitable.

Keywords: seed priming, foliar application, oxidative stress, photosynthetic pigments, plasma-activated water.

Súhrn

Aplikácia plazmou aktivovanej vody (PAW) počas vegetatívneho rastu plodín sa javí ako sľubný spôsob zlepšenia zakladania porastu. Cieľom tejto štúdie bolo porovnať nasledujúce spôsoby ošetrovania: priming semien pomocou PAW (P), opakovaný postrek listov PAW (S) a ich kombinácia (PS) pri pestovaní na fazuli záhradnej (*Phaseolus vulgaris* L. 'Casablanka 10103') v nádobách vonku. Samotný priming zvýšil obsah chlorofylu b, čo naznačuje lepšiu adaptáciu na zachytávanie svetla v hustých porastoch. Táto aplikácia PAW zvýšila aj obsah jeho prekursora (chlorofylu a) a celkových karotenoidov. Celkový obsah karotenoidov v skupine PS bol nižší než v kontrolnej skupine (0,602 oproti 0,626 mg/mg sušiny). Hoci celkové bielkoviny a proteínové tiolové skupiny dosahovali vyššie hodnoty než v kontrole, v prípade primingu semien bol štatisticky významný iba vyšší obsah proteínových tiolových skupín, čo poukazuje na vyššiu úroveň oxidačného stresu. Za najúčinnnejšiu metódu sa preto javí listová aplikácia PAW, a to najmä pre možnosť jej ľahkého začlenenia do mechanizovaných postrekových systémov, hoci vhodnou metódou môže byť aj priming semien.

Klíčové slová: příprava semen, listová aplikácia, oxidačný stres, fotosyntetické pigment, plazmou aktivovaná voda.

INTRODUCTION

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is a part of common crop systems and contributes to agroecosystem health as a legume that improves and sustains soil fertility through atmospheric nitrogen fixation. Their shortened vegetative phase of 45 to 65 days makes beans suitable for intensive rotations at higher latitudes. Therefore, any pre-sown or in-season treatment can be used within this narrow development phase /1,2/. One of the emerging and environmentally sustainable technologies that shows considerable promise in improving seed germination, plant growth, and the biocontrol of pests and diseases is plasma-activated water (PAW) /3/. PAW is produced by exposing water to cold atmospheric plasma (CAP), resulting in the formation of various short- and long-lived reactive oxygen and nitrogen species that are transported from the plasma into the liquid /3/. Non-equilibrium plasma reactions can produce reactive oxygen and nitrogen species (RONS), which are transported from the plasma into the liquid, including hydrogen peroxide, a typical long-lived RONS in PAW /3, 4/. There are two principal PAW applications: a) seed priming, where seeds are soaked before sowing, and b) foliar spraying, which is applied repeatedly to the canopy during vegetative growth. The combination of these methods may enhance the results /5-7/. Protein thiol (-SH) groups can indicate a higher oxidative stress. Therefore, we chose this parameter to determine whether the presence of PAW changed the balance between oxidants and antioxidants. Carotenoids are not only accessory light-harvesting pigments, but also antioxidants /8/. Therefore, this study aimed to compare the effects of PAW treatments on seedling emergence, photosynthetic pigments, protein thiol groups, and total proteins to evaluate the practical implications of architecture-specific PAW responses for different bean cropping systems.

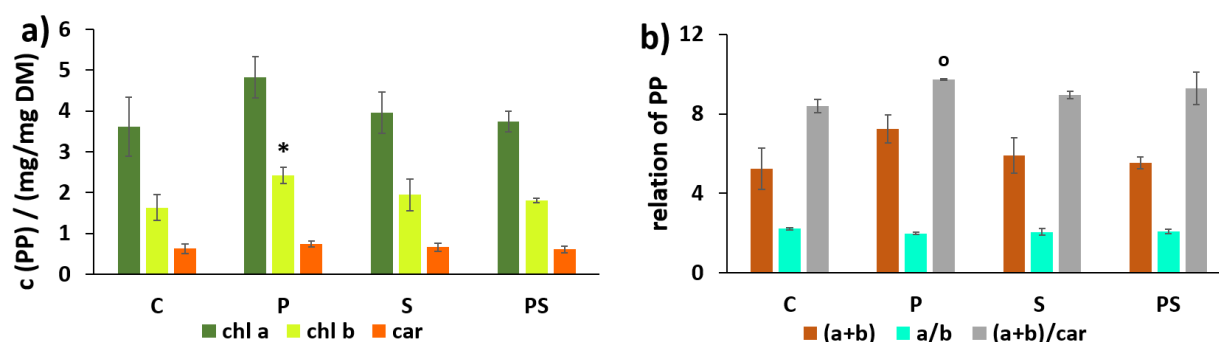
MATERIALS AND METHODS

Ripe, intact, and surface-untreated (unpeeled) seeds of determinate bush bean (*Phaseolus vulgaris* L. 'Casablanka 10103'; from Osiva Moravia, Czech Republic) were placed into 90 1 outdoor plastic pots filled with commercial peat substrate (Substrát univerzálny záhradný, Nature Garden, Slovak Republic) in summer 2025. Three seeds in each of nine holes per pot at a depth of 3-4 cm (27 seeds per pot) were sown in three replicates for the following treatments in a completely randomized design: a) control (tap water priming, "C"), b) priming (seeds primed with PAW, "P"), c) spraying (plants receiving foliar PAW application during vegetative growth, "S"), and d) priming+spraying (seed PAW priming combined with plant foliar PAW, "PS"). Plasma-activated water (PAW) was prepared as in /3/ with a multi-needles transient spark (TS) discharge (21 needles), with 1 kHz frequency, 43.7 W power (all needles) with 10 min activation of tap water. Seed priming was performed by immersing 150 seeds in 0.1 L of freshly prepared PAW for 6 h in a glass container covered with aluminium foil. Before sowing, the seeds were dried at laboratory temperature for two days. Foliar spraying began at the three-leaf stage and was repeated after 19, 25, 32, and 39 days of plant growth with a high-pressure nozzle bottle with approximately 3 mL PAW per plant per application (total approximately 12 mL PAW during all four foliar applications). During the vegetative growth period, young leaf samples were collected, immediately frozen in liquid nitrogen, spread on aluminium foil, and air-dried in the shade. Approximately 40 mg of dry mass (DM) was homogenised in 6 mL of 95% ethanol, and this homogenate (0.67% w/v) was used to determine photosynthetic pigments (PP) (chlorophyll a, chlorophyll b, total carotenoids), total proteins, and protein thiol (-SH) groups. The 0.67% (w/v) homogenate (0.5 mL per each analysis) was used for photosynthetic pigment determination according to

Lichtenthaler and Welburn /9, 10/, for total protein concentration determination according to Bradford /10, 11/ and protein thiol groups with using Ellman's reagent /10, 12/. For total protein quantification, the mixture was incubated for 10 min at laboratory temperature, and bovine serum albumin dissolved in distilled water was used to generate a calibration curve. The other steps were the same as those in the original method /11/. Statistical evaluation was performed using Excel (Microsoft 365, USA) and jamovi 2.7.33.0 (Australia) software with one-way ANOVA with Tukey's post-hoc test. Normality and homogeneity were evaluated using the Shapiro-Wilk test and Levene's test. Pearson's correlation coefficient (r) was used for the correlation analyses.

RESULTS AND DISCUSSION

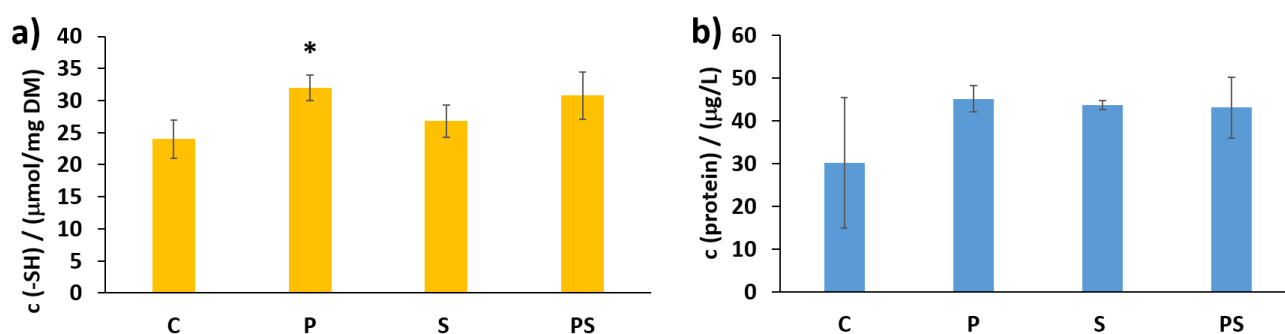
The measured concentrations of photosynthetic pigments and their ratios are shown in graphs 1a,b. All PAW applications increased the chlorophyll and total carotenoid content, except for total carotenoids in PS group, where the concentration was lower than in the control (0.602 vs. 0.626 mg/mg DM in the graph 1). Only in seeds that were improved by priming (P), the statistical significance was confirmed in the increase in the (a+b)/car ratio against their control ($p < 0.05$, graph 1b). The synthesis of chlorophyll b includes the oxidation of the 7-methyl group of chlorophyll a to form a formyl group under the enzyme catalysis of chlorophyllide a oxygenase (CAO, chlorophyll b synthase, EC 1.14.13.122) /13/. If there is some interaction with this conversion, the changes are observed between chlorophyll b and chlorophyll a concentration, which is visible, for example, when the a/b ratio (graph 1b) for priming seeds (P), where the lowest value (1.990) was calculated. This result indicates decreased synthesis of chlorophyll a or higher conversion of chlorophyll a into chlorophyll b compared to other PAW applications. Higher levels of total carotenoids were determined for the P and S applications, while levels were lower than those in the control in the case of PS application (graph 1a). Because no changes were statistically significant, we can conclude that the level of total carotenoids as antioxidants did not change.



Graph 1: Photosynthetic pigment (PP) content (a) and their relationships (b) in *Phaseolus vulgaris* leaves. Means with their standard deviations (SD) are shown in the graphs ($n = 3$). One-way ANOVA with Tukey's post-hoc test was used, where $*p < 0.05$ against the control group for chlorophyll b; and $op < 0.05$ against the control group for (a+b)/car. Legend: C = control; chl a = chlorophyll a; chl b = chlorophyll b; car = total carotenoids; DM = dry mass; P = priming; PS = priming and spraying; S = spraying.

Although increasing concentrations were observed for seed and plant improvements in proteins and protein thiol groups (graph 2), these changes were not statistically significant, except for priming seeds (P). All studied parameters were evaluated using a correlation matrix in tab. 1. A positive correlation between all tested photosynthetic pigments was extremely statistically significant ($p < 0.001$, tab. 1). A positive but not statistically significant correlation was observed between photosynthetic pigments and total proteins, respectively

protein thiol groups, as shown in tab. 1.



Graph 2: Protein thiol (-SH) groups (a) and total proteins (b) in *Phaseolus vulgaris* leaves. Means with their standard deviations (SD) are shown in the graphs ($n = 3$). One-way ANOVA with Tukey's post-hoc test was used, where $*p < 0.05$ against the control group. Legend: C = control; DM = dry mass; P = priming; PS = priming and spraying; S = spraying.

Tab. 1: Correlation matrix with Pearson's correlation coefficient r for studied parameters in the leaves of *Phaseolus vulgaris*. Legend: chl a = chlorophyll a; chl b = chlorophyll b; car = total carotenoids; -SH = protein thiol groups.

	chl a	chl b	car	a+b	a/b	(a+b)/car	-SH
chl a	—						
chl b	0.958***	—					
car	0.935***	0.862***	—				
a+b	0.994***	0.983***	0.917***	—			
a/b	-0.383	-0.629*	-0.248	-0.478	—		
(a+b)/car	0.457	0.581*	0.127	0.507	-0.652*	—	
-SH	0.475	0.569	0.262	0.514	-0.571	0.726**	—
proteins	0.516	0.563	0.329	0.538	-0.462	0.723**	0.516

Note. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

In previous experiments with common bean and PAW applications in laboratory conditions, the increased activity of more antioxidant enzymes was observed, including superoxide dismutase (SOD), guaiacol peroxidase (G-POX), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) and glutathione reductase (GR) that are linked to reactive oxygen and nitrogen species in PAW /3/. In the present research we confirmed higher concentrations of protein thiol groups as protective effect of plants against oxidative stress for priming seeds /12, 14/. The principle of protein thiol group determination is that reduced thiol (sulfhydryl) groups (-SH) in the protein as amino acid cysteine react with 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) to form a product with an absorption maximum at 412 nm /12, 15/. Thiols serve a central role in protein-based and low-molecular-weight redox system including glutathione or glutathione reductase /14/. Although this may seem like an imbalance in the level of oxidative stress, on the other hand, we didn't observe significant changes in total carotenoids as possible antioxidants.

CONCLUSION

All applications of PAW improved the parameters tested against the control group. A positive effect was observed for photosynthetic pigments that had a highly positive significant correlation including the sum of chlorophylls (a+b). Because no additive effect was measured in the combination of priming and foliar spraying, we can conclude that both tested applications could be useful for improving the state of the seed during germination and/or growth.

REFERENCES

- /1/ Beebe, S.E., Rao, I.M., Blair, M.W., Acosta-Gallegos, J.A.: Phenotyping common beans for adaptation to drought. *Frontiers in Physiology*, 4, 2013: 06 March 2013, <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00035>.
- /2/ Gomes, G.R., Freiria, G.H., Constantino, L.I., Alves, S.M., Zeffa, D.M., Takahashi, L.S.A.: Productivity, mineral composition, and phenolic compound content in bush snap beans grown during different seasons. *Semina: Ciências Agrárias*, 41(5), 2020: 1469-1482, <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2020v41n5p1469>.
- /3/ Ghulam, M., Mehrabifard, R., Mišúthová, A., Lukačová, Z., Doshi, P., Machala, Z., Šerá, B.: Growth of *Phaseolus vulgaris* in response to seed priming by plasma-activated water in laboratory screening and outdoor pot trial. *Plasma Processes and Polymers*, 23(4), 2025: e70103, <https://doi.org/10.1002/ppap.70103>.
- /4/ Monaco, T.A., MacKown, C.T., Johnson, D.A., Jones, T.A., Norton, J.M., Norton, J.B., Redinbaugh, M.G.: Nitrogen effects on seed germination and seedling growth. *Journal of Range Management*, 56(6), 2003: 646-653. DOI: 10.2458/azu_jrm_v56i6_monaco.
- /5/ Thirumdas, R., Kothakota, A., Annapure, U., Siliveru, K., Blundell, R., Gatt, R., Valdramidis, V.P.: Plasma activated water (PAW): Chemistry, physico-chemical properties, applications in food and agriculture. *Trends in Food Science & Technology*, 77, 2018:21–31. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.007>.
- /6/ Veerana M., Mumtaz S., Rana J.N., Javed, R., Panngom, K., Ahmed, B., Akter, K., Choi, E.H.: Recent advances in non-thermal plasma for seed germination, plant growth, and secondary metabolite synthesis: A promising frontier for sustainable agriculture. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 44, 2024: 2263–2302. <https://doi.org/10.1007/s11090-024-10510-7>.
- /7/ Ahmed, N., Yong, L.X., Yang, J.H.C., Siow, K.M.: Review of non-thermal plasma technology and its potential impact on food crop seed types in plasma agriculture. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 45, 2025: 421–462. <https://doi.org/10.1007/s11090-024-10534-z>.
- /8/ Havaux, M.: Carotenoid oxidation products as stress signals in plants. *The Plant Journal*, 79, 2013: 597-606. doi: 10.1111/tpj.12386.
- /9/ Lichtenthaler, H.K., Wellburn, A.R.: Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11(5), 1983: 591-592. 603rd Meeting, Liverpool. <https://doi.org/10.1042/bst0110591>.
- /10/ Molnárová, M., Fargašová, A.: Relationship between various physiological and biochemical parameters activated by cadmium in *Sinapis alba* L. and *Hordeum vulgare* L. *Ecological Engineering* 49, 2012: 65-72. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2012.08.025>.
- /11/ Bradford, M.M.: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 1976: 248-254.
- /12/ Viner, R.I., Krainev, A.G., Williams, T.D., Schöneich, C., Bigelow, D.J.: Identification of oxidation-sensitive peptides with the cytoplasmic domain of the sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase. *Biochemistry* 36, 1997: 7706-7716. <https://doi.org/10.1021/bi970058z>.
- /13/ Eggink, L.L., LoBrutto, R., Brune, D.C., Brusslan, J., Yamasoto, A., Tanaka, A., Hooper, J.K.: Synthesis of chlorophyll b: Localization of chlorophyllide a oxygenase and discovery of stable radical in the catalytic subunit. *BMC Plant Biology*, 4(5), 2004: 16p. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-4-5>.
- /14/ Ulrich, K., Jakob, U.: The role of thiols in antioxidant systems. *Free Radical Biology and Medicine*, 140, 2019: 14-27. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.05.035>.
- /15/ Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherstone, R.M.: A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemistry Pharmacology* 7, 1961: 88-90. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9).

Acknowledgments

The research was supported by the EU NextGenerationEU through the Recovery and Resilience Plan for Slovakia under the projects No. 09I03-03-V02-00036 and No. 09I03-03-V03-00033 and by a grant from the Slovak Research and Development Agency APVV-22-0247

SODIUM BENZOATE MITIGATES CADMIUM-INDUCED DISRUPTION OF CORTICAL MICROTUBULES IN OILSEED RAPE ROOTS

BENZOAN SODNÝ ZMÍRŇUJE NARUŠENÍ KORTIKÁLNÍCH MIKROTUBULŮ V KOŘENECH ŘEPKY OLEJNÉ ZPŮSOBENÉ KADMIEM

Zuzana Kovalíková¹, Martina Komárková²

¹ Univerzita Hradec Králové, Přírodovědecká fakulta, Katedra biologie, Rokytanského 62,
500 03 Hradec Králové, zuzana.kovalikova@uhk.cz

² Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i., Útvar biologie a šlechtění lesních
dřevin, Strnady 136, Jíloviště, 25202

Summary

Cadmium (Cd) severely impairs root growth by disrupting cellular organization and microtubule stability. This study investigated whether sodium benzoate (BS) alleviates Cd-induced stress in oilseed rape (*Brassica napus* L.). Plants were grown hydroponically with Cd and/or BS, and growth, Cd accumulation, and cortical microtubule organization were analysed. Although BS did not improve plant growth, it increased Cd retention in roots and reduced Cd translocation to shoots. Confocal microscopy demonstrated that BS partially preserved the transverse cortical microtubule arrangement under Cd stress, indicating a protective effect on cytoskeletal organization and enhanced cellular tolerance to cadmium toxicity.

Key words: Brassica napus, cadmium, root anatomy, microtubules

Souhrn

Kadmium (Cd) vážně ovlivňuje růst kořenů narušením buněčné organizace a stability mikrotubulů. Tato studie zkoumala, zda benzoat sodný (BS) zmírňuje stres vyvolaný Cd u řepky olejné (*Brassica napus* L.). Rostliny byly pěstovány hydroponicky s Cd a/nebo BS a byl analyzován růst, akumulace Cd a organizace kortikálních mikrotubulů. Ačkoli BS nezlepšil růst rostlin, zvýšil retenci Cd v kořenech a snížil translokaci Cd do výhonků. Konfokální mikroskopie prokázala, že BS částečně zachoval uspořádání příčných kortikálních mikrotubulů v podmínkách Cd, což naznačuje ochranný účinek na organizaci cytoskeletu a zvýšenou buněčnou toleranci vůči toxicitě Cd.

Klíčová slova: řepka olejka, kadmium, anatomie kořene, mikrotubuly

INTRODUCTION

Cadmium (Cd) is one of the most hazardous environmental pollutants affecting agricultural soils due to its high toxicity, persistence, and mobility. Unlike essential micronutrients, Cd has no known biological function in plants, yet it is readily absorbed by the root system and accumulates primarily in root tissues, where it disrupts cellular homeostasis and inhibits root growth /1/. Oilseed rape (*Brassica napus* L.) is considered both an economically important oil crop and a promising species for phytoremediation because of its relatively high capacity to accumulate Cd. However, exposure to elevated Cd concentrations severely impairs root development, ultimately reducing plant productivity and limiting its remediation potential /2/.

The root is the primary target of Cd toxicity, where it accumulates rapidly in both the

apoplast and symplast, inducing profound anatomical and ultrastructural alterations. Cadmium exposure causes inhibition of cell elongation and division, thickening of cell walls, disruption of vascular tissue differentiation, increased lignification, and deformation of cortical cells. These structural modifications are closely associated with excessive production of reactive oxygen species, oxidative damage to cellular membranes, and disturbances in cell wall metabolism, which together reduce root functionality and water and nutrient uptake /1, 3/.

Among the earliest cellular targets of Cd are cortical microtubules (MTs), which regulate cell division, directional cell expansion, and cellulose microfibril deposition. Cd-induced oxidative stress destabilizes the MTs cytoskeleton, leading to depolymerization, fragmentation, and disorganization of MTs arrays. Consequently, altered MTs dynamics impair mitotic spindle formation, cytokinesis, and proper cell wall assembly, contributing to abnormal root architecture and inhibited root elongation. Preservation of MTs organization is therefore considered an important indicator of cellular tolerance to heavy metal stress /4/.

Recent studies have demonstrated that mitigation of Cd toxicity involves maintaining cell wall integrity, regulating antioxidant defence, and limiting oxidative damage in root tissues. Compounds capable of enhancing antioxidant capacity have been shown to preserve root structure and improve stress tolerance in *B. napus* /5, 6/. Sodium benzoate (BS), the sodium salt of benzoic acid, has recently attracted attention as a potential stress-modulating compound because benzoates may influence redox homeostasis and plant defence signalling. However, little is known about its effect on Cd-induced anatomical changes and MTs organization in oilseed rape roots. Therefore, this study aimed to evaluate whether BS alleviates structural damage induced by high Cd concentrations, with particular emphasis on root anatomy and cortical MTs organization.

MATERIAL AND METHODS

Seeds of oilseed rape (*Brassica napus*, cv. Ladoga) were germinated in perlite for 6 days. Seedlings were transferred into a hydroponic medium and cultivated in a growth chamber under long-day conditions (16 h light/8 h dark) with a temperature of 22 °C and humidity 55%. Plants were grown for 14 days in a modified Hoagland medium (pH 5.7) with 5 µM Cd as CdCl₂·2H₂O and/or 10 µM sodium benzoate (BS). The nutrient solution was replaced every three days. Overall, four treatments marked as C (control), Cd, BS, and Cd+BS were tested.

Roots and shoots were harvested separately for elemental analysis. Dry plant material was digested in a mixture of HNO₃:H₂O₂ (9:2, v/v) in a microwave oven (Start 1500, MLS GmbH) using a temperature step gradient (maximum of 210 °C). Metal concentrations were measured by ICP-OES (GBC INTEGRA XL, Australia).

Immunofluorescence labelling of MT was performed according to a modified protocol based on /7/. Root tips were fixed in 4% paraformaldehyde prepared in MTSB buffer under reduced pressure (40–50 kPa) for 2.5 h. After washing in MTSB buffer, the samples were incubated in 0.05% pectolyase Y-23 for 1.5 h, followed by treatment with methanol at –20 °C for 15 min and rehydration in PBS for 10 min. The samples were then blocked with 2% BSA and incubated sequentially with the primary monoclonal mouse anti-α-tubulin antibody DM1A (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) and a TRITC-conjugated secondary anti-mouse antibody. Finally, the samples were mounted in 50% glycerol in PBS and examined using a Zeiss LSM 880 confocal laser scanning microscope. The acquired images were processed using ZEN software (Zeiss) at Charles University.

RESULTS AND DISCUSSION

Obsahy uhlíka, First, we evaluated whether the applied concentration of BS affected plant growth. For this purpose, root length as well as the fresh weights of the shoots and roots were measured in control plants and plants treated with Cd, BS, or Cd + BS (Tab. 1). The results showed that plants grown in the presence of BS did not exhibit any significant reduction in growth and were phenotypically indistinguishable from the control plants. In contrast, plants exposed to Cd or Cd + BS showed significantly reduced growth. The addition of BS did not alleviate the growth inhibition caused by Cd under the tested conditions.

Tab. 1: Root length (cm) and fresh weight of roots and aerial parts (mg) in oilseed rape (cv. Ladoga) grown hydroponically for 14 days in medium with or without the addition of Cd, BS or Cd + BS ($n = 6$). Error bars represent means $\pm$ SE. Values in columns marked with the same letter are not significantly different according to Tukey's test ($P < 0.05$).

	root length	root FW	leaf FW
C	18.12 $\pm$ 7.87 ^A	3.38 $\pm$ 0.82 ^A	36.10 $\pm$ 3.37 ^A
Cd	9.05 $\pm$ 3.56 ^B	1.86 $\pm$ 0.57 ^B	22.38 $\pm$ 3.71 ^B
BS	16.38 $\pm$ 1.84 ^A	3.10 $\pm$ 0.73 ^A	32.87 $\pm$ 4.37 ^A
Cd+BS	9.67 $\pm$ 1.32 ^B	1.66 $\pm$ 0.45 ^B	18.29 $\pm$ 2.80 ^B

A comparable, or even slightly higher, Cd concentration was detected in the shoots than in the roots (Fig. 1). This efficient root-to-shoot translocation suggests that this species may possess characteristics of a potential Cd hyperaccumulator. This is further supported by the translocation factor (TF), which exceeded 1 in the Ladoga cultivar under Cd treatment. In the Cd+BS treatment, Cd accumulation in the roots was significantly higher than in plants exposed to Cd alone, whereas Cd translocation to the shoots was reduced (Fig. 1). A possible explanation is that BS promotes the synthesis or activity of metal-chelating compounds, enhancing Cd sequestration into root vacuoles. This may reduce cytosolic Cd concentrations, thereby limiting transport to the shoots. A similar effect has been reported for glutathione-treated oilseed rape /8/ or rice /9/, in which glutathione decreased Cd translocation by promoting Cd sequestration in the roots.

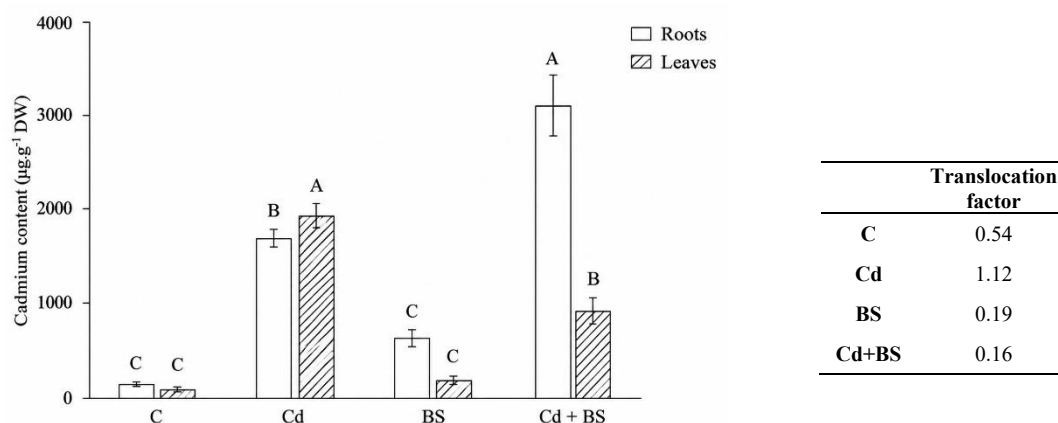


Fig. 1: Cadmium accumulation in root and leaves, and translocation factor in oilseed rape (cv. Ladoga) grown hydroponically for 14 days in medium with or without the addition of Cd, BS or Cd + BS ($n = 6$). Error bars represent means $\pm$ SE. Values in columns marked with the same letter are not significantly different according to Tukey's test ($P < 0.05$).

The plant microtubule cytoskeleton is a highly dynamic network essential for cell division, cell expansion, intracellular transport, and cell wall organization. Because of its

rapid turnover, the microtubule network is highly sensitive to environmental stress. Recent studies have shown that Cd rapidly induces disorganization of cortical MTs, leading to impaired cell expansion, disturbed mitosis, and inhibition of root growth /10/.

First, the effect of short-term Cd exposure on the organization of MTs in root cortical cells was investigated. Root cortical cells in the control treatment exhibited the typical transverse arrangement of cortical MTs, with no visible signs of MTs depolymerization (Fig. 2A).

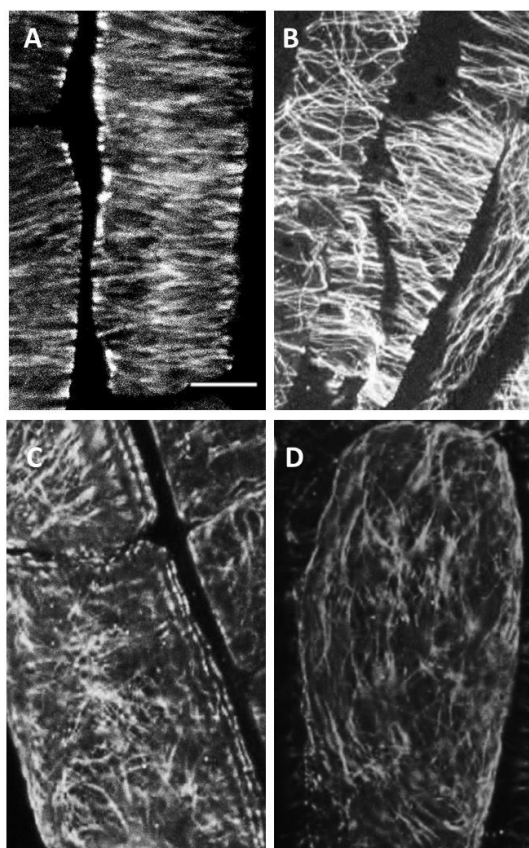


Fig. 2: Microtubule arrangements in roots of oilseed rape (cv. Ladoga) grown hydroponically for 48 hours in medium with Cd. A – control, B – 50 μM Cd, C – 100 μM Cd, D – 150 μM Cd. Scale – 10 μm .

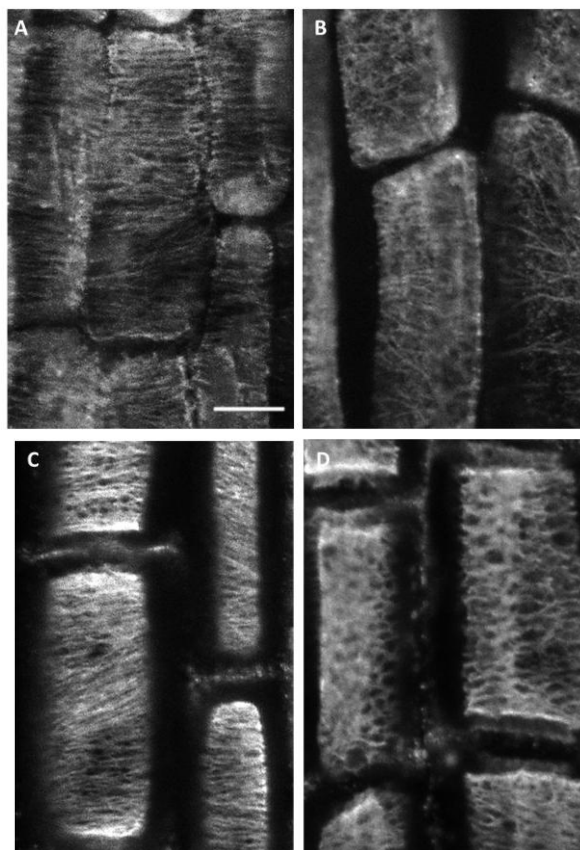


Fig. 3: Microtubule arrangements in roots of oilseed rape (cv. Ladoga) grown hydroponically for 14 days in medium with Cd and/or BS. A – control, B – Cd, C – BS, D – BS+Cd. Scale – 10 μm .

Disruption of the MTs network was evident even at the lowest Cd concentration tested (50 μM ; Fig. 2B), as evidenced by the loss of the characteristic transverse orientation. This alteration in MTs organization was also evident at the higher Cd concentrations. At the two highest Cd concentrations (100 and 150 μM), the disruption was accompanied by pronounced MTs depolymerization, resulting in a substantial loss of filament integrity (Fig. 2C, D). These observations are in close agreement with recent findings in *Arabidopsis*, where short-term Cd exposure induced rapid cortical MTs disorganization, increased reactive oxygen species accumulation, and disturbed auxin transport through PIN2 mislocalization before the appearance of visible growth defects /10/. The preservation of transverse MT orientation is essential for anisotropic cell expansion; therefore, its disruption likely contributes directly to the inhibition of root elongation commonly observed under Cd stress.

The progressive loss of MTs integrity observed in our study is consistent with the current view that Cd-induced oxidative stress destabilizes tubulin polymers and interferes with

MTs-associated proteins /10, 11/. Supporting this hypothesis, a recent proteomic study in *Arabidopsis* revealed that Cd exposure significantly downregulated proteins involved in microtubule organization and primary cell wall biosynthesis, demonstrating that cytoskeletal impairment is closely linked with defects in cell expansion and root development /12/. Together, these findings suggest that disruption of the cortical MTs network represents a conserved cellular response to Cd toxicity across plant species.

The second set of experiments investigated the effect of BS application on cortical MT organization under Cd stress. As shown in Fig. 3A, root cortical cells of the control treatment exhibited the typical transverse arrangement of cortical MTs. A similar organization was observed in the BS-treated variant (Fig. 3C), although the MT bundles appeared thinner and more numerous, resulting in a denser MTs network than in the control. These observations further indicate that BS application alone did not adversely affect MTs organization or root cell morphology. In contrast, Cd-treated roots exhibited pronounced disruption of MTs organization, characterized by the loss of the transverse arrangement and extensive microtubule depolymerization (Fig. 3B). The combined BS+Cd treatment partially alleviated these Cd-induced alterations. Although MTs depolymerization was not completely prevented, BS partially preserved the transverse MTs arrangement compared with Cd-treated roots.

Comparable cytoskeletal protection has been reported in other plant species, treated with natural stress-alleviating compounds. In *Arabidopsis*, brassinosteroid signalling directly controls cortical MT organization through BRI1-associated microtubule proteins, highlighting a mechanistic link between hormone signalling and cytoskeletal stability /13/. In *Vicia faba*, thyme essential oil significantly reduced Cd-induced disturbances in MTs organization, mitotic progression and actin filament architecture, largely through mitigation of oxidative damage /14/.

CONCLUSION

These findings demonstrate that BS partially protects cortical MTs organization during Cd stress, thereby enhancing cellular tolerance despite having no significant effect on overall plant growth. The ability of BS to maintain the transverse MT array under Cd stress likely contributes to preserving root cell architecture and sustained cell expansion, thereby improving root resilience to heavy metal toxicity. Future studies combining live-cell imaging with analyses of ROS homeostasis, tubulin post-translational modifications and MT-associated proteins will help elucidate the molecular mechanisms through which BS stabilizes the plant cytoskeleton under Cd stress.

REFERENCES

- /1/ El Rasafi, T. et al.: Cadmium stress in plants: A critical review of the effects, mechanisms, and tolerance strategies. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 52, 2022: 675–726.
- /2/ Zhang, F., Xiao, X., Wu, X.: Physiological and molecular mechanism of cadmium (Cd) tolerance at initial growth stage in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 197, 2020: 110613.
- /3/ Huang, X., Duan, S., Wu, Q., Yu, M., Shabala, S.: Reducing Cadmium Accumulation in Plants: Structure–Function Relations and Tissue-Specific Operation of Transporters in the Spotlight. *Plants*, 9, 2020: 223.
- /4/ Hsiao, A.-S., Huang, J.-Y.: Microtubule Regulation in Plants: From Morphological Development to Stress Adaptation. *Biomolecules*, 13, 2023: 627.
- /5/ Jung, H. et al.: Ascorbate-Mediated Modulation of Cadmium Stress Responses: Reactive Oxygen Species and Redox Status in *Brassica napus*. *Frontiers in Plant Science*, 11, 2020: 86547.
- /6/ Wu, X., Song, H., Guan, C., Zhang, Z.: Boron alleviates cadmium toxicity in *Brassica napus* by promoting the chelation of cadmium onto the root cell wall components. *Science of the Total Environment*, 728, 2020: 138833.
- /7/ Sugimoto, K., Williamson, R.E., Wasteneys, G.O.: New techniques enable comparative analysis of microtubule orientation, wall texture, and growth rate in intact roots of *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 124, 2000: 1493–1506.
- /8/ Huang, Y. et al.: Enhanced vacuole compartmentalization of cadmium in root cells contributes to glutathione-

- induced reduction of cadmium translocation from roots to shoots in pakchoi (*Brassica chinensis* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 2021: 111616.
- /9/ Wang, K. et al.: The critical role of the shoot base in inhibiting cadmium transport from root to shoot in a cadmium-safe rice line (*Oryza sativa* L.). *Science of The Total Environment*, 765, 2021: 142710.
- /10/ Araniti et al.: Short-term exposition to acute cadmium toxicity induces the loss of root gravitropic stimuli perception through PIN2-mediated auxin redistribution in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Plant Science*, 332, 2023: 111726.
- /11/ Gzyl, J., Chmielowska-Bąk, J., Przymusiński, R., Gwóźdź, E.A.: Cadmium affects microtubule organization and post-translational modifications of tubulin in seedlings of soybean (*Glycine max* L.). *Frontiers in Plant Science*, 6, 2015:9 37.
- /12/ Lyčka, M. et al.: Proteomic analysis reveals accompanying anion-dependent changes of cadmium toxicity during *Arabidopsis thaliana* development. *Plant, Cell & Environment*, 49, 2026: 2069–2079.
- /13/ Delesalle, Ch. et al.: *Arabidopsis* microtubule-BRI1-associated proteins negatively regulate hypocotyl elongation by controlling brassinosteroid-dependent cortical microtubule reorientation. *Plant Communications*, 7, 2025: 101637.
- /14/ Gocek-Szczurtek, N., Wróblewski, M., Żabka, A., Polit, J.T.: Thyme Oil Alleviates Cadmium-Induced Disturbances in Mitotic Activity, Cytoskeletal Organization and H3T3/H3S10 Phosphorylation in *Vicia faba*. *International Journal of Molecular Sciences*, 27, 2026: 2798.

Acknowledgment

This work was supported by the Specific Research Project of the Faculty of Science, University of Hradec Králové (Project No. 2102/2016).

ZHODNOTENIE BEZPEČNOSTI POUŽITIA DREVNÉHO POPOLA PRI PRÍPRAVE SUBSTRÁTOV Z HĽADISKA OBSAHU ŤAŽKÝCH KOVOV A POŽIADAVIEK LEGISLATÍVY SLOVENSKEJ REPUBLIKY

SAFETY ASSESSMENT OF WOOD ASH USE IN SUBSTRATE PREPARATION IN TERMS OF HEAVY METAL CONTENT AND SLOVAK LEGISLATIVE REQUIREMENTS

Laura Korčoková, Jana Luptáková, Elena Takáčová, Vladimír Mačejovský, Ivan Horvát, Martin Belko, Helena Hybská*

Národné lesnícke centrum, Sekcia pre vedu a výskum, T. G. Masaryka 22, 960 01 Zvolen
laura.korcokova@nlcsk.org, jana.luptakova@nlcsk.org, elena.takacova@nlcsk.org,
vladimir.macejovsky@nlcsk.org, ivan.horvat@nlcsk.org, martin.belko@nlcsk.org

*Technická univerzita vo Zvolene, T. G. Masaryka 24, 960 01 Zvolen, hybska@tuzvo.sk

Summary

The aim of this study is to obtain information on the concentrations of hazardous elements in peat after the addition of wood ash, to assess the effect of wood ash application on the concentrations of these elements, and to compare the results with Slovak Republic legislation in order to assess the safety of wood ash use for substrate preparation. The wood ash used in the demonstration cases was obtained from an energy production facility located in Hriňová (Hriňovská energetická s. r. o.) that uses wood chips as fuel; specifically bottom ash was used. Statistical evaluation showed statistically significant differences in the concentrations of the monitored hazardous elements among the individual variants of wood ash, peat, and their mixtures. After performing the analyses, we found that all concentrations of the monitored elements were considerably below the limits established by legislation.

Key words: wood ash, peat, risk elements, recycling, substrate preparation of

Súhrn

Cieľom tejto práce je získať poznatky o obsahoch rizikových prvkov v rašelini po pridaní drevného popola, posúdiť vplyv aplikácie drevného popola na obsahy daných prvkov a porovnať výsledky s legislatívou Slovenskej republiky za účelom zhodnotenia bezpečnosti použitia drevného popola pri príprave substrátov. Drevný popol, ktorý bol použitý pri demonštračných ukážkach, bol získaný z prevádzky spaľujúcej drevnú štiepku za účelom výroby energie nachádzajúcej v Hriňovej (Hriňovská energetická s. r. o.), konkrétne sa používal roštový popol. Štatistické vyhodnotenie ukázalo štatisticky významné rozdiely v obsahoch sledovaných rizikových prvkov medzi jednotlivými variantami popola, rašeliny a ich zmesí. Po vykonaní analýz sa zistilo, že všetky obsahy sledovaných prvkov boli značne pod limitmi stanovených legislatívou.

Kľúčové slová: drevný popol, rašelina, rizikové prvky, recyklácia, príprava substrátov

ÚVOD

Ako vedľajší produkt spaľovania vzniká drevný popol /5/. Popol zo spaľovania drevnej biomasy je všeobecne uznávaný ako potenciálne neškodný pre životné prostredie /8/. Drevný popol je vedľajší produkt pri výrobe energie, ktorý sa môže recyklovať v lesoch na opätovné získanie živín a zabránenie okysľovaniu /5/. Rastúce náklady na likvidáciu a obmedzená dostupnosť skládok podnietili záujem o alternatívne využitie drevného popola /4/. Popol z dreva produkovaný spaľovaním je obzvlášť sľubný, pretože zvyšuje pH pôdy a poskytuje živiny, ako je vápnik, horčík, draslík a fosfor /9/. Vysoký obsah vápnika a draslíka, niekedy aj sodíka zabezpečuje charakteristickú zásaditosť (pH 7,8 – 13,5) drevného popola, preto sa používa na

zmiernenie kyslosti pôdy /1/. Niekoľko štúdií naznačuje, že drewný popol zvyšuje dostupnosť živín, stabilitu pH a mineralizáciu dusíka, čo vedie k zlepšeniu rastu plodín /2/. Drewný popol môže zlepšiť štruktúru, schopnosť zadržiavať vodu, dostupnosť živín a tlmivú kapacitu pôdy, ako aj ďalšie fyzikálno-chemické a biologické vlastnosti pôdy /9/. Napriek vyššie uvedeným výhodám predstavuje možná kontaminácia ťažkými kovmi hlavnú prekážku rozsiahleho využitia drewného popola v poľnohospodárstve /2/. Chemické vlastnosti drewného popola závisia od mnohých faktorov (druh dreveny, stanovište, typ vedľajšieho paliva, systém spaľovania a ročné obdobie). Kvalitatívne zloženie drewného popola sa výrazne líši v rámci technológie používanej na spaľovanie biomasy /6/. Preto je pre efektívne používanie drewného popola ako hnojiva nevyhnutné dlhodobé monitorovanie dynamiky živín /4/. Drewný popol sa môže za určitých podmienok použiť ako potenciálne lesné hnojivo /8/.

V Národnom lesníckom centre prebieha medzinárodný projekt Upgrade LignoSilva (Horizon Europe). Tento projekt sa venuje recyklácii živín z drewného popola v agrolesníctve. Demonštračné ukážky, ktoré boli založené v rámci projektu, sa nachádzajú v Biotechnologickom parku Stráž (BTP Stráž) a vo Výskumnej stanici v Gabčíkove (VS Gabčíkovo). V Biotechnologickom parku Stráž sa založili tri ukážky. V prvej ukážke bola zmiešaná rašelina s drewným popolom v dvoch rôznych pomeroch. Do zmiešanej výslednej zmesi boli zasadené tri dreveny, borovica lesná, smrekovec opadavý a buk lesný, ktoré sú pestované vo fóliovníku. V druhej ukážke bol drewný popol aplikovaný na pole, v dvoch rôznych množstvách, kde boli zasadené rovnaké tri dreveny. V tretej ukážke sa postupovalo rovnako ako pri prvej ukážke, ale drewný popol bol nahradený celulóзовým kalom. Aj vo Výskumnej stanici v Gabčíkove boli založené tri ukážky. Pri prvej ukážke sa postupovalo rovnako ako pri založení prvej ukážky v BTP Stráž, ale dreveny tam boli vysadené – dub letný, lipa malolistá a brest väzový. V druhej ukážke boli tieto isté dreveny vysadené na poli v areáli VS v Gabčíkove a následne boli aplikované zmesi drewného popola a rašeliny. V tretej ukážke sa uskutočňuje kompostovanie použitím štiepky, pokosenej trávy a drewného popola. Cieľom tohto príspevku je posúdiť vplyv aplikácie drewného popola na obsahy rizikových prvkov a porovnanie výsledkov s legislatívou Slovenskej republiky.

MATERIÁL A METÓDY

Materiál

Drewný popol použitý v demonštračných ukážkach bol získaný z prevádzky spaľujúcej drewnú štiepku za účelom výroby energie, nachádzajúcej sa v Hriňovej (Hriňovská energetická s.r.o.) na Slovensku. Použitý bol iba roštový popol, ktorý síce obsahuje menej výživových prvkov, ale aj menej rizikových prvkov. Na tento druh popola získal producent povolenie, že môže byť použitý ako pôdna pomocná látka. Na prípravu substrátov bola použitá komerčne dostupná rašelina od producenta Gramoflor GmbH & Co KG. Substráty boli pripravené zmiešaním v plastovej nádobe v dvoch pomeroch, a to 0,5 kg drewného popola na 1 kg rašeliny (RPM) a 0,75 kg drewného popola na 1 kg rašeliny (RP+). Tieto substráty boli naplnené do sadbovačov, umiestnené do plnoautomaticky zavlažovaného fóliovníka a následne boli zasadené semená borovice lesnej.

Predúprava vzoriek

Vzorky boli po prijatí do laboratória predupravené podľa ČSN ISO 11464 /3/. Tento postup zahŕňa sušenie, drvenie a sitovanie vzoriek. Všetky analýzy boli vykonané z takto predupravených vzoriek.

Ortúť

Obsah ortuti bol stanovený na prístroji AMA 254 Advanced Mercury Analyser od výrobcu Altec s.r.o., ktorý využíva techniku generovania pár kovovej ortuti s následným zachytením a obohatením na zlatom amalgamátore, čím je dosiahnutá vysoká citlivosť stanovenia. Výsledky boli vyhodnotené

softwarom AMA 254 5.0.3.

Ostatné prvky

Celkové obsahy prvkov boli stanovené v mineralizáte lúčavky kráľovskej, ktorý bol pripravený podľa STN ISO 11466 /11/. Mineralizáty boli následne zmerané na ICP-AES ES 725 Varian (STN EN ISO 11885). Získané výsledky boli vyhodnotené softwarom ICP Expert II 1.1.3.263 a prerátané na sušinu, ktorá bola získaná sušením vzoriek v sušiarňi VENTI-line 180 Prime pri teplote 105 ± 5 °C do konštantnej hmotnosti podľa STN ISO 11465 /10/.

Štatistické vyhodnotenie

Základné popisné štatistiky boli vypočítané v programe MS Excel 365. Následne bola na štatistické zhodnotenie výsledkov použitá jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA) a Duncanov test mnohonásobných porovnaní použitím Tibco Statistica 14. Ako hodnotiace kritérium bola použitá hladina významnosti 95 % ($p = 0,05$).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vo vzorkách drevného popola a rašeliny boli stanovené obsahy ôsmich rizikových prvkov, konkrétne ortuť, kadmium, olovo, chróm, arzén, meď, nikel a zinok. Následne boli stanovené obsahy prvkov aj v zmesiach drevného popola a rašeliny. Obsahy prvkov boli sledované v dvoch experimentálnych pomeroch počas rokov 2024 a 2025. Vo vzorkách zmesí RPM a RP+ boli tieto ukazovatele stanovené v deň ich zmiešania. Ďalšie vzorky boli odobierané v roku 2024 v pravidelných intervaloch raz za mesiac a v roku 2025 boli odobrané vzorky v polročnom intervale za účelom sledovania zmien v obsahoch týchto prvkov. Získané výsledky sú zhrnuté v Tabuľke 1 a Tabuľke 2. V tabuľkách sú uvedené aj limity pre jednotlivé rizikové prvky v substrátoch s rašelinou a pre pôdne pomocné látky. Všetky sledované ukazovatele boli značne pod týmito limitmi v drevnom popole aj v pripravených substrátoch.

Obsah ortuti sa pohyboval v rozmedzí 0,0030 – 0,0496 mg/kg. Najvyšší obsah ortuti bol zaznamenaný v rašeline, zatiaľ čo v samotnom drevnom popole bol výrazne nižší. Obsah kadmia sa pohyboval v rozmedzí 0,056 – 0,605 mg/kg, chróm bol v rozmedzí 0,5 – 41,5 mg/kg a olovo dosahovalo 6,3 – 17,1 mg/kg. Obsah arzenu sa pohyboval v rozmedzí 0,54 – 4,87 mg/kg. V prípade medi to bolo 7,1 – 65,0 mg/kg. Obsah niklu sa pohyboval v rozmedzí 3,1 – 16,0 mg/kg. Zinok dosahoval 21,4 – 128 mg/kg. Štatistické vyhodnotenie ukázalo štatisticky významné rozdiely v obsahoch sledovaných rizikových prvkov medzi jednotlivými variantami drevného popola, rašeliny a ich zmesí. Obsahy ortuti, kadmia a olova boli v samotnom drevnom popole signifikantne nižšie ako v čistej rašeline. Pri chróme, arzéne, medi, niklu a zinku to bolo opačne.

V práci sme sa zamerali aj na porovnanie obsahov rizikových prvkov pri prvom a poslednom odbere vzoriek. Obsah ortuti vykazoval v oboch pomeroch klesajúci trend. V RPM klesla ortuť z 0,0222 mg/kg na 0,0178 mg/kg. V RP+ bol pokles výraznejší, z 0,0260 mg/kg na 0,0150 mg/kg. Pri pomere RPM neboli zmeny signifikantné a pri pomere RP+ boli zmeny signifikantné. Podobný trend ako pri ortuti bol pozorovaný aj pri kadmiu. V RPM obsah kadmia klesol z 0,278 mg/kg na 0,218 mg/kg. V RP+ došlo k zníženiu z 0,308 mg/kg na 0,203 mg/kg. Pri oboch pomeroch neboli tieto zmeny signifikantné. Pri chróme bol naopak zaznamenaný výrazný nárast. V RPM sa obsah chrómu zvýšil z 12,0 mg/kg na 30,7 mg/kg. V RP+ to bolo zvýšenie zo 14,1 mg/kg na 26,7 mg/kg. Pri oboch pomeroch boli tieto zmeny signifikantné. Pri olove sa experimentálne pomery správali rozdielne. V RPM sa obsah olova zvýšil zo 7,1 mg/kg na 8,6 mg/kg a v RP+ klesol z 11,0 mg/kg na 7,0 mg/kg. Pri pomere RPM boli zmeny signifikantné, pri pomere RP+ neboli zmeny signifikantné. Obsah arzenu v pomere RPM klesol z 2,34 mg/kg pri prvom odbere na 1,18 mg/kg pri poslednom odbere. V pomere RP+ došlo k poklesu z 2,98 mg/kg na 1,32 mg/kg. Pokles obsahu arzenu bol v oboch pomeroch výrazný. Pri pomere RPM boli zmeny signifikantné, pri pomere RP+ neboli zmeny signifikantné. Pri medi bol zaznamenaný opačný trend. V RPM sa obsah zvýšil z 24,2 mg/kg

na 27,6 mg/kg. V RP+ bol nárast miernejší, z 29,7 mg/kg na 31,3 mg/kg. Pri pomere RPM neboli zmeny signifikantné, pri pomere RP+ boli zmeny signifikantné. Najvýraznejší nárast bol pozorovaný pri nikle. V RPM sa obsah zvýšil z 3,3 mg/kg na 13,6 mg/kg. V RP+ vzrástol obsah niklu z 4,5 mg/kg na 11,4 mg/kg. Napriek výraznému zvýšeniu obsahov nikla zostali obsahy výrazne pod sledovanou limitnou hodnotou. Pri oboch pomeroch neboli tieto zmeny signifikantné. Pri zinku bol medzi experimentálnymi pomermi zaznamenaný rozdielny trend. V RPM sa obsah zvýšil zo 61,5 mg/kg na 66,4 mg/kg a naopak, v RP+ klesol z 93,0 mg/kg na 78,6 mg/kg. Pri pomere RPM boli zmeny signifikantné a pri pomere RP+ neboli zmeny signifikantné.

Tab. 1 Obsahy ortuti, kadmia, olova a chrómu v drevnom popole, rašelini a ich zmesiach a príslušné limity

Ukazovateľ	Ortuť	Kadmium	Olovo	Chróom
Jednotka	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
Popol	0,0030 ± 0,0002	0,061 ± 0,006	12,2 ± 0,55	41,5 ± 1,2
Rašelina	0,0496 ± 0,0009	0,338 ± 0,054	17,1 ± 0,91	0,5 ± 0,1
RPM 25.3.24	0,0222 ± 0,0017	0,278 ± 0,020	7,1 ± 0,74	12,0 ± 0,3
RPM 9.4.24	0,0274 ± 0,0006	0,274 ± 0,018	7,6 ± 0,43	20,0 ± 0,3
RPM 7.5.24	0,0205 ± 0,0013	0,254 ± 0,012	9,3 ± 0,50	14,9 ± 0,1
RPM 10.6.24	0,0173 ± 0,0014	0,315 ± 0,021	7,3 ± 0,24	15,9 ± 0,1
RPM 11.7.24	0,0224 ± 0,0017	0,400 ± 0,022	7,1 ± 0,32	23,4 ± 0,4
RPM 20.8.24	0,0280 ± 0,0012	0,579 ± 0,054	7,6 ± 0,26	22,4 ± 0,4
RPM 19.9.24	0,0293 ± 0,0018	0,275 ± 0,013	8,3 ± 0,27	21,8 ± 0,2
RPM 11.11.24	0,0202 ± 0,0007	0,056 ± 0,0006	7,1 ± 0,31	22,8 ± 0,02
RPM 29.7.2025	0,0210 ± 0,0010	0,274 ± 0,012	6,6 ± 0,07	32,5 ± 0,1
RPM 12.11.2025	0,0178 ± 0,0009	0,218 ± 0,003	8,6 ± 0,14	30,7 ± 0,03
RP+ 25.3.24	0,0260 ± 0,0029	0,308 ± 0,016	11,0 ± 1,04	14,1 ± 0,1
RP+ 9.4.24	0,0201 ± 0,0011	0,402 ± 0,022	6,9 ± 0,15	15,2 ± 0,2
RP+ 7.5.24	0,0165 ± 0,0016	0,487 ± 0,017	7,2 ± 0,43	17,5 ± 0,02
RP+ 10.6.24	0,0127 ± 0,0007	0,605 ± 0,025	7,2 ± 0,15	17,3 ± 0,02
RP+ 11.7.24	0,0177 ± 0,0009	0,515 ± 0,023	6,3 ± 0,13	25,2 ± 0,2
RP+ 20.8.24	0,0245 ± 0,0005	0,469 ± 0,019	6,5 ± 0,23	24,1 ± 0,1
RP+ 19.9.24	0,0239 ± 0,0006	0,292 ± 0,013	10,6 ± 0,38	23,6 ± 0,3
RP+ 11.11.24	0,0175 ± 0,0012	0,097 ± 0,004	6,9 ± 0,17	25,3 ± 0,1
RP+ 29.7.2025	0,0169 ± 0,0006	0,312 ± 0,003	6,5 ± 0,09	32,4 ± 0,1
RP+ 12.11.2025	0,0150 ± 0,0014	0,203 ± 0,008	7,0 ± 0,10	26,7 ± 0,1
Limit*	1	2	100	100

*limitné hodnoty rizikových prvkov pre substrát s rašelinou, podľa Vyhlášky MP SR č. 577/2005, ktorou sa ustanovujú typy hnojív, zloženie, balenie a označovanie hnojív, prípustné odchýlky a limitné hodnoty pre hospodárske hnojivá

Výsledky ukázali, že aj pomerne vysoké prímesi popola použité pri tvorbe substrátov nezvýšili obsahy rizikových prvkov zásadným spôsobom a nebudú predstavovať fyto toxické riziko pre pestovanie lesných drevín. Niektoré štúdie preukázali, že drevný popol môže mať vysoký obsah toxických ťažkých kovov a preto existujú obavy, že môže zvýšiť akumuláciu

Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin
týchto prvků v rastlinách. Obsah ťažkých kovů, najmä kadmium, je dôvodom na obavy pri
recyklácii drevného popola /5/.

9. - 10. 9. 2026

Tab. 2 Obsahy arzenu, medi, niklu a zinku v drevnom popole, rašelina a ich zmesiach a príslušné limity

Ukazovateľ	Arzén	Meď	Nikel	Zinok
Jednotka	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
Popol	1,69 ± 0,19	65,0 ± 2,59	15,3 ± 0,72	128 ± 0,3
Rašelina	1,08 ± 0,12	7,1 ± 0,39	3,1 ± 0,27	21,4 ± 0,31
RPM 25.3.24	2,34 ± 0,21	24,2 ± 0,68	3,3 ± 0,27	61,5 ± 2,3
RPM 9.4.24	1,71 ± 0,14	24,2 ± 0,26	5,2 ± 0,16	65,3 ± 0,49
RPM 7.5.24	3,88 ± 0,10	24,6 ± 0,21	10,3 ± 0,43	70,8 ± 0,58
RPM 10.6.24	2,61 ± 0,07	22,7 ± 0,07	13,4 ± 0,17	51,9 ± 0,35
RPM 11.7.24	2,79 ± 0,19	26,8 ± 0,39	12,4 ± 0,54	56,9 ± 0,91
RPM 20.8.24	4,6 ± 0,13	23,4 ± 0,41	9,5 ± 0,13	53,5 ± 0,70
RPM 19.9.24	1,41 ± 0,07	21,2 ± 0,32	16,0 ± 0,29	49,1 ± 0,26
RPM 11.11.24	4,87 ± 0,15	24,8 ± 0,08	11,4 ± 0,10	50,0 ± 0,20
RPM 29.7.2025	1,43 ± 0,06	25,7 ± 0,11	10,9 ± 0,08	67,5 ± 0,15
RPM 12.11.2025	1,18 ± 0,03	27,6 ± 0,17	13,6 ± 0,17	66,4 ± 0,11
RP+ 25.3.24	2,98 ± 0,26	29,7 ± 0,85	4,5 ± 0,59	93,0 ± 6,10
RP+ 9.4.24	4,12 ± 0,18	32,6 ± 0,55	6,8 ± 0,33	55,2 ± 1,01
RP+ 7.5.24	1,09 ± 0,11	27,6 ± 0,08	11,5 ± 0,43	58,1 ± 0,34
RP+ 10.6.24	1,59 ± 0,18	42,7 ± 0,48	12,1 ± 0,23	60,9 ± 0,85
RP+ 11.7.24	1,73 ± 0,16	28,0 ± 0,34	13,2 ± 0,52	65,9 ± 0,17
RP+ 20.8.24	3,56 ± 0,12	27,2 ± 0,23	11,0 ± 0,25	59,4 ± 0,25
RP+ 19.9.24	0,54 ± 0,01	21,5 ± 0,07	14,7 ± 0,28	53,5 ± 0,90
RP+ 11.11.24	4,30 ± 0,12	30,3 ± 0,11	12,8 ± 0,27	59,9 ± 0,19
RP+ 29.7.2025	0,98 ± 0,03	30,5 ± 0,16	11,6 ± 0,15	79,1 ± 0,16
RP+ 12.11.2025	1,32 ± 0,05	31,3 ± 0,14	11,4 ± 0,06	78,6 ± 0,47
Limit*	15 (**10)	100	50	400

*limitné hodnoty rizikových prvků pre substrát s rašelinou, podľa Vyhlášky MP SR č. 577/2005, ktorou sa ustanovujú typy hnojív, zloženie, balenie a označovanie hnojív, prípustné odchýlky a limitné hodnoty pre hospodárske hnojivá

**limitné hodnoty rizikových prvků pre pôdne pomocné látky obsahujúce aj odpady, podľa Prílohy č. 3, tab. 4 k vyhláške MP SR z 23.5.2005, ktorou sa ustanovujú typy hnojív, zloženie, balenie a označovanie hnojív, analytické metódy skúšania hnojív, rizikové prvky, ich limitné hodnoty pre hospodárske hnojivá, Zb. zákonov č. 575/2005

ZÁVER

Na základe výsledkov možno konštatovať, že obsahy sledovaných rizikových prvků vo všetkých analyzovaných vzorkách neprekročili príslušné legislatívne limitné hodnoty stanovené pre rizikové prvky vo vyhláške MP SR č. 577/2005. Výsledky ukázali, že obsahy sledovaných prvků zostali pod stanovenými limitnými hodnotami počas celého sledovaného obdobia. Obsahy prvků boli sledované v dvoch experimentálnych pomeroch počas rokov 2024 a 2025. Vo vzorkách zmesí RPM a RP+ boli tieto ukazovatele stanovené v deň ich

zmiešania. Ďalšie vzorky boli odoberané v roku 2024 v pravidelných intervaloch raz za mesiac a v roku 2025 boli odoberané vzorky v polročnom intervale za účelom sledovania zmien obsahov týchto prvkov. Napriek tomu, že v žiadnej z analyzovaných vzoriek nebolo zaznamenané prekročenie príslušných limitov, je dôležité aj naďalej sledovať zmeny, ktoré môžu v týchto zmesiach časom nastať. V súčasnosti sú založené demonštračné ukážky aj z iných pomerov zmiešania drevného popola s rašelinou. Plánované sú aj analýzy biomasy z drevín, ktoré sa v týchto zmesiach vypestujú a porovnanie s kontrolnými vzorkami vypestovanými v čistej rašeline.

LITERATÚRA

- /1/ Asare, M. O., Hejzman, M. 2022. Effect of tree species on the elemental composition of wood ashes and their fertilizer values on agricultural soils. *Global Change Biology Bioenergy* 14, 12, p. 1321 – 1335.
- /2/ Baloch, S. B., Ali, S., Bernas, J. et al. 2024. Wood ash application for crop production, amelioration of soil acidity and contaminated environments. *Chemosphere*, 357, 141865.
- /3/ ČSN ISO 11464:2011. Kvalita pudy – Úprava vzorku pro fyzikálně-chemické rozborů.
- /4/ Jian, C., Hamamoto, T., Inoue, C., et al. 2025. Effects of wood ash fertilizer on element dynamics in soil solution and crop uptake. *Agronomy* 15, 5, 1097.
- /5/ Johansen, J. L., Nielsen, M. L., Vestergård, M., Mortensen, L. H., Cruz-Paredes, C., Rønn, R., Kjeller, R., Hovmand, M., Christensen, S., Ekelund, F. 2021. The complexity of wood ash fertilization disentangled: Effects on soil pH, nutrient status, plant growth and cadmium accumulation. *Environmental and Experimental Botany* 185, 104424.
- /6/ Okmanis, M., Lazdiņa, D., Lazdiņš, A. 2015. The composition and use value of tree biomass ash. *Rural Sustainability Research* 34, 329, p. 32 – 37.
- /7/ Rodríguez, Y., Maudier, B., Zagal, E., Hernández, P. 2019. Effects of wood ash on nutrients and heavy metal(oid)s mobility in an Ultisol. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 16, 7, p. 1246.
- /8/ Scheepers, G. P., Du Toit, B. 2016. Potential use of wood ash in South African forestry: a review. *Southern Forests: a Journal of Forest Science* 78, 4, p. 255 – 266.
- /9/ Smolka-Danielowska, D., Jablonska, M. 2021. Chemical and mineral composition of ashes from wood biomass combustion in domestic wood-fired furnaces. *International Journal of Environmental Science and Technology* 19, p. 5359 – 5372.
- /10/ STN ISO 11465:2001. Kvalita pôdy. Stanovenie obsahu sušiny a hmotnostného obsahu vody. Gravimetrická metóda.
- /11/ STN ISO 11466:2001. Kvalita pôdy. Extrakcia stopových prvkov rozpustných v lúčavke kráľovskej.

PodĎakovanie

Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Centrum excelentnosti lesnícko-drevárskeho komplexu LignoSilva; (kód ITMS: 313011S735), spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja a Európskou komisiou v rámci projektu LignoSilva [Grant Agreement #101059552] v rámci akcie Horizon Europe Teaming for Excellence.

METHYLOBACTERIUM SYMBIOTICUM JAKO NÁHRADA MINERÁLNÍCH HNOJIV?

METHYLOBACTERIUM SYMBIOTICUM AS A SUBSTITUTE FOR MINERAL FERTILIZERS?

Jan Převlocký, Zuzana Kovalíková

Univerzita Hradec Králové, Přírodovědecká fakulta, Katedra biologie, Rokitanského 62, 500
03 Hradec Králové, jan.prevlocky@uhk.cz

Summary

During the 2026 growing season, 3 species of forest trees were grown (*Fagus sylvatica*, *Quercus robur* and *Picea abies*), on which the effectiveness of *Methylobacterium symbioticum* (MS) and its effect on nitrogen metabolism and physiology of trees were tested. The plants were divided into 4 variants with different amounts of watering and with or without MS inoculation. Preliminary results suggest that MS cannot fully replace mineral nitrogen fertilization in forest tree seedlings, but may contribute to maintaining physiological performance under reduced nitrogen uptake; its effectiveness appears to be strongly dependent on the host and conditions.

Key words: Methylobacterium symbioticum, symbiotic nitrogen fixation, mineral fertilizers, woody plants

Souhrn

V průběhu vegetační sezóny 2026 byly pěstovány 3 druhy lesních dřevin (*Fagus sylvatica* – buk lesní, *Quercus robur* – dub letní, a *Picea abies* – smrk ztepilý), na kterých byla testována účinnost *Methylobacterium symbioticum* (MS) a jeho vliv na metabolismus dusíku a celkovou fyziologii. Rostliny byly rozděleny do 4 variant s různým množstvím závlivky a s nebo bez inokulace MS. Předběžné výsledky naznačují, že MS nemůže plně nahradit minerální dusíkaté hnojení u sazenic lesních stromů, ale může přispět k udržení fyziologické výkonnosti za sníženého příjmu dusíku; jeho účinnost se zdá být silně závislá na hostiteli a podmínkách.

Klíčová slova: Methylobacterium symbioticum, symbiotická fixace dusíku, minerální hnojiva, dřeviny

ÚVOD

V posledních letech roste snaha o zavádění ekologicky šetrnějších způsobů hospodaření. Mezi tato opatření patří například omezení aplikace minerálních hnojiv, které může přispět ke zmírnění degradace půdy, eutrofizace a znečištění vodních zdrojů. Současně se hledají alternativní způsoby výživy rostlin s cílem zajistit dostatečný přísun minerálních živin, zejména dusíku, například prostřednictvím biologické fixace za pomoci mikroorganismů. Většina rostlin však nemá vytvořený stabilní symbiotický vztah s bakteriemi schopnými fixace dusíku.

Methylobacterium symbioticum je bakterie, která byla teprve nedávno izolována ze spor houby *Glomus iranicum* var. *tenuihypharum*. Jedná se o gram negativní tyčinkovitou bakterii dosahující délky 1,2–1,6 µm a šířky 0,8–1 µm. Je striktně aerobním organismem schopným methylootrofie, tedy využívání jednouhlíkatých sloučenin jako zdroje energie /1/.

Může vyskytovat v různých prostředích, například v půdě, vzduchu, vodě nebo na povrchu rostlin /2, 3, 4/. Je schopen pronikat povrchem rostlin prostřednictvím průduchů a následně se šířit xylémem do dalších částí rostliny, kde vytváří endofytická bakteriální společenstva /5/. Zároveň podporuje růst rostlin prostřednictvím mechanismů charakte-

ristických pro bakterie podporující růst rostlin (plant growth-promoting bacteria, PGPB), mezi které patří například produkce nebo regulace fytohormonů /6/. Cílem studie bylo vyhodnotit efektivitu utilizace dusíku bakteriemi *M. symbioticum* a snížit tak potřebu využívání chemických hnojiv. Dílčí cíle se podrobněji zaměřili na (i) dynamiku dusíkatého metabolismu; (ii) růstové parametry a dynamiku obsahu chlorofylu v listech; (iii) dynamiku fotosyntézy. Většina dosavadních studií zaměřených na tuto problematiku se zabývá jednoletými rostlinami, proto jsme chtěli ověřit jeho účinnost také u trvalých rostlin, konkrétně u lesních dřevin. Použití bakterie *Methylobacterium symbioticum* ve formě inokula, které bylo využito například ve studiích zaměřených na salát zahradní /7/, olivovník evropský /8/ a kukuřici setou /9/, může vést ke zvýšení celkového obsahu dusíku v rostlinách díky schopnosti fixovat vzdušný dusík. Množství takto fixovaného dusíku je však srovnatelné s hodnotami dosahovanými volně žijícími mikroorganismy schopnými fixace dusíku /10, 11, 12, 13/. Dále má účinek na zvýšení fotosyntetické aktivity, na což poukazuje studie prováděná na kukuřici a jahodníku [5]. Rovněž může pozitivně ovlivňovat růst rostlin, tvorbu biomasy a výnos zrna, jak bylo testováno například u pšenice pěstované v suchých podmínkách Austrálie /14/.

MATERIÁL A METODA

Pro experiment byly vybrány 2–3leté sazenice tří druhů dřevin: *Fagus sylvatica* (buk lesní – B), *Quercus robur* (dub letní – D) a *Picea abies* (smrk ztepilý – S), které byly získány od společnosti Lesoškolky s.r.o. Nitrofilní bakterie *M. symbioticum* kmene SB0023/3T, aplikovaná ve formě biostimulantu Utrisha® N od společnosti Corteva Agriscience™, byl aplikován postřikem na listovou plochu vybraných dřevin. U druhů *Quercus robur* a *Fagus sylvatica* proběhla aplikace mezi vývojovými fázemi BBCH 31 (růst výhonků) a BBCH 61 (počátek kvetení), zatímco u druhu *Picea abies* byla provedena ve fázi BBCH 19 (vývoj jehlic). Koncentrace aplikovaného přípravku a termín postřiku byly stanoveny na základě doporučení výrobce. Celkem bylo pěstováno 72 rostlin (24 jedinců od každého druhu) ve 21 květináčích naplněných zahradnickým substrátem FloraSelf Select od společnosti AGRO CS a.s. Rostliny byly pěstovány ve venkovních podmínkách v areálu Univerzity Hradec Králové a zálaha byla udržována na úrovni 80 %. Rostliny byly rozděleny do čtyř experimentálních variant lišících se množstvím dodaného dusíkatého hnojiva (směs KRISTALON™ Start od společnosti AGRO CS a.s.) a aplikací postřiku: 100N – kontrolní varianta bez aplikace postřiku + 100 % dusíku; MS100N – aplikace postřiku + 100 % dusíku; MS50N – aplikace postřiku + 50 % dusíku; MS0N – aplikace postřiku + 0 % dusíku. Během vegetační sezóny bylo stanoveno pět termínů hodnocení růstových, fyziologických a biochemických parametrů. První odběr vzorků proběhl týden po aplikaci biostimulantu, další čtyři odběry následovaly v měsíčních intervalech.

Pro stanovení obsahu dusičnanů, aktivity nitrát reduktázy, celkového obsahu dusíku a obsahu chlorofylů a karotenoidů bylo z každé rostliny odebráno 3–5 listů v závislosti na velikosti koruny a optimální zralosti listů. Z odebraného materiálu byly následně vytvořeny směsné vzorky pro jednotlivé experimentální skupiny. Obsah celkového dusíku v rostlinném materiálu byl stanoven Kjeldahlovou metodou.

Intenzita fotosyntézy, transpirace a vodivost průduchů byly stanoveny nedestruktivní metodou pomocí přístroje LI-6800 (LI-COR). Pro měření fluorescence chlorofylu byl použit fluorometr OS1p (Opti-Sciences). Měření probíhala vždy v časovém rozmezí 10:00–13:00 za účelem minimalizace vlivu denních výkyvů fyziologické aktivity rostlin.

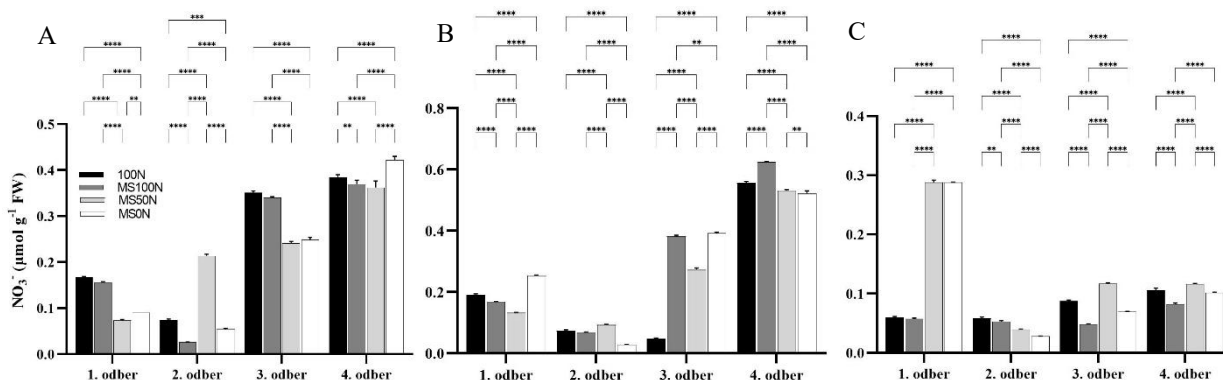
VÝSLEDKY A DISKUSE

Aplikované varianty dusíkaté výživy ovlivňovaly sledované fyziologické a biochemické parametry rozdílně v závislosti na druhu dřeviny a termínu měření.

U buku a dubu byla v průběhu experimentu patrná tendence ke zvyšování celkového obsahu dusičnanů u všech sledovaných variant (Graf 1). U smrku byl pozorován obdobný

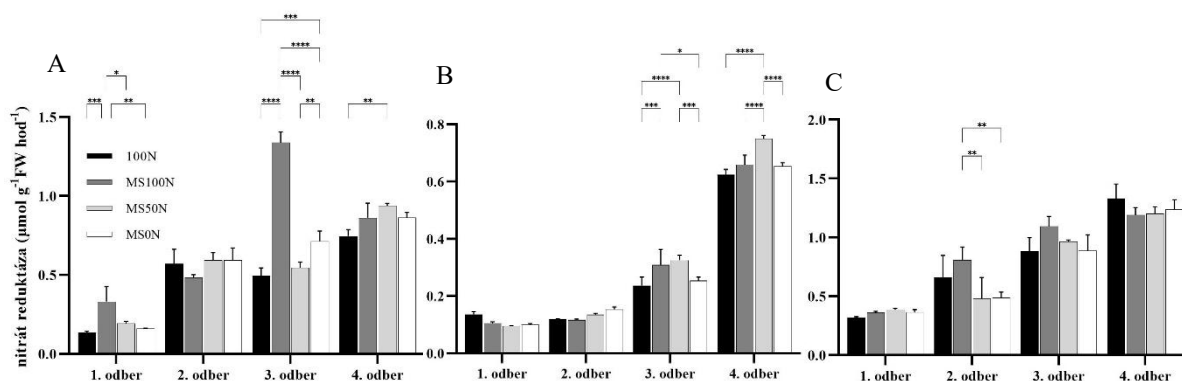
trend s výjimkou vysokých hodnot naměřených při prvním odběru u variant MS50N a MS0N, které dosahovaly přibližně $0,288 \mu\text{mol g}^{-1} \text{FW}$. Při následujícím měření tyto hodnoty klesly na $0,03\text{--}0,04 \mu\text{mol g}^{-1} \text{FW}$. V dalším průběhu experimentu již obsah dusičnanů vykazoval rostoucí tendenci obdobnou jako u buku a dubu (Graf 1). U smrku byly pozorovány celkově nižší hodnoty dusičnanů.

Koncentrace dusičnanů se během experimentu obecně zvyšovaly, ale vysoká variabilita a absence konzistentního rozdílu mezi rostlinami ošetřenými bakterií a kontrolními rostlinami nepodporují její jasný vliv na akumulaci dusičnanů.



Graf 1: Obsah dusičnanů u buku (A), dubu (B) a smrku (C) v závislosti na intenzitě dusíkatého hnojiva a aplikace *M. symbioticum*.

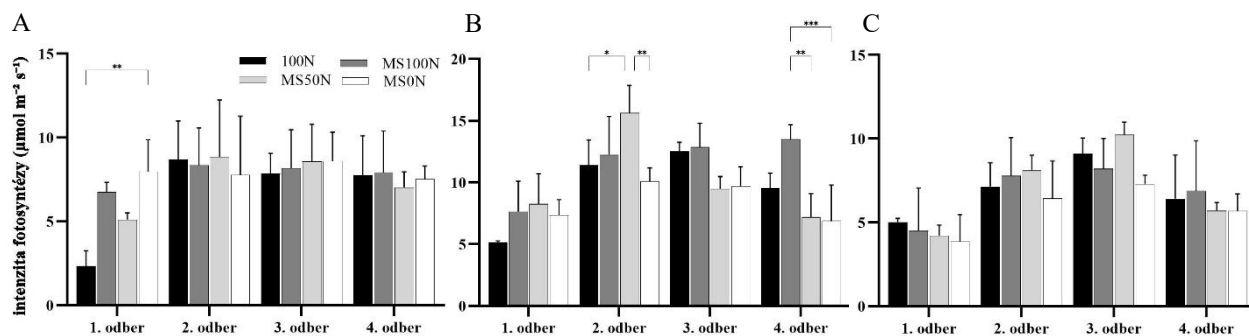
Aktivita NR vykazovala v průběhu jednotlivých odběrů převážně rostoucí trend (Graf 2), nejzřetelněji u dubu a smrku, což odpovídá rostoucím hodnotám dusičnanů. U buku byly při prvním a třetím měření hodnoty NR u varianty MS100N několikanásobně vyšší než u ostatních variant. Obecně byly hodnoty NR u dubu nejnižší ve srovnání s ostatními sledovanými druhy.



Graf 2: Aktivita nitrát reduktázy u buku (A), dubu (B) a smrku (C) v závislosti na intenzitě dusíkatého hnojiva a aplikace *M. symbioticum*.

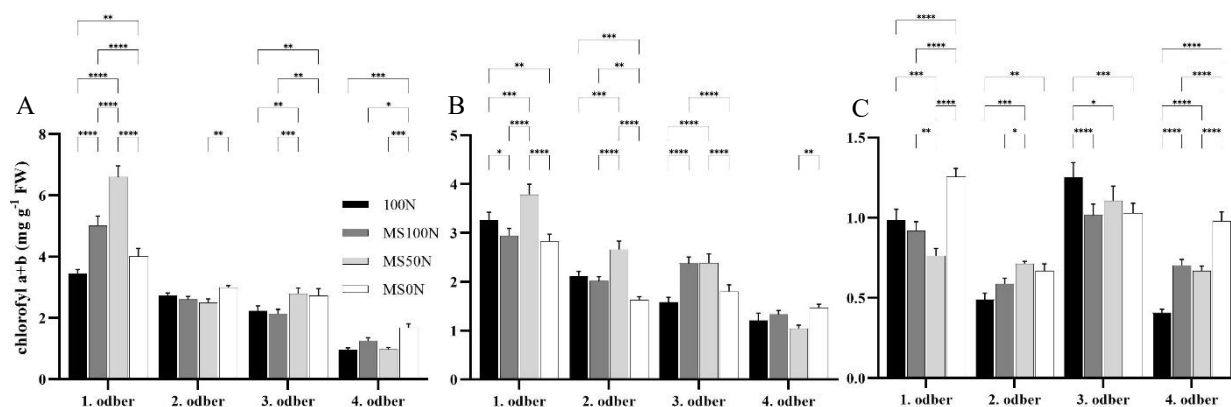
U buku byla nejnižší průměrná intenzita fotosyntézy zaznamenána u varianty 100N, zatímco varianta MS0N dosahovala přibližně stejných průměrných hodnot jako MS100N. Také u dubu byly nejnižší hodnoty fotosyntézy zaznamenány u varianty 100N, zatímco nejvyšších hodnot dosahovala varianta MS100N. Varianta MS50N zároveň vykazovala mírně vyšší průměrnou hodnotu než kontrolní varianta 100N, takže snížení dávky minerálního

dusíku na polovinu při současné aplikaci *M. symbioticum* nebylo spojeno s poklesem průměrné intenzity fotosyntézy pod úroveň kontrolní varianty 100N. U smrku byly hodnoty variant 100N, MS100N a MS50N téměř totožné, zatímco nejnižší hodnota byla zaznamenána u varianty MS0N. U žádného ze tří sledovaných druhů nebyla průměrná intenzita fotosyntézy u varianty MS50N nižší než u kontrolní varianty 100N (Graf 3).



Graf 3: Intenzita fotosyntézy u buku (A), dubu (B) a smrku (C) v závislosti na intenzitě dusíkatého hnojiva a aplikace *M. symbioticum*.

Množství chlorofylů a+b vykazovalo u buku a dubu v průběhu jednotlivých odběrů převážně klesající trend (Graf 4). U buku i dubu bylo při prvním odběru nejvyšších hodnot dosahovala varianta MS50N, u buku následovaná variantou MS100N. V následujících odběrech se rozdíly mezi variantami postupně zmenšovaly. Zajímavé je, že při posledním odběru bylo nejvyšší množství chlorofylů a+b zaznamenáno u varianty MS0N. U smrku se množství chlorofylů a+b pohybovalo na výrazně nižší úrovni, převážně okolo 1 mg g⁻¹ FW, a jeho vývoj v čase se lišil od buku a dubu. Mezi prvním a druhým odběrem došlo převážně k poklesu, při třetím odběru k opětovnému nárůstu a při čtvrtém odběru hodnoty u většiny variant znovu poklesly. Při třetím odběru dosahovala nejvyššího množství chlorofylů a+b varianta 100N, zatímco při posledním odběru byla nejvyšší hodnota zaznamenána u varianty MS0N. Při porovnání jednotlivých variant napříč sledovanými druhy je patrné, že varianty MS50N a MS0N v řadě odběrů dosahovaly podobných, nebo dokonce vyšších hodnot než varianta 100N.

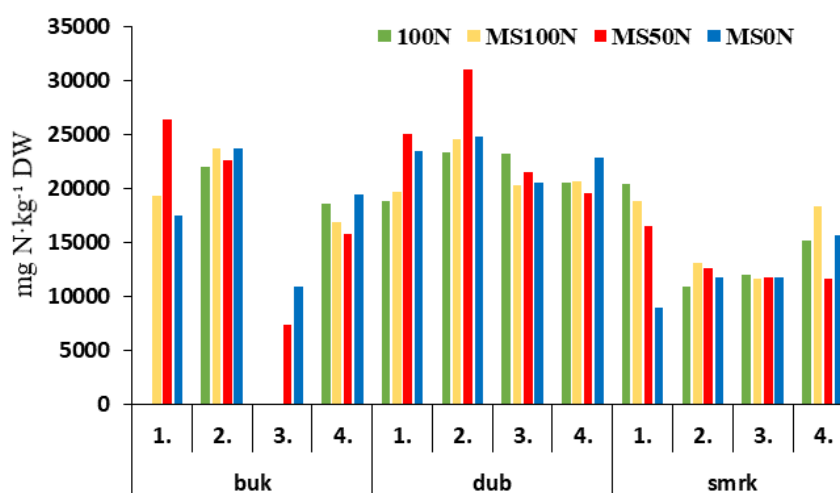


Graf 4: Obsah chlorofylů a+b u buku (A), dubu (B) a smrku (C) v závislosti na intenzitě dusíkatého hnojiva a aplikace *M. symbioticum*.

Obsah chlorofylu a+b nevykazoval jednotnou pozitivní reakci na inokulaci napříč třemi druhy stromů. To je v kontrastu s kukuřicí, kde MS zvýšil retenci chlorofylu a zpozdil /15/, ale souhlasí s jinými studiemi, které uvádějí omezené účinky MS na stav dusíku v rostlinách a

parametry související s chlorofylem /9/. Nicméně udržení fotosyntetické aktivity u rostlin MS50N na úrovních srovnatelných nebo vyšších než kontrola 100N naznačuje, že MS může částečně kompenzovat snížený přísun minerálního dusíku, zejména u buku a dubu. Podobná schopnost snižovat hnojení dusíkem bez ohrožení fotosyntetického výkonu byla pozorována u kukuřice a jahod /5/.

U celkového množství dusíku byla nejvýraznější odpověď zaznamenána u dubu, kde všechny varianty s MS dosahovaly při jednotlivých odběrech podobných hodnot nebo dokonce vyšších než kontrolní varianta 100N (Graf 5), což odpovídá výsledkům polních pokusů s kukuřicí /15/. U buku a smrku byla odpověď podstatně variabilnější a jednoznačný efekt inokulace nebyl patrný. K podobnému závěru dospěli také autoři studie zaměřené na kukuřici, v níž byly prováděny jak polní, tak nádobové pokusy /9/.



Graf 5: Celkové množství dusíku v sušině v závislosti na intenzitě dusíkatého hnojiva a aplikace *M. symbioticum*.

ZÁVĚR

Naše předběžné výsledky naznačují, že MS nemůže plně nahradit minerální dusíkaté hnojení u sazenic lesních stromů, ale může přispět k udržení fyziologické výkonnosti za sníženého příjmu dusíku; jeho účinnost se zdá být silně závislá na hostiteli a podmínkách.

LITERATURA

- /1/ Pascual, J. A., Ros, M., Martínez, J., Carmona, F., Bernabé, A., Torres, R., Lucena, T., Aznar, R., Arahál, D. R., Fernández, F.: *Methylobacterium symbioticum* sp. nov., a new species isolated from spores of *Glomus iranicum* var. *tenuihypharum*. *Current Microbiology*, 77, 2020: 2031–2041.
- /2/ Carlucci, M., Lucchese, P. G., Benincasa, C., Nicoletti, R., Pacifico, A., Perri, E., Nigro, F.: Unveiling the occurrence and role of *Methylobacterium* endophytes in olive trees: insights into potential interactions with *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 12, 2025: 53.
- /3/ Leducq, J.-B., Sneddon, D., Santos, M., Condrain-Morel, D., Bourret, G., Martinez-Gomez, N. C., Lee, J. A., Foster, J. A., Stolyar, S., Shapiro, B. J., Kembel, S. W., Sullivan, J. M., Marx, C. J.: Comprehensive phylogenomics of *Methylobacterium* reveals four evolutionary distinct groups and underappreciated phyllosphere diversity. *Genome Biology and Evolution*, 14, 2022: 8.
- /4/ Yousaf, T., Saleem, F., Andleeb, S., Ali, M., Farhan Ul Haque, M.: Methylo-trophic bacteria from rice paddy soils: mineral-nitrogen-utilizing isolates richness in bulk soil and rhizosphere. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 40, 2024: 188.
- /5/ Torres Vera, R., Bernabé García, A. J., Carmona Álvarez, F. J., Jesús Ruiz, M., Félix Martín, F.: Application and effectiveness of *Methylobacterium symbioticum* as a biological inoculant in maize and strawberry crops. *Folia Microbiologica*, 69, 2024: 121–131.

- /6/ Palberg, D., Kisiała, A., Jorge, G. L., Emery, R. J. N.: A survey of *Methylobacterium* species and strains reveals widespread production and varying profiles of cytokinin phytohormones. *BMC Microbiology*, 22, 2022: 49.
- /7/ Arrobas, M., Correia, C. M., Rodrigues, M. Â.: *Methylobacterium symbioticum* applied as a foliar inoculant was little effective in enhancing nitrogen fixation and lettuce dry matter yield. *Sustainability*, 16, 2024: 4512.
- /8/ Rodrigues, M. Â., Raimundo, S., Correia, C. M., Arrobas, M.: Nitrogen fixation and growth of potted olive plants through foliar application of a nitrogen-fixing microorganism. *Horticulturae*, 10, 2024: 604.
- /9/ Rodrigues, M. Â., Correia, C. M., Arrobas, M.: The application of a foliar spray containing *Methylobacterium symbioticum* had a limited effect on crop yield and nitrogen recovery in field and pot-grown maize. *Plants*, 13, 2024: 2909.
- /10/ Barrera, S. E., Sarango-Flóres, S.-W., Montenegro-Gómez, S.-P.: The phyllosphere microbiome and its potential application in horticultural crops. A review. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 13, 2019: 384–396.
- /11/ Fürnkranz, M., Wanek, W., Richter, A., Abell, G., Rasche, F., Sessitsch, A.: Nitrogen fixation by phyllosphere bacteria associated with higher plants and their colonizing epiphytes of a tropical lowland rainforest of Costa Rica. *ISME Journal*, 2, 2008: 561–570.
- /12/ Moreira, J. C. M., Brum, M., Almeida, L. C., Barrera-Berdugo, S., de Souza, A. A., de Camargo, P. B., Oliveira, R. S., Alves, L. F., Rosado, B. H. P., Lambais, M. R.: Asymbiotic nitrogen fixation in the phyllosphere of the Amazon Forest: Changing nitrogen cycle paradigms. *Science of the Total Environment*, 773, 2021: 145066.
- /13/ Padgurschi, M. C. G., Vieira, S. A., Stefani, E. J. F., Nardoto, G. B., Joly, C. A.: Nitrogen input by bamboos in neotropical forest: A new perspective. *PeerJ*, 6, 2018: e6024.
- /14/ Fakir, O. A., Haque, K. M. S., Wilson, A., Barrow, R. A., Ashnest, J. R., Schmidtke, L. M., Weston, L. A.: Australian dryland wheat growth and yield are positively impacted by a *Methylobacterium symbioticum* biostimulant under reduced nitrogen supply. *Agronomy*, 16, 2026: 808.
- /15/ Bolla, P. K., Panozzo, A., Minozzi, E., Valente, F., Potestio, S., Visioli, G., Martinez-Sañudo, I., Vamerali, T.: Effects of foliar-sprayed bio-fertilizer with N-fixing *Methylobacterium symbioticum* on morpho-physiological traits of maize under varying N fertilization rates. *Frontiers in Plant Science*, 16, 2025: 1661290.

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory specifického výzkumného projektu Přf UHK 2107/2026.

MECHANISMY PŘÍJMU AKTINOIDŮ ROSTLINAMI A JEJICH VÝZNAM PRO SANACI KONTAMINOVANÝCH STANOVIŠŤ

MECHANISMS OF ACTINIDE UPTAKE BY PLANTS AND THEIR IMPORTANCE FOR THE REMEDIATION OF CONTAMINATED SIT

Petr Soudek, Šárka Petrová, Přemysl Landa, Daniel Haisel, Lenka Langhansová, Radka
Podlipná, Kateřina Motřková

Laboratoř rostlinných biotechnologií, Ústav experimentální botaniky AV ČR, Rozvojová 263,
16502 Praha 6 – Lysolaje, soudek@ueb.cas.cz

Summary

The presentation summarizes studies on the uptake of uranium and thorium by plants and their physiological and molecular responses to exposure to these actinides. Experiments with hydroponically grown tobacco and *Arabidopsis thaliana* showed that both uranium and thorium accumulate predominantly in the root system, while their translocation to aboveground plant parts is limited. Their uptake and distribution are strongly influenced by the chemical composition of the growth medium, particularly phosphate availability, pH, and the presence of organic acids or polyamines. Phosphate deficiency may enhance actinide uptake, whereas nano-hydroxyapatite reduces thorium toxicity. Transcriptomic analyses indicate that thorium activates stress and defense mechanisms and disrupts phosphate nutrition, metal homeostasis, and plant water relations. These findings contribute to a better understanding of plant–actinide interactions and to assessing the potential use of plants for the remediation of contaminated sites.

Key words: uranium, thorium, uptake, oxidative stress

Souhrn

Prezentace shrnuje studium příjmu uranu a thoria rostlinami a jejich fyziologických a molekulárních odpovědí na působení těchto aktinoidů. Experimenty s hydroponicky pěstovanými tabákem a *Arabidopsis thaliana* ukázaly, že uran i thorium se akumulují především v kořenovém systému a jejich transport do nadzemních částí je omezený. Příjem a distribuci silně ovlivňuje chemické složení prostředí, zejména dostupnost fosfátů, pH a přítomnost organických kyselin či polyaminů. Nedostatek fosfátů může zvýšit příjem aktinoidů, zatímco nano-hydroxyapatit snižuje toxicitu thoria. Transkriptomické analýzy ukazují, že thorium aktivuje stresové a obranné mechanismy, narušuje fosfátovou výživu, homeostázu kovů a vodní režim rostlin. Získané poznatky přispívají k pochopení interakce aktinoidů s rostlinami a k posouzení možností jejich využití při sanaci kontaminovaných stanovišť.

Klíčová slova: uran, thorium, příjem, oxidativní stres

ÚVOD

Aktinoidy představují skupinu prvků, jejichž přítomnost v životním prostředí je spojena jak s přirozenými geochemickými procesy, tak s antropogenní činností. Z environmentálního hlediska je významná zejména kontaminace půd radionuklidy pocházejícími z těžby a zpracování uranových rud, jaderného průmyslu, nakládání s radioaktivními odpady nebo havárií jaderných zařízení. Mezi nejvýznamnější aktinoidy v kontaminovaných ekosystémech patří uran (U), thorium (Th), plutonium (Pu), neptunium (Np) a americium (Am). Jejich dlouhodobá přítomnost v půdním prostředí může představovat riziko nejen vzhledem k jejich radioaktivitě, ale v některých případech také v důsledku jejich chemické toxicity.

Chování aktinoidů v systému půda–rostlina je určováno komplexními interakcemi mezi

fyzikálně-chemickými vlastnostmi půdy, chemickou formou daného prvku a biologickými procesy probíhajícími v rhizosféře. Významnou úlohu hrají zejména pH půdy, redoxní podmínky, obsah organické hmoty, přítomnost jílových minerálů a koncentrace anorganických i organických ligandů. Tyto faktory ovlivňují speciaci, rozpustnost a mobilitu aktinoidů, a tím také jejich biologickou dostupnost pro rostliny. Přestože aktinoidy nejsou pro rostliny esenciální, jejich ionty nebo komplexy mohou vstupovat do kořenů prostřednictvím transportních systémů určených pro příjem nezbytných minerálních živin.

Kořenový systém přitom nepředstavuje pouze pasivní místo vstupu kontaminantů. Rostliny prostřednictvím kořenových exudátů, změn pH rhizosféry a interakcí s půdními mikroorganismy aktivně ovlivňují chemické prostředí v bezprostředním okolí kořenů. Organické kyseliny, fenolické sloučeniny a další látky uvolňované kořeny mohou měnit rozpustnost a komplexaci aktinoidů a následně jejich dostupnost pro příjem. Po vstupu do kořene mohou být aktinoidy vázány na buněčné stěny, komplexovány intracelulárními ligandy, ukládány do vakuol nebo v nízké míře transportovány prostřednictvím xylému do nadzemních částí rostliny. Poměr mezi retencí v kořenech a translokací do výhonů se liší v závislosti na konkrétním prvku, jeho chemické formě i rostlinném druhu.

Porozumění těmto mechanismům je důležité nejen pro hodnocení vstupu radionuklidů do potravních řetězců, ale také pro vývoj biologických metod sanace kontaminovaných stanovišť. Využití rostlin k odstranění, imobilizaci nebo omezení šíření kontaminantů, souhrnně označované jako fytořemediace, představuje potenciálně šetrnější a ekonomicky méně náročnou alternativu ke konvenčním sanačním technologiím. V případě aktinoidů lze podle vlastností kontaminantu a stanoviště uvažovat především o fytoextrakci, při níž dochází k příjmu kontaminantu a jeho akumulaci v odstranitelné rostlinné biomase, nebo o fytostabilizaci, jejímž cílem je naopak omezit mobilitu radionuklidů a jejich další šíření v prostředí.

Úspěšné využití rostlin při sanaci stanovišť kontaminovaných aktinoidy proto vyžaduje detailní znalost procesů určujících jejich biologickou dostupnost, příjem kořeny, intracelulární distribuci a transport do nadzemních orgánů. Studium mechanismů interakce aktinoidů s rostlinami tak propojuje základní poznatky z oblasti fyziologie rostlin, půdní chemie a radiochemie s jejich praktickým využitím v environmentálních technologiích. Zvláštní pozornost je přitom třeba věnovat rozdílům mezi jednotlivými aktinoidy, protože jejich odlišná chemie zásadně ovlivňuje mobilitu v půdě, mechanismus příjmu rostlinami i možnosti následné fytořemediace.

ZÁVĚR

Výsledky ukazují, že uran a thorium jsou rostlinami přijímány, avšak převážná část přijatých aktinoidů zůstává akumulována v kořenech a jejich transport do nadzemních částí je poměrně omezený. Míra jejich příjmu je výrazně ovlivněna složením živného prostředí, především dostupností fosforu, ale také genotypem rostliny. Mezi jednotlivými genotypy byly zjištěny výrazné rozdíly v akumulaci thoria, což naznačuje možnost selekce rostlin s vlastnostmi vhodnými pro fytořemediaci. Expozice thoriu současně vyvolává fyziologickou a antioxidační odpověď, jejíž intenzita závisí na genotypu a podmínkách kultivace. Zvýšení hodnoty DEPS po přidavku thoria poukazuje také na aktivaci fotoprotektivních mechanismů. Výsledky tak ukazují, že vhodnou kombinací genotypu a podmínek prostředí lze ovlivnit nejen příjem a akumulaci aktinoidů, ale také schopnost rostlin tolerovat jejich přítomnost, což představuje důležitý předpoklad pro další rozvoj radiofytořemediace.

LITERATURA

- /1/ Soudek P., Petrová Š., Benešová D., Dvořáková M., Vaněk T.: Uranium uptake by hydroponically cultivated crop plants. *Journal of Environmental Radioactivity* 102[6], 2011, 598-604.
- /2/ Soudek P., Petrová Š., Benešová D., Vaněk T.: Uranium uptake and stress responses of in vitro cultivated hairy root culture of *Armoracia rusticana*. *Agrochimica LV* [1], 2011, 15-28.

- /3/ Soudek P., Kufner D., Petrová Š., Mihaljevič M., Vaněk T.: Composition of hydroponic medium affects thorium uptake by tobacco plants. *Chemosphere* 92[9], 2013, 1090-1098.
- /4/ Soudek P., Petrová Š., Buzek M., Lhotský O., Vaněk T.: Uranium uptake in *Nicotiana* sp. under hydroponic conditions. *Journal of Geochemical Exploration* 142, 2014, 130-137.
- /5/ Mazari K., Landa P., Přerostová S., Müller K., Vaňková R., Soudek P., Vaněk T.: Thorium impact on tobacco root transcriptome. *Journal of Hazardous Materials* 325, 2017, 163–169.
- /6/ Soudek P., Hrdinová A., Rodriguez Valseca I.M., Lhotáková Z., Mihaljevič M., Petrová Š., Kofroňová M., Mořková K., Albrechtová J., Vaněk T.: Thorium as an environment stressor for growth of *Nicotiana glutinosa* plants. *Environmental and Experimental Botany* 164, 2019, 84-100.
- /7/ Landa P., Muller K., Přerostová S., Petrová Š., Mořková K., Vaněk T., Soudek P.: Effect of nano-hydroxyapatite and phosphate on thorium toxicity – *Arabidopsis* transcriptomic study. *Environmental and Experimental Botany* 217, 2024, 105573. 0.

Poděkování

Uvedená práce vznikla za finanční podpory projektu Strategie AV21 (Epicentra civilizace – inteligentní domácnosti, technologie a společnost).

SCREENING OF CHANGES IN THE SOIL ENVIRONMENT CAUSED BY INVASIVE BLACK LOCUST (*ROBINIA PSEUDOACACIA* L.)

SKRÍNING ZMIEN PÔDNEHO PROSTREDIA SPÔSOBENÝCH INVÁZNYM AGÁTOM BIELYM (*ROBINIA PSEUDOACACIA* L.)

Peter Ferus¹, Kristína Trush¹, Jana Konôpková¹, Dominika Galová², Nikola Klištincová², Doménico Pangallo²

¹ Institute of Forest Ecology SAS, Mlyňany Arboretum, Department of Dendrobiology, Vieska nad Žitavou 178, 95152 Slepčany, Slovakia, peter.ferus@savba.sk

² Institute of Molecular Biology SAS, Department of Microbial Ecology, Dúbravská cesta 21, 845 51 Bratislava 45, Slovakia

Summary

Drought Since invasive black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) produces allelochemicals, which can pose stress to the surrounding vegetation, in this work we screened soil for them as well as for changes in microbiome as its intermediate. We found relatively high concentration of gallic acid equivalent in soil from the Ambrózy's park of the Mlyňany Arboretum IFE SAS (oak-hornbeam forest) compared to that from neighbouring black locust forest, and cultivation of black locust seedlings in the park soil / surface coverage by black locust leaves (lab experiments) caused its partial decomposition. On the other hand, the park soil showed relatively poor microbial diversity (species richness, Chao1 and Shannon index), but the black locust roots / leaves slightly supported it. Thus, our hypothesis was not confirmed.

Key words: soil, invasive black locust, phenolic allelochemicals, microbial diversity

Súhrn

Invázny agát biely (*Robinia pseudoacacia* L.) sa presadzuje aj prostredníctvom allelochemikálií, ktoré môžu pre okolitú vegetáciu predstavovať stres. Preto sme sa v tejto práci zamerali na skríning ich obsahu v pôde a tiež zmien pôdneho mikrobiómu ako jeho sprostredkovateľa. Dospeli sme k záveru, že pôda z pôvodného Ambrózyho parku Arboréta Mlyňany ÚEL SAV (dubovo-hrabový les) vykazovala oproti tej zo susedného agátového lesa relatívne vysokú koncentráciu ekvivalentu kyseliny gallovej, a kultivácia semenáčov agátu v nej resp. inkubácia listov agátu na jej povrchu v rámci laboratórnych pokusov viedla k zníženiu jeho obsahu. Na druhej strane, pôda z parku bola podstatne chudobnejšia na mikrobiálny život (druhovú početnosť, Chao1 a Shannonov index), no korene alebo listy agátu znamenali pre ňu určitú podporu. Naša hypotéza teda nebola potvrdená.

Kľúčové slová: pôda, invázny agát biely, fenolické allelochemikálie, mikrobiálna diverzita

INTRODUCTION

Black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) was the first North-American tree species imported to Europe (in 1601) and started to be widely planted in the 18th century in the Central Europe. As an N-fixing plant improving soil fertility, it became important for afforestation of degraded soils. This species exhibits fast growth and production of a durable timber commonly used for flooring, poles as well as firewood. Beside this, it is very popular among bee-keepers [1].

However, black locust belongs to highly invasive plant species with a transformative effect on the understorey vegetation. In the Central Europe, it creates conditions more favourable for shade-tolerant and nitrophilous species, such as *Alliaria petiolata*, *Anthriscus*

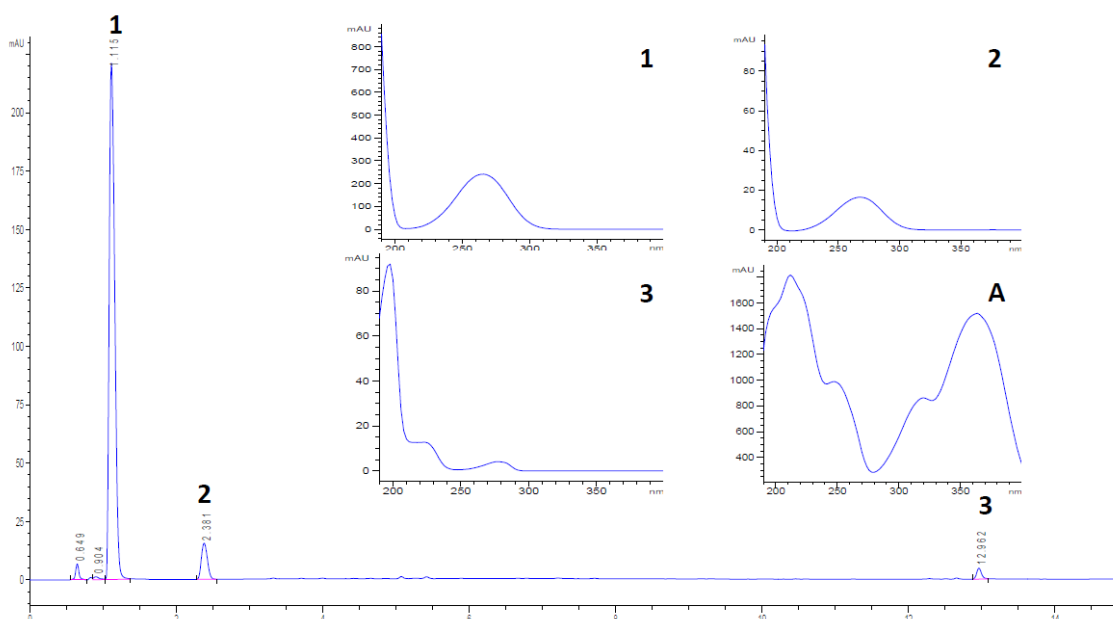
sylvestris, *Chelidonium majus*, *Galium aparine*, *Sambucus nigra* and *Urtica dioica*. Besides changes in the environmental resources, allelochemistry can also be taken into account [2/].

In this work, we outline changes to the soil environment, namely concentration of allelochemicals and microbial composition, caused by roots, leaf litter or both, which can represent stress to the surrounding vegetation.

MATERIAL AND METHODS

In a series of lab/external pot trials, effects of black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) root exudates, leaf leachates or both on soil phenolics load and microbiome were studied. First, top soil (depth up to 10 cm) from the original Ambrozy's park (oak-hornbeam forest) of the Mlýnský Arboretum IFE SAS (Park) and neighbouring black locust forest, 11 years after coppicing (BL forest) was collected in half of May 2018. To see effect of common Sycamore maple (*Acer pseudoplatanus* L., PSE) on the soil properties, its seedlings were cultivated externally in these two substrates (9 cm square pots) for 2 months (half-shadow, regular watering). Furthermore, the park soil was studied in 2 separate lab experiments (PAR = 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, photoperiod 16/8 h, $t = 25/22^\circ\text{C}$) after 3 months (3M) lasting cultivation of black locust seedlings (BL plants) or exposure to black locust leaves (BL leaves) spread on the soil surface (1% w/w) with regular hydration.

Phenolic compounds were extracted from the soil samples according to Carlsen et al. [3/] with slight modifications. To 5 g of soil 5 mL of 70% methanol (v/v) was added. Samples were sonicated for 10 min and subsequently extracted overnight at room temperature under orbital shaking (21 rpm). After centrifugation (4200 rpm, 10 min), the supernatants were collected and filtered through 0.2 μm nylon membrane filters (Pall Corp., USA) prior to chromatographic analysis.



Graph 1: Representative HPLC-DAD chromatogram of a soil extract recorded at 280 nm with corresponding DAD spectra of the detected peaks. The spectrum of expected robinetin standard (A) is also shown. However, this flavonoid ($RT = 4.09 \text{ min}$) was not detected in any soil sample.

HPLC-DAD analysis was performed using an Agilent 1260 Infinity system equipped with a Diode Array Detector (DAD) (Agilent Technologies, USA). Chromatographic separation was achieved on a Poroshell 120 EC-C18 column (2.7 μm , $4.6 \times 150 \text{ mm}$) at 30°C . The mobile phase consisted of 0.1% formic acid in water (A) and 0.1% formic acid in 80 %

acetonitrile (B). Gradient elution was applied from 95% A/5% B to 5% A/95% B within 15 min. The flow rate was $0.850 \text{ mL min}^{-1}$, with an injection volume of $20 \text{ }\mu\text{L}$. Flavonoids were monitored at 280 nm using DAD detection.

Soil samples for DNA isolation were pre-treated with the Qiagen DNeasy PowerSoil Pro kit with lysozyme: Five hundred μL of freshly prepared lysis buffer (EDTA 40 mM, Tris–HCl 50 mM pH 8, saccharose 0.75 M and lysozyme 20 mg.mL^{-1}) was added to the sample, the mixture briefly vortexed and incubated at $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ for 30 min. Fifteen μL of Proteinase K (19 mg mL^{-1}) was added and incubated at $55 \text{ }^{\circ}\text{C}$ for 30 min and subsequent 30 min at $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Then, $300 \text{ }\mu\text{L}$ of CD1 solution was introduced to the mixture, followed by incubation for 10 min at $65 \text{ }^{\circ}\text{C}$ and horizontally shaking for 15 min at maximum speed. We continued with the DNA isolation protocol.

Obtained DNA was amplified by PCR and subjected to whole-genome sequencing using the Oxford Nanopore MinION platform (Oxford Nanopore Technologies, UK) with R10.4.1 flow cells. Sequencing libraries were prepared using the Ligation Sequencing Kit V14 (SQK-LSK114) in combination with the PCR Barcoding Expansion Pack 1–96 (EXP-PBC096), according to the manufacturer's protocol. The generated data were processed through the following workflow: basecalling using Dorado (v1.4.0), adapter trimming and read filtering, de novo genome assembly using Flye (v2.9.6), and taxonomic classification using Kraken2 (v2.1.3). Taxonomic annotation was subsequently performed using the PFPlus database within the Galaxy platform.

RESULTS AND DISCUSSION

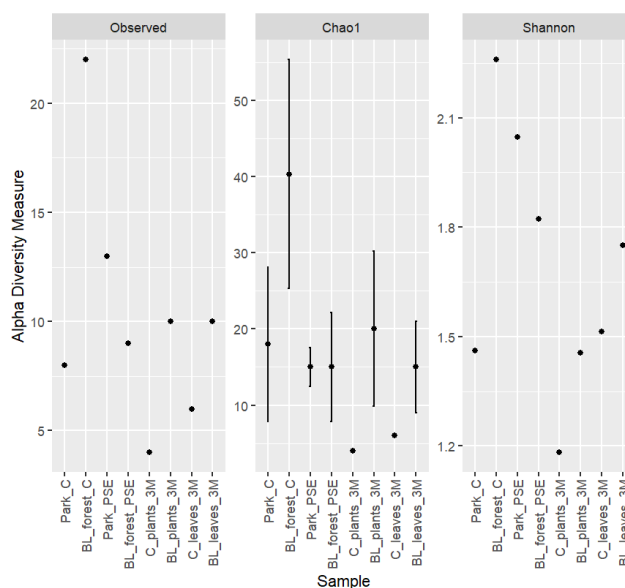
HPLC-DAD analysis revealed several UV-absorbing compounds. The major early-eluting peak (Peak I; RT = 1.15 min, Graph 1) showed substantial variation among soil samples with concentrations ranging from 0.35 to $182.57 \text{ }\mu\text{g GAE g}^{-1}$ soil (Tab. 1). Peak I was quantified semi-quantitatively using a gallic acid calibration curve and expressed as gallic acid equivalents (GAE).

Tab. 1: Quantification of selected UV-absorbing compounds in the soil samples expressed as gallic acid equivalents (GAE). Values are presented as mean $\pm$ SE of 3 technical replicates.

	Peak 1 ($\mu\text{g GAE g}^{-1}$)	Peak 2 ($\mu\text{g GAE g}^{-1}$)
Park_C	179.39 ± 3.91	0
BL forest_C	0.35 ± 0.07	0
Park_PSE	36.66 ± 0.98	2.81 ± 0.03
BL forest_PSE	80.40 ± 0.75	0
C_plants_3M	182.57 ± 0.78	0
BL plants_3M	89.26 ± 1.32	0
C_leaves_3M	46.32 ± 2.72	0
BL leaves_3M	36.82 ± 0.30	0

The highest concentrations were observed in the control soil from the park (Park_C and C_plants_3M), whereas the lowest one was detected in the BL forest_C soil. The second peak (Peak II; RT ≈ 2.4 min) was detected only in Park_PSE soil, at $2.81 \pm 0.03 \text{ }\mu\text{g GAE g}^{-1}$ soil. An additional UV-absorbing peak was observed at RT ≈ 12.9 min, with absorption maxima around 230 and 280 nm. Because its chemical identity could not be established using the available reference standards, this compound was not quantified. Thus, gallic acid equivalent is almost missing in the BL forest soil and its consumption from the park soil was stimulated by BL plants/leaves. On the other hand, cultivation of the Sycamore maple was associated with its consumption in the park soil and accumulation in the BL forest one.

The observed taxonomic richness, representing the count of distinct genera in each sample, exhibited significant variations (Graph 2). BL forest_C showed the highest genera number (22). This sample dominated also in Chao1 index (41), an estimator taking into consideration potential undetected rare genera, as well as Shannon diversity index (2.25), a metric accounting for both genera richness and evenness. Thus, both BL plants and BL leaves slightly enlarged the microbial diversity of the park soil (α diversity, Shannon index). On the other hand, cultivation of the Sycamore maple in the park soil supported the diversity but when the BL forest soil was applied, decrease was recorded.

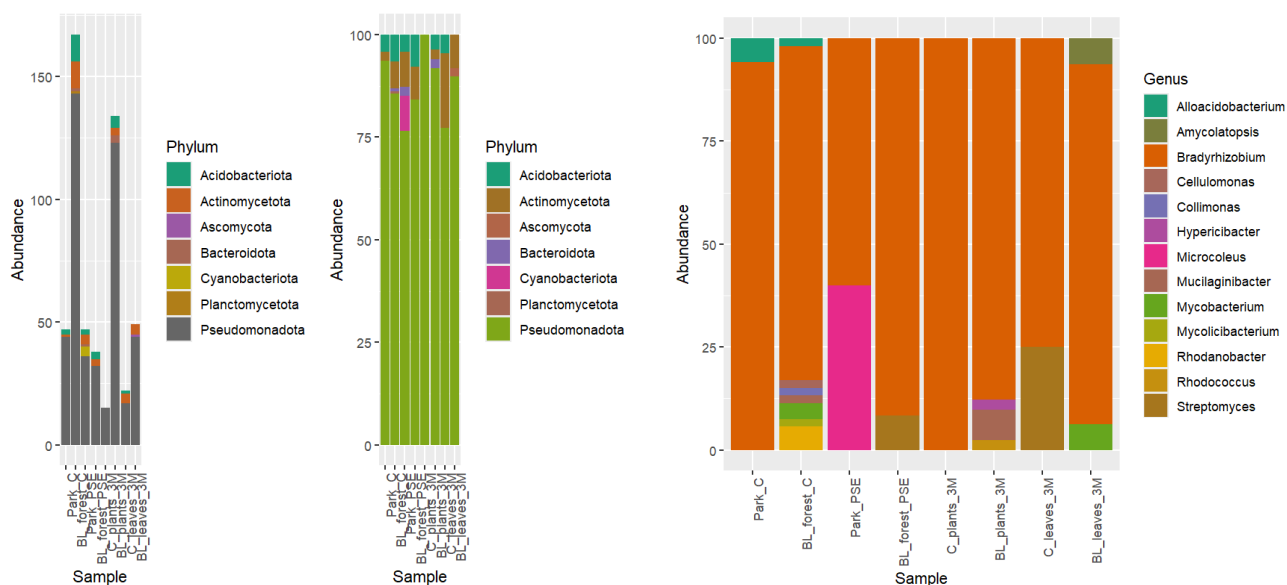


Graph 2: Alpha diversity as well as Chao1 and Shannon diversity index of microbial life in the studied soil samples.

Generally, the most abundant phylum was *Pseudomonadota* and genus *Bradyrhizobium* (Graph 3). In the soil sample from the BL forest also genera like *Alloacidobacterium*, *Cellulomonas*, *Collimonas*, *Mucilaginibacter*, *Mycobacterium*, *Mycolicibacterium* and *Rhodanobacter* were confirmed. Cultivation of black locust seedlings in the park soil supported growth of *Hypericibacter*, *Mucilaginibacter* and *Rhodococcus* while BL leaves that of *Alloacidobacterium* and *Mycobacterium*.

In a study of Wang et al. /4/, total flavonoids in the black locust seedling rhizosphere levelled at 80 $\mu\text{g.g}^{-1}$ and quercetin represents only 0.1 $\mu\text{g.g}^{-1}$. However, phenolic acids showed 100 $\mu\text{g.g}^{-1}$ with gallic acid as one of the mostly present. Cacace et al. /5/ stated, that black locust doubled the concentration of phenolics in a degraded soil as compared with the native vegetation.

Although duration of a black locust coppice plantation had no effect on the diazotrophic bacterial community, significant growth of *Bradyrhizobium* was observed /6/. According to Zhang et al. /7/, both bacterial and fungal diversity increased with longevity of the black locust presence in a forest stand but no trend was shown at the phylum level. Furthermore, black locust leaf litter caused significant decrease of Chao1 index of soil fungal diversity in Chinese forest-steppe habitats /8/.



Graph 3: Absolute vs. relative abundance of microbial phyla (A) and relative abundance of genera (B) in the studied soil samples.

CONCLUSIONS

We can conclude that: 1. black locust plants support decomposition of gallic acid metabolites in the soil; 2. they enlarge soil microbial diversity; 3. our hypothesis was not confirmed.

REFERENCES

- /1/ Nicolescu, V.N., Hernea, C., Bakti, B. et al. Black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) as a multi-purpose tree species in Hungary and Romania: a review. *Journal of Forestry Research* 29, 2018: 1449–1463. doi: 10.1007/s11676-018-0626-5
- /2/ Vítková M., Müllerová J., Sádlo J., Pergl J., Pyšek P. Black locust (*Robinia pseudoacacia*) beloved and despised: a story of an invasive tree in Central Europe. *Forest Ecology and Management* 384, 2017: 287–302. doi: 10.1016/j.foreco.2016.10.057
- /3/ Carlsen, S.C.K., Pedersen, H.A., Spliid, N.H., Fomsgaard, I.S. Fate in soil of flavonoids released from white clover (*Trifolium repens* L.). *Applied and Environmental Soil Science* 2012: 743413. doi: 10.1155/2012/743413
- /4/ Wang, Y., Zhang, C., Wang, L. et al. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on low molecular weight soluble compounds in the rhizosphere soil of black locust seedlings grown in cadmium-contaminated soils under elevated CO₂ scenarios. *Plant Soil* 486, 2023: 469–486. doi: 10.1007/s11104-023-05885-z
- /5/ Cacace, C., García-Gil, J.C., Coccozza, C. et al. Effects of different pioneer and exotic species on the changes of degraded soils. *Scientific Reports* 12, 2022: 18548. doi: 10.1038/s41598-022-23265-y
- /6/ Li, K., Tian, H., Moser, W.K., Overby, S.T., Baggett, L.S., Ni, R., Li, C., Shen, W. Black locust coppice stands homogenize soil diazotrophic communities by reducing soil net nitrogen mineralization. *Forest Ecosystems*, 9, 2022: 100025. doi: 10.1016/j.fecs.2022.100025
- /7/ Zhang L., Li H., Wu C., Linghu G., et al. Far-reaching effects on soil properties and underground microbial ecosystem after the introduction of black locusts in forest. *Frontiers in Ecology and Evolution* 11, 2023: 1210498. doi: 10.3389/fevo.2023.1210498
- /8/ Chen S., Zhang J., Wen Z. Identification of fungal dynamics associated with black locust leaves mineralization and their correlations with physicochemical factors. *Frontiers in Microbiology* 11, 2020: 348. doi: 10.3389/fmicb.2020.00348

Acknowledgements

This work was supported by Scientific Agency of Ministry of Education, Research, Development and Youth of the Slovak Republic (project no. 2/0072/23).

REAKCE KOŘENOVÉHO SYSTÉMU NA ABIOTICKÝ STRES: OD PERCEPCE STRESU K ADAPTIVNÍ PŘESTAVBĚ KOŘENOVÉ ARCHITEKTURY

ROOT SYSTEM RESPONSES TO ABIOTIC STRESS: FROM STRESS PERCEPTION TO ADAPTIVE REMODELLING OF ROOT ARCHITECTURE

František Hnilička¹, Ladislav Bláha², Tomáš Rýgl¹

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

² U Stárovny 674, 156 00, Praha Zbraslav, emeritní pracovník CARC Praha Ruzyně, opidum@volny.cz

Summary

The root system is a dynamic interface between plants and soil and one of the first organs to perceive changes in water potential, salinity, oxygen and nutrient availability, toxic elements and mechanical resistance. This review summarizes the main morphological, anatomical, physiological and hormonal mechanisms underlying root responses to abiotic stress, with particular emphasis on drought. Root system architecture, root-to-shoot allocation, rooting depth and angle, axial root number, cortical aerenchyma and hydraulic traits are discussed together with the roles of the rhizosphere, arbuscular mycorrhiza and beneficial bacteria. Responses to flooding and salinity are also considered. Current evidence indicates that no single root phenotype is universally optimal; useful root ideotypes must be matched to the stress type, soil profile, crop and production environment. Integrating root phenotyping with physiological, microbial and molecular indicators and post-stress recovery assessment is therefore a promising strategy for breeding stress-resilient crops.

Key words: root architecture, water deficit, rehydration, hypoxia, salinity, rhizosphere, mycorrhiza, phytohormones, stress tolerance

Souhrn

Kořenový systém představuje dynamické rozhraní mezi rostlinou a půdou a současně jeden z prvních orgánů, který registruje změny vodního potenciálu, salinity, dostupnosti kyslíku a živin, přítomnosti toxických prvků i mechanického odporu půdy. Přehled shrnuje hlavní morfologické, anatomické, fyziologické a hormonální mechanismy kořenové odpovědi na abiotický stres se zvláštním důrazem na vodní deficit. Pozornost je věnována plasticitě architektury kořenového systému, alokaci biomasy, hloubce a úhlu zakořenění, počtu axiálních kořenů, tvorbě kortikálního aerenchymu a hydraulickým vlastnostem. Diskutována je rovněž úloha rhizosféry, arbuskulární mykorhizy a prospěšných bakterií, stejně jako reakce na zaplavení a salinitu. Pro šlechtění nelze definovat jediný univerzálně optimální kořenový fenotyp; vhodný ideotyp musí odpovídat typu stresu, půdnímu profilu, plodině a produkčnímu prostředí.

Klíčová slova: kořenová architektura, vodní deficit, rehydratace, hypoxie, salinita, rhizosféra, mykorhiza, fytohormony, stresová tolerance

ÚVOD

Kořenový systém plní vedle mechanického ukotvení rostliny zásadní funkci při příjmu vody a minerálních živin a současně představuje místo intenzivní komunikace rostliny s půdním prostředím. Na rozdíl od nadzemních orgánů je vystaven značné prostorové heterogenitě: v rámci jediného půdního profilu se mohou na centimetrové škále měnit obsah vody, koncentrace živin a solí, teplota, provzdušnění, mechanický odpor i složení mikrobiálních společenstev. Kořen proto nelze chápat pouze jako pasivní absorpční orgán. Je senzorem, který lokální podněty převádí na hormonální, hydraulické, elektrické a metabolické signály a tím ovlivňuje funkci celé rostliny.

Architektura kořenového systému (root system architecture, RSA) zahrnuje počet, délku, průměr, úhel růstu a prostorové uspořádání primárních, laterálních, adventivních a u obilnin také semenných a korunních kořenů. Je výsledkem interakce genotypu s prostředím a vykazuje vysokou plasticitu. Právě tato plasticita umožňuje měnit strategii průzkumu půdy podle toho, zda je limitujícím zdrojem voda, dusík, fosfor nebo kyslík. Moderní přístupy proto stále častěji hodnotí kořenové znaky jako funkční fenotypy využitelné při šlechtění plodin pro podmínky klimatické změny /10,17/.

Cílem tohoto přehledového příspěvku je syntetizovat současné poznatky o morfologických, anatomických, fyziologických a hormonálních reakcích kořenového systému na hlavní abiotické stresory, se zvláštním důrazem na vodní deficit. Pozornost je věnována také interakcím kořenů s rhizosférou a mikroorganismy, schopnosti regenerace po odeznění stresu a možnostem využití kořenových znaků při fenotypování a šlechtění stresově tolerantních genotypů.

KOŘEN JAKO SENZOR STRESU A HORMONÁLNÍ REGULÁTOR

Kořenová špička, meristematická zóna a zóna elongace citlivě reagují na změny vodního potenciálu, iontového složení, koncentrace kyslíku, teploty a mechanického odporu. K časným signálům patří změny toku Ca^{2+} , reaktivních forem kyslíku (ROS), pH, membránového potenciálu a hydraulické vodivosti. Následuje přestavba genové exprese, metabolismu a růstu. Výsledná odpověď je systémová: signály vznikající v kořeni mohou měnit stomatální regulaci, fotosyntézu, růst listů i alokaci asimilátů.

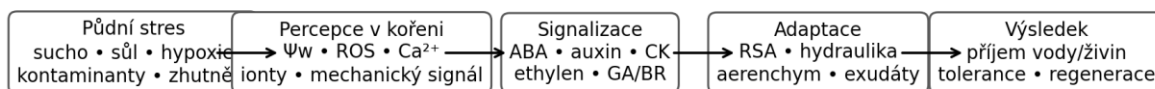
Významnou úlohu má kyselina abscisová (ABA), zejména při vodním deficitu a salinitě. ABA se podílí na regulaci vodního hospodaření a interaguje s auxinem, cytokininy, ethylenem, gibereliny a brassinosteroidy. Auxin je zásadní pro gravitropismus, iniciaci laterálních a adventivních kořenů a směrový růst, zatímco cytokinin obvykle moduluje buněčné dělení a rovnováhu mezi kořenem a nadzemní částí. Výsledkem stresu tedy není jednoduché „zapnutí“ jedné hormonální dráhy, ale změna jejich vzájemného poměru a prostorové distribuce /5,11/, viz obr. 1.

Směrové reakce jsou názorným příkladem propojení percepce a růstu. Hydrotropismus umožňuje kořenům měnit směr ve prospěch oblastí s vyšším vodním potenciálem; u *Arabidopsis* je s hydrotropní odpovědí spojena signalizace ABA a proteiny MIZ1/MIZ2, zatímco význam auxinu se mezi druhy liší /4/. Při zasolení se může uplatnit halotropismus, tedy směrový růst vůči gradientu soli. U řady rostlin vede asymetrická redistribuce auxinu k odklonu kořene od silně zasolené zóny, zatímco u některých halofytů byly popsány odlišné strategie /12/.

VODNÍ DEFICIT A PLASTICITA KOŘENOVÉHO SYSTÉMU

Vodní deficit patří mezi nejvýznamnější faktory omezující produktivitu rostlin. Kořen reaguje na vysychání půdy změnou hydraulické vodivosti, osmotickou regulací, růstem kořenových vlásků a přestavbou prostorového uspořádání kořenů. Častým adaptačním směrem je přesun investic do vrstev půdy, v nichž zůstává dostupná voda. Tento obraz však

není univerzální: reakce závisí na intenzitě a délce sucha, ontogenetické fázi, druhu, genotypu a prostorovém rozložení vody. Meta-analýza /14/, založená na 997 velikostech účinku ze 76 studií, ukázala, že silné až extrémní sucho může snižovat délku, plochu a průměr kořenů, zatímco silné sucho zvyšovalo hustotu kořenového pletiva; odezva se zároveň lišila mezi funkčními skupinami rostlin.



Kořen propojuje lokální vnímání půdního prostředí se systémovou odpovědí celé rostliny.

Obr. 1. Koncepční schéma propojení půdního stresu, percepce v kořeni, hormonální signalizace a adaptivní odpovědi.

Při suchu může klesat absolutní délka kořenů, avšak rostlina může současně relativně více investovat do podzemní biomasy. Zvýšení poměru kořen:nadzemní část může zlepšit poměr mezi absorpční kapacitou a transpirační plochou, ale jeho význam závisí na tom, zda nová biomasa skutečně umožní přístup k dostupné vodě. Samotná velikost kořenového systému proto není dostatečným kritériem tolerance. Důležitá je prostorová distribuce kořenové délky, hloubka zakořenění, úhel růstu, jemnost kořenů a jejich hydraulická funkčnost /6,7/.

Pro prostředí, kde se voda a dusičnany v průběhu sezóny přesouvají do hlubších horizontů, byl formulován koncept „steep, cheap and deep“. Kombinuje strmější růst axiálních kořenů s nižšími metabolickými náklady na průzkum půdy /8/. Menší počet axiálních či korunních kořenů může snížit vnitřní konkurenci mezi kořeny a umožnit větší investici do prodlužování těch zbývajících. Současně může tvorba kořenového kortikálního aerenchymu snížit množství živého respiračně aktivního pletiva. Vyšší tvorba kortikálního aerenchymu byla u kukuřice spojena s nižšími metabolickými náklady kořene a lepší výkonností v podmínkách omezené vody /2,9/.

Je však nutné odlišit adaptační znak od pouhého symptomu poškození. Například redukce laterálního větvení může za určitých podmínek podporovat hlubší průnik kořenů, ale při krátkodobém povrchovém zvlhčení může naopak omezovat využití vody v horní vrstvě půdy. Podobně větší průměr kořene může souviset s vyšší mechanickou odolností a vodivostí, ale zároveň zvyšuje náklady na tvorbu kořenové délky. Optimální RSA je proto výsledkem kompromisu mezi rychlostí průzkumu půdy, náklady na udržování pletiv a schopností využít zdroje v konkrétním půdním profilu /10,17/.

PŘÍJEM VODY, HYDRAULIKA A REGENERACE PO REHYDRATACI

Příjem vody je výsledkem funkce kontinuálního systému půda–rhizosféra–kořen–xylém–list. Při vysychání půdy roste hydraulický odpor nejen uvnitř kořene, ale především na rozhraní půda–kořen, kde může docházet k poklesu hydraulické vodivosti rhizosféry. Rostlina současně reguluje aktivitu aquaporinů, suberizaci exodermis a endodermis a vodivost xylému. Tyto procesy mohou chránit rostlinu před ztrátou vody, ale současně omezují rychlost jejího příjmu. Z funkčního hlediska je proto důležité hodnotit nejen množství kořenové biomasy, ale také její hydraulickou efektivitu.

Pro zemědělskou produkci je vedle tolerance během stresu zásadní schopnost regenerace po obnovení zásobení vodou. Rehydratace vyžaduje obnovu hydraulické vodivosti, růstu meristémů, iontového transportu a metabolismu. Současně musí být odstraněny nebo opraveny následky oxidačního stresu a znovu nastavena hormonální rovnováha. Genotyp, který během sucha udržuje vysoký výkon za cenu poškození vodivých pletiv, nemusí po rehydrataci regenerovat lépe než genotyp s konzervativnější strategií. Pro selekci je proto vhodné rozlišovat rezistenci během stresu a rezilienci, tedy rychlost a úplnost návratu funkce po stresu.

Hodnocení recovery fáze by mělo kombinovat kořenové a nadzemní parametry. Vedle délky, hloubky a životnosti kořenů lze sledovat relativní obsah vody, vodní potenciál, stomatální vodivost, transpirační rychlost, fotosyntézu, chlorofylovou fluorescenci, obsah prolinu a markerů oxidativního poškození. Takový přístup umožňuje propojit strukturální adaptaci kořenů s funkčním výsledkem na úrovni celé rostliny a je vhodný zejména pro experimenty s opakovanými cykly sucho–rehydratace.

RHIZOSFÉRA, MIKROBIOM A MYKORHIZA

Kořenová stresová odpověď probíhá v těsném spojení s rhizosférou. Kořenové exudáty obsahující cukry, organické kyseliny, aminokyseliny, fenolické látky a další metabolity mění chemické vlastnosti bezprostředního okolí kořene a současně selektují mikrobiální společenstvo. Stres může měnit množství i složení exudátů, a tím nepřímou ovlivňovat dostupnost živin, agregaci půdy a interakce s bakteriemi a houbami. Současné pojetí proto chápe odolnost rostliny jako vlastnost systému rostlina–kořen–rhizosféra–mikrobiom, nikoli izolovaného genotypu.

Arbuskulární mykorhizní houby (AMF) rozšiřují prostřednictvím extraradikálních hyf efektivní absorpční prostor kořene a mohou podporovat příjem fosforu, dusíku a vody. Jejich účinek za sucha je komplexní: zahrnuje změny vodního stavu, osmotické regulace, antioxidační ochrany, hormonální signalizace a fotosyntézy. Recentní přehled /3/ shrnuje tyto mechanismy napříč modelovými i zemědělskými druhy; globální meta-analýza rovněž ukazuje, že účinek AMF na biomasu a dostupnost živin za sucha závisí na půdním pH, hostitelském druhu a živinovém režimu /15/.

Podobně mohou prospěšné rhizosférické bakterie (PGPR) zvyšovat toleranci k suchu prostřednictvím tvorby fytohormonů, modulace ethylenu, exopolysacharidů, těkavých organických látek a stimulace růstu kořenů. Přehled zdůrazňuje, že inokulace tolerantními PGPR může zlepšovat elongaci kořenů i fyziologickou stabilitu rostlin za sucha /16/. Praktická účinnost mikrobiálních inokulantů však závisí na půdním prostředí, kompatibilitě hostitele a schopnosti inokulovaného kmene etablovat se v konkurenci původního mikrobiomu. Proto je vhodné laboratorní a nádobové výsledky vždy ověřovat v půdních a polních podmínkách.

MINERÁLNÍ VÝŽIVA V PODMÍNKÁCH STRESU

Dostupnost živin je v půdě prostorově heterogenní a kořenový systém na tuto heterogenitu reaguje změnou transportní aktivity i růstu. U dusíku se uplatňuje lokální regulace transportérů pro nitrát a amonné ionty a změny laterálního větvení; u fosforu jsou významné kořenové vlásky, jemné kořeny, exudace organických kyselin a mykorhizní symbióza. Stres suchem však současně omezuje difuzi živin v půdě a jejich transport k povrchu kořene. Nedostatek vody se tak často sekundárně projevuje i jako porucha minerální výživy.

Vztah mezi výživou a kořenovou architekturou je obousměrný. Dostupnost N a P ovlivňuje tvorbu laterálních kořenů a kořenových vlásků, zatímco architektura určuje, jak velký objem půdy může rostlina prozkoumat. Novější syntézy zdůrazňují, že při suchu nelze optimalizovat příjem vody odděleně od příjmu živin, protože stejné kořenové znaky mohou mít pro jednotlivé zdroje rozdílné důsledky. Hlubší kořenový systém může být výhodný pro

vodu a nitrát, zatímco intenzivní proliferace jemných kořenů v povrchové vrstvě může být významná pro málo pohyblivý fosfor /8/.

ZAPLAVENÍ, HYPOXIE A ANOXIE

Zaplavení půdy výrazně omezuje difuzi plynů a vede k poklesu koncentrace kyslíku v rhizosféře. Nedostatek O₂ omezuje aerobní respiraci, tvorbu ATP a energeticky náročný iontový transport. Rostlina přechází ve větší míře na fermentativní metabolismus, který má podstatně nižší energetický výtěžek. Důsledkem může být omezení růstu kořenů, snížení příjmu minerálních látek, změna hydraulické vodivosti a následné poruchy vodního režimu nadzemních orgánů /13/.

Klíčovou anatomickou adaptací je tvorba aerenchymu, který vytváří vzdušné prostory a usnadňuje vnitřní transport kyslíku ke kořenovým špičkám. U tolerantních druhů může být doplněn bariérou proti radiálním ztrátám kyslíku. Významná je také tvorba adventivních kořenů v blízkosti povrchu, kde je dostupnost kyslíku vyšší. Ethylen se v zaplavených pletivech snadno akumuluje a společně s auxinem se podílí na indukci adventivních kořenů a dalších morfologických změn. Tvorba aerenchymu je tedy příkladem znaku, který může být výhodný jak při hypoxii, tak v některých situacích při suchu, avšak z odlišných funkčních důvodů.

ZASOLENÍ, TOXICKÉ PRVKY A MECHANICKÝ STRES

Salinitní stres má rychlou osmotickou a pozdější iontovou složku. Snížení vodního potenciálu omezuje příjem vody, zatímco akumulace Na⁺ a Cl⁻ narušuje iontovou homeostázu, enzymové procesy a redoxní rovnováhu. Kořeny reagují změnou elongace, větvení, transportu iontů a tvorbou bariér omezujících nekontrolovaný apoplastický tok. Směrová reakce kořenů na gradient soli – halotropismus – může vést k vyhýbání se vysoce zasoleným místům. Mechanisticky je spojována zejména s asymetrickou distribucí auxinu a regulací transportérů PIN; do odpovědi vstupují také ABA, ROS a Ca²⁺ signalizace /12/.

Toxické kovy a metaloidy zasahují kořen jako první orgán kontaktu s kontaminovaným substrátem. Ve vyšších koncentracích inhibují buněčné dělení a elongaci, poškozují membrány, mění redoxní homeostázu a mohou narušovat příjem esenciálních prvků. Významnou obrannou linií je vazba kovů v buněčné stěně, chelatace organickými ligandy a jejich sekvestrace do vakuol. Z pohledu environmentální fyziologie je důležité rozlišovat toleranci založenou na vyloučení toxického prvku z citlivých pletiv a toleranci založenou na jeho detoxikaci po vstupu do buněk.

Mechanický odpor ztuhlé půdy omezuje elongaci kořenů a mění jejich průměr, větvení a trajektorii růstu. Výsledná reakce je ovlivněna vlhkostí půdy, protože suchá a ztuhlá půda kombinuje hydraulický a mechanický stres. Pro praktické hodnocení kořenových fenotypů je proto nezbytné znát objemovou hmotnost, penetrační odpor a vodní stav půdy; bez těchto údajů lze rozdíly v hloubce zakořenění mezi genotypy snadno interpretovat nesprávně.

KOŘENOVÉ ZNAKY JAKO CÍL FENOTYPOVÁNÍ A ŠLECHTĚNÍ

Kořenová architektura představuje perspektivní cíl šlechtění plodin pro podmínky klimatické změny. Mezi sledované znaky patří hloubka zakořenění, úhel kořenů, počet axiálních kořenů, intenzita laterálního větvení, délka a hustota kořenových vlásků, specifická délka kořenů, průměr kořenů a anatomické znaky ovlivňující metabolické náklady a hydrauliku. U plodin se pozornost soustřeďuje také na QTL a geny regulující úhel růstu, gravitropismus a plasticitu RSA /7,17/.

Hlavním metodickým problémem zůstává fenotypování kořenů v půdě. Tradiční výkopové metody, monolity, půdní vrty a root washing poskytují cenné údaje, ale jsou pracné a často destruktivní. Rhizotrony a minirhizotrony umožňují časové sledování části kořenového systému; zobrazovací techniky, jako rentgenová počítačová tomografie a magnetická

rezonance, mohou v experimentálních podmínkách zachytit trojrozměrnou architekturu bez destrukce. Automatická analýza obrazu a metody strojového učení dále zvyšují průchodnost fenotypování, ale jejich výsledky musí být validovány proti biologicky relevantním znakům a polnímu výkonu /6/.

Pro šlechtění je zásadní, že neexistuje univerzálně optimální kořenový fenotyp. Hluboké kořeny jsou výhodné tam, kde je dostupná voda v hlubších horizontech, zatímco při krátkodobých srážkách může být důležitá rychlá proliferace jemných kořenů v povrchové vrstvě. Vysoká hustota kořenů může zvýšit příjem zdrojů, ale také respirační náklady. Výběr znaků proto musí vycházet z cílového produkčního prostředí a z očekávaného typu stresu. Perspektivní je kombinovat kořenové znaky s fyziologickými ukazateli nadzemní části a se schopností regenerace po stresu, nikoli hodnotit kořenovou morfologii izolovaně.

SYNTÉZA: OD JEDNOTLIVÝCH ZNAKŮ K FUNKČNÍMU IDEOTYPU

Současné poznatky ukazují, že stresová tolerance kořenového systému nevzniká jedním mechanismem. Jde o koordinaci alespoň čtyř úrovní: (i) percepce stresu a hormonální signalizace, (ii) hydraulická a metabolická regulace, (iii) morfologická a anatomická plasticita a (iv) interakce s rhizosférou a mikrobiomem. Stejný znak může mít navíc odlišnou hodnotu v různých prostředích. Aerenchym například snižuje respirační náklady kořenů při suchu, ale při zaplavení především usnadňuje vnitřní transport kyslíku. Hlubší zakořenění může zvýšit využití zásob vody, avšak pouze tehdy, pokud hlubší horizont skutečně vodu obsahuje.

Pro experimentální práci z toho vyplývá potřeba spojovat časový průběh stresu s prostorovým popisem půdního prostředí. U sucha je vhodné rozlišit nástup stresu, jeho maximální intenzitu a fázi rehydratace. U každé fáze lze propojit vodní stav půdy a rostliny s kořenovou architekturou, fyziologií nadzemní části, biochemickými markery a mikrobiálními charakteristikami. Takový design lépe odlišuje znaky spojené s vyhnutím se stresu, tolerancí během stresu a následnou regenerací.

Tabulka 1. Hlavní reakce kořenového systému na vybrané abiotické stresy.

Stres	Primární podnět	Typická kořenová reakce	Funkční význam
Vodní deficit	pokles Ψ_w , hydraulický signál, ABA	změna hloubky a úhlu kořenů; R:S; aerenchym	přístup k vodě, snížení nákladů
Hypoxie / zaplavení	nedostatek O_2 , ethylen	aerenchym, adventivní kořeny	transport O_2 , zachování metabolismu
Salinita	osmotický a iontový stres, ABA/auxin	omezení růstu, halotropismus, bariéry	vyhnutí se soli, iontová homeostáza
Toxické prvky	ROS, iontová toxicita	omezení elongace, chelatace, sekvestrace	detoxikace a omezení transportu
Zhutnění	mechanický odpor	silnější/kratší kořeny, změna trajektorie	průnik půdou, kompromis s náklady

ZÁVĚR

Kořenový systém je aktivním senzorem a regulátorem změn půdního prostředí. Jeho odpověď na stres zahrnuje rychlé fyziologické a hormonální signály i dlouhodobější přestavbu architektury, anatomie a vztahů s mikroorganismy, jak dokládá tab. 1. Při vodním deficitu jsou významné hloubka a úhel zakořenění, počet axiálních kořenů, metabolické náklady kořenových pletiv a hydraulická regulace. Při hypoxii se uplatňuje tvorba aerenchymu a adventivních kořenů; při salinitě iontová homeostáza a směrové růstové reakce. Rhizosféra a mykorhizní či bakteriální symbionti mohou tyto reakce dále modifikovat.

Pro budoucí výzkum a šlechtění je proto vhodné hodnotit kořen nikoli jako soubor izolovaných morfologických znaků, ale jako dynamický funkční systém propojující architekturu, anatomii, hydrauliku, metabolismus a mikrobiální interakce. Zvláštní význam má schopnost rostlin regenerovat po odeznění stresu. Kombinace kořenového fenotypování, fyziologických a biochemických ukazatelů a charakterizace rhizosféry může přispět k

identifikaci genotypů s vyšší stabilitou produkce v proměnlivých podmínkách středoevropského zemědělství.

LITERATURA

- /1/ Chandrasekaran, M. (2024): The role of arbuscular mycorrhizal fungi in refining plant photosynthesis and water status under drought stress: a meta-analysis. *Plant, Soil and Environment*, 70, 502–508. <https://doi.org/10.17221/27/2024-PSE>
- /2/ Chimungu, J. G., Loades, K. W., Lynch, J. P. (2015): Root anatomical phenes predict root penetration ability and biomechanical properties in maize (*Zea mays*). *Journal of Experimental Botany*, 66, 3151–3162. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv121>
- /3/ Das, S., Sarkar, S. (2024): Arbuscular mycorrhizal fungal contribution towards plant resilience to drought conditions. *Frontiers in Fungal Biology*, 5, 1355999. <https://doi.org/10.3389/ffunb.2024.1355999>
- /4/ Dietrich, D. (2018): Hydrotropism: how roots search for water. *Journal of Experimental Botany*, 69, 2759–2771.
- /5/ Gusain, S., Kumari, K., Joshi, R. (2024): Physiological, hormonal and molecular dynamics of root system architectural response to drought stress signaling in crops. *Rhizosphere*, 31, 100922. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2024.100922>
- /6/ Kalra, A., Goel, S., Elias, A. A. et al. (2024): Understanding role of roots in plant response to drought: Way forward to climate-resilient crops. *The Plant Genome*, 17, e20395. <https://doi.org/10.1002/tpg2.20395>
- /7/ Kou, X., Han, W., Kang, J. (2022): Responses of root system architecture to water stress at multiple levels: A meta-analysis of trials under controlled conditions. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1085409. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1085409>
- /8/ Lynch, J. P. (2013): Steep, cheap and deep: an ideotype to optimize water and N acquisition by maize root systems. *Annals of Botany*, 112, 347–357. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs293>
- /9/ Lynch, J. P. (2015): Root phenes that reduce the metabolic costs of soil exploration: opportunities for 21st century agriculture. *Plant, Cell & Environment*, 38, 1775–1784. <https://doi.org/10.1111/pce.12451>
- /10/ Lynch, J. P. (2022): Harnessing root architecture to address global challenges. *The Plant Journal*, 109, 415–431. <https://doi.org/10.1111/tbj.15560>
- /11/ Ranjan, A., Sinha, R., Singla-Pareek, S. L., Pareek, A., Singh, A. K. (2022): Shaping the root system architecture in plants for adaptation to drought stress. *Physiologia Plantarum*, 174, e13651. <https://doi.org/10.1111/ppl.13651>
- /12/ Qu, M. et al. (2026): Plant halotropism: mechanisms, signaling networks, and adaptive significance. *Journal of Experimental Botany*, advance article, erag454. <https://doi.org/10.1093/jxb/erag454>
- /13/ Sauter, M. (2013): Root responses to flooding. *Current Opinion in Plant Biology*, 16, 282–286. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2013.03.013>
- /14/ Sun, Y., Robert, C. A. M., Thakur, M. P. (2024): Drought intensity and duration effects on morphological root traits vary across trait type and plant functional groups: a meta-analysis. *BMC Ecology and Evolution*, 24, 92. <https://doi.org/10.1186/s12862-024-02275-6>
- /15/ Zaman, F., Hassan, M. U., Khattak, W. A., Ahmad, A., Awad, M. F., Chen, F.-S. (2024): The pivotal role of arbuscular mycorrhizal fungi in enhancing plant biomass and nutrient availability under drought stress conditions: A global meta-analysis. *Science of the Total Environment*, 955, 176960. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.176960>
- /16/ El-Saadony, M. T. et al. (2024): Drought-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria alleviate drought stress and enhance soil health for sustainable agriculture: A comprehensive review. *Plant Stress*, 14, 100632. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2024.100632>
- /17/ Zhang, Y., Wu, X., Wang, X., Dai, M., Peng, Y. (2025): Crop root system architecture in drought response. *Journal of Genetics and Genomics*, 52, 4–13. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2024.05.001>

DECIPHERING THE HIDDEN POTENTIAL OF *CANNABIS SATIVA* L. ROOTS

ODHALENÍ SKRYTÉHO POTENCIÁLU KOŘENŮ *CANNABIS SATIVA* L.

Marta Libik-Konieczny¹, Paulina Supel², Wiktoria Dominik³, Kamil Zieliński¹, Maria Pilarska¹, Ewa Niewiadomska¹, Monika Tuleja⁴, Mateusz Bibro¹, Natalia Hordyńska-Tomsia¹, Zofia Mazur¹, Aneta Gerszberg⁵, Katarzyna Hnatuszko-Konka⁵, Jakub Kurczab^{1,6}, Piotr Waligórski¹, Paweł A. Rodziewicz¹

¹ The Franciszek Górski Institute of Plant Physiology, Polish Academy of Sciences, Kraków, Poland

² Department of Plant Biology and Biotechnology, Faculty of Biotechnology and Horticulture, University of Agriculture in Kraków, Poland

³ Faculty of Biotechnology and Horticulture, University of Agriculture in Kraków, Poland

⁴ Department of Plant Cytology and Embryology, Institute of Botany, Faculty of Biology, Jagiellonian University in Kraków, Poland

⁵ Department of Molecular Biotechnology and Genetics, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Łódź, Poland

⁶ Bonin Research Center, Plant Breeding and Acclimatization Institute, National Research Institute, Poland

Summary

The root system represents a complex and highly dynamic component of plant biology. It serves as a key regulatory interface between plant development, environmental adaptation, metabolic activity, and interactions with associated microorganisms. Although *Cannabis sativa* L. has attracted considerable attention due to the valuable compounds produced in its aerial tissues, the biological functions and biotechnological potential of its belowground organs remain largely unexplored.

Our research focuses on unravelling the functional complexity of *C. sativa* L. roots by investigating root architecture, anatomy, development, metabolic activity, and interactions with associated microorganisms. Root morphological and anatomical traits are studied to understand genotype-dependent variation in root system development, including differences in rooting capacity, adventitious root formation, and responses to culture conditions.

To investigate root functional and developmental plasticity, different in vitro systems are established, including adventitious root cultures and stable hairy root cultures generated through *Rhizobium rhizogenes* transformation. These platforms enable studies of root growth regulation, metabolic activity, and the biosynthesis of biologically active compounds. In parallel, callus cultures are developed as experimental models for investigating cellular plasticity, regeneration capacity, and metabolic flexibility under different autotrophic and heterotrophic in vitro growth conditions.

Another research direction focuses on the regulation of *C. sativa* L. metabolism through elicitor-mediated plant responses. Root-applied elicitors are investigated using hydroponically cultivated plants to evaluate induction of different defence pathways. Particular attention is given to the modulation of primary and secondary metabolism, and regulation of bioactive

compounds production in different *C. sativa* L. varieties.

The ecological role of *C. sativa* L. roots is further examined through studies of rhizosphere interactions and plant-associated microorganisms. Endophytic bacterial strains exhibiting plant growth-promoting (PGP) traits are isolated and characterized, providing a basis for the development of synthetic microbial consortia (SynComs) with potential applications as biostimulants in agricultural and biotechnological systems.

By integrating root biology, plant biotechnology, microbiology, and metabolic research, our approaches aim to reveal the multifunctional role of *Cannabis sativa* L. roots as regulators of plant adaptation, sources of bioactive compounds, and promising platforms for sustainable agricultural and biotechnological applications.

Key words: root system; Cannabis sativa, PGP; morphological and anatomical traits

Souhrn

Kořenový systém představuje komplexní a vysoce dynamickou součást biologie rostlin. Funguje jako klíčové regulační rozhraní propojující vývoj rostlin, adaptaci na podmínky prostředí, metabolickou aktivitu a interakce s asociovanými mikroorganismy. Přestože *Cannabis sativa* L. přitahuje značnou pozornost díky cenným látkám produkováným v nadzemních orgánech, biologické funkce a biotechnologický potenciál jeho podzemních orgánů zůstávají dosud poměrně málo prozkoumány.

Náš výzkum se zaměřuje na objasnění funkční komplexity kořenů *C. sativa* L. prostřednictvím studia architektury kořenového systému, anatomie, vývoje, metabolické aktivity a interakcí s asociovanými mikroorganismy. Morfologické a anatomické vlastnosti kořenů jsou studovány s cílem charakterizovat genotypově podmíněnou variabilitu ve vývoji kořenového systému, včetně rozdílů ve schopnosti zakořeňování, tvorbě adventivních kořenů a reakcích na kultivační podmínky.

Pro studium funkční a vývojové plasticity kořenového systému jsou vytvářeny různé in vitro systémy, včetně kultur adventivních kořenů a stabilních kultur transformovaných kořenů (hairy roots) získaných transformací pomocí *Rhizobium rhizogenes*. Tyto systémy umožňují studovat regulaci růstu kořenů, jejich metabolickou aktivitu a biosyntézu biologicky aktivních látek. Paralelně jsou zakládány kalusové kultury jako experimentální modely pro studium buněčné plasticity, regenerační schopnosti a metabolické flexibility v různých autotrofních a heterotrofních podmínkách kultivace in vitro.

Další směr výzkumu je zaměřen na regulaci metabolismu *C. sativa* L. prostřednictvím reakcí rostlin indukovaných elicitory. U hydroponicky pěstovaných rostlin je studována aplikace elicitorů prostřednictvím kořenového systému s cílem vyhodnotit aktivaci různých obranných drah. Zvláštní pozornost je věnována modulaci primárního a sekundárního metabolismu a regulaci produkce biologicky aktivních látek u různých odrůd *C. sativa* L.

Ekologická úloha kořenů *C. sativa* L. je dále studována prostřednictvím interakcí v rhizosféře a vztahů rostlin s asociovanými mikroorganismy. Jsou izolovány a charakterizovány endofytické bakteriální kmeny vykazující vlastnosti podporující růst rostlin (plant growth-promoting, PGP). Ty představují základ pro vývoj syntetických mikrobiálních společenstev (synthetic microbial communities, SynComs) s potenciálním využitím jako biostimulanty v zemědělských a biotechnologických systémech.

Propojením biologie kořenového systému, rostlinných biotechnologií, mikrobiologie a

výzkumu metabolismu se naše přístupy zaměřují na objasnění multifunkční úlohy kořenů *Cannabis sativa* L. jako regulátorů adaptace rostlin, zdroje biologicky aktivních látek a perspektivní platformy pro udržitelné zemědělské a biotechnologické aplikace.

Klíčová slova: kořenový systém; PGR; Cannabis sativa; morfologické a anatomické znaky

Acknowledgements

This work was supported by National Science Centre OPUS 25 Grant [2023/49/B/NZ1/02898] (Poland).

PREHLAD METÓD POUŽÍVANÝCH NA PRELOMENIE DORMANCIE DRIEŇA OBYČAJNÉHO (*CORNUS MAS L.*)

METHODS FOR BREAKING SEED DORMANCY IN CORNELIAN CHERRY (*CORNUS MAS L.*): A REVIEW

Hubert Žarnovičan, Jarmila Bokešová, Mustafa Ghulam, Božena Šerá
Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Mlynská dolina,
Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, Slovensko, hubert.zarnovican@uniba.sk

Summary

Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) is a shrub or small tree whose generative reproduction is accompanied by deep seed dormancy. Studying methods for breaking this dormancy is important for promoting the natural regeneration of its populations as well as for horticultural production. This paper provides an overview of the methods used to break seed dormancy in *C. mas*. Among the most commonly applied and effective methods are the application of different temperature regimes during stratification and the use of phytohormones. Seed germination can be significantly influenced by the timing of sowing.

Key words: shrubs, generative reproduction, pre-sowing treatment, stratification, seed germination

Súhrn

Drieň obyčajný (*Cornus mas* L.) je ker alebo nižší strom, ktorého generatívne rozmnožovanie je sprevádzané hlbokou dormanciou semien. Štúdium jej prelomenia je významné z hľadiska podpory prirodzenej generatívnej obnovy jeho populácií, ako aj pre ovocinársku prax. V príspevku uvádzame prehľad metód používaných na prelomenie dormancie semien *C. mas*. Medzi najčastejšie používané a zároveň najúčinnnejšie metódy patrí aplikácia rôznych teplotných režimov stratifikácie a fytohormónov. Klíčivosť semien môže byť významne ovplyvnená aj termínom ich výsevu.

Kľúčové slová: kry, generatívne rozmnožovanie, predsejbová príprava, stratifikácia, klíčivosť

ÚVOD

Kry sú dôležitou zložkou krajinej vegetácie, v ktorej plnia ekologické, produkčné a krajinné funkcie. K najvýznamnejším z nich patria podpora biodiverzity, poskytovanie potravných zdrojov a úkrytových možností pre živočíchy, tvorba plôšok a líniových prvkov, ktoré zvyšujú ekologickú konektivitu krajiny /16/. Z lesohospodárskeho hľadiska majú význam napr. ako krycie a výchovné dreviny a ako pionierske dreviny pri zalesňovaní degradovaných pôd /10/. Ich porasty sú ohrozené ruderalizáciou a eutrofizáciou, nevhodnými hospodárskymi zásahmi, ako aj nedostatočnou generatívnou obnovou krov, ktorá je kľúčová pre ich zachovanie v krajine.

K typickým krom teplomilných krovinových a lesných porastov na prirodzených stanovištiach s presychavými pôdami na karbonátovom alebo vyvrelinovom podloží patrí drieň obyčajný (*Cornus mas* L.) z čeľade *Cornaceae*. Ide o ker alebo nižší strom, ktorého kvety už v skorom jarnom období poskytujú peľ a nektár opel'ovačom a svojou žltou farbou vtlačajú porastom typický farebný aspekt. V letnom období sú jeho červené kôstkovice zdrojom potravy pre vtáky a iné živočíchy. Vďaka plodom vhodným na priamu konzumáciu a aj na spracovanie sú rozmanité odrody drieňa pestované v záhradách. Ide tiež o tradičnú liečivú rastlinu, ktorej plody sú bohaté na vitamín C a bioaktívne látky s antioxidačnou a antidiabetickou aktivitou /1, 3, 7, 14/. Pestované odrody sa vyznačujú okrem kvality a

kvantity plodov aj mrazuvzdornosťou, odolnosťou voči chorobám a suchu (www.domovstromov.sk). Schopnosť znášať rez, fruktifikovať aj na dreve staršom ako desať rokov a spomínaná odolnosť voči suchu zvýhodňuje pestovanie a aj propagáciu drieňa v krajine v porovnaní s inými ovocnými drevinami, obzvlášť v súvislosti s aktuálnymi prejavmi zmeny klímy.

Drieň sa rozmnožuje vegetatívne aj generatívne. Výhodou vegetatívneho rozmnožovania je dopestovanie jedincov s požadovanými vlastnosťami a rýchlejší nástup obdobia plodnosti. Generatívne rozmnožovanie drieňa sa v ovocinárskej praxi používa predovšetkým na dopestovanie kvalitných podpníkov, určených na očkovanie alebo vrúbľovanie /12, Vaš in verb/. Preto pri výbere spôsobu jeho rozmnožovania je potrebné brať na zreteľ účel produkcie sadbového materiálu.

Drieň patrí medzi ovocné dreviny s výrazne komplikovaným generatívnym rozmnožovaním. Jeho semená sú známe dlhým obdobím dormancie, ktorá trvá 15 až 17 mesiacov /9, 12/. Jej dôvody nie sú v literatúre jednotne klasifikované. Tylkowski /15/ ju označuje ako fyziologickú, ale zmieňuje sa aj o vysokej mechanickej odolnosti osemenia. Řezníček /11/ ju charakterizuje ako dvojitú dormanciu – mechanickú a fyziologickú, Moghimifam a Haghighi /5/ považujú dormanciu drieňa len za fyziologickú. Svoj prístup zdôvodňujú prítomnosťou inhibičných látok v endosperme semien, na čo poukazujú vo svojej práci už Nikolaeva a Poljakova /6/. Moghimifam a Haghighi /5/ sa odvolávajú aj na prácu Falleri /2/, ktorý študoval dormanciu semien *Cornus sanguinea*. Podľa Falleri /2/ by mechanická dormancia semien *C. sanguinea* nemala byť považovaná za samostatný typ dormancie, ale skôr za prejav alebo súčasť fyziologickej dormancie. Piotta a Di Noi /8/ označujú dormanciu semien *C. mas* termínom komplexná, teda taká, ktorú nie je možné prekonať bežnými metódami predsejbovej prípravy semien používanými napr. v lesných škôlkach.

Výsledky doteraz realizovaných experimentov odhalili niektoré osobitosti generatívneho rozmnožovania *C. mas* (napr. Moghimifam a Haghighi /5/, Řezníček, /11/, Tylkowski, /15/), ale neposkytli návod na dosiahnutie vyššej klíčivosti jeho semien v kratšom čase. V príspevku podávame prehľad najčastejšie používaných postupov na prelomenie dormancie semien *C. mas* a dosiahnutých výsledkov.

SPRACOVANIE PLODOV A PRÍPRAVA OSIVA

Semená *C. mas* sa získavajú zo zreých plodov, ktoré boli zbavené oplodia a preprané. Pipinis et al. /9/ hneď po zbere odstránili z plodov oplodie, semená očistili pomocou sít a tečúcej vody a vysušili v laboratórnych podmienkach. Pre uľahčenie odstránenia oplodia odporúča Szot /12/ ponechať plody zaliate malým množstvom vody na 2 – 3 týždne, vďaka čomu oplodie zmäkne. Podľa Markovića et al. /4/ je odstránenie oplodia kôstkovíc potrebné, pretože obsahuje látky inhibujúce klíčenie semien. Tylkowski /15/ pri experimentoch použil čerstvé nesusené semená s vyšším obsahom vody (31.4 %) a po zbere sušené, s obsahom vody 14.2 % a 12.6 %. Vysušenie kôstok zvýšilo klíčivosť semien drieňa na 49.5 – 65.5 %. Řezníček /11/ pred experimentom máčal semená 24 hodín vo vode.

METÓDY PRELOMENIA DORMANCIE SEMIEN *CORNUS MAS*

Na prelomenie dormancie semien *C. mas* použil Tylkowski /15/ kombináciu teplej stratifikácie (20; 10 ~ 20; 15 ~ 25; 20 ~ 30 °C) 14, 16, 18 alebo 24 týždňov a studenej stratifikácie (3; 3 ~ 15; 3 ~ 20 °C) 15 – 24 týždňov. Dosiahnuté výsledky sa líšili v závislosti od teplotných podmienok počas teplej fázy. Semená dosiahli najvyššiu klíčivosť (nad 60 %) ak počas teplej fázy boli vystavené striedaniu teplôt 15 ~ 25 alebo 20 ~ 30 °C. Pri striedaní nižších teplôt (10 ~ 20 °C) dosiahli semená len nízku klíčivosť (menej ako 10 %), pri konštantnej teplote (20 °C) vôbec nevyklíčili. Uvedené výsledky naznačujú, že kľúčovým ošetrením pre prelomenie dormancie semien *C. mas* je striedanie teplôt počas teplej fázy, a to najmä 15 ~ 25 alebo 20 ~ 30 °C.

Použitie konštantnej teploty alebo striedanie teplôt počas testu klíčivosti (3, 3 ~ 15, 3 ~ 20 °C) nemalo zásadný vplyv na klíčivosť skúmaných semien, ale ovplyvnilo rýchlosť ich klíčenia. Semená klíčili najrýchlejšie pri striedaní teplôt 3 ~ 20 alebo 3 ~ 15 °C. Podľa Tylkowski /15/ existuje vzájomná závislosť medzi dĺžkou teplej a studenej fázy.

Řezníček /11/ použil tri ošetrenia:

- a) studenú stratifikáciu (teplota 3 – 5 °C),
- b) kombináciu studenej a teplej stratifikácie, pričom najprv aplikoval studenú stratifikáciu pri teplote 3 – 5 °C (6 týždňov) a následne v týždňových intervaloch vystavil semená teplotám 25 a 3 °C (4 týždne).
- c) máčanie semien driňa 24 hodín v roztoku auxinoidov (IAA, NAA) a kyseline nikotínovej.

Výsev stratifikovaných semien z variantov a a b do pôdy sa uskutočnil na jar, výsev semien ošetrených rastovými stimulátormi sa uskutočnil hneď po ošetrení – v jeseň.

Semená podrobené len studenej stratifikácii v prvom roku nevyklíčili. Semená ošetrené kombináciou studenej a teplej stratifikácie vyklíčili už v prvom roku, ale dosiahli len nižšiu klíčivosť (max 14.13 %), podobne aj semená ošetrené rastovými stimulátormi (max. 13.26 %). V druhom roku od výsevu vyklíčili semená zo všetkých troch ošetrení, pričom najvyššiu klíčivosť dosiahli semená ošetrené len studenou stratifikáciou (73.6 %) /11/.

Moghimi a Haghighi /5/ použili na stimuláciu klíčenia semien kyselinu gibberelovú v koncentráciách 0, 200 a 400 ppm a studenú stratifikáciu pri 4 °C (0, 45 a 90 dní). Najvyššie hodnoty klíčivosti dosiahli pri ošetrení semien kyselinou gibberelovou s koncentráciou 200 ppm (do 85 %), pri studenej stratifikácii (57.5 – 60 %). Detailné podmienky experimentu ale autori neuvádzajú.

Aj v ďalších publikáciách prevládajú odporúčania na použitie kombinácie teplej a studenej stratifikácie semien *C. mas*. Šmelková /13/ odporúča tri spôsoby predsejbovej prípravy v zmesi rašeliny a piesku a následný jarný výsev semien:

- a) 40 týždňov pri teplote 3 – 5 °C, potom 8 – 12 týždňov pri teplote 20 – 30 °C a nakoniec 4 týždne pri teplote 4 – 5 °C.
- b) 16 týždňov pri teplote 20 °C, potom 4 – 6 týždňov pri teplote 4 – 5 °C.
- c) 125 dní pri striedavej teplote 15 ~ 20 °C (striedanie po 24 hodinách), následne 125 dní pri teplote 3 °C.

Dlhú predsejbovú prípravu možno podľa autorky nahradiť maceráciou v kyseline sírovej.

Szot /12/ odporúča stratifikáciu s dlhou teplou fázou (18 týždňov) pri cyklicky sa meniacich teplotách 15 ~ 25 °C (striedanie po 24 hodinách), v kombinácii s následnou studenou fázou trvajúcou približne 24 týždňov pri teplote 3 °C.

Pipinis et al. /9/ skúmali vplyv prirodzeného sledu teplotných podmienok na vzchádzanie semenáčikov vybraných druhov drevín s tvrdým osemením rodov *Prunus*, *Celtis* a *Cornus*, vrátane *C. mas* v podmienkach lesnej škôlky. Výsev sa uskutočnil v troch termínoch – v lete po zbere plodov, v jeseň a v zime. Najvyšší podiel vzídených semenáčikov *C. mas* zaznamenali až v druhej jari po výseve, a to z jesenného (72.5 %) a zimného (68.3 %) výsevu, pričom prvú jar z týchto výsevov nevzišiel ani jeden semenáčik. Z letného výsevu vzišlo už v prvej jari 30.8 % a v druhej 35.8 % z celkového počtu vzídených semenáčikov (66.7 %). Klíčivosť semien študovaných taxónov ako odpoveď na zmeny teplotných podmienok bola nielen rodovo, ale aj druhovo špecifická.

Na význam termínu výsevu na klíčenie semien driňa upozorňujú aj ďalšie práce. Podľa Polanského et al. /10/ pre dosiahnutie klíčenia už v prvej jari po výseve je vhodné vysievať aj neúplne vyzreté semená driňa hneď po zbere. Inak prejdú do dormantného stavu a je

potrebné ich stratifikovať. Na vplyv preschnutia semien v pôde počas horúceho a suchého leta na predĺženie obdobia dormancie semien driená upozorňujú aj Řezníček /11/ a Tytkowski /15/.

ZÁVER

Hlboká dormancia semien driená obyčajného si vyžaduje použitie vhodných predsejbových príprav, smerujúcich k skráteniu obdobia dormancie a dosiahnutia vyššej klíčivosti semien. Z uvedeného prehľadu je zrejmé, že k najčastejšie používaným a zároveň najúčinnjším metódam na prelomenie dormancie semien *C. mas* patrí aplikácia rôznych teplotných režimov stratifikácie a fytohormónov. Aj keď časť semien je schopná klíčiť po prekonaní prvého chladného obdobia, vyššie hodnoty klíčivosti dosahuje driená až na jar po dvoch zimných obdobiach. Pri štúdiu dĺžky dormancie semien driená treba brať tiež do úvahy, že jej dĺžku ovplyvňujú aj faktory ako vlastnosti použitých odrôd, proveniencia semien, klimatické podmienky v roku tvorby plodov a po výseve semien do substrátu a termín ich výsevu.

LITERATÚRA

- /1/ Dokoupil, L., Řezníček, V.: Production and use of the Cornelian cherry – *Cornus mas* L. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis, 60(8): 49–58.
- /2/ Falleri, E. 2004: Dormancy breaking in *Cornus sanguinea* seeds. Seed Science and Technology, 32, 2012: 1–4.
- /3/ Hosseinpour-Jaghdani, F., Shomali, T., Gholipour-Shahraki, S., Rahimi-Madiseh, M., Rafieian-Kopaei, M.: *Cornus mas*: a review on traditional uses and pharmacological properties. Journal of Complementary and Integrative Medicine, 14(3), 2017: 20160137.
- /4/ Marković, M., Grbić, M., Djukić, M.: Effects of cutting type and a method of iba application on rooting of softwood cuttings from elite tree of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) from Belgrade area. Silva Balcanica, 15(1), 2014: 30–37.
- /5/ Moghimifam, R., Haghighi, A.R.: Evaluation of dormancy breaking treatments for enhanced germination in *Cotinus coggygia*, *Cornus mas* and *Viburnum lantana* seeds. Seed Science and Technology, 50(3), 2022: 323–328.
- /6/ Nikolaeva, M., Poljakova, E.: Indoleacetic acid and other physiologically active substances in fruit and other plant seeds. Acta Horticulturae, 80, 1978: 177–180.
- /7/ Paun, G., Neagu, E., Albu, C., Alecu, A., Seciu-Grama, A.-M., Radu, G.L.: Antioxidant and Antidiabetic Activity of *Cornus mas* L. and *Crataegus monogyna* Fruit Extracts. Molecules, 29(15), 2024: 3595.
- /8/ Piotto, B., Di Noi, A. eds: Seed Propagation of Mediterranean Trees and Shrubs. Agency for the Protection of the Environment and for Technical Services (APAT), Rome, 2003.
- /9/ Pipinis, E., Milios, E., Mavrokordopoulou, O., Smiris, P.: Effect of sowing date on seedling emergence of species with seeds enclosed in a stony endocarp. Journal of Sustainable Forestry, 37(4), 2018: 375–388.
- /10/ Polanský et al.: Pěstění lesů III. Státní zemědělské nakladatelství Praha, Praha, 1956.
- /11/ Řezníček, V.: Breaking the long dormancy of seeds of the *Cornus mas* L. species. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis, 55(4), 2007: 43–52.
- /12/ Szot, I.: Cornelian cherry (*Cornus mas* L.). Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, Lublin, 2024.
- /13/ Šmelková, E.: Zakladanie lesa. Technická univerzita vo Zvolene, Zvolen, 2009.
- /14/ Tural, S., Koca, I.: Physico-chemical and antioxidant properties of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) grown in Turkey. Scientia Horticulturae, 116, 2008: 362–366.
- /15/ Tytkowski, T.: Thermal conditions for the after-ripening and germination of Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) seeds. Arboretum Kórnickie, 36, 1991: 165–172.
- /16/ Valachovič, M., Kliment, J., Hegedúšová Vantarová, K. eds: Rastlinné spoločenstvá Slovenska. 6. Vegetácia lesov a krovín. Veda, Bratislava, 2021.

Podakovanie

Tento príspevok vznikol s finančnou podporou grantu Vega č. 1/0255/23. Naša vďaka patrí aj Ing. Ľudovítovi Vaššovi za odborné poradenstvo.

MICROPLASTICS AS CONTAMINANTS OF PLANTS

MIKROPLASTY AKO KONTAMINANTY RASTLÍN

Martin Ševcov, Danica Kučerová

Department of Glycobiotechnology, Institute of Chemistry of the Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 5807/9, 845 38 Bratislava, Slovakia; martin.sevcov@savba.sk

Summary

In recent years, microplastics (MPs) have become environmental contaminants due to the increasing production and degradation of plastic materials. Their accumulation in agricultural soils has contributed to overall plant exposure and transfer of MPs through the food chain and environment. Recent studies have demonstrated that MPs can be taken up by plants, affecting growth, photosynthesis, and oxidative status. Furthermore, MPs can act as carriers of heavy metals and organic pollutants, enhancing their toxic effects. This review shortly summarizes current knowledge of MPs and their properties as well as their physiological effects on plants.

Keywords: agricultural soil, microplastics, oxidative stress, phytotoxicity, plant uptake, terrestrial ecosystemswork,

Súhrn

V posledných rokoch sa mikroplasty stali významnými environmentálnymi kontaminantmi v dôsledku narastajúcej produkcie a degradácie plastových materiálov. Ich akumulácia v poľnohospodárskych pôdach zvyšuje expozíciu rastlín a prispieva k prenosu mikroplastov prostredím a potravinovým reťazcom. Súčasné štúdie preukázali, že rastliny sú schopné prijímať mikroplasty, pričom ich prítomnosť môže ovplyvniť rast, fotosyntézu a oxidačný stav. Mikroplasty môžu zároveň pôsobiť ako nosiče ťažkých kovov a organických polutantov, čím zosilňujú ich toxické účinky. Tento príspevok stručne sumarizuje súčasné poznatky o zdrojoch a vlastnostiach mikroplastov, ako aj o ich fyziologických účinkoch na rastliny.

Kľúčové slová: fytotoxicita, mikroplasty, oxidačný stres, poľnohospodárska pôda, príjem rastlinami, suchozemské ekosystémy

INTRODUCTION

Plastic production has increased over the past decades, making plastics an unavoidable part of modern society. Extensive use and improper disposal of plastic materials have resulted in the widespread accumulation of plastic waste in the environment /1/. Primary microplastics are manufactured at a microscopic size for specific applications, such as cosmetic microbeads, synthetic textile fibers, and virgin resin pellets used in plastic production. Secondary microplastics originate from plastic waste released into the environment that does not remain in its original form but undergoes continuous degradation over time. Through physical, chemical, and biological degradation, larger plastic debris gradually fragments into MPs, commonly defined as plastic particles or fibers smaller than 5 mm /2,3/.

While early research on MPs concentrated on marine environments, studies addressing their effects on terrestrial plants remain comparatively limited. However, recent studies have shown that terrestrial environments, particularly agricultural soils, represent the largest reservoirs of MPs. Agricultural practices such as sewage sludge application, mulching film use, compost additions, and wastewater irrigation are considered major sources of MPs in agricultural soils /4,5/. Microplastics may affect plants and their effects depend on specific particle/fiber characteristics, such as size, chemical composition, age, and shape, as well as

plant species /6/. They may alter plant growth, photosynthesis, and nutrient uptake, while inducing oxidative stress and cytological damage /7,8/.

CHARACTERISTICS OF MICROPLASTICS

The physical and chemical characteristics of MPs affect their environmental behavior and biological effects. The most important characteristics are **size, shape, chemical composition, and age**.

Shape — Microplastics occur mainly as fibers, fragments, films, foams, and pellets. In agricultural and industrial soils, fibers and fragments represent the dominant shapes, followed by films /9,10/. The fiber shape primarily originates from sewage sludge and compost, while films are associated with mulching residues /11/. Particle shape influences their transport, surface interactions, and potential uptake by plants /12/.

Size — Microplastics are commonly considered as plastic particles up to to 5 mm in size, with smaller particles (typically defined as submicrometre-sized) known as **nanoplastics (NP)** /13/.

Chemical composition (polymer composition) — The most frequently detected polymers in agricultural environments are polyethylene (PE), polypropylene (PP), polystyrene (PS), polyethylene terephthalate (PET), and polyvinyl chloride (PVC). Different polymers exhibit distinct densities, surface chemistry, degradation rates, and capacities to adsorb environmental contaminants such as heavy metals and pesticides, which influence their phytotoxicity /12/.

Aging (weathering) — Microplastics in soil are exposed to certain conditions that modify their physicochemical properties. Exposure to UV, temperature fluctuations, oxidation, and microbial activity increases surface roughness and the abundance of oxygen-containing functional groups, enhancing the adsorption of heavy metals and organic pollutants, as well as interactions with soil microorganisms and plant roots /12/.

UPTAKE AND TRANSPORT OF MICROPLASTICS IN PLANTS

Microplastics and nanoplastics can enter plant tissues through both root and foliar pathways. How MP and NP enter the plant organism is strongly influenced by particle properties, particularly their size and surface characteristics. At the root level, the crack-entry mode — penetration through cracks formed at sites of lateral root emergence — has been identified as a major pathway allowing particles up to 2 μm to reach the vascular system /13/.

Roots may also take up particles via apoplastic transport (through cell walls and intercellular spaces) and the smallest particles via symplastic transport across the plasma membrane /16/. Particle size acts as a filter at this stage: while small nanoplastics can cross the root endodermis and enter the xylem, being transported towards stems and leaves via the transpiration stream, larger particles are excluded from the vascular system and tend to accumulate at the root surface or in the outer cortex.

Foliar uptake represents the second entry route. Airborne MPs and NPs can deposit on leaf surfaces and enter mostly through stomatal openings or an entry point created by a damaged leaf surface. However, this is mostly relevant to the smallest particles, such as NPs, whereas larger particles have a tendency to accumulate on the epidermis /16/.

Smaller particles generally show a greater capacity to overcome biological barriers and undergo long-distance transport, whereas larger MPs tend to accumulate predominantly on root surfaces or within root tissues. MPs that accumulate on and around root and leaf surfaces also influence plant physiology.

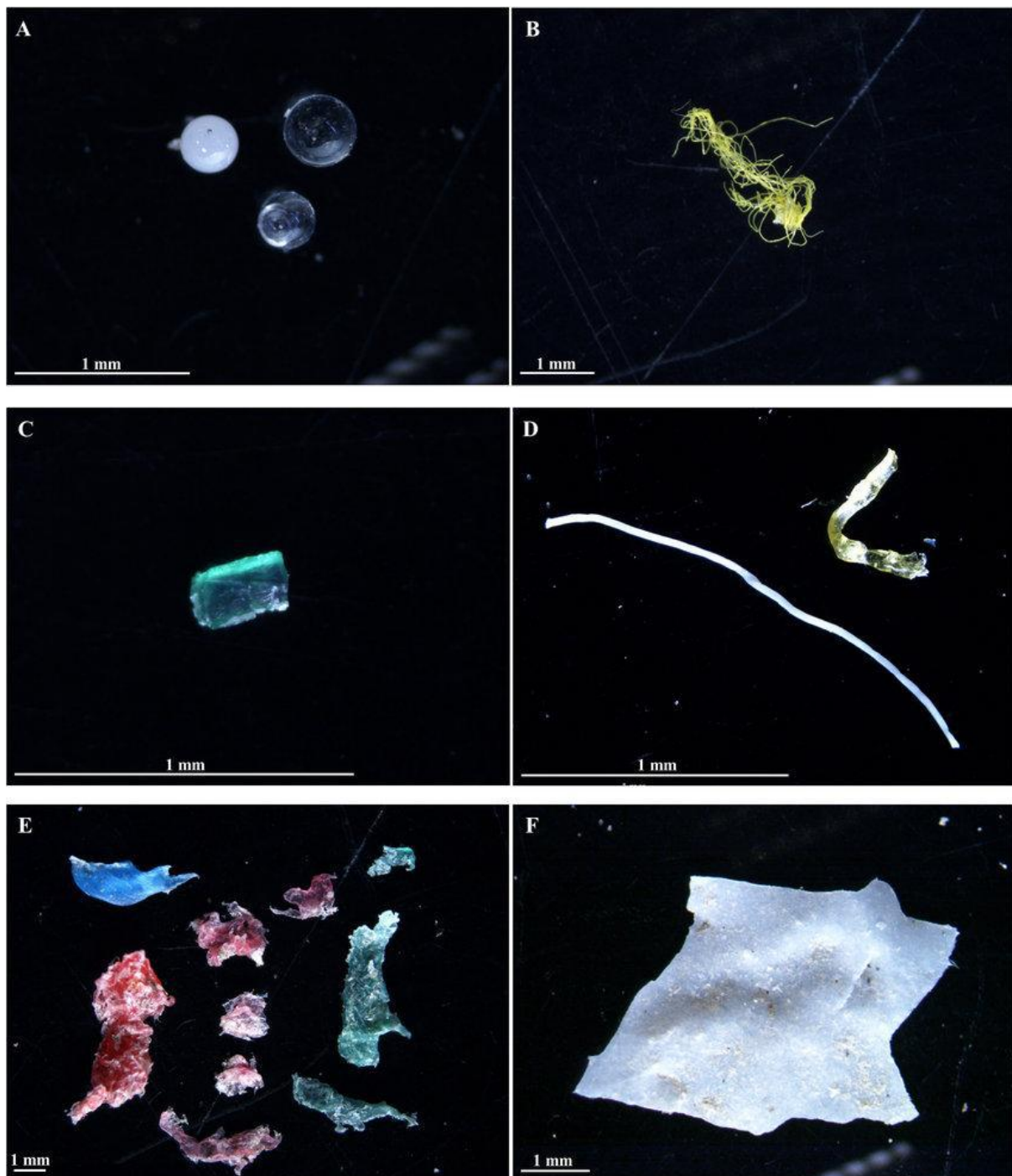


Fig. 1: The different shapes of microplastic: A) Transparent spheres, B) Fibers, C) Angular fragment, D) Elongated fragments, E) Irregular particles, F) Films. Microplastic particles inspected under a Byomic light microscope (taken from /14/).

PHYSIOLOGICAL EFFECTS OF MICROPLASTICS ON PLANTS

The effects of MPs on plants depend on several factors, including the aforementioned particle size, polymer type, concentration, exposure duration, and plant species. Although responses vary considerably among experimental systems, MP exposure is generally associated with alterations in plant growth, photosynthesis, and nutrient content /17/.

Microplastic contamination also causes disturbances in metabolism through a state of oxidative stress, which is the excessive generation of reactive oxygen species (ROS), including hydrogen peroxide (H_2O_2), which leads to lipid peroxidation and membrane damage

/15/. Plants counteract ROS accumulation through an enzymatic antioxidant defense system involving enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), and peroxidases (POD) /17/.

Photosynthesis is one of the physiological processes most consistently affected. MP contamination reduces chlorophyll content through interference with chlorophyll biosynthesis, structural damage of photosystem II reaction centers, disrupted electron transport, and altered stomatal conductance and gas exchange, resulting in decreased photosynthetic activity, which limits plant growth and biomass production /18/.

At the whole-plant level, these physiological disturbances translate into reduced germination rates, inhibited root and shoot elongation, and lower overall biomass. Contributing factors to MP contamination include physical blockage of seed pores and root surfaces, which leads to impaired nutrient and water uptake. MPs have the ability to influence soil structure, altering its porosity, which also affects nutrient and water uptake. /18,8/.

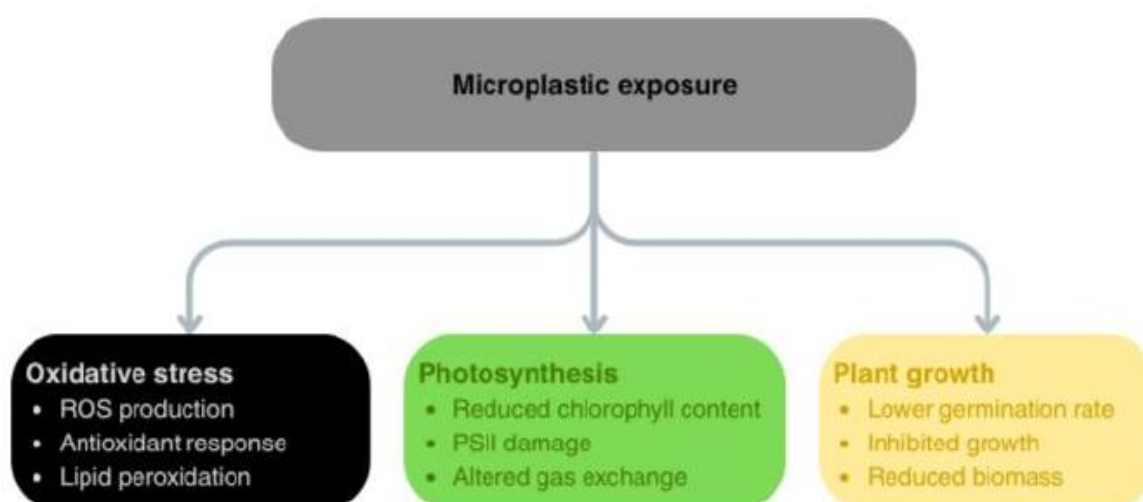


Fig. 2: Main physiological effects of microplastic exposure on plants: oxidative stress, disrupted photosynthesis, and impaired plant growth.

CONCLUSION

Nowadays, MPs are widespread and persistent contaminants of terrestrial environments, with agricultural soils being very important reservoirs. Their sources and physicochemical properties, particularly particle size, shape, polymer composition, and aging, influence their environmental behavior and interactions with plants. Current studies show that small micro- and nanoplastics can be taken up by plant roots and, under certain conditions, transported to aboveground tissues. Exposure to MPs may subsequently affect plant growth, photosynthesis, nutrient uptake, and cellular oxidative state. However, plant responses vary considerably depending on particle characteristics, exposure conditions, and plant species.

REFERENCES

- /1/ Geyer, R., Jambeck, J. R., Law, K. L.: Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, 3, 2017: e1700782.
- /2/ Arthur, C., Baker, J. E., Bamford, H. A.: Proceedings of the international research workshop on the

- occurrence, effects, and fate of microplastic marine debris. NOAA Technical Memorandum NOS-OR&R-30, 2009.
- /3/ de Souza Machado, A. A., Kloas, W., Zarfl, C., Hempel, S., Rillig, M. C.: Microplastics as an emerging threat to terrestrial ecosystems. *Global Change Biology*, 24, 2018: 1405–1416.
- /4/ Nizzetto, L., Futter, M., Langaas, S.: Are agricultural soils dumps for microplastics of urban origin? *Environmental Science & Technology*, 50, 2016: 10777–10779.
- /5/ Kumar, M., Xiong, X., He, M., Tsang, D. C. W., Gupta, J., Khan, E., Harrad, S., Hou, D., Ok, Y. S., Bolan, N. S.: Microplastics as pollutants in agricultural soils. *Environmental Pollution*, 265, 2020: 114980.
- /6/ Wong, A. E., Taylor, G.: Plants and microplastics: Growing impacts in the terrestrial environment. *Frontiers in Plant Science*, 16, 2025: 1666047.
- /7/ Ullah, R., Tsui, M. T. K., Chen, H., Chow, A., Williams, C., Ligaba-Osena, A.: Microplastics interaction with terrestrial plants and their impacts on agriculture. *Journal of Environmental Quality*, 50, 2021: 1024–1041.
- /8/ Chaudhary, H. D., Shah, G., Bhatt, U., Singh, H., Soni, V.: Microplastics and plant health: a comprehensive review of sources, distribution, toxicity, and remediation. *npj Emerging Contaminants*, 1, 2025: 8.
- /9/ Dissanayake, P. D., Kim, S., Sarkar, B., Oleszczuk, P., Sang, M. K., Haque, M. N., Ahn, J. H., Bank, M. S., Ok, Y. S.: Effects of microplastics on the terrestrial environment: A critical review. *Environmental Research*, 209, 2022: 112734.
- /10/ Raza, M., Lee, J. Y., Cha, J.: Microplastics in soil and freshwater: Understanding sources, distribution, potential impacts, and regulations for management. *Science Progress*, 105, 2022: 00368504221126676.
- /11/ Lozano, Y. M., Lehnert, T., Linck, L. T., Lehmann, A., Rillig, M. C.: Microplastic shape, polymer type, and concentration affect soil properties and plant biomass. *Frontiers in Plant Science*, 12, 2021: 616645.
- /12/ Gan, Q., Cui, J., Jin, B.: Environmental microplastics: Classification, sources, fates, and effects on plants. *Chemosphere*, 313, 2023: 137559.
- /13/ Li, L., Luo, Y., Li, R., Zhou, Q., Peijnenburg, W. J. G. M., Yin, N., Yang, J., Tu, C., Zhang, Y.: Effective uptake of submicrometre plastics by crop plants via a crack-entry mode. *Nature Sustainability*, 3, 2020: 929–937.
- /14/ D'Hont, A., Gittenberger, A., Leuven, R. S. E. W., Hendriks, A. J.: Dropping the microbead: Source and sink related microplastic distribution in the Black Sea and Caspian Sea basins. *Marine Pollution Bulletin*, 173, 2021: 112982.
- /15/ Blašková, M., Ševcov, M., Bajus, M., Holeková, K., Labancová, E., Bondarev, D., Kučerová, D., Richterová: Pôsobenie polystyrénových mikroplastov a medi na koreň špenátu siateho (*Spinacia oleracea* L.). In: Študentská vedecká konferencia PriF UK 2026: zborník recenzovaných príspevkov. Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, 2026: 47–52.
- /16/ Azeem, I., Adeel, M., Ahmad, M. A., et al.: Uptake and accumulation of nano/microplastics in plants: A critical review. *Nanomaterials*, 11, 2021: 2935.
- /17/ Shi, X., Shi, R., Fu, X., Zhao, Y., Ge, Y., Liu, J., Chen, C., Liu, W.: Impact of microplastics on plant physiology: A meta-analysis of dose, particle size, and crop type interactions in agricultural ecosystems. *Science of the Total Environment*, 955, 2024: 177245.
- /18/ Jia, L., Liu, L., Zhang, Y., Fu, W., Liu, X., Wang, Q., Tanveer, M., Huang, L.: Microplastic stress in plants: effects on plant growth and their remediations. *Frontiers in Plant Science*, 14, 2023: 1226484.

Acknowledgments

This study was supported by grant number 40025614 from the Slovak Academy of Sciences Return Scheme. The authors also gratefully acknowledge the networking support from the COST Action CA23131 ICPLASTIC.

FYZIOLOGICKÁ ODOZVA SKOROCELU KOPIJOVITÉHO NA PÔDNE ADITÍVA V METALURGICKOM ODPADOVOM SUBSTRÁTE

PHYSIOLOGICAL RESPONSE OF RIBWORT PLANTAIN TO SOIL AMENDMENTS IN METALLURGICAL WASTE SUBSTRATE

Marek Súhrada¹, Shan-Li Wang², Marek Vaculík^{1,3}

¹ Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra fyziológie rastlín,
Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, Slovenská republika; suhrada2@uniba.sk

² Department of Agricultural Chemistry, National Taiwan University, No. 1, Sec. 4, Roosevelt
Rd., Taipei 106319, Taiwan

³ Slovenská akadémia vied, Centrum biológie rastlín a biodiverzity, Botanický ústav,
Dúbravská cesta 9, 845 23 Bratislava, Slovenská republika

Summary

The suitability of soil amendments for phytomanagement cannot be inferred from their general properties alone, because plant responses depend strongly on the amended substrate. We compared biochar, calcium silicate, arbuscular mycorrhizal fungi, and their combinations using *Plantago lanceolata* grown in waste material from a former nickel smelter. Plant performance was evaluated through carbon assimilation, shoot dry mass, and photosynthetic pigment content. Treatments containing mycorrhizal inoculum produced the most favourable response, whereas biochar and silicon without mycorrhiza provided no comparable benefit and occasionally reduced the measured parameters. Under the tested conditions, the biological amendment was therefore more effective than the mineral and carbonaceous amendments.

Keywords: arbuscular mycorrhiza, biochar, metallurgical waste, phytomanagement, silicon

Súhrn

Vhodnosť pôdných aditív pre fytomanažment nemožno posudzovať iba podľa ich všeobecných vlastností, pretože odozva rastlín výrazne závisí od charakteru upravovaného substrátu. Porovnali sme účinok biouhlia, kremičitanu vápenatého, arbuskulárnych mykoríznych húb a ich kombinácií na *Plantago lanceolata* pestovaný v odpadovom substráte z bývalej niklovej huty. Fyziologický stav rastlín sme hodnotili podľa asimilácie CO₂, suchej hmotnosti nadzemnej biomasy a obsahu fotosyntetických pigmentov. Najpriaznivejšiu odozvu vyvolali varianty s mykorízny inokulom. Biouhlie a kremík bez mykorízy neposkytli porovnateľný účinok a niekedy sledované parametre znižovali. Biologické aditívum bolo preto za daných podmienok účinnejšie než minerálny a uhlíkatý prídavok.

Kľúčové slová: arbuskulárna mykoríza, biouhlie, fytomanažment, kremík, metalurgický odpad

ÚVOD

Odpadové substráty vznikajúce pri spracovaní rúd predstavujú pre rastliny špecifické prostredie, v ktorom sa účinky kovov spájajú s nepriaznivými fyzikálnymi a nutričnými vlastnosťami materiálu. Nikel patrí pri nízkych koncentráciách medzi prvky potrebné pre metabolizmus rastlín, po prekročení tolerančného rozsahu však narúša redoxnú rovnováhu, obmedzuje rast a poškodzuje fotosyntetický aparát /1, 2/. Úspešné ozelenenie takýchto plôch preto nezávisí iba od výberu tolerantného druhu, ale aj od úpravy podmienok v koreňovom prostredí. Jednou z možností je využitie pôdných aditív, ktorých pôsobenie sa opiera o rozdielne mechanizmy. Biouhlie môže meniť pórovitosť, vodný režim a sorpčnú kapacitu substrátu; zároveň predstavuje spôsob materiálového zhodnotenia organických odpadov /3, 4,

5/. Kremík môže zmiernovať stresovú odozvu rastlín a ovplyvňovať príjem aj vnútornú distribúciu potenciálne toxických prvkov /6/. Pozitívny účinok týchto materiálov však nie je univerzálny, pretože závisí od ich dávky, chemických vlastností a interakcií s konkrétnym substrátom.

Biologicky odlišný prístup predstavuje arbuskulárna mykoríza. Symbiotické huby rozširujú funkčný absorpčný priestor koreňov a môžu podporovať výživu i toleranciu hostiteľských rastlín voči stresu /7/. V substrátoch s kombinovaným chemickým a nutričným obmedzením tak môže byť mykorízna inokulácia účinnejšia než samotná zmena sorpčných vlastností alebo doplnenie minerálneho prvku. Porovnanie biologických, minerálnych a uhlíkatých aditív v rovnakých podmienkach umožňuje posúdiť nielen ich samostatný efekt, ale aj prínos vzájomných kombinácií.

Cieľom práce bolo porovnať fyziologickú odozvu skorocelu kopijovitého (*Plantago lanceolata* L.) na mykorízne inokulum, kremík, biouhlie a ich kombinácie v odpadovom substráte z bývalej niklovej huty. Účinok aditív sme posudzovali podľa fotosyntetickej aktivity, tvorby nadzemnej biomasy a obsahu fotosyntetických pigmentov.

MATERIÁL A METODA

Kultivácia rastlín

Pokusným druhom bol skorocel kopijovitý (*Plantago lanceolata* L.), kozmopolitná rastlina s relatívne nízkymi nárokmi na živiny a schopnosťou tolerovať abiotický stres. Kultivačný substrát pochádzal z areálu bývalej niklovej huty pri Sereďi. Po preosiatí sme ho sušili 4 dni pri 60 °C v laboratórnej sušiarňi (VENTI-Line, VWR) a neskôr detailne charakterizovali (celková a biodostupná koncentrácia prvkov, pH, obsah organického uhlíka). Semená boli 15 min povrchovo sterilizované v 30 % roztoku komerčného prípravku Savo s obsahom 4,7 % chlórnanu sodného, premyté destilovanou vodou a vysiate po 20 kusoch do 0,3 l črepníkov naplnených 600 g suchého substrátu.

Pokus zahŕňal 8 variantov: neupravený substrát (C), biouhlie (B), kremík (Si), mykorízne inokulum (M), kremík s biouhlím (SiB), mykoríza s kremíkom (MSi), mykoríza s biouhlím (MB) a kombinácia všetkých troch aditív (MSiB). Zdrojom kremíka bol práškový kremičitan vápenatý (Sigma-Aldrich, Nemecko), pridaný v množstve 0,0614 g na 100 g suchého substrátu, čo zodpovedalo dávke 500 kg Si/ha. Bukové biouhlie (Novocarbo GmbH, Nemecko) bolo vyrobené technológiou PYREG® pri 700 °C; malo pH 8,8, špecifický povrch približne 200 m²/g a obsahovalo 85 % C, 0,38 % N, 0,5 % K, 0,6 % Ca a 0,1 % Mg. Pomleté a homogenizované biouhlie sme zapracovali do substrátu v 1 % koncentrácii. Komerčné mykorízne inokulum Symbivit (Symbiom s. r. o., Česká republika) sme použili v dávke 3,214 g na 600 g substrátu. Pre každý variant boli pripravené tri biologické replikáty.

Kultivácia trvala 120 dní pri teplote 25/23 °C počas dňa/noci, relatívnej vlhkosti vzduchu 70 %, fotoperióde 16/8 h a intenzite fotosynteticky aktívneho žiarenia 200 μmol m⁻² s⁻¹. Obsah vody v substráte sme pravidelnou zálievkou udržiavali na 70 % jeho kapacity zadržiavania vody.

Produkcia biomasy

Na stanovenie biomasy sme z každého črepníka odobrali päť reprezentatívnych rastlín. Nadzemné časti sme odvážili na analytických váhach (Adventurer Pro AV413C), vysušili počas 5 dní pri 60 °C a po ukončení sušenia opätovne odvážili.

Meranie rýchlosti fotosyntézy

Výmenu plynov sme zaznamenávali prenosným fotosyntetickým systémom CIRAS-2 (USA) po jednej hodine aklimatizácie rastlín. Do listovej komôrky bol vkladán tretí úplne

vyvinutý list. Svetelná odozva fotosyntézy sa stanovila postupným znižovaním intenzity žiarenia z 2000 na 1500, 1000, 500, 250, 125 a 0 μmol m⁻² s⁻¹; každá hodnota bola odčítaná

Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 9. - 10. 9. 2026
až po stabilizácii merania. Merania prebiehali v dopoludňajších hodinách a získané údaje boli spracované v programe Microsoft Excel.

Stanovenie fotosyntetických pigmentov

Fotosyntetické pigmenty boli extrahované z približne 0,02 g pletiva tretieho listu. Vzorka sa homogenizovala s morským pieskom, MgCO_3 a 80 % acetónom, pričom výsledný objem extraktu bol upravený na 11 ml. Po centrifugácii počas 6 min pri 6000 rpm a 3 °C (Mega Star 1.6R, VWR) sme absorbanciu supernatantu merali spektrofotometrom Jenway 6705 UV/Vis pri vlnových dĺžkach 663,2, 646,8 a 470 nm. Koncentrácie chlorofylov a karotenoidov boli vypočítané podľa Lichtenthalera /8/; referenčným roztokom bol 80 % acetón.

Štatistická analýza

Výsledky boli štatisticky vyhodnotené pomocou jednofaktorovej analýzy rozptylu (ANOVA) a následného Tukeyho HSD testu viacnásobného porovnávania v programe Statgraphics Centurion. Údaje sú uvedené ako aritmetický priemer $\pm$ smerodajná odchýlka (SD). Rozdiely medzi variantmi boli považované za štatisticky významné pri $p \leq 0,05$.

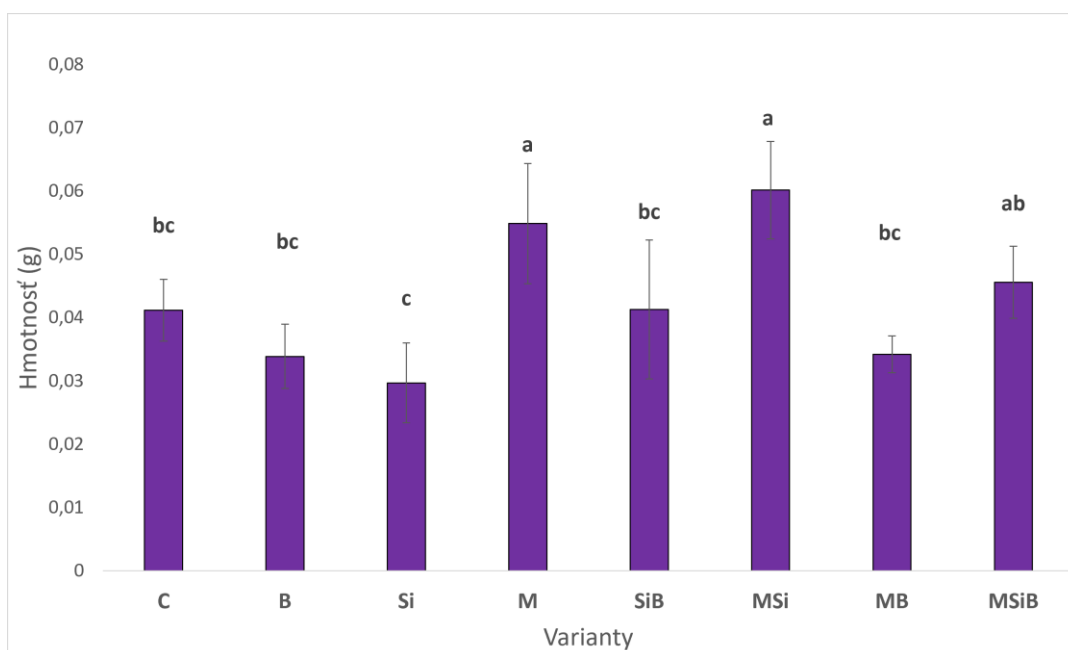
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Mykoríza ako hlavný faktor fyziologickej odozvy

Prítomnosť mykorízneho inokula bola spoločným znakom variantov s najpriaznivejšou fyziologickou odozvou. Samotná mykoríza (M) viedla pri maximálnom osvetlení k najvyššej rýchlosti fotosyntézy a zároveň k približne o 70 % vyššiemu obsahu chlorofylu a + b oproti kontrole. Zvýšená rýchlosť fotosyntézy oproti kontrole bola zaznamenaná aj vo variantoch MSi a MSiB. Rastliny vo variantoch M a MSi súčasne vytvorili najviac nadzemnej sušiny (obr. 1). Súbbeh zmien v asimilácii CO_2 , obsahu pigmentov a biomase naznačuje, že mykorízna symbióza neovplyvnila iba jeden izolovaný parameter, ale celkovú funkčnú výkonnosť rastlín. Takáto odozva mohla súvisieť so schopnosťou arbuskulárnych mykoríznych húb zlepšovať prístup rastlín k živinám a vode, a zmierňovať tak dôsledky stresu spôsobeného ťažkými kovmi a deficienciou živín /7/.

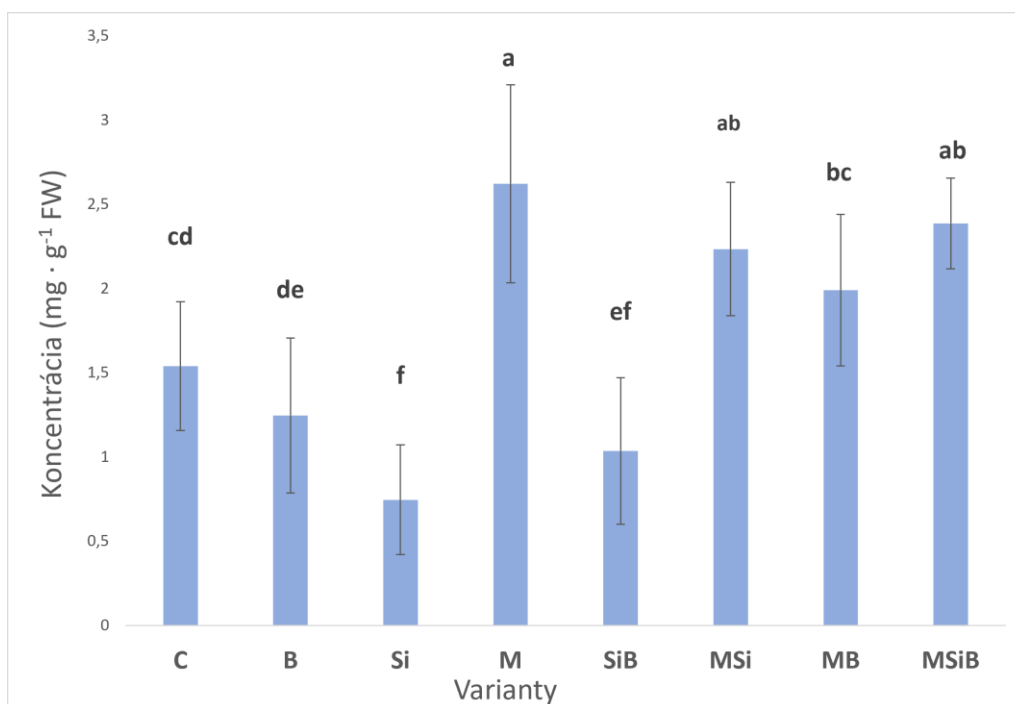
Obmedzený prínos biouhlia a kremíka

Odozva rastlín na biouhlie a kremík bola odlišná. Ak boli aplikované bez mykorízy, rýchlosť fotosyntézy bola približne o 20 % nižšia než v kontrole a kombinácia SiB dosiahla najnižšie hodnoty. Samostatná aplikácia kremíka bola spojená aj s približne 50 % poklesom obsahu chlorofylu a + b, pričom prítomnosť kremíka a biouhlia aj v ich kombinácii nezvýšila tvorbu nadzemnej biomasy. Výsledok poukazuje na výraznú závislosť účinku aditív od vlastností substrátu. Aditíva s priaznivým pôsobením v bežnej pôde nemusia v metalurgickom odpade automaticky zlepšiť dostupnosť živín ani fyziologický stav rastlín /4, 5, 6/. Pri praktickom využití bude potrebné overiť najmä dávku biouhlia a kremíka a rozlíšiť, či je prioritou podpora produkcie biomasy, udržanie fotosyntetickej aktivity alebo stabilizácia kontaminantov.



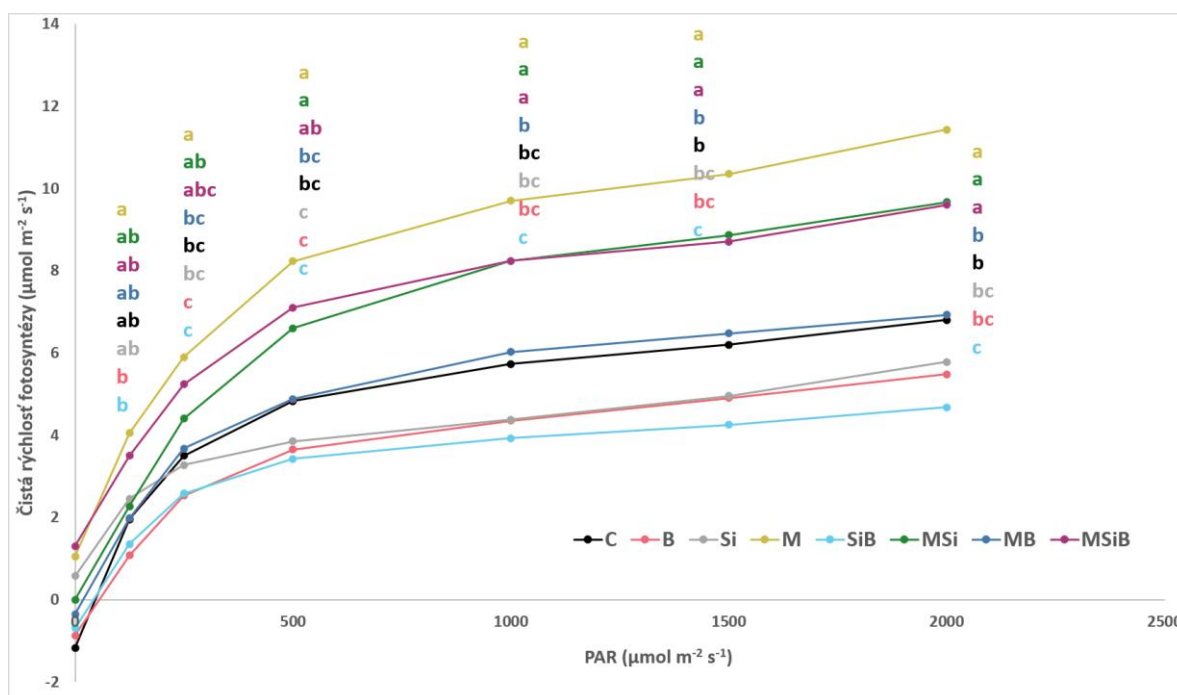
Obr. 1. Suchá hmotnosť rastlín skorocelu kopijovitého.

Varianty: C - kontrola; B - biouhlie; Si - kremík; M - mykoríza; SiB - kremík + biouhlie; MSi - mykoríza + kremík; MB - mykoríza + biouhlie; MSiB - mykoríza + kremík + biouhlie. Hodnoty predstavujú aritmetický priemer 15 rastlín. Odlišné písmená označujú štatisticky preukazné rozdiely medzi variantmi pri $P \leq 0,05$.



Obr. 2. Obsah chlorofylu v listoch rastlín skorocelu kopijovitého.

Varianty: C - kontrola; B - biouhlie; Si - kremík; M - mykoríza; SiB - kremík + biouhlie; MSi - mykoríza + kremík; MB - mykoríza + biouhlie; MSiB - mykoríza + kremík + biouhlie. Odlišné písmená označujú štatisticky preukazné rozdiely medzi variantmi pri $P \leq 0,05$.



Obr. 3. Rýchlosť fotosyntézy rastlín skorocelu kopijovitého.

Varianty: C - kontrola; B - biouhlie; Si - kremík; M - mykoríza; SiB - kremík + biouhlie; MSi - mykoríza + kremík; MB - mykoríza + biouhlie; MSiB - mykoríza + kremík + biouhlie. Odlišné písmená označujú štatisticky preukazné rozdiely medzi variantmi pri $P \leq 0,05$.

ZÁVER

Testované aditíva nepôsobili v odpadovom substráte rovnako. Najstabilnejšie zlepšenie fyziologického stavu skorocelu kopijovitého bolo viazané na prítomnosť mykorízneho inokula, ktoré podporilo fotosyntézu, obsah chlorofylov a tvorbu biomasy. Biouhlie a kremík bez mykorízy očakávaný stimulačný účinok nepreukázali a pri niektorých parametroch bola odozva dokonca negatívna. Za testovaných podmienok sa cieľená podpora biologických interakcií v koreňovej zóne javila ako perspektívnejšia než aplikácia minerálnych a organických prídavkov samostatne alebo v kombinácii. Použitie biouhlia a kremíka si vyžaduje optimalizáciu dávky a overenie ich kompatibility s konkrétnym substrátom.

LITERATÚRA

- /1/ Gajewska, E., Skłodowska, M.: Effect of nickel on ROS content and antioxidative enzyme activities in wheat leaves. *BioMetals*, 20, 2007: 27-36.
- /2/ Sheetal, K. R., Singh, S. D., Anand, A.: Heavy metal accumulation and effects on growth, biomass and physiological processes in mustard. *Indian Journal of Plant Physiology*, 21, 2016: 219-223.
- /3/ Chan, K. Y., Van Zwieten, L., Meszaros, I., Downie, A., Joseph, S.: Agronomic values of greenwaste biochar as a soil amendment. *Australian Journal of Soil Research*, 45, 2007: 629-634.
- /4/ Garbowski, T., Bar-Michalczyk, D., Charazińska, S.: An overview of natural soil amendments in agriculture. *Soil and Tillage Research*, 225, 2023: 105462.
- /5/ Grobelak, A.: Organic soil amendments in the phytoremediation process. In: Ansari, A. A., Gill, S. S., Gill, R., Lanza, G. R., Newman, L. (eds.): *Phytoremediation*. Springer International Publishing, Cham, 2016: 21-39.
- /6/ Vaculík, M., Landberg, T., Greger, M., et al.: Silicon modifies root anatomy, and uptake and subcellular distribution of cadmium in young maize plants. *Annals of Botany*, 110, 2012: 433-443.
- /7/ Heydarian, A., Tohidi Moghadam, H. R., Donath, T. W., Sohrabi, M.: Study of effect of arbuscular mycorrhiza (*Glomus intraradices*) fungus on wheat under nickel stress. *Agronomy Research*, 16, 2018: 1660-1667.
- /8/ Lichtenthaler, H. K.: Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 1987: 350-382.
- /20/ Lasat, M.L.: Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms. *Journal of Environmental Quality*, 31(1), 109-120.

Pod'akovanie

Táto práca vznikla s finančnou podporou Agentúry na podporu výskumu a vývoja, projekt APVV SK-TW-24-0008. práca bola podporená grantami VEGA 1/1139/11 a VEGA 1/0255/23.

BIOCHEMICKÉ REAKCE GENOTYPŮ JABLONÍ NA OPAKOVANÉ CYKLY SUCHA A REHYDRATACE

BIOCHEMICAL RESPONSES OF APPLE GENOTYPES TO REPEATED DROUGHT-REHYDRATION CYCLES

Tomáš Rýgl, František Hnilička

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

Summary

Repeated drought followed by rehydration represents a realistic stress scenario for perennial fruit trees. The aim of the study was to characterise biochemical responses of fourteen apple (*Malus domestica* Borkh.) genotypes during two consecutive drought–rehydration cycles. Proline, malondialdehyde (MDA), total phenolics, flavonoids and the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POX) were evaluated. The strongest response occurred at the end of the second drought period (T6). Compared with the control, proline increased by 272.4%, MDA by 136.4%, phenolics by 45.3%, flavonoids by 76.5%, SOD by 109.1%, CAT by 89.0% and POX by 117.5%. Rehydration reduced all markers, but recovery was mostly incomplete. Multivariate analyses confirmed coordinated and genotype-dependent responses. The results support integrated biochemical profiling as a complementary tool for pre-selection of apple genotypes exposed to recurrent water limitation.

Keywords: Malus domestica, drought stress, rehydration, proline, antioxidant enzymes, phenolic compounds

Souhrn

Opakované epizody sucha a následné rehydratace představují pro vytrvalé ovocné dřeviny komplexnější zátěž než jednorázový vodní deficit. Cílem práce bylo charakterizovat biochemickou odezvu čtrnácti genotypů jabloně domácí (*Malus domestica* Borkh.) během dvou po sobě následujících cyklů sucha–rehydratace. Hodnocen byl obsah prolinu, malondialdehydu (MDA), celkových fenolických látek a flavonoidů a aktivita superoxiddismutázy (SOD), katalázy (CAT) a peroxidázy (POX). Nejsilnější odezva byla zaznamenána na konci druhého období sucha (T6). Rehydratace vedla k poklesu sledovaných parametrů, avšak návrat na úroveň kontroly byl většinou neúplný. Multivariační analýzy potvrdily koordinovaný a genotypově specifický charakter biochemické odpovědi.

Klíčová slova: Malus domestica, vodní deficit, rehydratace, prolin, antioxidační enzymy, fenolické látky

ÚVOD

Sucho patří mezi hlavní abiotické stresory omezující růst, produktivitu a stabilitu výnosu zemědělských plodin. U vytrvalých ovocných dřevin je jeho význam zesílen opakovaným výskytem během vegetace a nutností obnovit fyziologické a metabolické funkce po opětovném zavlažení. Vodní deficit vede k poklesu vodního potenciálu a turgoru, omezení stomatální vodivosti a fotosyntézy a současně podporuje vznik reaktivních forem kyslíku. Výsledkem je aktivace enzymatických i neenzymatických ochranných mechanismů, ale při silném stresu také oxidativní poškození buněčných struktur.

Cílem práce bylo posoudit časovou dynamiku a genotypovou variabilitu biochemických reakcí jabloní na dva opakované cykly sucha a rehydratace a ověřit, zda lze reakci lépe charakterizovat kombinací více markerů než jednotlivým ukazatelem.

MATERIÁL A METODY

Pokus probíhal ve foliovém krytu Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. Zařazeno bylo 14 genotypů jabloně domácí: B11, Gala (Galaval), HL53, HL308, HL827, HL1282, HL1311, HL1343, HL1579, HL1651, HL2010, HL2350, Idared a Rubinstep. Rostliny byly rozděleny na plně zavlažovanou kontrolu a stresovanou variantu vystavenou opakovanému vodnímu deficitu. Pro každou kombinaci genotypu, varianty a termínu bylo hodnoceno pět biologických opakování.

Experiment zahrnoval devět odběrových termínů T0–T8. T0 představoval výchozí stav, T1–T2 první období sucha, T3–T4 první rehydrataci, T5–T6 druhé období sucha a T7–T8 druhou rehydrataci. Termíny T2 a T6 odpovídaly maximum prvního a druhého stresového cyklu, viz tab. 1. Listy byly odebírány ze srovnatelné části koruny ve stejnou denní dobu, okamžitě zmrazeny v kapalném dusíku a uchovávány při -80 °C do analýzy.

T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
výchozí	sucho I	sucho I	rehydr. I	rehydr. I	sucho II	sucho II	rehydr. II	rehydr. II

Tab. 1: Schéma odběrových termínů během dvou cyklů sucho–rehydratace.

Volný prolin byl stanoven kolorimetricky po extrakci 3% kyselinou sulfosalicylovou a reakci s kyselým ninhydrinem; absorbance byla měřena při 520 nm. MDA jako ukazatel lipidové peroxidace byl stanoven reakcí s kyselinou thiobarbiturovou. Celkové fenolické látky byly stanoveny Folin–Ciocalteuovou metodou a flavonoidy kolorimetricky s vyjádřením jako ekvivalenty kyseliny gallové (GAE), resp. kvercetinu (QE). Aktivita SOD byla stanovena na základě inhibice fotochemické redukce NBT, aktivita CAT podle rozkladu H₂O₂ při 240 nm a POX podle oxidace guajakolu při 470 nm. Enzymové aktivity byly vztaženy na obsah rozpustných proteinů.

Skupina	Parametr	Fyziologická interpretace
Osmotická odpověď	Prolin	osmotická adjustace, ochranná a signalizační reakce
Poškození	MDA	lipidová peroxidace a poškození membrán
Enzymatická obrana	SOD, CAT, POX	koordinovaná detoxikace ROS
Neenzymatická obrana	Fenoly, flavonoidy	sekundární metabolismus a antioxidační kapacita

Tab. 2: Přehled sledovaných biochemických markerů a jejich interpretační význam.

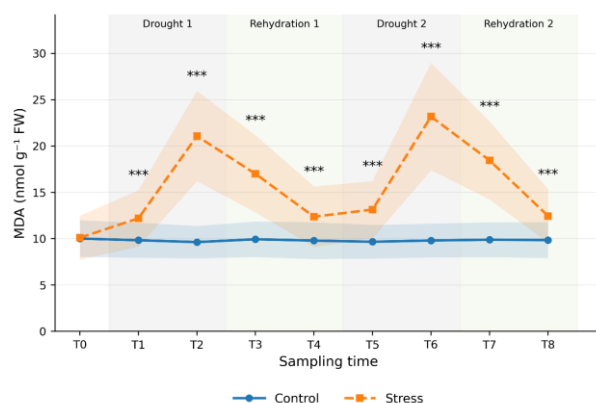
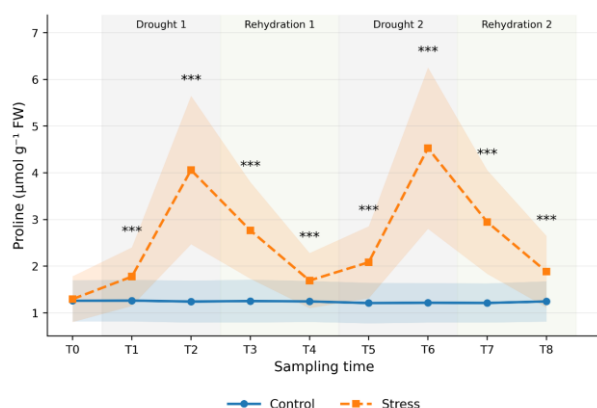
Statistické hodnocení zahrnovalo třífaktorovou ANOVA (genotyp × varianta × termín), Tukeyho HSD test, Pearsonovu korelační analýzu, analýzu hlavních komponent (PCA) a hierarchické shlukování. Rozdíly byly považovány za průkazné při $p < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Ve výchozím termínu T0 nebyly mezi kontrolou a stresovanou variantou zjištěny významné rozdíly. V průběhu prvního sucha se všechny sledované markery zvýšily, během rehydratace jejich hodnoty poklesly, ale většinou se nevrátily na úroveň kontroly. Druhé období sucha vyvolalo ještě výraznější odezvu a maxima všech sedmi parametrů byla zaznamenána v termínu T6.

OSMOTICKÁ ODPOVĚĎ A OXIDATIVNÍ POŠKOZENÍ

Prolin patří k nejcitlivějším ukazatelům vodního deficitu. V termínu T2 dosáhl ve stresované variantě $4,059 \pm 1,591 \mu\text{mol g}^{-1}$ čerstvé hmoty oproti $1,242 \pm 0,453 \mu\text{mol g}^{-1}$ v kontrole. Po první rehydrataci klesl, avšak při druhém suchu znovu vzrostl a v T6 dosáhl $4,528 \pm 1,726 \mu\text{mol g}^{-1}$, tedy o 272,4 % více než kontrola. Po druhé rehydrataci opět poklesl, ale zůstal nad kontrolní úroveň.

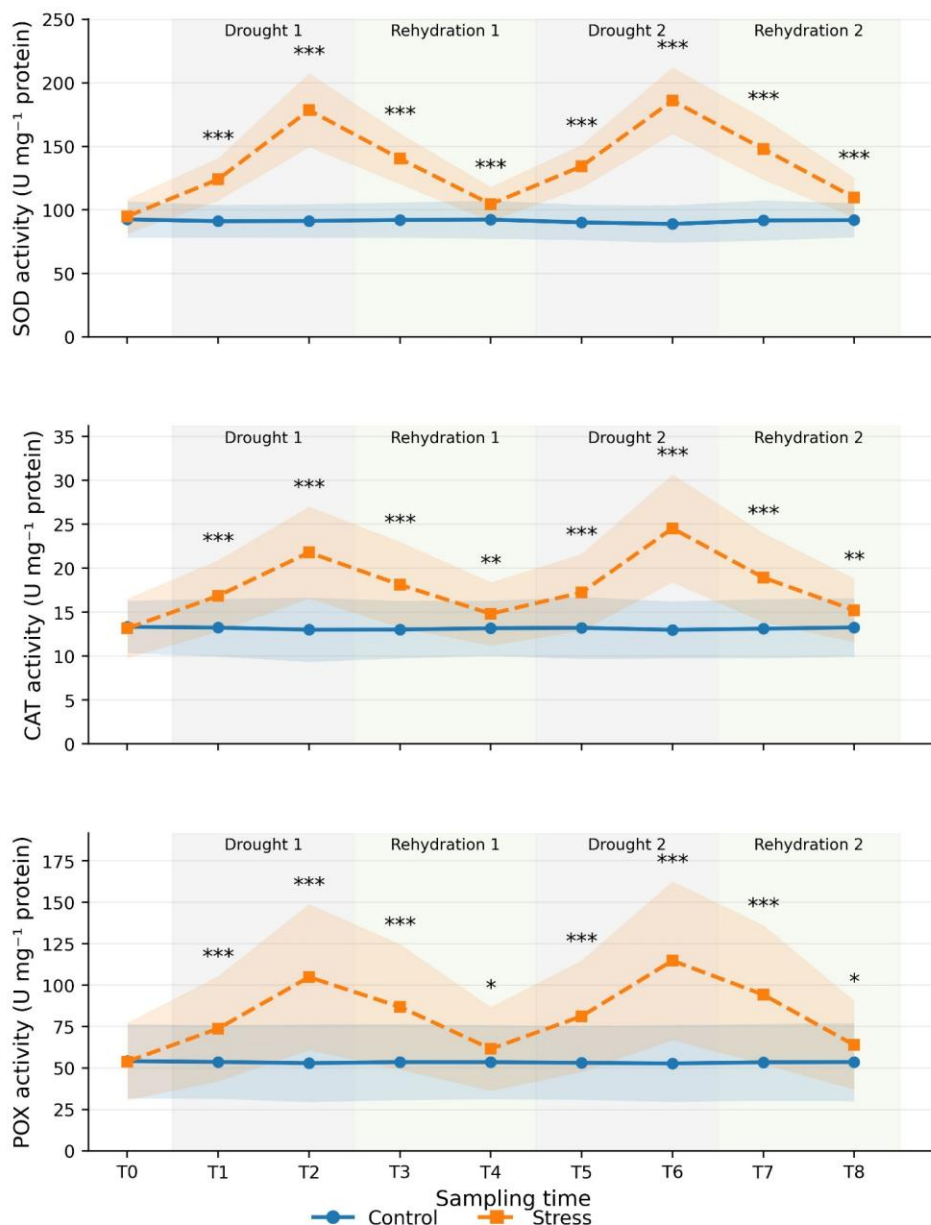


Obr. 1: Časová dynamika obsahu prolinu (vlevo) a MDA (vpravo) v kontrolní a stresované variantě během dvou cyklů sucho–rehydratace. Hvězdičky označují průkazné rozdíly mezi variantami.

MDA vykazoval obdobnou časovou dynamiku. V T6 vzrostl z $9,804 \pm 2,068 \text{ nmol g}^{-1}$ v kontrole na $23,175 \pm 5,939 \text{ nmol g}^{-1}$ ve stresované variantě, což odpovídá nárůstu o 136,4 %. Současný nárůst prolinu a MDA ukazuje, že aktivace ochranných mechanismů probíhala paralelně s narůstajícím oxidativním poškozením. Silná pozitivní korelace prolin–MDA ($r = 0,724$) zároveň upozorňuje, že vysoký obsah prolinu nelze automaticky interpretovat jako důkaz vyšší tolerance; může také odrážet intenzitu působícího stresu. Prolin má při suchu více funkcí, včetně osmotické adjustace a stabilizace buněčných struktur, jeho akumulace však bývá výrazná právě při silné stresové zátěži. Současný nárůst MDA proto ukazuje, že osmotická ochrana nedokázala zcela zabránit peroxidaci membrán. Z hlediska hodnocení genotypů je proto vhodnější interpretovat prolin společně s ukazateli poškození a obnovy než jako samostatný znak tolerance [1,2].

ENZYMATICKÁ A NEENZYMATICKÁ ANTIOXIDAČNÍ OBRANA

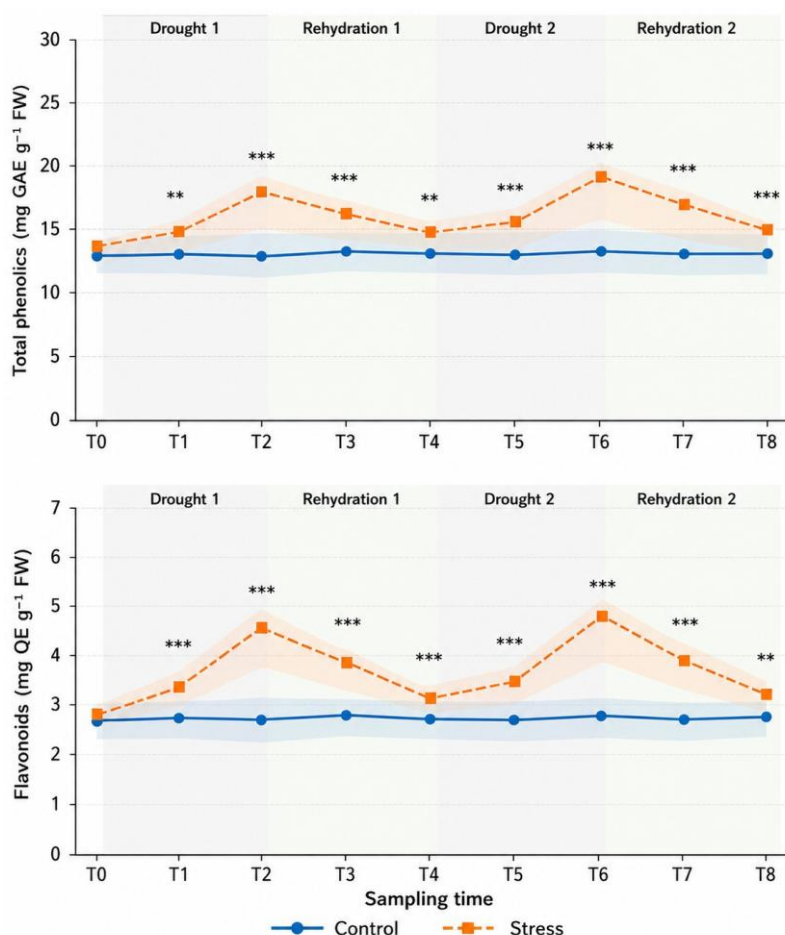
Aktivity SOD, CAT a POX se během obou stresových period zvyšovaly a po rehydrataci klesaly. Nejvyšší hodnoty byly zaznamenány v T6: SOD vzrostla proti kontrole o 109,1 %, CAT o 89,0 % a POX o 117,5 %. Koordinovaný nárůst těchto enzymů odpovídá funkčnímu propojení antioxidačního systému: SOD převádí superoxidový radikál na H_2O_2 , který je následně odstraňován zejména katalázou a peroxidázami. Taková koordinace je typickou součástí obrany proti oxidačnímu stresu vyvolanému suchem [2,3]. Silnější aktivace ve druhém cyklu může představovat rychlejší nebo intenzivnější obrannou odpověď po předchozí stresové zkušenosti, sama o sobě však neumožňuje odlišit stresovou paměť od reakce na kumulativní poškození. Právě proto je důležité hodnotit enzymové aktivity současně s MDA a průběhem rehydratace.



Obr. 2: Časová dynamika aktivit SOD, CAT a POX. Nejvyšší aktivita všech tří enzymů byla zaznamenána na konci druhého sucha (T6).

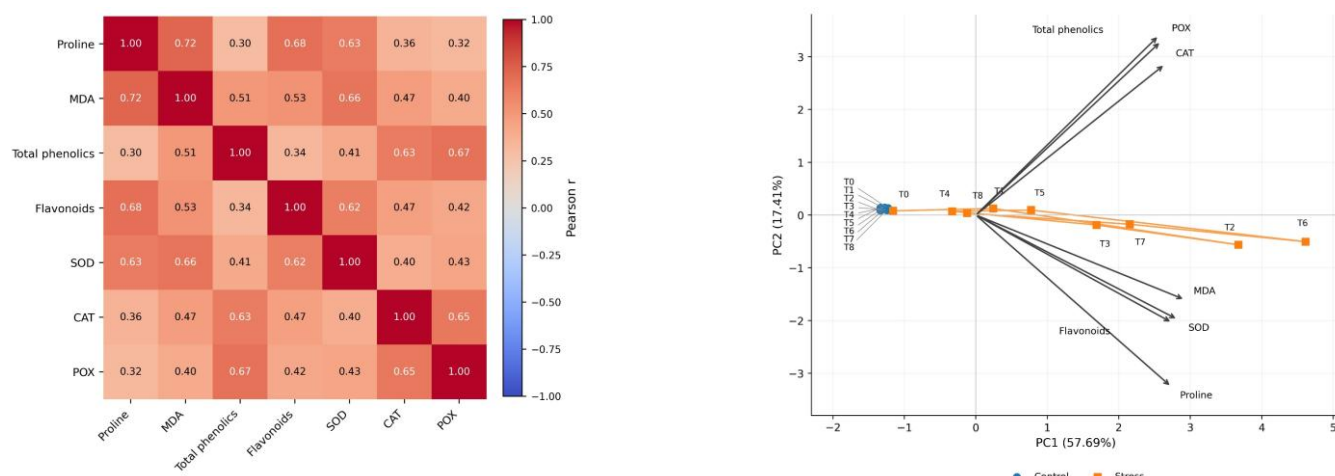
SEKUNDÁRNÍ METABOLITY A KOORDINACE ODPOVĚDI

Vodní deficit zvýšil také obsah celkových fenolických látek a flavonoidů. V T6 dosáhly fenolické látky $19,673 \pm 4,057$ mg GAE g⁻¹ oproti $13,541 \pm 2,809$ mg GAE g⁻¹ v kontrole (+45,3 %). Flavonoidy vzrostly z $2,807 \pm 0,674$ na $4,955 \pm 1,075$ mg QE g⁻¹ (+76,5 %). Po rehydrataci obě skupiny metabolitů klesaly pomaleji než prolin a zůstávaly zvýšené i v období obnovy, což odpovídá jejich úloze v děletrvající neenzymatické antioxidační odpovědi. Přetrvávající zvýšení fenolických látek a flavonoidů po obnovení zálivky může zároveň znamenat, že metabolická obnova probíhá pomaleji než obnovení vodního režimu. U ovocných dřevin byly změny sekundárních metabolitů a antioxidačních enzymů popsány jako významná součást genotypově specifické stresové odpovědi [8/].



Obr. 3: Časová dynamika celkových fenolických látek a flavonoidů v kontrolní a stresované variantě.

Korelační analýza prokázala převážně pozitivní vztahy mezi sledovanými markery. Vedle vztahu prolin–MDA byly významné vazby například mezi fenolickými látkami a POX ($r = 0,672$), CAT a POX ($r = 0,646$) nebo flavonoidy a SOD ($r = 0,621$). Výsledky podporují interpretaci stresové odpovědi jako propojené sítě osmotické adjustace, poškození membrán, sekundárního metabolismu a enzymatické obrany.

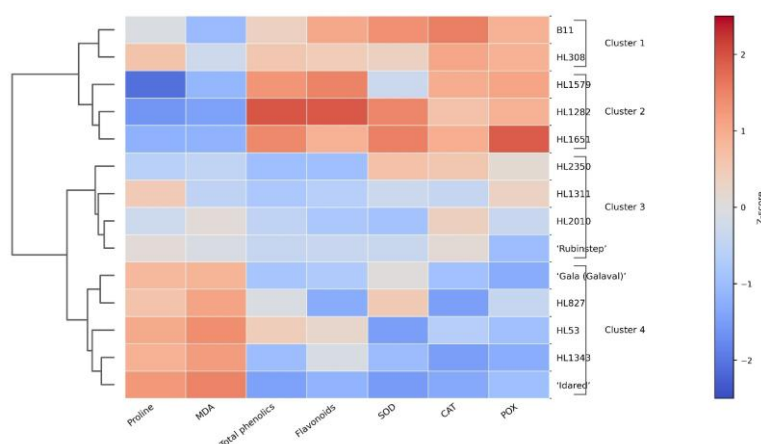


Obr. 4: Pearsonova korelační matice (vlevo) a PCA biplot (vpravo) biochemických markerů.

První dvě hlavní komponenty PCA vysvětlily 75,1 % celkové variability (PC1 57,69 %, PC2 17,41 %). Všechny markery měly kladné zatížení na PC1, která tak vyjadřovala obecnou intenzitu biochemické odpovědi. Maxima stresu T2 a zejména T6 se od kontroly a rehydratovaných rostlin zřetelně oddělovala. Rehydratované vzorky zaujímaly převážně přechodnou pozici, což potvrzuje pouze částečný návrat metabolického stavu k zavlažované kontrole. Výraznější posun T6 oproti T2 je zvláště důležitý z hlediska opakovaného stresu. Literatura uvádí, že předchozí epizoda sucha může modifikovat následnou odpověď prostřednictvím stresové paměti, která zahrnuje mimo jiné změny antioxidačního systému a metabolické regulace /4,5/. V našem experimentu však současně přetrvávaly známky neúplné obnovy, a proto nelze silnější reakci při druhém suchu připsat pouze paměťovému efektu; pravděpodobně se na ní podílela i kumulace poškození.

GENOTYPOVĚ SPECIFICKÉ PROFILY

Hierarchické shlukování založené na odpovědi v maximech obou období sucha rozdělilo 14 genotypů do čtyř hlavních skupin. B11 a HL308 se vyznačovaly silnější antioxidační odpovědí při relativně nižší indukci MDA. Genotypy HL1282, HL1579 a HL1651 vykazovaly nižší relativní indukci prolinu a MDA spolu se silnější odpovědí fenolických látek, flavonoidů a vybraných enzymů. HL1311, HL2010, HL2350 a Rubinstep měly převážně intermediární profil. Gala (Galaval), HL1343, HL53, HL827 a Idared se vyznačovaly vyšší relativní indukcí prolinu a MDA a slabší odezvou některých antioxidačních složek.



Obr. 5: Heatmapa a hierarchické shlukování genotypově specifických biochemických profilů na základě průměrné odpovědi v T2 a T6.

Tyto profily nelze samy o sobě považovat za přímé měřítko tolerance. Ukazují však, že jednotlivé genotypy využívají rozdílné kombinace osmotické adjustace, antioxidační obrany, sekundárního metabolismu a míry oxidativního poškození. Pro šlechtitelský předvýběr je proto vhodnější kombinovat více znaků a současně hodnotit rychlost a úplnost obnovy po rehydrataci. Tento přístup je v souladu i s fyziologickým hodnocením stejných nebo obdobných genotypových reakcí, kde se jako významné ukázaly rozdíly ve schopnosti udržet funkce během vodního deficitu a následně je obnovit po rehydrataci /6/. Biochemický profil tak může fyziologické hodnocení doplnit, nikoli nahradit.

ZÁVĚR

Opakovaný vodní deficit vyvolal koordinovanou a genotypově závislou biochemickou odezvu jabloní. Nejsilnější reakce byla zaznamenána na konci druhého období sucha, kdy maxima dosáhly všechny sledované markery. Rehydratace vedla k částečné obnově, avšak většina parametrů se nevrátila na kontrolní úroveň. Výsledky ukazují, že druhá epizoda sucha

není pouze opakováním první a může odrážet kombinaci stresové paměti a kumulativního poškození. Pro praktické hodnocení genotypů je vhodné spojovat ukazatele poškození, enzymatické a neenzymatické obrany a schopnosti následné regenerace s fyziologickými, růstovými a produkčními znaky.

LITERATURA

- /1/ Bandurska, H. Drought stress responses: coping strategy and resistance. *Plants* 2022, 11, 922.
- /2/ Gill, S.S.; Tuteja, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 2010, 48, 909–930.
- /3/ Mittler, R.; Zandalinas, S.I.; Fichman, Y.; Van Breusegem, F. Reactive oxygen species signalling in plant stress responses. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2022, 23, 663–679.
- /4/ Liu, X.; Quan, W.; Bartels, D. Stress memory responses and seed priming correlate with drought tolerance in plants: an overview. *Planta* 2022, 255, 45.
- /5/ Kambona, C.M.; Koua, P.A.; Léon, J.; Ballvora, A. Stress memory and its regulation in plants experiencing recurrent drought conditions. *Theor. Appl. Genet.* 2023, 136, 26.
- /6/ Hnilicka, F.; Rýgl, T.; Suran, P.; Zelený, L.; Akgün, N. Water Deficit and Rehydration Reveal Genotypic Differences in Apple Tree Physiological Performance. *Plants* 2026, 15, 1179.
- /7/ Bates, L.S.; Waldren, R.P.; Teare, I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 1973, 39, 205–207.
- /8/ Kubes, J.; Hnilicka, F.; Vachova, P.; et al. Changes in Secondary Metabolites Content and Antioxidant Enzymes Activity in Leaves of Two *Prunus avium* L. Genotypes During Various Phenological Phases. *Life* 2024, 14, 1567.

Poděkování

Výzkum byl podpořen Národní agenturou pro zemědělský výzkum, projekt QK21010200.

VLIV VODNÍHO DEFICITU A ZASOLENÍ NA FYZIOLOGICKO-BIOCHEMICKÉ CHARAKTERISTIKY ŘEPY CUKROVÉ

EFFECT OF WATER DEFICIT AND SALINITY ON PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF SUGAR BEET

František Hnilička, Petr Bahník, Tomáš Rýgl

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

Summary

Water deficit and salinity are major abiotic stresses affecting crop productivity, and their combined action may substantially intensify plant stress responses. This study evaluated three sugar beet (*Beta vulgaris* var. *altissima*) genotypes, KWS Viola, KWS Beppina and Primot, under control conditions, water deficit, salinity (250 mM NaCl) and combined water deficit plus salinity. Gas exchange, photosynthetic pigments, chlorophyll fluorescence, osmotic potential, proline and malondialdehyde (MDA) were assessed during seven sampling times from 0 to 336 h. Stress reduced photosynthesis, transpiration, total chlorophyll and PSII efficiency and made osmotic potential more negative, whereas proline and MDA increased. The strongest changes generally occurred under combined stress and intensified with stress duration. Primot maintained higher photosynthetic activity, chlorophyll content and chlorophyll fluorescence and showed lower accumulation of stress markers than KWS Viola. The results demonstrate pronounced genotype-specific responses and support the combined use of physiological and biochemical markers for screening sugar beet responses to abiotic stress.

Keywords: Beta vulgaris, drought stress, salinity, gas exchange, chlorophyll fluorescence, proline, malondialdehyde

Souhrn

Vodní deficit a zasolení patří mezi významné abiotické stresory zemědělských plodin a jejich kombinované působení může stresovou odezvu dále zesilovat. V práci byly hodnoceny tři genotypy řepy cukrové (*Beta vulgaris* var. *altissima*) - KWS Viola, KWS Beppina a Primot - ve variantách kontrola, vodní deficit, zasolení 250 mM NaCl a kombinace vodního deficitu a zasolení. V sedmi termínech od 0 do 336 hodin byly sledovány výměna plynů, fotosyntetické pigmenty, fluorescence chlorofylu, osmotický potenciál, prolin a malondialdehyd (MDA). Stres snižoval fotosyntézu, transpiraci, obsah chlorofylu a účinnost PSII a vedl k poklesu osmotického potenciálu, zatímco obsah prolinu a MDA se zvyšoval. Nejvýraznější změny byly zpravidla zaznamenány při kombinovaném stresu a s prodlužující se dobou působení stresorů. Genotyp Primot si udržoval vyšší fyziologickou aktivitu a nižší akumulaci stresových markerů než KWS Viola.

Klíčová slova: Beta vulgaris, vodní deficit, salinita, výměna plynů, fluorescence chlorofylu, prolin, MDA

ÚVOD

Sucho a zasolení omezují růst a produkční stabilitu plodin prostřednictvím narušení vodního režimu, iontové homeostázy a fotosyntetických procesů. Vodní deficit vede k uzavírání průduchů a omezení příjmu CO₂, zatímco salinita kombinuje osmotickou složku stresu s iontovou toxicitou. Při silném nebo dlouhodobém působení obou faktorů narůstá

tvorba reaktivních forem kyslíku a riziko poškození membrán. Rostliny proto aktivují osmotickou adjustaci, antioxidační obranu a další adaptační mechanismy /1-3/.

Řepa cukrová patří mezi plodiny s relativně dobrou tolerancí k mírnému zasolení, avšak intenzita odpovědi závisí na genotypu, síle stresu a době jeho působení. Cílem práce bylo porovnat fyziologickou a biochemickou odezvu tří genotypů řepy cukrové na vodní deficit, zasolení a jejich kombinaci a posoudit využitelnost sledovaných parametrů pro screening genotypové reakce na abiotický stres.

MATERIÁL A METODY

Skleníkový nádobový experiment byl založen se třemi genotypy řepy cukrové: klasickou odrůdou KWS Viola a SMART odrůdami KWS Beppina a Primot. Rostliny byly pěstovány v nádobách 11 × 11 cm se zahradnickým substrátem. Kontrolní varianta byla udržována při plné závlaze 120 ml vody na nádobu. Vodní deficit byl navozen postupným omezením přísunu vody a vysycháním substrátu, salinitní stres aplikací 250 mM NaCl. U každého genotypu byly hodnoceny čtyři varianty: kontrola, vodní deficit, zasolení a kombinace vodního deficitu a zasolení. Měření probíhala v čase 0, 24, 48, 72, 168, 240 a 336 hodin od zahájení stresu.

Výměna plynů byla měřena na plně vyvinutých listech při 25 °C a intenzitě fotosynteticky aktivního záření 650 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Fotosyntetické pigmenty byly extrahovány do N,N-dimethylformamidu a stanoveny spektrofotometricky. Fluorescence chlorofylu byla měřena po 20minutové temnostní adaptaci; hodnoceny byly poměry Fv/Fm a Fv/F0. Osmotický potenciál byl stanoven přístrojem WP4C. Prolin byl stanoven ninhydrinovou metodou a MDA jako produkt lipidové peroxidace reakcí s kyselinou thiobarbiturovou, viz tab. 1. Data byla vyhodnocena třífaktorovou ANOVA a Tukeyho HSD testem při $p \leq 0,05$.

Skupina	Parametry	Metoda / přístroj
Výměna plynů	Fotosyntéza, transpirace	IRGA LCpro+ SD
Pigmenty	Chl a, Chl b, Chl a+b, karotenoidy	DMF, spektrofotometrie podle Porra et al. /4/
Fluorescence	Fv/Fm, Fv/F0	PAM fluorometr OS5p+
Vodní režim	Osmotický potenciál	WP4C, metoda rosného bodu
Stresové markery	Prolin, MDA	Bates et al. /5/; TBA metoda /6/

Tab. 1: Přehled sledovaných fyziologických a biochemických charakteristik.

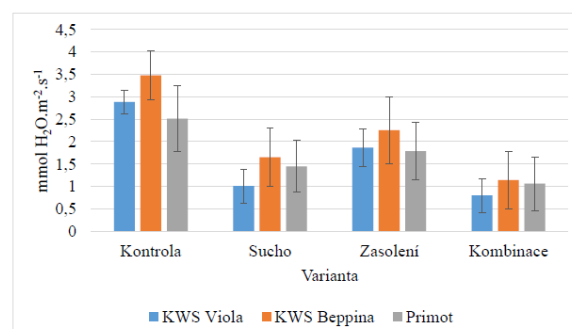
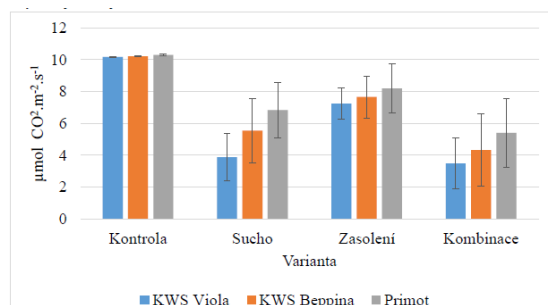
VÝSLEDKY A DISKUSE

Four Vodní deficit, zasolení i jejich kombinace významně ovlivnily všechny sledované skupiny parametrů. U fyziologických charakteristik převládal pokles hodnot, zatímco prolin a MDA se v reakci na stres akumulovaly. Rozdíly mezi genotypy byly patrné již při samostatném působení stresorů a nejvíce se zvýraznily v kombinované variantě. Současně se projevoval časový efekt: s prodlužující se dobou stresu se fotosyntetická výkonnost a vodní stav zhoršovaly a biochemické markery stresu narůstaly.

VÝMĚNA PLYNŮ

Rychlost fotosyntézy byla u kontrolních rostlin mezi genotypy podobná a pohybovala se přibližně kolem 10 $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Stres vedl k výraznému poklesu, přičemž nejnižší hodnota byla zaznamenána u KWS Viola při kombinovaném stresu (3,49 $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Primot si ve stejné variantě udržel 5,40 $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Také transpirace klesala; minimum 0,80 mmol $\text{H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ bylo zjištěno u KWS Viola, zatímco nejvyšší hodnotu v kombinovaném stresu dosáhla KWS Beppina (1,14 mmol $\text{H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Pokles výměny plynů

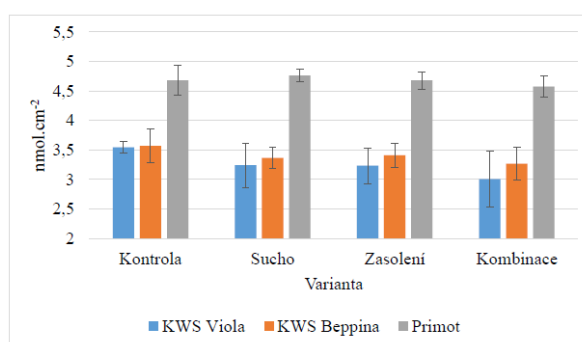
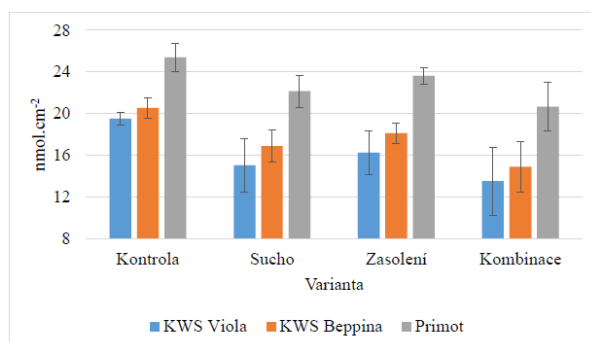
odpovídá omezení stomatální vodivosti a fotosyntetického metabolismu při osmotickém stresu /1,2/. Pokles fotosyntézy a transpirace při nedostatku vody je u řepy cukrové dobře doložen a při silnějším stresu se vedle stomatální regulace mohou uplatňovat také nestomatální omezení fotosyntézy /9/. Výraznější reakce kombinované varianty v našem pokusu proto pravděpodobně odráží souběh omezené dostupnosti vody a osmotické a iontové složky salinitního stresu. Současně je důležité, že rozsah poklesu nebyl u všech tří genotypů stejný, což podporuje využití výměny plynů při fyziologickém screeningu genotypové reakce.



Obr. 1: Rychlost fotosyntézy (vlevo) a transpirace (vpravo) tří genotypů řepy cukrové ve variantách kontrola, vodní deficit, zasolení a kombinovaný stres.

FOTOSYNTETICKÉ PIGMENTY

Obsah celkového chlorofylu byl nejvyšší u kontrolních rostlin Primot (25,37 nmol cm⁻²). Při kombinovaném stresu klesl u KWS Viola na 13,49 nmol cm⁻², zatímco Primot si udržel 20,65 nmol cm⁻². Obsah karotenoidů byl stabilnější než obsah chlorofylu a jeho reakce nebyla ve všech variantách jednoznačně klesající. Primot dosáhl nejvyšší hodnoty při vodním deficitu (4,76 nmol cm⁻²), velmi blízké kontrole (4,68 nmol cm⁻²), zatímco u KWS Viola byla při kombinovaném stresu zaznamenána hodnota 3,01 nmol cm⁻². Relativní stabilita karotenoidů může souviset s jejich fotoprotektivní a antioxidační funkcí, zatímco úbytek chlorofylu odráží narušení fotosyntetického aparátu při déletrvajícím stresu /2,3/. Obdobný pokles chlorofylu byl popsán u řepy cukrové vystavené vodnímu deficitu i salinitě /10,11/. Skutečnost, že karotenoidy reagovaly méně jednoznačně než chlorofyl, lze spojovat s jejich ochrannou funkcí při disipaci nadbytečné excitační energie a omezování oxidačního poškození. Vyšší zachování obou skupin pigmentů u Primot je přitom v souladu s jeho vyšší fotosyntetickou aktivitou.



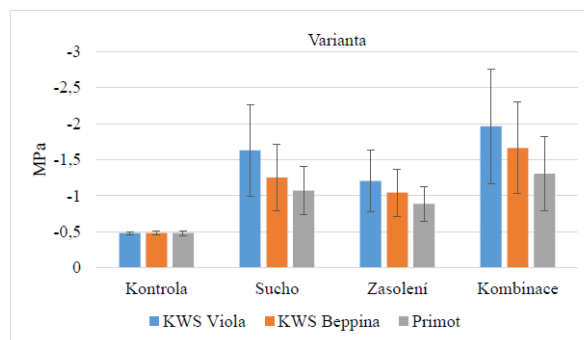
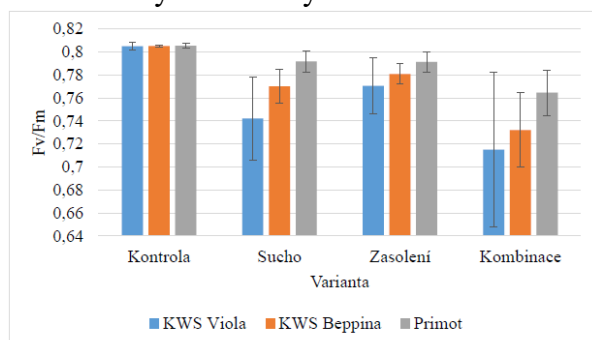
Obr. 2: Obsah celkového chlorofylu (vlevo) a karotenoidů (vpravo) u sledovaných genotypů a stresových variant.

FLUORESCENCE CHLOROFYLU A OSMOTICKÝ POTENCIÁL

Maximální kvantový výtěžek PSII (Fv/Fm) dosahoval u kontrolních variant hodnot kolem 0,80-0,81. Se zvyšující se intenzitou stresu se snižoval; nejnižší hodnota 0,71 byla zaznamenána u KWS Viola při kombinovaném stresu. Primot si ve stejné variantě udržel Fv/Fm 0,76. Obdobný trend vykazoval Fv/F0, který u KWS Viola klesl z 3,67 v kontrole na

2,35 při kombinovaném stresu, zatímco Primot dosahoval 3,25. Výsledky potvrzují, že kombinace vodního deficitu a salinity zasahovala nejen stomatální regulaci, ale při vyšší intenzitě také funkční stav PSII. U řepy cukrové bývá účinnost PSII při mírnějším vodním deficitu relativně stabilní a výraznější pokles se objevuje až při silnějším stresu [9]. Pokles F_v/F_m v kombinované variantě proto naznačuje, že stres již přesáhl úroveň čistě stomatální regulace. Menší změna u Primot současně odpovídá lepšímu zachování jeho fotosyntetického aparátu.

Osmotický potenciál se se zvyšující se stresovou zátěží posouval k negativnějším hodnotám. Kontrolní rostliny vykazovaly přibližně -0,48 MPa. Při kombinovaném stresu dosáhla KWS Viola -1,96 MPa, zatímco Primot si udržel méně negativní hodnotu -1,30 MPa. Tento rozdíl ukazuje na odlišnou schopnost genotypů udržovat vodní a osmotickou rovnováhu při současném nedostatku vody a zvýšené koncentraci solí. Řepa cukrová je schopna výrazné osmotické adjustace při salinitě, na níž se podílí akumulace anorganických iontů i kompatibilních osmolytů [12]. Negativnější hodnoty osmotického potenciálu proto nelze chápat pouze jako známku poškození, ale také jako součást adaptační reakce. V našem experimentu je však třeba tento ukazatel posuzovat společně s fotosyntézou, fluorescencí a biochemickými markery.

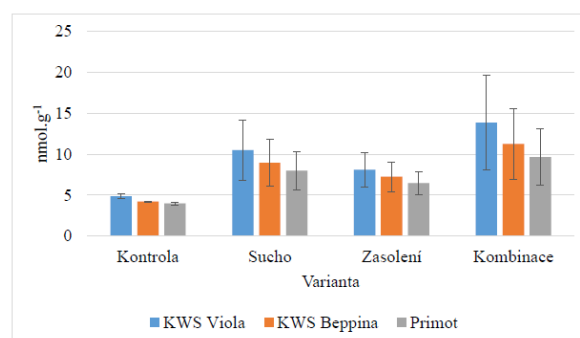
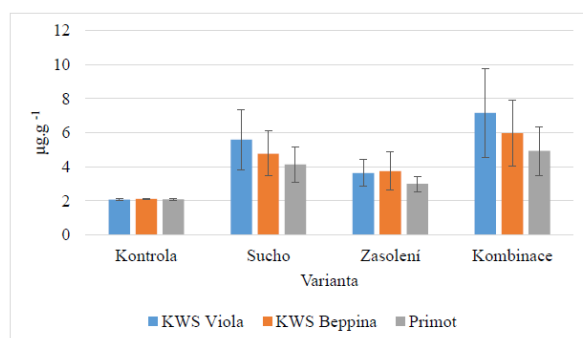


Obr. 3: Parametr fluorescence chlorofylu F_v/F_m (vlevo) a osmotický potenciál (vpravo) ve sledovaných variantách.

PROLIN A MALONDIALDEHYD

Biochemické markery reagovaly opačně než většina fyziologických parametrů. Obsah prolinu byl v kontrolních variantách přibližně $2,1 \mu\text{g g}^{-1}$ čerstvé hmoty a s intenzitou stresu narůstal. Při kombinovaném stresu dosáhl u KWS Viola $7,16 \mu\text{g g}^{-1}$, zatímco u Primot $4,93 \mu\text{g g}^{-1}$. Prolin se podílí na osmotické adjustaci, stabilizaci makromolekul a ochraně buněčných struktur, jeho vysoká akumulace však může současně odrážet intenzitu stresu [5,7]. U řepy cukrové byla akumulace prolinu popsána při vodním, osmotickém i solném stresu [13], což podporuje jeho využití jako citlivého markeru stresové zátěže. Vyšší koncentrace proto sama o sobě nemusí znamenat vyšší toleranci; v našem souboru naopak nejvyšší hodnoty doprovázely výraznější omezení fyziologických funkcí u KWS Viola.

MDA jako ukazatel lipidové peroxidace se rovněž zvyšoval. V kontrole dosahoval $3,95 \text{ nmol g}^{-1}$ u Primot a $4,86 \text{ nmol g}^{-1}$ u KWS Viola; při kombinovaném stresu vzrostl na $9,62$, resp. $13,90 \text{ nmol g}^{-1}$. Nižší akumulace MDA u Primot odpovídá menšímu oxidativnímu poškození membrán a je v souladu s jeho stabilnější fotosyntetickou aktivitou a fluorescenčními parametry [3,6,8]. Zvýšení MDA při salinitě bylo zaznamenáno také v dalších studiích řepy cukrové a souvisí s intenzifikací lipidové peroxidace při nadprodukci reaktivních forem kyslíku [11]. Vzájemná shoda nižšího MDA, vyšší fotosyntézy, vyššího obsahu chlorofylu a příznivější fluorescence u Primot je proto přesvědčivější než interpretace kteréhokoli z těchto znaků samostatně.



Obr. 4: Obsah prolinu (vlevo) a MDA (vpravo) u tří genotypů řepy cukrové v jednotlivých stresových variantách.

INTEGROVANÉ HODNOCENÍ GENOTYPOVÉ REAKCE

Výsledky ukazují, že fyziologické a biochemické ukazatele vytvářejí konzistentní obraz stresové odezvy. S prodlužující se dobou působení stresorů klesala rychlost fotosyntézy a transpirace, obsah chlorofylu a Fv/Fm a osmotický potenciál se stával negativnějším. Naproti tomu prolin a MDA postupně narůstaly a maxima dosahovaly v závěrečných fázích experimentu. Největší změny byly zaznamenány při kombinovaném působení vodního deficitu a zasolení; ze samostatně aplikovaných stresorů se výrazněji projevil vodní deficit.

Genotypová odezva nebyla založena na jediném znaku. Primot si při stresu udržoval vyšší rychlost fotosyntézy, vyšší obsah chlorofylu, vyšší Fv/Fm a méně negativní osmotický potenciál a současně vykazoval nižší akumulaci prolinu a MDA. KWS Viola reagovala výraznějším poklesem fyziologických parametrů a vyšším nárůstem stresových markerů, zatímco KWS Beppina zaujímala u většiny ukazatelů intermediární postavení. Pro praktický screening je proto vhodné spojit ukazatele fotosyntetické výkonnosti a vodního stavu s markery osmotické a oxidativní stresové odpovědi.

ZÁVĚR

Vodní deficit, zasolení a zejména jejich kombinované působení významně změnily fyziologický a biochemický stav řepy cukrové. Stres omezoval výměnu plynů, snižoval obsah chlorofylu a účinnost PSII, zhoršoval osmotický stav pletiv a současně zvyšoval akumulaci prolinu a MDA. Intenzita změn narůstala s délkou působení stresorů. Mezi genotypy byly zřetelné rozdíly: Primot vykazoval nejstabilnější soubor sledovaných charakteristik, KWS Viola nejvýraznější stresovou odezvu a KWS Beppina převážně přechodný profil. Výsledky potvrzují, že kombinace nedestruktivních fyziologických měření s biochemickými markery může být účinným nástrojem pro předvýběr genotypů řepy cukrové s odlišnou reakcí na abiotický stres. Pro ověření agronomického významu těchto rozdílů je vhodné navázat polními experimenty a hodnocením výnosu, cukernatosti a technologické kvality bulev.

LITERATURA

- /1/ Munns, R.; Tester, M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2008, 59, 651-681.
- /2/ Chaves, M.M.; Flexas, J.; Pinheiro, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann. Bot.* 2009, 103, 551-560.
- /3/ Gill, S.S.; Tuteja, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 2010, 48, 909-930.
- /4/ Porra, R.J.; Thompson, W.A.; Kriedemann, P.E. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b. *Biochim. Biophys. Acta* 1989, 975, 384-394.
- /5/ Bates, L.S.; Waldren, R.P.; Teare, I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 1973, 39, 205-207.
- /6/ Du, Z.; Bramlage, W.J. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. *J. Agric. Food Chem.* 1992, 40, 1566-1570.
- /7/ Szabados, L.; Saviouré, A. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends Plant Sci.* 2010, 15, 89-97.
- /8/ Morales, M.; Munné-Bosch, S. Malondialdehyde: facts and artifacts. *Plant Physiol.* 2019, 180, 1246-1250.

- /9/ Bloch, D.; Hoffmann, C.M.; Märlander, B. Impact of water supply on photosynthesis, water use and carbon isotope discrimination of sugar beet genotypes. *Eur. J. Agron.* 2006, 24, 218-225.
- /10/ Hossain, M.S.; et al. Physiological and biochemical changes in sugar beet seedlings to confer stress adaptability under drought condition. *Plants* 2020, 9.
- /11/ Li, J.; et al. Whole-transcriptome RNA sequencing reveals global molecular responses to salt stress in sugar beet (*Beta vulgaris*). *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 289.
- /12/ Katerji, N.; et al. Adjustment, growth, photosynthesis and transpiration of sugar beet plants exposed to saline conditions. *Field Crops Res.* 1985, 10, 1-13.
- /13/ Gzik, A. Accumulation of proline and pattern of alpha-amino acids in sugar beet plants in response to osmotic, water and salt stress. *Environ. Exp. Bot.* 1996, 36, 29-38.

Poděkování

Výzkum byl podpořen S grantem MŠMT.

THE CHANGES IN PLANT GROWTH-PROMOTING PROPERTIES AND GROWTH OF THE YEAST *PAPILIOTREMA TERRESTRIS* UNDER VARIOUS pH CONDITIONS

ZMENY VLASTNOSTÍ A SCHOPNOSTI RASTU KVASINKY (*PAPILIOTREMA TERRESTRIS*) STIMULUJÚCEJ RAST RASTLÍN VPLYVOM ROZDIELNYCH pH PODMIENOK

Eva Labancová, Ágnes Feledi, Zuzana Vivodová, Marko Bajus, Renáta Vadkertiová
Department of Glycobiotechnology, Institute of Chemistry of Slovak Academy of Sciences,
Dúbravská cesta 5807/9, 845 38 Bratislava, Slovakia, eva.labancova@savba.sk

Summary

A decisive environmental factor affecting both plants and soil or water microorganisms is pH. The pH is fundamental to any water, water-containing, or water-like medium and is linked to the concentration of hydrogen ions. Plants and microorganisms depend on the pH of the substrate because it affects nutrient availability and osmotic processes. In this study, we assessed the ability of plant growth-promoting yeast *Papiliotrema terrestris* to grow in liquid media with different compositions and pH 4.2, 6.2, or 8.2. We also compared its ability to produce indole-3-acetic acid to the medium. Furthermore, the changes in root and shoot fresh and dry biomass were determined in maize (*Zea mays* L.) plants after the application of yeasts under various pH conditions. We found that the yeast changes its biostimulant potential in various pH levels, and while alkaline pH has a devastating effect on its growth, it also prompts the yeast to improve the plant growth to a greater extent.

Keywords: biostimulant, indole-3-acetic acid, maize, pH of the substrate, yeast

Súhrn

Kvôli Dôležitým faktorom, ktorý ovplyvňuje prostredie rastlín a mikroorganizmov, je pH. Tento faktor je základný pre každé vodu-obsahujúce alebo vodné prostredie, pričom je spojený s koncentráciou vodíkových iónov. Rastliny a mikroorganizmy sú závislé na pH, pretože ovplyvňuje dostupnosť živín a osmotické procesy. V tejto štúdii sme sa zamerali na schopnosť kvasinky podporujúcej rast-rastlín (*Papiliotrema terrestris*) množiť sa v tekutých médiách s rozdielnym zložením a pri rozdielnom pH (4,2; 6,2; 8,2). Taktiež sme stanovili jej schopnosť produkovať kyselinu indol-3-octovú v rôznych médiách. Zistili sme aj rozdiely v čerstvej a suchej hmotnosti listov a koreňov kukurice satej (*Zea mays* L.) rastúcej v prítomnosti rozdielneho pH po aplikácii kvasinky. Zistili sme, že biostimulačný potenciál kvasinky sa mení pri rôznych hodnotách pH prostredia. Aj napriek tomu, že pH 8.2 pôsobilo negatívne na samotnú kvasinku, v tomto prostredí dochádzalo k najvyššej stimulácii rastu kukurice.

Kľúčové slová: biostimulant, indol-3-octová kyselina, kukurica, kvasinka, pH prostredia

INTRODUCTION

There are multiple life-limiting environmental factors that can, in the majority, change the organism's ability to thrive and reach the reproductive stage. One of these factors is pH, which measures the hydrogen ion concentration in the substrate (usually water/liquid) and defines if the environment is acidic or alkaline. Soil pH influences overall soil chemistry and physiological processes and can be categorised from ultra-acidic (<3.5) to strongly alkaline (>9.0) [1]. The acidity of the soil increases due to organic matter decomposition, rainfall, the

application of fertilisers and other chemicals, while soil alkalization can result from silicate/aluminosilicate weathering, the decomposition of molecules containing high amounts of Na⁺, Mg²⁺, etc., or from irrigation with water containing bicarbonates /2/.

In general, microorganisms respond to acidic pH by consuming excess protons via decarboxylation, by producing molecules that counteract the acidity, or by actively pumping H⁺ out of the cell at the expense of energy. Yeasts can also alter the composition of the cytoplasmic membrane, thereby reducing its permeability to protons /3/. The alkalization, on the contrary, triggers different strategies in yeasts. For instance, various signalling pathways that lead to the transcription of defence molecules are activated, and ATP pumps are overstimulated to ensure maximal proton influx into the cell. Furthermore, the cell wall undergoes compositional changes, and a starvation-like response occurs, trapping scarce essential elements within the cell /4, 5/. Furthermore, plants can suffer from non-optimal pH conditions, which alter the uptake and translocation of mineral nutrients and increase reactive oxygen species concentrations; consequently, chlorosis and biomass reduction occur /6, 7/.

In this study, we characterised the response of the plant growth-stimulating yeast *Papiliotrema terrestris* to various media pH levels. We assessed its ability to grow and divide in the standard YPD (yeast extract, peptone, and dextrose) medium or in YPD without sugar, at pH levels of 4.2, 6.2, and 8.2. Previously, we demonstrated that *P. terrestris* CCY 17-29-1 produces indole-3-acetic acid (IAA) in the medium /8/; hence, we aimed to assess the effects of the specified pH levels. Lastly, we applied the yeast to maize grains (*Zea mays* L.) and determined the germination rate and biomass (fresh and dry) production of both roots and leaves.

MATERIALS AND METHODS

All cultivations (yeasts and plants) were conducted in vitro in controlled laboratory conditions. The yeast strain *Papiliotrema terrestris* CCY 17-29-1 was obtained from the Culture Collection of Yeasts (CCY), Institute of Chemistry SAS. Before its usage in the experiment, it was cultivated on malt extract agar (70 g l⁻¹ malt extract, 2 g l⁻¹ glucose, 15 g l⁻¹ agar) for 5 days at 20 °C. Afterwards, the yeasts were carefully harvested from agar and suspended in sterile double-distilled water to create the primary suspension. A Burkert's chamber was used to estimate the concentration of yeasts.

To assess the ability of yeasts to grow in media with various pH values, we mixed 100 µl of the primary suspension with 5 ml of YPD medium (0.1 g glucose, 0.05 g yeast extract, 0.1 g peptone), 5 ml of YPD-sugar medium (no glucose), 5 ml of Hoagland medium (composition in /9/), and 5 ml of Hoagland+sugar medium (added 0.1 g of glucose) all with pH values 4.2, 6.2, or 8.2. The yeasts were cultivated on a shaker (100 rpm at 27 °C), and the cell biomass was measured spectrophotometrically at 660 nm for 7 days at 24 hour intervals. To estimate the rate of cell division, a final concentration of yeasts in the suspensions was determined (in Burkert's chamber).

To determine the yeast's ability to produce IAA in the media, 5 ml of the primary suspension was added to 100 ml of YPD media (pH values adjusted to 4.2, 6.2 or 8.2) with or without the addition of D-tryptophan in a 0.1% (w/v) concentration, and the suspensions were cultivated on a shaker (200 rpm at 23 °C) for 7 days. The suspension was centrifuged and used to determine the IAA excretion to the media using Salkowski reagent (35% perchloric acid and 0.5 M FeCl₃ in the ratio 5 : 1), and the colour change was recorded spectrophotometrically at 530 nm. The concentration of IAA was estimated based on the IAA calibration curve /8/.

Finally, the primary yeast suspension was diluted with sterile double-distilled water to a final concentration of 10⁴ yeast cells ml⁻¹. This suspension was used to imbibe maize grains (*Zea mays* L.) hybrid Luciana. In the previous step, the grains were surface-decontaminated following the protocol described by Labancová et al. /8/. The grains were then transferred to

Erlenmeyer flasks (volume 0.5 l) containing Hoagland solution strengthened with agar (0.8 g of agar per litre of media) and left to germinate and grow in a cultivation chamber (temperature 25 °C, 60% humidity, 16 h photoperiod, light intensity 45–60 E m⁻² s⁻¹) for 3 (germination) + 7 days.

The statistical analyses used Tukey's test after a one-way analysis of variance (ANOVA) utilising the software JASP Team /10/ (JASP, Version 0.98.0).

RESULTS AND DISCUSSION

The growth rate of *P. terrestris* was the steepest and the most optimal in standard YPD media at neutral pH (6.2), followed by standard YPD media at acidic pH (4.2), and by YPD media at alkaline pH (8.2) (Fig. 1). Although the yeasts in both the YPD-sugar (4.2 pH) and YPD-sugar (6.2 pH) showed a growth spurt between 24 hours and 48 hours, afterwards, their growth majorly decreased. On the contrary, all samples containing Hoagland medium showed no growth dynamics, while the YPD-sugar (8.2 pH) showed no or too little growth spurt. We also assessed the ability of the yeasts to divide in the mentioned media. As evident from Fig. 1, the yeasts in Hoagland media did not divide at all, which is why we omitted this measurement. It is primarily linked to yeast's preference for carbon and nitrogen sources /11/.

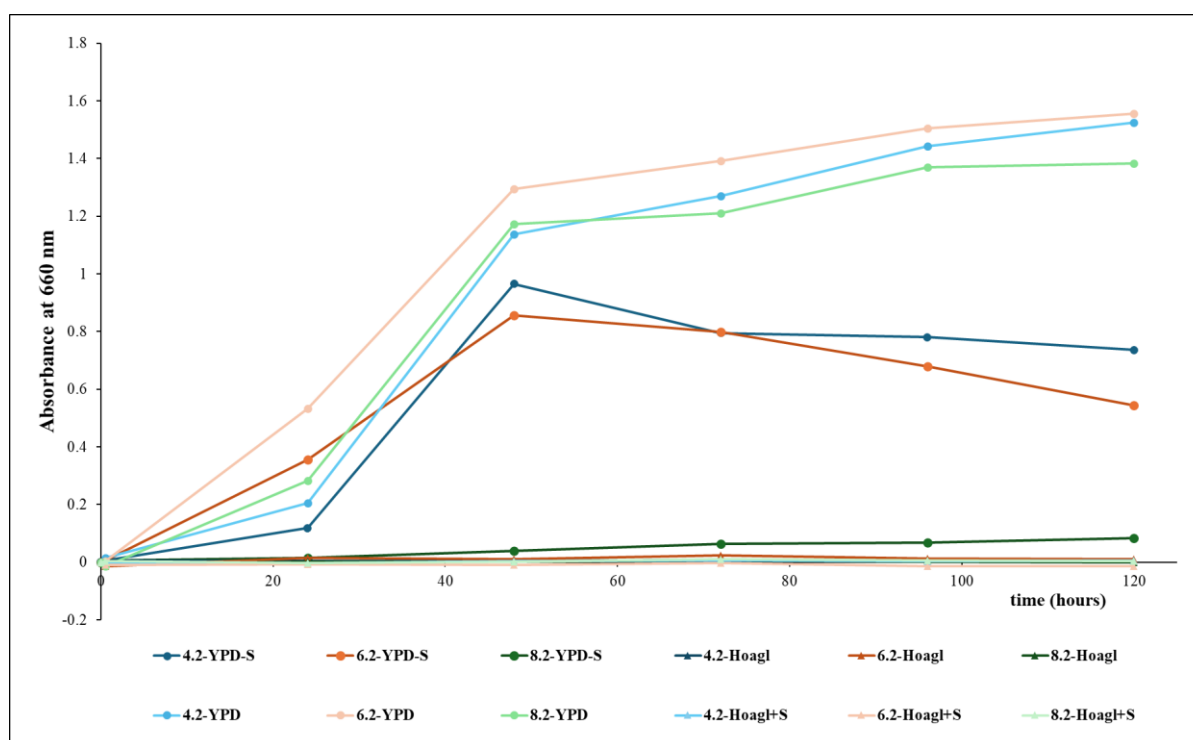


Fig 1: The growth curve over 120 hours of cultivation of *P. terrestris* in various media. Treatments (media): standard YPD media with various pH (4.2-YPD, 6.2-YPD, 8.2-YPD), YPD media without sugar (4.2-YPD-S, 6.2-YPD-S, 8.2-YPD-S), standard Hoagland media (4.2-Hoagl, 6.2-Hoagl, 8.2-Hoagl), Hoagland media with sugar (4.2-Hoagl+S, 6.2-Hoagl+S, 8.2-Hoagl+S).

The highest increase in yeast concentration was found in standard YPD media at pH 6.2 and at pH 4.2 (Fig. 2). In the YPD media without the addition of sugar, the yeast has divided in the lower extent than in the standard YPD media. In the 4.2-YPD-S and 6.2-YPD-S media, the final concentration of yeasts was lower by 53% and by 70%, respectively, compared to standard media. Opposite trend was found in 8.2-YPD-S and 8.2-YPD media; however, overall, the lowest increase in yeast concentration was found in alkaline pH. These differences

might be explained by the natural preference of *Papiliotrema* (*Cryptococcus* spp.) yeast strains for slightly acidic and neutral pH /12,13/.

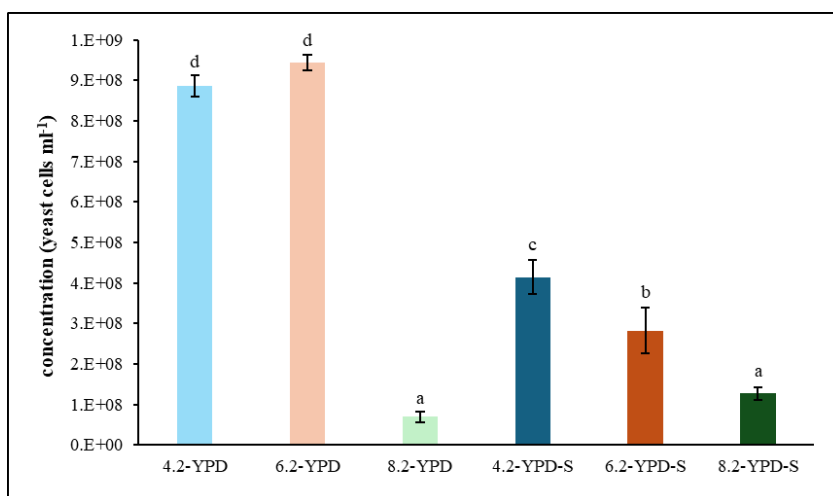


Fig 2: Increase in *Papiliotrema terrestris* concentration after 120 hours of cultivation across various media. Treatments (media): standard YPD media with various pH (4.2-YPD, 6.2-YPD, 8.2-YPD), YPD media without sugar (4.2-YPD-S, 6.2-YPD-S, 8.2-YPD-S). The values: means $\pm$ standard error, while different letters indicate statistical differences at $p < 0.05$.

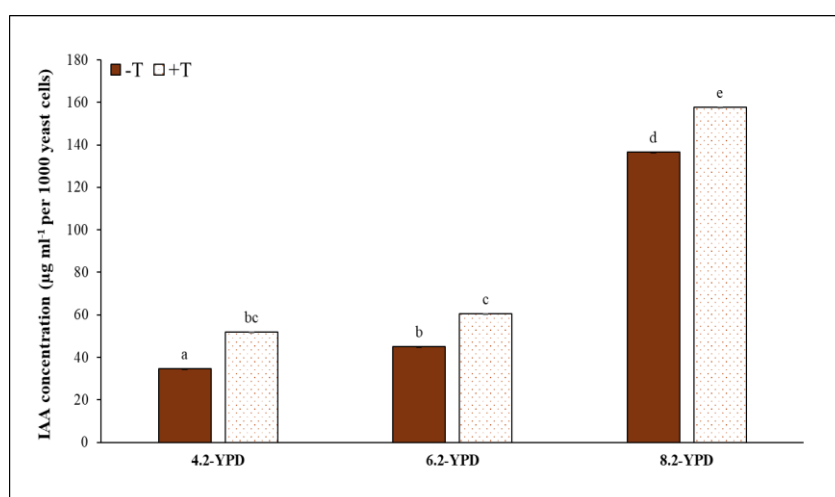


Fig 3: The production of indole-3-acetic acid by *Papiliotrema terrestris* in YPD media with various pH values after 7 days of cultivation. Treatments (media): standard YPD media with various pH values (4.2-YPD, 6.2-YPD, 8.2-YPD); the addition of L-tryptophan is characterised as -T/+T. The values: means $\pm$ standard error, while different letters indicate statistical differences at $p < 0.05$.

In our previous study, we confirmed that the yeast strain *P. terrestris* CCY 17-29-1 can produce IAA in the medium, and that production depends on the availability of L-tryptophan /8/. Here, we found that *P. terrestris* produces varying amounts of IAA in media at different pH levels. The lowest concentration was detected in 4.2-YPD medium without L-tryptophan, whereas the highest was found in 8.2-YPD medium supplemented with L-tryptophan (almost 3.5 times higher) (Fig. 3). The differences in the IAA-production response by yeasts exposed to various pH might be caused by the role of IAA accumulation in eucaryotic cells. High internal concentrations of IAA cause growth and division arrest in non-optimal and harsh conditions /14/. This is in accordance with the slow growth and division of yeasts in 8.2 pH (Fig.1; Fig. 2). Tryptophan is known as an IAA precursor both in plants and in yeasts, even though tryptophan-independent biosynthetic pathways exist /15/. The

addition of this precursor caused the largest increase in IAA production in the YPD medium at pH 4.2 (a 50% increase).

In maize plants treated with *P. terrestris*, biomass differed compared to untreated plants (Fig. 4A, 4B). A slight increase in fresh leaf and root biomass occurred after the application of the yeast. However, a statistically significant difference - an increase by 47% - was found for fresh root biomass at pH 8.2. A different trend was observed for dry mass; the only significant difference was detected between the treated and untreated plants at pH 4.2 (an increase of 18%). This can result from markedly elevated IAA production by yeasts at alkaline pH (Fig. 3). Previously, an increase in auxin concentration in the plant substrate increased maize biomass, e.g., root length /16/.

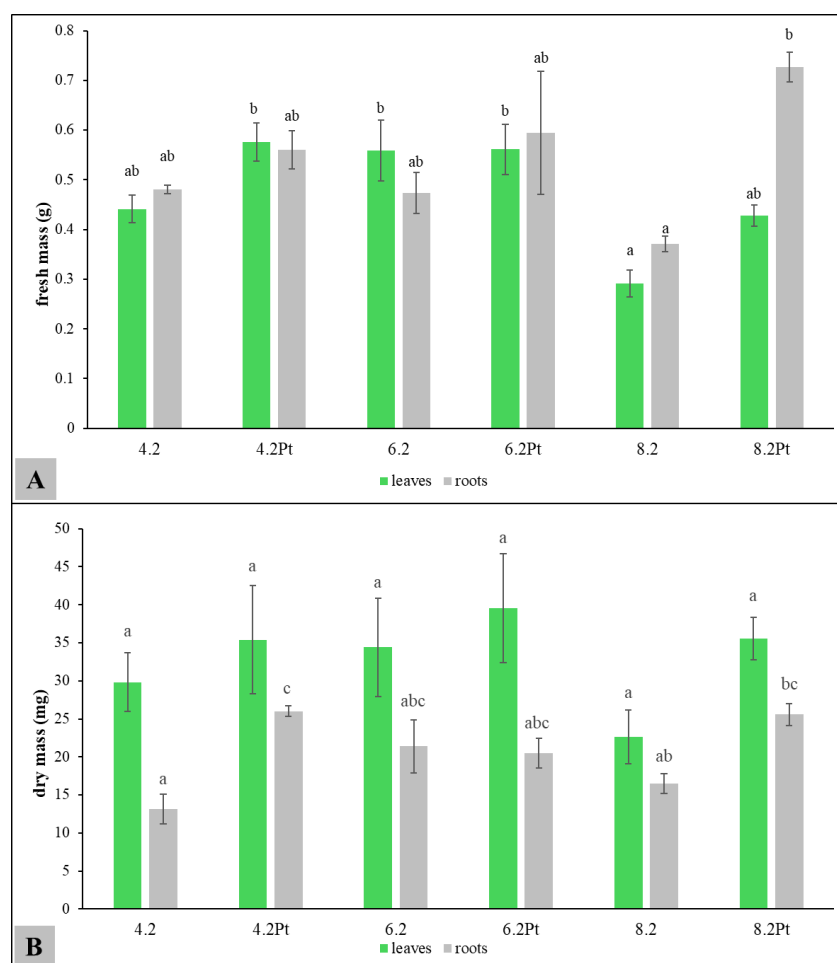


Fig 4: The fresh (A) and dry mass (B) of roots and leaves of maize plants cultivated in media with various pH values after 10 days of cultivation. Treatments: yeast-untreated plants in standard Hoagland media with various pH values (4.2, 6.2, 8.2); or yeast-treated plants (4.2Pt, 6.2Pt, 8.2Pt). The values: means $\pm$ standard error, while different letters indicate statistical differences at $p < 0.05$.

CONCLUSION

There is little information on the impact of pH on the co-cultivation of yeasts and plants. In this study, we found that the yeast *Papiliotrema terrestris* CCY 17-29-1 thrives best in standard yeast media (YPD) at neutral or acidic pH, whereas alkaline pH causes growth deterioration. Furthermore, the yeasts are unable to divide optimally in media at pH 8.2, regardless of the presence of sugar. Although this yeast is considered a maize growth stimulant, its beneficial impact depends on the pH of the medium. The most pronounced positive effect on plant biomass was observed at pH 8.2, which can probably be explained by increased IAA production by yeast in the media.

REFERENCES

- /1/ Soil Survey Staff. Soil survey laboratory methods manual. In: Burt R, editor. Soil Survey Investigations Report No. 42, Version 5.0. 5th ed. U.S. Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service. 2014. pp. 276–279.
- /2/ Oshunsanya, S.O., Li, Y., Yu, A.: Introductory Chapter: Soil physical properties. In: Soil Physical Properties. IntechOpen, 2018.
- /3/ Lund, P.A., De Biase, D., Liran, O. et al.: Understanding how microorganisms respond to acid pH is central to their control and successful exploitation. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2020: 556140.
- /4/ Hayashi, M., Fukuzawa, T., Sorimachi, H. et al.: Constitutive activation of the pH-responsive Rim101 pathway in yeast mutants defective in late steps of the MVB/ESCRT pathway. *Molecular and Cellular Biology*, 25, 2005: 9478–9490.
- /5/ Serra-Cardona, A., Canadell, D., Ariño, J.: Coordinate responses to alkaline pH stress in budding yeast. *Microbial Cell*, 2, 2015: 182–196.
- /6/ Fang, S., Hou, X., Liang, X.: Response mechanisms of plants under saline-alkali stress. *Frontiers in Plant Science*, 12, 2021: 667458.
- /7/ Matsumoto, S., Shimada, H., Sasaoka, T. et al.: Effects of acid soils on plant growth and successful revegetation in the case of mine site. In: Oshunsanya, S. (ed.) *Soil pH for Nutrient Availability and Crop Performance*. IntechOpen, 2017.
- /8/ Labancová, E., Šípošová, K., Kučerová, D. et al.: The tremellaceous yeast: *Papiliotrema terrestris*—as the growth stimulant of maize plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42, 2023: 3835–3850.
- /9/ Hoagland, D.R., Arnon, D.I.: The water culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station Circular*, 347, 1938: 1–32.
- /10/ JASP Team (2026). JASP (Version 0.98.0)[Computer software].
- /11/ Mattenberger, F., Fares, M.A., Toft, C. et al.: The role of ancestral duplicated genes in adaptation to growth on lactate, a non-fermentable carbon source for the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 2021: 12293.
- /12/ Vieira, N.M., Dos Santos, R.C.V., de Castro Germano, V.K. et al.: Isolation of a new *Papiliotrema laurentii* strain that displays capacity to achieve high lipid content from xylose. *3 Biotech*, 10, 2020: 382.
- /13/ Fu, M.S., Coelho, C., De Leon-Rodriguez, C.M., Rossi, D.C.P. et al.: *Cryptococcus neoformans* urease affects the outcome of intracellular pathogenesis by modulating phagolysosomal pH. *PLOS Pathogens*, 14, 2018: e1007144.
- /14/ Nicastro, R., Raucci, S., Michel, A.H. et al.: Indole-3-acetic acid is a physiological inhibitor of TORC1 in yeast. *PLOS Genetics*, 17, 2021: e1009414.
- /15/ Bunsangiam, S., Sakpuntoon, V., Srisuk, N. et al.: Biosynthetic pathway of indole-3-acetic acid in basidiomycetous yeast *Rhodospiridiobolus fluvialis*. *Mycobiology*, 47, 2019: 292–300.
- /16/ Šípošová, K., Kollárová, K., Lišková, D. et al.: The effects of IBA on the composition of maize root cell walls. *Journal of Plant Physiology*, 239, 2019: 10–17.

Acknowledgments

This work was funded by the grant scheme of the Slovak Academy of Sciences, PostdokGrant, number APD0240 – “Connections between yeast-produced metabolites and plant nutrient balance”.

LABORATORNÍ KLÍČIVOST SLÉZU PIŽMOVÉHO (*MALVA MOSCHATA*) NA ZÁKLADĚ TERMÍNU A TECHNOLOGIE SKLIZNĚ – PILOTNÍ STUDIE

LABORATORY GERMINATION OF MUSK MALLOW (*MALVA MOSCHATA*) AS AFFECTED BY HARVEST TIMING AND HARVEST TECHNOLOGY – A PILOT STUDY

Jaroslav Lang

Zemědělský výzkum, spol. s r. o., Zahradní 1, Troubsko, 66441, lang@vupt.cz

Summary

The results showed generally low germination of musk mallow (*Malva moschata*) seeds, with a mean germination rate of 30%. Germination was higher in seeds from second harvests, with the highest values recorded in October. This may have been related to lower temperatures during later harvest periods, although this effect was not experimentally verified. Heat treatment increased mean germination from 24% to 34%, and germination generally increased with storage duration. Second harvests, appropriate harvest timing, and heat treatment appear promising for improving seed germination. These results represent preliminary findings of a pilot study and require further verification.

Keywords: musk mallow, seed production, germination, seed dormancy, heat treatment

Souhrn

Výsledky pokusu ukázaly obecně nízkou klíčivost semen slézu pižmového (*Malva moschata*), jejíž průměrná hodnota dosáhla 30 %. Klíčivost ovlivnil mj. termín sklizně; semena z druhých sklizní vykazovala vyšší klíčivost než semena z první sklizně. Vyšší klíčivost mohla souviset také s působením nižších teplot v pozdějších termínech sklizně, jejichž vliv však nebyl experimentálně ověřen. Tepelné ošetření před zkouškou klíčivosti zvýšilo průměrnou klíčivost z 24 % na 34 %. U většiny variant se s prodlužující dobou skladování klíčivost zvyšovala. Pro vyšší klíčivost se jako perspektivní jeví využití druhých sklizní, důležité je vhodné načasování sklizně a tepelné ošetření osiva před vlastní zkouškou klíčivosti. Výsledky představují prvotní poznatky pilotní studie, které vyžadují další experimentální ověření, včetně zkoušek vzházivosti v substrátu.

Klíčová slova: sléz pižmový, produkce osiva, klíčivost, dormance semen, tepelné ošetření

ÚVOD

Sléz pižmový (*Malva moschata* L., *Malvaceae*) je dvouletou až vytrvalou bylinou dorůstající velikosti 0,3 až 1 m, kvete výraznými růžovými nebo bílými květy a v krajině je nápadný. Je rostlinou světlých míst a vyskytuje se na vytrvalých teplomilných rudérálních stanovištích a na loukách a mezofilních pastvinách od nížin až po horské oblasti [1]. Plodem je diskovitý poltivý plod rozpadající se na 10–15 jednosemenných merikarpíí.

V pícninářské oblasti se v současné době trvalým travním porostům navrácí pozornost a bývají intenzivně obhospodařovány. Obnova, resp. přísevy nabývají na významu. Pro tyto účely je na trhu velké množství pícninářských směsí s úzkou druhovou základnu, bývají sestaveny z několika druhů trav a jetelovin. To z toho důvodu, že jednak jsou to druhy s vysokou dietetickou hodnotou a osivo je relativně levné. S přidáváním dalších komponent (bylin), jejichž výroba osiv je okrajovou záležitostí, se osivo výrazně prodražuje. Nicméně z pohledu biodiverzity je důležité tuto druhovou základnu rozšiřovat o složku bylin s ohledem na kvalitu píce v porostu a na cenu osiva. U slézu pižmového se dá usuzovat, že produkce

osiva nebude ekonomicky nijak zvlášť náročná. Proto byly vyšlechtěny a právně ochráněny růžově kvetoucí odrůda Rokyt a bíle kvetoucí odrůda Nedvezan.

Sléz pižmový najde uplatnění také ve směsích do sadů a vinic, kde bývají často kladeny nároky kromě funkčnosti také na estetický dojem porostu. Sléz může být zařazován do směsí v rámci Greeningu (medonosný úhor, souvratě, vodoteče) i v rámci Agroenvironmentálních opatření (př. nektarodárné a krmné biopásky).

Sléz pižmový patří mezi rostliny produkující značné množství pylu i nektaru /2/, proto bývá vyhledáván a hojně navštěvován opylovateli. Pro svůj obsah slizu bývá využíván i v oblasti medicíny, jeho vlastnosti bývají spíše odvozovány od jiných druhů slézů. Další účinné látky jsou předmětem dalšího studia /3/

Sléz pižmový je svým habitem i barvou květů nepřehlédnutelný a podílí se na rázu krajiny. V určitém smyslu může mít v porostech stejný nebo i vyšší význam společensko - estetický než dietetický, bez ohledu na to, do jakých směsí a na jaká stanoviště je zařazován.

MATERIÁL A METODY

Na přelomu července a srpna 2024 byl v Troubsku založen semenářský porost odrůdy Rokyt výsadbou 483 předpěstovaných sazenic na ploše 150 m². V dubnu 2025 byl výsevem (10 kg × ha⁻¹) založen další porost stejné odrůdy na ploše 112,5 m². Porost založený v roce 2024 byl sklizen ve dvou termínech: 14. 7. 2025 jednofázově maloparcelovým kombajnem Hege a druhá sklizeň ručně, probírkou zralých poltivých plodů. Porost založený v roce 2025 byl při první sklizni sklizen na zeleno. Po první sklizni znovu obrůstal, kvetl a vytvořil semena. Druhé sklizně proběhly 11. 11. 2025 ručně probírkou a 21. 11. 2025 po prvních mrazech stroje.

Sléz pižmový vytváří řídké vrcholičnaté květenství s postupným nakvétáním a dozráváním plodů, které zpravidla postupuje od spodních a dříve vytvořených květů k pozdějším květům ve vyšších částech rostliny. Stanovení optimálního termínu mechanizované sklizně je proto obtížné. Za vhodný byl stanoven stav, kdy je min. 80 % plodenství hnědých. V této fázi semena při sklizni samovolně nevypadávají a podíl zelených nečistot v osivu je nižší. Vzhledem k nestejnomořné zralosti semen může při mechanizované sklizni docházet k podtržení nezralých semen a způsobit nižší klíčivost vzorku.

Zkoušky klíčivosti byly provedeny podle metodiky zkoušení osiva a sadby /4/, vždy se 100 semeny. Hodnoceny byly dvě varianty: neošetřené osivo a osivo předem ošetřené suchým teplem 70 °C po dobu 180 minut za účelem odstranění dormance (metoda nepublikována). Cílem bylo posoudit vliv technologie a termínu sklizně a tepelného ošetření na klíčivost semen slézu pižmového.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Nehnojený Zjištěné klíčivosti jsou obecně nízké (tab. 1) ve srovnání s jinými zemědělskými plodinami. Průměrná hodnota klíčivosti všech variant je 30 %, medián 29. Dostupných vědeckých poznatků o klíčivosti *Malva moschata* není mnoho. Nízká klíčivost nebyla zjištěna pouze u slézu pižmového. Ve výsledcích ji také uvádí Mikhailova et al. /5/, u slézu přeslenitého (*Malva verticillata*) kde u neošetřeného osiva byla klíčivost 29 %. Také Ansari et al. /6/, se zabývali klíčivostí u slézu lesního (*Malva sylvestris*). Ta vykazovala klíčivost po sklizni u neošetřených semen 4%, v průběhu devítiměsíčního skladování (20 °C) se výrazně neměnila. Maximální klíčivosti bylo dosaženo v osmém měsíci skladování a to 5,33 %. V ostatních měsících byly hodnoty téměř rovny nule.

Při sklizni semen je důležité načasování termínu sklizně, tak aby semena byla zralá, klíčivá a zároveň aby na rostlině stále držela a nevypadávala při manipulaci před sklizečem. Z výsledků vyplývá, že při ručních sklizních probírkou byla klíčivost 33 %, při použití sklizeče byla 27 %. Rozdíl v tomto případě nemusí být dán pouze technologií sklizně, ale i termínem sklizně. Z výsledků je patrné, že semena získaná při druhých sklizních, bez ohledu na způsob

sklizně, vykazovala vyšší klíčivost (30 % a výše), než semena získaná při první sklizni (20 %) (var. 4, 5, 6). To je v souladu s běžnou semenářskou praxí víceletých píceň, kdy osiva např. jetele a vojtěšky jsou získávány z druhé a dalších sklizní, protože předchozí seč vede k vyrovnanějšímu porostu, rovnoměrnějšímu kvetení a omezení poléhání /7/. Tomu by odpovídaly i výsledky klíčivosti u variant 1, 2, 3, sklizené v říjnu, u kterých byla zjištěno nejvyšší procento klíčivosti (37 %). Určitý vliv na prolomení dormance mohou mít také nižší teploty v době říjnových a listopadových termínů sklizní. Toto ale nebylo součástí záměru této práce. Z prvotních výsledků lze konstatovat, že zvolený způsob určení mechanizované sklizně (80 % plodenství je hnědých), je vhodný.

Tab. 1: Klíčivost semen slézu na základě technologie sklizně a tepelného ošetření

varianta č.	rok zásevu	způsob sklizně	termín sklizně	tepelné ošetření	datum zkoušky	Procento klíčivosti [%]	počet dní od sklizně ke zkoušce klíčivosti
1	2024	ručně	03.10.2025	ano	08.12.2025	36	67
2	2024	ručně	03.10.2025	ano	26.01.2026	52	116
3	2024	ručně	03.10.2025	ne	26.01.2026	22	116
průměr 2024 ručně						37	
medián 2024 ručně						36	
4	2024	strojově	14.07.2025	ano	08.12.2025	17	148
5	2024	strojově	14.07.2025	ano	26.01.2026	28	197
6	2024	strojově	14.07.2025	ne	26.01.2026	15	197
průměr 2024 strojově						20	
medián 2024 strojově						17	
7	2025	ručně	11.11.2025	ano	02.12.2025	27	22
8	2025	ručně	11.11.2025	ano	26.01.2026	39	77
9	2025	ručně	11.11.2025	ne	21.11.2025	30	11
10	2025	ručně	11.11.2025	ne	26.01.2026	22	77
průměr 2025 ručně						30	
medián 2025 ručně						29	
11	2025	strojově	21.11.2025	ano	24.11.2025	31	4
12	2025	strojově	21.11.2025	ano	26.01.2026	45	67
13	2025	strojově	21.11.2025	ne	03.12.2025	14	13
14	2025	strojově	21.11.2025	ne	26.01.2026	42	67
průměr 2025 strojově						33	
medián 2025 strojově						37	
průměr celkem ošetřeno						34	
průměr celkem neošetřeno						24	
průměr celkem ručně						33	
medián celkem strojově						27	
průměr celkem						30	
medián celkem						29	

Tepelné ošetření semen v pokuse vychází z dlouhodobých zkušeností při zkouškách klíčivosti u *Malva verticillata*. Z výsledků je zřejmé, že zvyšuje klíčivost i u *Malva moschata*. Průměrná klíčivost tepelně neošetřeného osiva je 24 %, u osiva ošetřeného 34 %. Tepelné ošetření u slézů není jedinou možností ošetření před zkouškou klíčivosti. Mikhailova et al. /5/ uvádějí u *Malva verticillata* klíčivost až 84 % při použití skarifikace. Dále Ansari et al. /6/, kteří se zabývali prolomením dormance u slézu lesního (*Malva sylvestris*), dosáhli vyšších hodnot klíčivosti při tzv. metodě sušení, která spočívala v tom, že po standardním testu klíčivosti byla nevyklíčená semena přenesena na suchý filtrační papír a umístěna do exsikátoru nad silikagelem při pokojové teplotě. Po pěti dnech byly filtrační papíry navlhčeny a klíčivost těchto semen byla znovu testována při 20 °C. Toto ošetření simuluje alternativní sušení a smáčení semen v přirozených podmínkách. V našich zkouškách by takovéto stanovení nebylo možné, protože semena během zkoušky byla napadána a znehodnocována plísněmi a k závěrečnému určení počtu tvrdých semen nepomohlo ani pasážování a oplach v

roztoku 3% Sava. Autoři dále uvádějí, že nejúčinnější se jeví skarifikace pomocí smirkového papíru (92 %), nebo kyseliny sírové (97,3 %). To podporuje závěry Finch-Savage a Leubner-Metzger /8/, kteří uvádějí, že semena čeledi *Malvaceae* nejsou pouze ve fyziologicky dormantním stavu, jsou fyzicky dormantní nebo mají kombinovanou dormanci (fyzická + fyziologická dormance). Van Assche et al. /9/ zjistili, že ne všechny druhy slézů mají semena nepropustná pro vodu, *Malva moschata* však ano.

Na výsledek zkoušky klíčivosti má vliv i doba skladování. Při porovnávání procenta klíčivosti ve variantách tepelně ošetřených, i ve variantách neošetřených je z tabulky 1 patrné, že s rostoucí dobou skladování osiva vzrůstá i jeho klíčivost. Výjimku tvoří varianty 9 a 10 (tepelně neošetřené), kde dochází k poklesu vyklíčených jedinců. Podobný trend zjistili i Ansari et al. /6/, kdy semena ošetřena vysoušením (popsáno výše) vykazovala s rostoucí délkou skladování vyšších klíčivostí. Nejvyššího procenta klíčivosti (21,4 %) bylo dosaženo po šesti měsících skladování při pokojové teplotě.

ZÁVĚR

Výsledky zkoušek klíčivosti v pokusu potvrdily obecně nízkou klíčivost semen slézu pižmového (*Malva moschata*) ve srovnání s běžnými zemědělskými plodinami. Průměrná klíčivost všech sledovaných variant dosáhla 30 %. Nízká klíčivost odpovídá dostupným údajům o klíčivosti dalších druhů rodu *Malva*, u nichž se rovněž projevuje výrazná dormance semen. Výsledky ukázaly, že klíčivost *M. moschata* ovlivňuje správný termín sklizně a následné tepelné ošetření osiva.

Z hlediska sklizně se jako perspektivní jeví využití druhých sklizní. Semena z druhých sklizní vykazovala ve všech sledovaných případech vyšší klíčivost než semena z první sklizně, pravděpodobně v důsledku rovnoměrnějšího kvetení a dozrávání porostu po předchozí seči a vyššího podílu vyzrálých semen. Ta mohla kromě vyšší vyzrálости semen souviset také s působením nižších teplot v období říjnových a listopadových sklizní, jejichž konkrétní vliv však nebyl experimentálně ověřován. Ne ve všech oblastech České republiky je možné druhou sklizeň provést tak, aby semena byla zralá. Ruční sklizeň probírkou vykazovala mírně vyšší klíčivost než sklizeň mechanizovaná, rozdíl však mohl být ovlivněn také termínem sklizně. Zvolený způsob stanovení termínu mechanizované sklizně při 80 % hnědých plodenství lze považovat za vhodný.

Významný byl pozitivní vliv tepelného ošetření semen. Průměrná klíčivost neošetřených semen činila 24 %, zatímco u tepelně ošetřených dosáhla 34 %. Tepelné ošetření tak představuje jednoduchý a prakticky využitelný způsob zvýšení klíčivosti osiva *M. moschata* v testech. Vzhledem k předpokládané fyzické, případně kombinované dormanci semen rodu *Malva* by bylo vhodné v dalších pokusech ověřit také účinnost skarifikace a dalších metod narušení osemení.

Pozitivní vliv měla rovněž délka skladování. U většiny variant se s prodlužující dobou skladování klíčivost zvyšovala, což může souviset s postupným uvolňováním dormance. Trend však nebyl zcela pravidelný, zejména u některých neošetřených variant, a nelze proto z výsledků stanovit jednoznačnou optimální délku skladování.

Celkově lze konstatovat, že nízká klíčivost semen *M. moschata* je významným faktorem limitujícím jejich semenářské využití. Pro dosažení vyšší klíčivosti se jako vhodná kombinace opatření jeví sklizeň ve vhodném stupni zralosti, využití semen z druhých sklizní a tepelné ošetření osiva. Možný vliv nižších teplot v pozdějších termínech sklizně na uvolňování dormance by měl být předmětem dalšího experimentálního ověření. Získané poznatky mohou přispět k optimalizaci technologie produkce a hodnocení osiva slézu pižmového.

Nízká laboratorní klíčivost nemusí nutně znamenat nízkou vzcházivost semen v půdních podmínkách. Zkouška klíčivosti probíhá za standardizovaných podmínek, které nemusí odpovídat podmínkám v půdě. Střídání teplot a vlhkosti, mikrobiální aktivita a další půdní faktory mohou přispívat k postupnému uvolňování dormance a následnému vyklíčení semen. U *Malva moschata* to může souviset s fyzickou, případně kombinovanou dormancí.

Laboratorní klíčivost proto nelze bez dalšího považovat za přímý odhad vzcházivosti v polních podmínkách. Pro její přesnější posouzení by bylo vhodné laboratorní zkoušky doplnit o pokusy se vzcházivosti v půdě.

Jedná se o pilotní studii a prezentované výsledky představují prvotní poznatky, které je nutné ověřit v dalších pokusech s větším počtem sledovaných variant a v odlišných podmínkách.

LITERATURA

- /1/ PLADIAS. *Malva moschata* L. – sléz pižmový [online]. Database of the Czech Flora and Vegetation. [cit. 2026-08-19]. Dostupné z: <https://pladias.cz/en/taxon/data/Malva%20moschata>
- /2/ Hicks DM, Ouvrard P, Baldock KCR, Baude M, Goddard MA, Kunin WE, et al. (2016) Food for Pollinators: Quantifying the Nectar and Pollen Resources of Urban Flower Meadows. PLoS ONE 11(6): e0158117. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158117>
- /3/ Alizade, A., Temelli Göçeroğlu, R., Alizadehyegani, N., Haravi, E. a Özdemir, H. 2026. Antidepressant-like Effects of *Malva moschata* L. on Mouse Model: Behavioral and Biochemical Evidence. Van Medical Journal, 33(2): 134–142. DOI: 10.5505/vmj.2026.92408.
- /4/ Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. 2014. Metodika zkoušení osiva a sadby. Brno: ÚKZÚZ. 303 s. Nabývá účinnosti dne 1. 6. 2014.
- /5/ Mikhailova, S. I. a Ebel, A. L. 2015. *Malva verticillata* L. and *Vicia hirsuta* (L.) S.F. Gray – invasive species of Siberia (Overview). Biosciences, Biotechnology Research Asia, 12(3): 2045–2052. DOI: 10.13005/bbra/1872.
- /6/ Ansari, O., Gharekhloo, J., Kamkar, B. a Ghaderi-Far, F. 2016. Breaking seed dormancy and determining cardinal temperatures for *Malva sylvestris* using nonlinear regression. Seed Science and Technology, 44(3): 447–460. DOI: 10.15258/sst.2016.44.3.05.
- /7/ Iannucci, A., Di Fonzo, N. a Martiniello, P. 2002. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) seed yield and quality under different forage management systems and irrigation treatments in a Mediterranean environment. Field Crops Research, 78(1): 65–74. DOI: 10.1016/S0378-4290(02)00094-1.
- /8/ Finch-Savage, W. E. a Leubner-Metzger, G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. New Phytologist, 171(3): 501–523. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x.
- /9/ Van Assche, J. A. a Vandeloos, F. E. A. 2006. Germination ecology of eleven species of Geraniaceae and *Malvaceae*, with special reference to the effects of drying seeds. Seed Science Research, 16(4): 283–290. DOI: 10.1017/S0960258506000348.

Poděkování

Výsledek vznikl s institucionální podporou Ministerstva zemědělství ČR v rámci Dlouhodobé koncepce rozvoje výzkumné organizace Zemědělský výzkum spol. s r. o. Troubsko, MZE-RO1724.

SPALNÉ TEPLA ASIMILAČNÝCH ORGÁNOV RASTLÍN VYSTAVENÝCH Mg EMISIÁM

CALORIFIC VALUE OF ASSIMILATORY ORGANS OF PLANTS EXPOSED TO Mg EMISSIONS

Margita Kuklová, Ján Kukla, Katarína Sládeková, Ivan Mihál
Ústav ekológie lesa v.v.i. Slovenská akadémia vied, L. Štúra 2, 960 53 Zvolen, Slovensko
e-mail: kuklova@ife.sk

Summary

The research was carried out in segments of altered geobiocenoses of the *Fagetum pauper inferiora* forest type group of the oak-beech vegetation stage in pollution zones 400 m (A), 600 m (B), 1000 m (C) and 1500 m (D) away from the magnesite plant in Lubeník. The energy content found in the herbaceous species *L. saligna*, *R. idaeus*, *P. distans* and *D. filix-mas* (15666–19088 J g⁻¹) was low compared to its content in woody plants. The energy content in the species *Q. polycarpa* (20792–20248 J g⁻¹) and *B. pendula* (21899–21435 J g⁻¹) decreased significantly with increasing distance from the pollution source. *C. betulus* appears to be the most suitable species for the purposes of energy biomonitoring under conditions of long-term Mg immissions, since the energy content in the phytomass of its leaves in zone A (18799 J g⁻¹) was significantly lower compared to the leaves of unstressed individuals in zone D (19758 J g⁻¹).

Keywords: magnesite emissions, assimilatory organs, woody plants, herbs, energy content, Central Slovakia

Súhrn

Výskum bol realizovaný v segmentoch zmenených geobiocenóz skupiny lesných typov *Fagetum pauper inferiora* dubovo-bukového vegetačného stupňa v imisných zónach vzdialených 400 m (A), 600 m (B), 1000 m (C) a 1500 m (D) od magnezitového závodu v Lubeníku. Obsah energie nájdený v bylinných druhoch *L. saligna*, *R. idaeus*, *P. distans* a *D. filix-mas* (1566–19088 J g⁻¹) bol v porovnaní s jej obsahom v drevinách nízky. Obsah energie v druhoch *Q. polycarpa* (20792–20248 J g⁻¹) a *B. pendula* (21899–21435 J g⁻¹) sa so zvyšujúcou sa vzdialenosťou od zdroja znečistenia významne znižoval. *C. betulus* sa javí ako najvhodnejší druh pre účely biomonitoringu energie v podmienkach dlhodobého vplyvu Mg imisií, keďže obsah energie vo fytomase jeho listov v zóne A (18799 J g⁻¹) bol v porovnaní s listami nestresovaných jedincov v zóne D (19758 J g⁻¹) signifikantne nižší.

Kľúčové slová: magnezitové emisie, asimilačné orgány, dreviny, byliny, obsah energie, stredné Slovensko

ÚVOD

Znečistenie ovzdušia je vážny problém tak v priemyselných, urbánných, ako aj v rurálnych oblastiach. Klimatické extrémny spolu s pretrvávajúcou imisnou záťažou majú veľký vplyv na životné prostredie a prejavujú sa zmenou zdravotného stavu rastlín. Mnohé rastliny sú citlivé na látky znečisťujúce ovzdušie, ktoré môžu poškodiť listy, narušiť ich rast a obmedziť ich produktivitu. Významným ukazovateľom kvality fytomasy je jej kalorická hodnota, ktorá závisí najmä od druhu a orgánu rastliny ako aj kvality prostredia /1/. Účinkom abiotických stresorov sa obsah látok bohatých na energiu vo fytomase v porovnaní s

nestresovanými rastlinami zvyčajne znižuje /2, 3/. Preto rastlinné druhy vystavené rôzne znečistenému prostrediu akumulujú rôzne množstvá energie. Selektívna reakcia rastlín sa preto využíva pri sledovaní znečisteného ovzdušia /4/. V oblastiach vystavených emisiám znečisťujúcich látok z magnezitového ťažobného priemyslu prachové emisie obsahujú veľké množstvo Mg /5/. Magnezitový závod v Lubeníku bol založený v roku 1934, preto skúsenosti so zhoršovaním životného prostredia, a aj s rekultiváciou dotknutých pozemkov sú dlhodobé. Cieľom tejto štúdie bolo zistiť, či dochádza k špecifickým zmenám v akumulácii energie v asimilačných orgánoch rastlinných druhov nachádzajúcich sa pozdĺž výškového gradientu s odstupňovaným vplyvom emisií z magnezitového závodu v Lubeníku.

MATERIÁLY A METÓDY

Výskum bol realizovaný v imisných zónach A až D magnezitového priemyselného komplexu Jelšava-Lubeník v roku 2021. Výskumné plochy boli vybrané v segmentoch zmenených geobiocenóz skupiny lesných typov *Fagetum pauper inferiora* dubovo-bukového vegetačného stupňa nachádzajúcich sa vo vzdialenosti 400 m (A), 600 m (B), 1000 m (C) a 1500 m (D) od zdroja znečistenia /6/. Magnezitový závod Slovmag, a.s. Lubeník vyrába magnezitový slinok, ktorý sa používa na výrobu žiaruvzdorných konštrukcií a materiálov. Emisie tuhých látok dosahovali v 50. rokoch okolo 800 ton ročne /7/, ale v roku 2024 už len 6,280 t rok⁻¹ /8/.

Odber vzoriek asimilačných orgánov bylín (*Dryopteris filix-mas* (L.) Schott, *Lactuca saligna* L., *Rubus idaeus* L., *Puccinellia distans* (Jacq.) Parl.) a drevín (*Carpinus betulus* L., *Quercus polycarpa* Schur, *Betula pendula* Roth) sa uskutočnil pomocou stratifikovaného náhodného zberu údajov v období vegetačného optima. Vzorky asimilačných orgánov bylín a drevín (cca 30 jedincov z každého druhu) boli odobraté v 4 opakovaniach (listy drevín z dolnej tretiny korún stromov na J–Z expozícii). Vzorky asimilačných orgánov boli sušené pri 80 °C počas 48 hodín a po ich zomletí na achátovom mlyne firmy Fritsch (<0.001 mm) sa hodnota energie akumulovanej vo vzorkách rastlín stanovila pomocou adiabatického kalorimetra IKA C-4000. Relatívna odchýlka medzi opakovanými meraniami energie bola nižšia ako 1%.

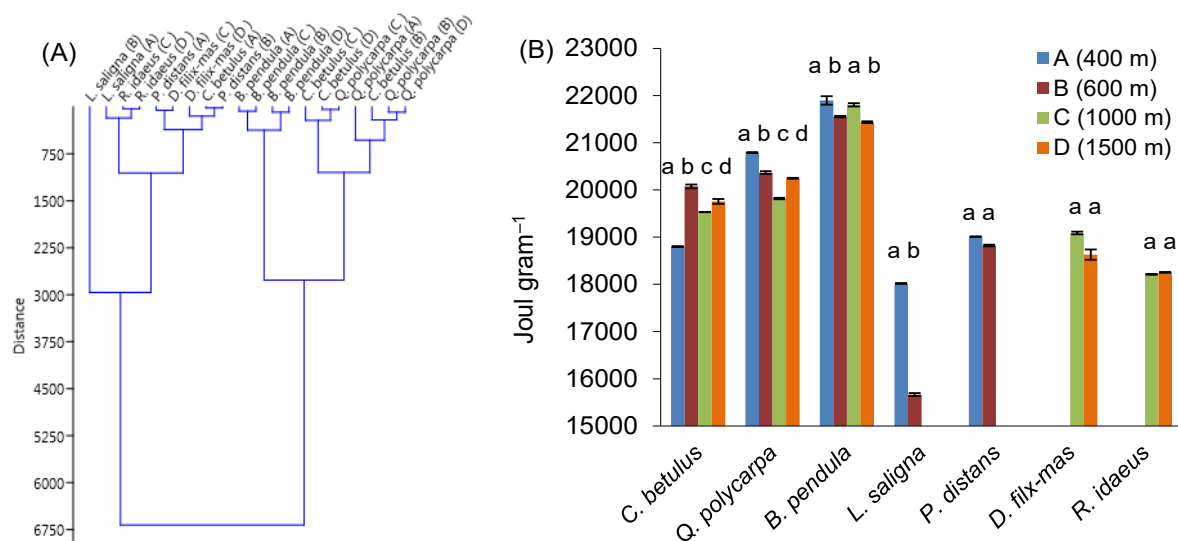
Údaje boli interpretované pomocou programu Statistica, verzia 9.0, StatSoft (Tulsa, USA). Variabilita obsahu energie v rastlinných druhoch bola hodnotená na základe výsledkov ANOVA ($p \leq 0,05$), po ktorej nasledoval post-hoc Tukey test. Na rozklad energetického obsahu v rastlinách do niekoľkých relatívne homogénnych podmnožín bola použitá hierarchická klastrová analýza (HCA). Na výpočet vzdialeností sme použili Wardovu metódu s euklidovskou vzdialenosťou. PCA analýza bola realizovaná v programe PAST (verzia 4.03) s cieľom pozorovať vzťahy akumulovanej energie v rastlinných druhoch a klasifikovať rozdiely medzi študovanými zónami a rastlinami pozdĺž výškového gradientu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky klastrovej analýzy sú znázornené v grafe 1A. Prvý klaster s najnižším obsahom energie tvoril druh *L. saligna* v zónach znečistenia A a B spolu s druhmi *R. idaeus* v zónach C a D (15666–18251 J g⁻¹). Druhý klaster tvorili druhy *C. betulus* v zóne A, *P. distans* v zónach A a B, spolu s druhmi *D. filix-mas* v zónach C a D (18630–19088 J g⁻¹). Tretiu skupinu tvoril druh *C. betulus* v zónach C a D spolu s druhom *Q. polycarpa* v C zóne (19530–19817 J g⁻¹). Štvrtá skupina patrila druhu *Q. polycarpa* v zónach A, B a D, spolu s druhom *C. betulus* v zóne B (20076–20792 J g⁻¹). Poslednú piatu skupinu s najvyšším obsahom energie reprezentoval druh *B. pendula* v zónach A až D (21435–21899 J g⁻¹).

Obsahy energie zistené v zónach znečistenia sa významne odlišovali v prípade drevín *Q. polycarpa* a *B. pendula* a bylinného druhu *L. saligna*. V prípade uvedených druhov bola hodnota zistená v zóne A významne vyššia v porovnaní s ostatnými zónami. Na druhej strane obsah energie v asimilačných orgánoch druhu *C. betulus* bol v zóne A významne nižší.

Rozdiely v obsahu energie nájdené v druhoch *P. distans*, *D. filix-mas* a *R. idaeus* neboli významné (graf 1B).



Graf 1: Obsah energie v asimilačných orgánoch rastlín z imisných zón A–D: (A): dendrogram Wardovej metódy zhlukovej analýzy; (B) významne odlišné hodnoty (Tukey HSD test, $p < 0,05$) sú označené rôznymi písmenami (a,b,c,d).

Korelácia priemerného obsahu energie v asimilačných orgánoch rastlín (pozorovania) odobraných v rôznych vzdialenostiach od emisného zdroja (premenné) s osami hlavných komponentov je uvedená v tabuľke 1. Os PC1 vysvetlila 71,7% variability pôvodných údajov, os PC2 23,5%, os PC3 3,9% a os PC4 0,9% variability. Silné korelácie priemerného obsahu energie v rastlinách v zónach A–D s osou PC1 poukazujú na skutočnosť, že rastlinné druhy vystavené environmentálnemu stresu majú významný potenciál akumulovať významné množstvá energie pozdĺž výškového gradientu.

Tab. 1: Korelácia priemerného obsahu energie v rastlinách rastúcich pozdĺž výškového gradientu s osami hlavných komponentov (PC1 až PC4).

Vzdialenosť od emisného zdroja	PC 1	PC 2	PC 3	PC 4
A (400 m)	0,87	0,40	-0,29	-0,03
B (600 m)	0,76	0,59	0,25	0,02
C (1000 m)	0,88	-0,5	-0,02	0,14
D (1500 m)	0,88	-0,47	0,09	-0,13
Eigenvalue (vlastné hodnoty)	2,87	0,94	0,16	0,04
Rozptyl (%)	71,7	23,5	3,9	0,9

Skupinu s najvyšším obsahom energie v zónach A až D (21435–21899 J g⁻¹) reprezentoval druh *B. pendula*. Množstvo energie v listoch *B. pendula* významne klesalo od zóny A po zónu D (o 464 J g⁻¹, t.j. približne o 2,1 %). Toto tvrdenie je v súlade s Baruchom /9/, ktorý uvádza, že rastlinné druhy vystavené environmentálnemu stresu majú tendenciu

zvyšovat obsah energie. Niektoré štúdie uvádzajú, že zachytávanie energie rastlinami nezávisí len od kvality stanovišťa a fotosyntetickej reakcie jednotlivých listov, ale aj od ich integrácie do efektívneho zápoja a udržania ich fotosyntetickej kapacity /10, 11/. Napr. obsah energie v listoch *N. aceroides* kolísal vo vzdialenosti 30 m od rýchlostnej cesty od 17334 do 17650 J g⁻¹, zatiaľ čo v 500 m vzdialenosti od cesty dosahoval 18248 až 18256 J g⁻¹. Nárast energie pre *Quercus cerris* vo vzdialenosti 30 m (19238–20874 J g⁻¹) a 500 m od cesty (20916–20834 J g⁻¹) bol zanedbateľný a v prípade *Fraxinus excelsior* bol dokonca zaznamenaný pokles energetických zásob o 219 J g⁻¹ t.j. 1,2% /12/.

V imisne najviac zaťaženom prostredí v blízkosti magnezitky bol celkovo nízky obsah energie nájdený v bylinných druhoch *L. saligna*, *R. idaeus*, *P. distans* a *D. filix-mas* (1566–19088 J g⁻¹), v porovnaní s drevinami. Z drevín najnižšie množstvo energie bolo akumulované v druhu *C. betulus* (18799 J g⁻¹) a najvyššie v listoch *B. pendula* (21899 J g⁻¹). Breza má hrubšie listy ako hrab, čo zjavne podporuje ukladanie vyššieho množstva energie. Obsah energie v druhoch *Q. polycarpa* a *B. pendula* sa so vzrastajúcou vzdialenosťou od zdroja znečistenia významne znižoval, zatiaľ čo v prípade *C. betulus* lineárne narastal. Potenciál rastlín zachytávať prachové častice môže byť druhovo špecifický, pretože rýchlosť ukladania častíc závisí okrem iných faktorov aj od charakteristík povrchu listov /13/. Významná je aj skutočnosť, že bylinné druhy sú zvyčajne trváce, s voľnejšie viazanými vláknami, čo naznačuje nižší podiel lignínu, zatiaľ čo dreviny sú zložené z pevne viazaných vlákien a vo všeobecnosti rastú pomaly. Kalorický obsah sa do značnej miery líši v dôsledku rozdielov v biochemickom zložení rastlín /14/. Podľa McKendryho /15/ relatívny podiel celulózy a lignínu v rastlinách je jedným z určujúcich faktorov v zásobách energie.

ZÁVER

Výsledky výskumu ukázali významné zmeny v akumulácii energie v asimilačných orgánoch vybraných rastlinných druhov vystavených emisiám znečisťujúcich látok z magnezitového závodu. Druh *C. betulus* sa javí ako citlivý indikátor znečisteného ovzdušia. Asimilačné orgány hrabu viazali významne viac energeticky bohatších látok vo väčšej vzdialenosti od zdroja znečistenia (približne o 5% viac, ako v blízkosti magnezitky), zatiaľ čo v ostatných druhoch (*Q. polycarpa*, *B. pendula*, a *L. saligna*) sa obsah energie významne znižoval, alebo rozdiely medzi druhmi neboli štatisticky významné (*P. distans*, *D. filix-mas*, a *R. idaeus*).

LITERATÚRA

- /1/ Sotelo Montes C., Silva D.A., Garcia R.A., Muñiz G.I.B., Weber J.C. 2011. Calorific Value of Prosopis africana and Balanites aegyptiaca Wood: Relationships with Tree Growth, Wood Density and Rainfall Gradients in the West African Sahel. Biomass Bioenergy 35: 346–353.
- /2/ Hnilička F., Bláha L., Zámečník J., Novák V., Ottová M. 2000. Vliv abiotických stresů na akumulaci netto energie v obilkách ozimé pšenice (Triticum aestivum L.). Rostlinná Výroba 46: 549–554.
- /3/ Hejnák V. 2003. The effect of drought on production of dry matter in spring barley (Hordeum vulgare L., cv. Amulet, Krona and historical cv. Nürnberg). Scientia Agriculturae Bohemica 34: 121–128.
- /4/ Prusty B.A.K., Mishra P.C., Azeez P.A. 2005. Dust Accumulation and Leaf Pigment Content in Vegetation near the National Highway at Sambalpur, Orissa, India. Ecotoxicol Environ Saf 60: 228–235.
- /5/ Wang H.Q., Zhao Q., Zeng D., Hu Y., Yu Z.Y. 2015. Remediation of a magnesium contaminated soil by chemical amendments and leaching. Land Degrad Dev 26: 613–619. DOI: 10.1002/ldr.2362.
- /6/ Kuklová M., Kukla J., Luptáková J. et al. 2025. The effect of Mg immissions on the accumulation of nutrients and risk elements in soils and macromycetes. Environ Earth Sci 84: 142. <https://doi.org/10.1007/s12665-025-12158-8>.
- /7/ Hančulák J. 2000. A Development of the dust deposition in the area surrounding the SMZ, a.s., Jelšava plant. Acta Montanistica Slovaca 5: 310–312.
- /8/ AIR (2024): The largest sources of air pollution in the Slovak Republic. Available at: <https://www.air.sk/emissions.php> (accessed 24. 9. 2024)
- /9/ Baruch Z. 1982. Patterns of energy content in plants from the venezuelan paramos. Oecologia 55: 47–52. <https://doi.org/10.1007/BF00386717>.
- /10/ Givnish T.J. 1988. Adaptation to Sun and Shade: A Whole-plant Perspective. Australian Journal of Plant

Physiology 15: 63–92.

- /11/ Grant R.H. 1997. Partitioning of biologically active radiation in plant canopies. *Int J Biometeorol* 40: 26–40.
- /12/ Kuklová M., Pivková I., Hniličková H. et al. 2019. The Impact of Highway Motor Vehicle Traffic on Energy Stores in Selected Plant Species. *Bull Environ Contam Toxicol* 103: 604–609. <https://doi.org/10.1007/s00128-019-02689-9>.
- /13/ Mitchell R., Maher B.A., Kinnersley R. 2010. Rates of particulate pollution deposition onto leaf surfaces: temporal and inter-species magnetic analyses. *Environ Pollut* 158: 1472–1478. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.12.029>.
- /14/ Katak R., Konwer D. 2001. Fuelwood characteristics of some indigenous woody species of north-east India. *Biomass Bioenergy* 20:17–23. [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(00\)00060-X](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(00)00060-X).
- /15/ McKendry P. 2002. Energy production from biomass (part 1): overview of biomass. *Bioresour Technol* 83: 37–46. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00118-3](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00118-3).

Pod'akovanie

Uvedená práca vznikla za finančnej podpory výskumného projektu VEGA 2/0001/25.

KOREŇOVÝ SYSTÉM MLADÝCH RASTLÍN SLNEČNICE V ODPOVEDI NA KADMIOVÚ ZÁŤAŽ V HYDROPONICKÝCH PODMIENKACH

THE ROOT SYSTEM OF YOUNG SUNFLOWER PLANTS IN RESPONSE TO CADMIUM STRESS IN HYDROPONIC CONDITIONS

Roman Kuna, Michal Melich, David Frey, Peter Boleček

Katedra botaniky a genetiky, FPVaI UKF, Nábřežie mládeže 91, 949 01 Nitra, Slovenská
republika, e-mail: rkuna@ukf.sk

Summary

In this work, we focused on evaluating the effect of cadmium at a concentration of 3 mg/l on sunflower plants (hybrid P64LE136) grown hydroponically. During 3 weeks of cultivation, we collected root samples to determine some parameters of oxidative stress in combination with histochemical reactions. We managed to record statistically significant differences in the amounts of H₂O₂ in the roots during the first two weeks of the experiment. We did not record a statistically significant difference in the effect on cell viability and also in the concentration of singlet oxygen. In situ reactions to cadmium deposition in the roots as well as histochemical determination of the rate of lipid peroxidation clearly indicate the sensitivity of the sunflower root system to relatively low exposure to cadmium, where it causes oxidative stress. At the same time, some results can also be considered as hormetic effects.

Keywords: Helianthus annuus, cadmium, oxidative stress, histochemical deposition

Súhrn

V tejto práci sme sa zamerali na hodnotenie vplyvu kadmia pri koncentrácii 3 mg/l, na rastliny slnečnice (hybrid P64LE136) pestované hydroponicky. Počas 3 týždňoch kultivácie sme odoberali vzorky koreňov na stanovenie niektorých parametrov oxidačného stresu v kombinácii s histochemickými reakciami. Podarilo sa nám zaznamenať štatisticky významné rozdiely v množstvách H₂O₂ v koreňoch počas prvých dvoch týždňov experimentu. Nezaznamenali sme štatisticky významný rozdiel vo vplyve na životaschopnosť buniek a tiež v koncentrácii singletového kyslíku. In situ reakcie na depozíciu kadmia v koreňoch ako aj histochemické stanovenie miery peroxidácie lipidov hovoria jednoznačne o citlivosti koreňovej sústavy slnečnice na relatívne nízku expozíciu kadmiu, kde spôsobuje oxidačný stres. Súčasne pri niektorých výsledkoch môžeme hovoriť aj o hormetickom efekte.

Kľúčové slová: Helianthus annuus, kadmium, oxidatívny stres, histochemická depozícia

ÚVOD

Slnečnica ročná (*Helianthus annuus* L.) je poľnohospodársky významná plodina. Jej schopnosť hyperakumulácie Cd a iných kovov z pôd predstavuje riziko z hľadiska vstupu ťažkých kovov do potravinového reťazca. Vysoká odolnosť proti stresu vyvolaným ťažkými kovmi, skombinovaná so schopnosťou akumulovať relatívne veľké množstvá kovových iónov a vysokou produkciou biomasy, sú zodpovedné za jej vhodnosť pre extrakciu kadmia, olova a zinku z pôdy /1/. Kadmium nie je esenciálnym prvkom pre rastliny, nachádza sa v nich iba v stopových množstvách. V prírode ho však môžeme nájsť vo veľkom množstve. Na vzduchu sa rýchlo oxiduje na oxid kademnatý. Ľahko reaguje s oxidom uhličitým, vodnou parou, oxidom siričitým, oxidom sírovým alebo chlorovodíkom a vytvára uhličitan, hydroxid, sulfid alebo chlorid kademnatý /2/.

Najlepšie pozorovateľnými symptómami toxicity kadmia v rastlinách sú nižší vzrast a chloróza. Vysoká toxicita zastavuje rast a vedie k nekróze rastliny /3/. Negatívny vplyv kadmia na rastliny spočíva v inhibícii fixácie uhlíka (C) a v znižovaní obsahu chlorofylu a fotosyntetickej aktivity /4/. Okrem toho vyvoláva v rastlinách aj osmotický stres tým, že zníži relatívny objem vody v listoch, stomatálnu vodivosť a transpiráciu. Toto má za následok fyziologické poškodenie rastliny /5/. Kadmium tiež spôsobuje zvýšenú tvorbu reaktívnych foriem kyslíka (ROS), ktoré poškadzujú membrány rastlinných buniek. Tvorba ROS po chemickej alebo fyzikálnej aktivácii kyslíka je v rastlinách nielen následok pôsobenia abiotických a biotických stresových faktorov, ale aj fyziologických dejov, ktoré sú pre rastlinu nevyhnutné. Oxidačný stres nastáva v prípade, kedy je rovnováha medzi tvorbou a elimináciou ROS narušená. Toxický účinok Cd sa prejavuje práve narušením tejto rovnováhy zvýšením tvorby ROS a zvýšením oxidačného stresu. To vyvrcholí zničením biomolekúl a organel bunky /6/. Zhoršuje aj príjem a transport Ca, P, Mg, K, Mn, z toho najväčší vplyv má na Fe a Zn /7/. Oxidačného stresu sa môže rastlina zbaviť enzymatickými alebo neenzymatickými antioxidantami. Existuje mnoho mechanizmov, ktoré rastliny využívajú na zmiernenie škodlivého vplyvu ťažkých kovov. Ide o rôzne formy vylučovania, zneškodňovania a ukladania mimo výhonkov. Mnohé štúdie identifikovali bunkovú stenu ako kľúčové miesto ukladania ťažkých kovov v rastlinách a to sa tiež považuje za primárny mechanizmus tolerancie voči ťažkým kovom. Výsledky ukázali, že po ošetrení kadmiumom v koncentrácii 100 μM sa v koreňoch a stebľoch objavili zjavné červeno-čierne zrazeniny kadmium-ditizónu, ale nie v listoch. Zrazeniny v stebľoch sa nachádzali rozptýlené v medzibunkovom priestore a zrazeniny v koreňoch sa koncentrovali najmä v bunkových stenách a medzibunkových priestoroch primárnej kôry a čiastočne strednom valci /8/.

MATERIÁL A METÓDA

Semená resp. nažky slnečnice hybridu P64LE136 sme nechali po imbibícii klíčiť v papierových roľkách v kadičke s destilovanou vodou pri teplote 24°C, v tme. Po 4 dňoch klíčenia sme do tmavých nádob s Hoaglandovým živným roztokom presunuli 10 vhodných klíčnych rastlín. Kadmiový variant sme vytvorili použitím CdCl_2 v koncentrácii 3 mg Cd/l. Živné roztoky boli počas kultivácie prevzdušňované. Rastliny sme kultivovali v klimaboxe pri teplote 23 – 24°C, fotoperióde 16/8 a relatívnej vlhkosti 50 – 60 % po dobu troch týždňov. Obidva varianty sme vyhodnocovali v troch biologických opakovaniach.

Lokalizácia iónov kadmia v koreňových pletivách mladých rastlín slnečnice bola detegovaná histochemicky pomocou difenyltiokarbazonu podľa protokolu /9/. Obsah superoxidového radikálu ($\cdot\text{O}_2$) bol stanovený podľa publikovanej metódy s miernymi modifikáciami /10/. Životaschopnosť buniek v koreňoch (1,5 g) sme merali na základe absorpcie činidla – Evansova modrá (EB) podľa /11/. Obsah H_2O_2 sme stanovili vo vzorkách koreňov (0,2 g) podľa metódy /12/. Peroxidáciu lipidov v koreňoch sme detegovali histochemicky pomocou Schiffovho činidla /13/.

Všetky spektrofotometricky získané výsledky sme vyhodnotili pomocou nami vytvorených štandardných kriviek a štatistickú analýzu sme realizovali pomocou jednofaktorovej analýzy rozptylu ($p \leq 0,05$) v programe MS Excel.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Detekcia ukladania kadmia v koreňoch pomocou ditizónu

Pri analýze priečných rezov koreňov bola u stresovaných rastlín zaznamenaná primárna akumulácia kadmia v bunkových stenách rhizodermis a v priľahlých vrstvách exodermis už od prvých dní kultivácie (Obr. 1). V priebehu 2. a 3. týždňa sa intenzita sfarbenia progresívne zvyšovala a presúvala do hlbších vrstiev primárnej kôry. Najvýraznejšia akumulácia komplexov ditizónu bola lokalizovaná v oblasti endodermis a v bezprostrednej blízkosti

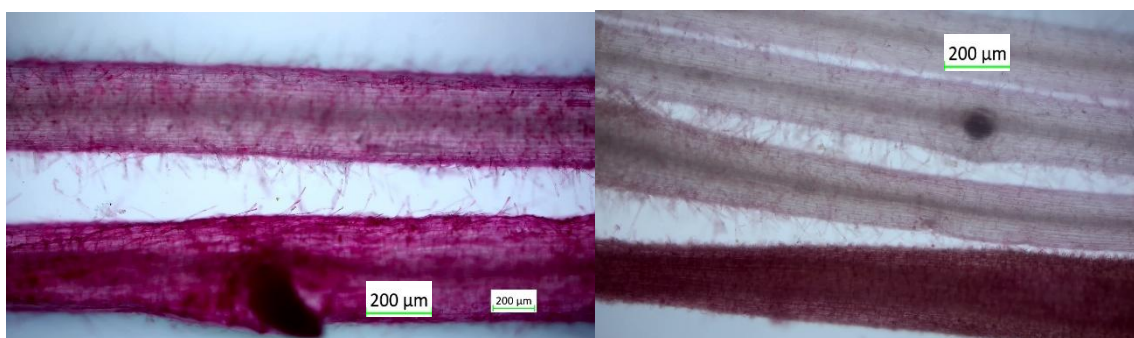
centrálneho valca. Tento jav potvrdzuje funkciu endodermis ako selektívnej bariéry, kde sa ióny kovu hromadia pred ich vstupom do xylémových elementov. Kadmium nie je v pletivách distribuované rovnomerne, ale vykazuje vysokú afinitu k apoplastickým priestorom a lignifikovaným štruktúram cievnych zväzkov, čo uľahčuje jeho následnú translokáciu do nadzemných orgánov.



Obr. 1: Príklady priečných rezov z koreňov kontrolných (vľavo) a stresovaných rastlín (vpravo) po 1. týždni kultivácie.

Detekcia oxidatívneho stresu pomocou Schiffovho farbenia

Prítomnosť kadmia v bunke spúšťa procesy, ktoré vedú k poškodeniu jej ochranných bariér. Na sledovanie tohto poškodenia sme použili Schiffovo činidlo, ktoré reaguje s aldehydmi vznikajúcimi pri rozklade tukov v bunkových membránach (tzv. lipidová peroxidácia). Intenzita vzniknutého ružového až cyklámenového sfarbenia nám slúžila ako priamy indikátor miery poškodenia pletív. Zaznamenali sme intenzívne sfarbenie povrchových pletív pokožky a postupne aj primárnej kôry, neskôr aj stredného valca (Obr. 2). Makroskopické porovnanie veľkosti koreňovej sústavy bolo zrejmé už od prvého týždňa kultivácie v prospech kontrolných rastlín a súčasne bola potlačená aj tvorba koreňových vláskov.



Obr. 2: Ilustrácia detekcie oxidatívneho stresu v koreňoch slnečnice po 1. (vľavo) a 3. týždni kultivácie (vpravo). Korene z kadmiového variantu vždy prvé zdola.

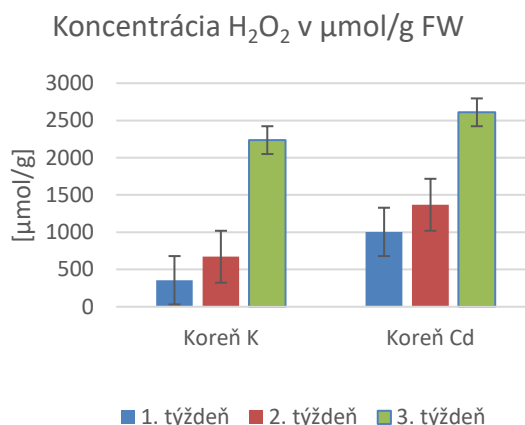
Spektrofotometrické stanovenie obsahu H_2O_2

Vo vzorkách koreňov vystavených 3 mg Cd/l sme pozorovali vyššiu koncentráciu H_2O_2 v porovnaní s kontrolou počas všetkých troch týždňov. V obidvoch prípadoch boli najvyššie obsahy namerané v treťom týždni (Graf 1). V stresovaných rastlinách bola počas prvého týždňa v koreňoch nameraná koncentrácia H_2O_2 1004,36 $\mu\text{mol/g}$, v druhom týždni stúpala táto hodnota o pribl. 36 % a v treťom týždni stúpala o 159 %, tzn. že v prechode medzi druhým a tretím týždňom bol nárast o 90 %. Koncentrácia H_2O_2 v koreňoch rastlín rastúcich v

hydropónii s kadmii, v porovnaní s kontrolou, bola prvý, druhý a tretí týždeň vyššia o 182,4 %, 104 % a 16,7 % v uvedenom poradí. Najväčší rozdiel v obsahu bol nameraný v prvom týždni. V ďalších dvoch týždňoch nasledoval trend poklesu tohto rozdielu medzi kontrolnými a stresovanými rastlinami. V tomto prípade za to primárne môžu prudké zmeny koncentrácie H_2O_2 stresovaných rastlín a to hlavne v treťom týždni. V prvom a druhom týždni sme zaznamenali signifikantný rozdiel v koncentrácii H_2O_2 v porovnaní s kontrolou ($p < 0,05$). Môžeme usúdiť, že počas prvých dvoch týždňov, nie sú slnečnice rastúce v hydroponii s 3 mg Cd/l schopné efektívne sa zbavovať peroxidu vodíka z koreňov.

Stanovenie životaschopnosti buniek

Rozdiely medzi koncentraciami EB v kontrole a vzorkách koreňov vystavených 3 mg Cd/l boli počas celej doby experimentu malé. Kladný rozdiel po prvom týždni pri kadmiových vzorkách sa zmenil na nižšie hladiny koncentrácie EB v porovnaní s kontrolnými rastlinami (Graf 2). Obsahy EB v koreňoch kolísali v obidvoch vzorkách veľmi podobne. V stresovaných rastlinách bola počas prvého týždňa v koreňoch nameraná koncentrácia EB 265,89 ng/g, v druhom týždni klesla táto hodnota o 26,5 % a v treťom týždni klesla o 14,5 % tzn. že v prechode medzi druhým a tretím týždňom bol nárast pribl. o 16,5 %. Prvý týždeň bola koncentrácia EB v stresovanej vzorke o 9,7 % vyššia v porovnaní s kontrolou. Druhý a tretí týždeň boli vyššie obsahy namerané v kontrole. Druhý týždeň bola koncentrácia EB v stresovanej vzorke o 11,7 % a tretí týždeň o 15,5 % nižšia oproti kontrole. Počas celého pokusu sme v koreňoch nepozorovali signifikantne významný rozdiel v nameraných obsahoch EB.

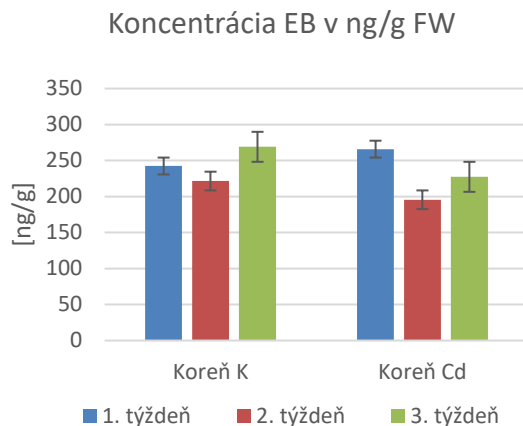


Graf 1: Výsledné hodnoty koncentrácie H_2O_2 v koreňoch kontrolných rastlín a rastlín rastúcich v hydroponii s 3 mg Cd/l. V grafe sú znázornené chybové úsečky štandardnej chyby priemeru a významnosť pri $p < 0,05$ (*) v rámci jednofaktorovej ANOVA.

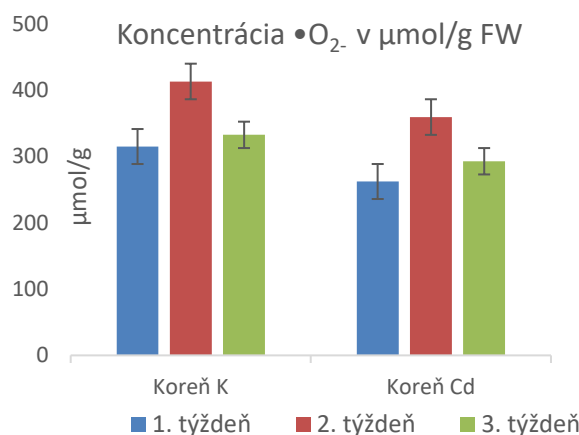
Spektrofotometrické stanovenie obsahu $\bullet O_2^-$

Výsledky kvantitatívnej analýzy obsahu superoxidového radikálu v pletivách slnečnice (Graf 3) v priebehu trojtýždňovej kultivácie ukázali podobný kolísavý trend u oboch variantov. V druhom týždni to bol najskôr nárast o 31 % (K variant) resp. 37 % (Cd variant) a následne v treťom týždni rovnaký pokles o pribl. 19 %. Priemerné hodnoty dosahovali maximum v 2. týždni u oboch variantov, pričom pri kontrolných rastlinách bol obsah počas celej doby mierne vyšší v porovnaní s rastlinami exponovanými kadmii. Tento jav môže indikovať vysokú bazálnu úroveň metabolickej aktivity mladých rastlín v podmienkach hydroponickej kultivácie. Nižšie hladiny $\bullet O_2^-$ u stresovaného variantu môžu byť zároveň dôsledkom rýchlej aktivácie antioxidačného systému, najmä enzýmu SOD, ktorý efektívne transformuje superoxid na peroxid vodíka už v počiatočných fázach stresu. Nezaznamenali

sme štatisticky signifikantné rozdiely medzi kontrolou a stresovaným variantom, čonaznačuje, že pri aplikovanej koncentrácii kadmia udržiava v sledovaných etapách relatívnu redoxnú homeostázu.



Graf 2: Výsledné hodnoty koncentrácie EB v koreňoch kontrolných rastlín a rastlín rastúcich v hydropónii s 3 mg Cd/l. V grafe sú znázornené chybové úsečky štandardnej chyby priemeru.



Graf 3: Výsledné hodnoty koncentrácie $\bullet O_2^-$ v koreňoch kontrolných rastlín a rastlín rastúcich v hydropónii s 3 mg Cd/l. V grafe sú znázornené chybové úsečky štandardnej chyby priemeru.

Korelačné koeficienty v koreňoch nevypovedajú o významnom vplyve H_2O_2 na životaschopnosť buniek. Veľmi slabú väzbu sme zaznamenali až v treťom týždni, pričom veľmi silná negatívna väzba bola pozorovaná po prvom týždni kultivácie. To vypovedá o vysokej životaschopnosti buniek aj napriek nárastu H_2O_2 . Slniečnice pravdepodobne účinne zachytávajú kadmium v koreňoch, ktorých bunky sú schopné sa adaptovať na vysoký obsah ťažkých kovov v pôde a znížiť ich príjem do buniek (Tab.1).

Tab. 1: Korelačné koeficienty (r) medzi obsahom EB, H_2O_2 a $\bullet O_2^-$ v koreňoch

Korene Cd	Korelácia (r) EB a H_2O_2	Korelácia (r) EB a $\bullet O_2^-$	Korelácia (r) H_2O_2 a $\bullet O_2^-$
1. týždeň	- 0,976	0,988	- 0,933
2. týždeň	- 0,329	0,133	0,892
3. týždeň	0,272	0,526	0,961

ZÁVER

Koreňový systém stresovaných rastlín vykazoval typické symptómy toxicity, vrátane inhibície elongácie a absencie koreňových vláskov. Metóda farbenia ditizónom preukázala, že koreň slúži ako primárna bariéra, kde sa kov imobilizuje najskôr v oblasti primárnej kôry, a následne ešte intenzívnejšie v oblasti endodermis. Výsledky naznačujú zvýšenie oxidačného stresu v slnečnici, ale bez vplyvu na životaschopnosť buniek. Namerané množstvá H_2O_2 v koreňoch podporili tento trend, so štatisticky významným rozdielom počas prvých dvoch týždňov. Nasvedčuje to ukladaniu kadmia v koreňoch. Vzhľadom na absenciu štatisticky významného rozdielu pri meraní koncentrácie EB, môžeme usúdiť, že kadmium nemalo výrazný vplyv na životaschopnosť buniek slnečnice. Koncentrácia H_2O_2 v koreňoch stresovanej vzorky bola počas celého pokusu vyššia v porovnaní s kontrolnými rastlinami.

Opačne tomu bolo pri obsahu $\bullet O_2^-$ a tiež pri miere životaschopnosti buniek, kde sme zaznamenali vyššiu koncentráciu EB len po prvom týždni kultivácie. Následne bol v ďalších dvoch týždňoch trend opačný. Argumentovať môžeme adaptáciou slnečníc na nami zvolenú koncentráciu kadmia a možným hormetickým efektom tohto ťažkého kovu. Analýzou korelácie medzi obsahom H_2O_2 a EB sme potvrdili len slabý vplyv H_2O_2 na životaschopnosť buniek, dokonca po prvom týždni kultivácie sme zaznamenali veľmi silnú negatívnu väzbu.

Podobne to bolo v prvom týždni aj s vplyvom na obsah kyslíkového radikálu, ale v ďalších týždňoch sa ukázala už silná väzba medzi týmito dvomi ROS.

LITERATÚRA

- /1/ Niu, L., Li, C., Wang, W., Zhang, J., Scali, M., Li, W., Liu, W., Tai, F., Hu, X., Wu, X. 2023. Cadmium tolerance and hyperaccumulation in plants – A proteomic perspective of phytoremediation. In *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 256, no. 1, p. 14. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114882>.
- /2/ Tran, T.A., Popova, L.P. 2013. Functions and toxicity of cadmium in plants: recent advances and future prospects. In *Turkish Journal of Botany*, vol. 37, no. 1, pp. 1–13. ISSN 1300-008X.
- /3/ Herman, C., Chen, J., Coppens, F., Inze, D., Verbruggen, N. 2011. Low magnesium status in plants enhances tolerance to cadmium exposure. In *New Phytologist*, vol. 192, pp. 428–439. ISSN 0028-646X.
- /4/ Gallego, S.M., Peña, L.B., Barcia, R.A., Azpilicueta, C.E., Iannone, M.F., Rosales, E.P., Zawoznik, M.S., Groppe, M.D., Benavides, M.P. 2012. Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: in sight in to regulatory mechanisms. In *Environmental and Experimental Botany*, vol. 83, pp. 33–44 <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.10.064>.
- /5/ Rizwan, M., Ali, S., Abbas, T., Zia-Ur-Rehman, M., Hannan, F., Keller, C., Al-Wabel, M. I., Ok, Y. S. 2016. Cadmium minimization in wheat: a critical review. In *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 130, pp. 43–53. ISSN 0147-6513.
- /6/ Abbast, T., Rizwan, M., Ali, S., Adrees, M., Zia-Ur-Rehman, M., Qayyum, M.F., Ok, Y.S., Murtaza, G. 2017. Effect of biochar on alleviation of cadmium toxicity in wheat (*Triticum aestivum* L.) grown on Cd-contaminated saline soil. In *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 25, pp. 25668–25680. ISSN 0944-1344.
- /7/ Nazar, R., Iqbal, N., Masood, A. Khan, M.I.R., Syeed, S., Khan, N.A. 2012. Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. In *American Journal of Plant Science*, vol. 3, pp. 1476–1489. ISSN 2158-2742.
- /8/ He, J., Li, H., Luo, J., Ma, C., Li, S., Qu, L., Gai, Y., Jiang, X., Janz, D., Polle, A., Tyree, M., Luo, Z.B. (2013) A transcriptomic network underlies microstructural and physiological responses to cadmium in *Populus x canescens*. *Plant Physiol.* 2013 May;162(1):424-39. doi: 10.1104/pp.113.215681.

- /9/ Pielichowska, M., Wierzbicka, M. (2004). Uptake and localization of cadmium by *Biscutella laevigata*, a cadmium hyperaccumulator. *Acta Biol Cracov Bot*, 2004, 46: 57-63.
- /10/ Jiang, M. a Zhang, J. (2001). Effect of abscisic acid on active oxygen species, reactive oxygen-scavenging enzymes, and oxidative damage in leaves of maize plants. *Plant and Cell Physiology*, 42 (11), s. 1265 – 1273 <https://doi.org/10.1093/pcp/pce162>
- /11/ Preethi, V. et al. 2017. Quantification of Membrane Damage/Cell Death Using Evan's Blue Staining Technique. In *Bio-protocol* 7(16): e2519. DOI: 10.21769/BioProtoc.2519.
- /12/ Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. In *Plant Science*, vol. 151, no. 1, pp. 59-66. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00197-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1)
- /13/ Awasthi, J. P., Saha, B., Chowardhara, B., Devi, S. S., Borgohain, P. and Panda, S. K. (2018). Qualitative Analysis of Lipid Peroxidation in Plants under Multiple Stress Through Schiff's Reagent: A Histochemical Approach. *Bio-protocol* 8(8): e2807. DOI: 10.21769/BioProtoc.2807.

Pod'akovanie

Táto práca vznikla s finančnou podporou výskumného zámeru projektu VEGA 1/0215/25.

PŘÍSPĚVEK KE ZVÝŠENÍ ENERGIE KLÍČENÍ LASEROVÝM OŠETŘENÍM SEMEN U CUKROVÉ ŘEPY

CONTRIBUTION TO INCREASING GERMINATION ENERGY BY LASER TREATMENT OF SUGAR BEET SEEDS

Božena Šerá¹, Jaroslav Skopal², Jaroslav Wagner², Michal Šerý³, Mustafa Ghulam¹

¹ Přírodovědecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Mlynská dolina, Ilkovičova
6, 842 15 Bratislava, Slovensko, bozena.sera@uniba.sk

² FYTOLASER s.r.o., Výšovice 165, 798 09 Výšovice, Česká republika

³ Pedagogická fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Jeronýmova 10,
371 15 České Budějovice, Česká republika

Summary

The aim of this study was to evaluate the effect of different laser treatment variants on the germination energy of treated seeds of two sugar beet cultivars (*Beta vulgaris* var. *altissima*). In the cultivar Beta BTS 7535N, treatment with a 780 nm laser increased seed germination energy from $45.33 \pm 13.27\%$ to $70.00 \pm 5.37\%$; however, the difference was not statistically significant. In the cultivar Beta BTS SMART 9635, a more pronounced response to laser treatment was observed. Treatment with a 780 nm laser increased germination energy from $32.67 \pm 12.36\%$ to $69.33 \pm 1.25\%$, representing a statistically significant improvement (Tukey test, $p < 0.05$). The other laser treatments resulted in reduced germination energy. These findings indicate that the effect of laser irradiation on sugar beet seed germination energy depends not only on the laser parameters but also on the plant cultivar.

Keywords: seed germination, germination energy, seed coat, endocarp, scarification

Souhrn

Cílem studie bylo posoudit vliv různých variant laserového ošetření na energii klíčení obalovaných semen dvou kultivarů cukrové řepy (*Beta vulgaris* var. *altissima*). U odrůdy Beta BTS 7535N zvýšilo laserové ošetření 780 nm energii klíčení semen z $45,33 \pm 13,27 \%$ na $70,00 \pm 5,37 \%$ (statisticky neprůkazné). U odrůdy Beta BTS SMART 9635 byla zaznamenána výraznější odezva na laserové ošetření. Ošetření laserem 780 nm zvýšilo energii klíčení z $32,67 \pm 12,36 \%$ na $69,33 \pm 1,25 \%$ (statisticky průkazné, Tukey test, $p < 0.05$). Ostatní laserové ošetření vedly ke snížení energie klíčení. Výsledky ukazují, že účinek laserového záření na energii klíčení semen cukrové řepy závisí nejen na parametrech laseru, ale i na odrůdě plodiny.

Klíčová slova: klíčivost semen, energie klíčení, osemení, oplodí, skarifikace

ÚVOD

Jednou z perspektivních udržitelných technologií v rostlinné produkci je využití laserového záření. První souhrnné práce poukazyvaly na potenciál laserů jako nástroje ke zlepšení kvality osiv a zvýšení zemědělské produktivity. Aplikace laserové technologie v zemědělství může přispět k řešení globálních problémů souvisejících s potravinovou bezpečností, zejména v rozvojových zemích, kde nízká kvalita osiva a produkce potravin často vede k podvýživě a zdravotním komplikacím /1/.

V následujících letech se výzkum zaměřil především na biostimulační účinky laserového záření na semena, sazenice a rostliny. Aguilar a kol. /2/ uvádějí, že různé typy laserů, včetně He-Ne, Ar, Nd:YAG, CO₂ laserů a laserových diod, vykazují schopnost

pozitivně ovlivňovat klíčení, růst a vývoj rostlin. Laserová stimulace se ukázala jako účinná zejména při překonávání nepříznivých podmínek prostředí, jako jsou sucho, salinita, nízké teploty, zvýšené UV-B záření nebo kontaminace těžkými kovy. Tyto poznatky podpořily vnímání laserů jako ekologicky šetrných biostimulátorů, které mohou přispět ke zvýšení produkce potravin při současné ochraně životního prostředí a biologické rozmanitosti.

Biostimulační laserové ošetření semen mění hormonální rovnováhu, urychluje příjem vody a aktivuje životně důležité enzymy pro urychlení klíčení a zvýšení rané vitality rostlin. Roste tolerance vůči stresu: je zde i vliv na sekundární metabolické dráhy, které pomáhají sazenicím lépe snášet slanost, sucho nebo oxidační stres /4-6/. Potenciál laserových technologií pravděpodobně významně přesahuje rámec pouhé stimulace růstu rostlin. Ahmed a kol. /7/ představují koncept laserové biotechnologie jako komplexního nástroje pro rozvoj klimaticky odolného a udržitelného zemědělství. Na jedné straně, nízkoenergetické lasery mohou prostřednictvím fotobiomodulace zvyšovat klíčivost semen, efektivitu fotosyntézy, příjem živin a aktivitu antioxidantních systémů. Naopak, vysokoenergetické laserové systémy nacházejí využití při regulaci plevelů a škůdců (nechemická cesta). Současně se rozvíjejí laserové senzorické technologie umožňující včasnou diagnostiku stresových faktorů a průběžné monitorování zdravotního stavu polních porostů.

Cukrová řepa (*Beta vulgaris* var. *altissima*) patří mezi hospodářsky významné plodiny, u nichž je rychlý a rovnoměrný vývoj porostu jedním z klíčových faktorů ovlivňujících výnos a kvalitu produkce. V současné zemědělské praxi jsou semena cukrové řepy standardně mořena fungicidními přípravky, které zajišťují ochranu vzcházejících rostlin před patogeny. Přesto však existuje prostor pro další zlepšení jejich fyziologické kvality a vitality.

Cílem tohoto článku je poukázat na možnost stimulace fytolaserovým ošetřením profesionálně připravených semen cukrové řepy pro zlepšení jejich energie klíčení. Prezentované výsledky jsou součástí série testů, které proběhly v laboratorních podmínkách.

MATERIÁL A METODY

Pro pokus byla využita semena cukrové řepy (*Beta vulgaris* var. *altissima*) od firmy Betaseed, a to ve dvou odrůdách BTS 7535 N a BTS SMART 9635. Diploidní odrůda BTS 7535 N je vybavena genetickou ochranou BetaShield. Poskytuje spolehlivé a stabilní výnosy kořenů i v rizikových oblastech s výskytem hárďátka řepného (*Heterodera schachtii*) /8/. Odrůda BTS SMART 9635 patří do moderního systému CONVISO® SMART, který umožňuje specifické odplevelení širokospektrálním herbicidem. Vyznačuje se mimořádnou odolností vůči houbové chorobě cercosporióza cukrové řepy (*Cercospora beticola*) a je určena pro střední termín sklizně /8/.

Semena byla ošetřena kombinacemi diodových laserů v sestavě Fytolaser (Obrázek 1) v těchto expozicích:

Laser 67-8 = 532 nm + 638 nm / 0,2 W + 3 W

Laser 7-8 = 638 nm / 3 W

Laser 25-4 = 532 nm + 650 nm / 0,2 W + 1 W

Kontrola = 0 nm / 0 W

Ošetřená a neošetřená semena (kontrola) byla testována v laboratorních podmínkách dle Šerá /9/. Bylo použito 5 Petriho misek (průměr 9 cm), 3 filtrační papíry/miska, 6 mL destilované vody/miska, 30 semen/miska (150 semen na jedno ošetření). Kultivace v růstovém boxu: tma, 25 °C. Čtvrtým dnem byla spočítána klíčivá semena a stanovena energie klíčení (GE, %). Získaná data byla standardně (rozdíly v rámci příslušného taxonu) vyhodnocena jednocestnou ANOVA a posléze Tukey testem.



Obrázek 1: Fytolaser v procese ošetřování semen cukrové řepy.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Vybrané U odrůdy Beta BTS 7535N dosáhl kontrolní set energie klíčení semen $45,33 \pm 13,27$ %. Ošetření variantou Laser 7-8 vedlo ke zvýšení energie klíčení na $70,00 \pm 5,37$ %, což představuje nárůst o přibližně 54 % oproti kontrole. Přestože byl pozorován výrazný trend zlepšení energie klíčení, statistická analýza neprokázala mezi kontrolou a laserově ošetřenou variantou průkazný rozdíl. Výsledky jsou shrnuty v Tabulce 1.

U odrůdy Beta BTS SMART 9635 byla zaznamenána výraznější reakce na laserové ošetření. Kontrolní varianta dosáhla energie klíčení semen $32,67 \pm 12,36$ %. Zatímco ošetření Laser 7-8 vedlo k významné stimulaci klíčení, varianty Laser 25-4 a Laser 67-8 vykazaly naopak nižší hodnoty energie klíčení než kontrola (Tabulka 1).

Tabulka 1: Vliv laserového ošetření semen dvou odrůd cukrové řepy (Beta BTS 7535N a Beta BTS SMART 9635). Účinnost ošetření byla posuzována na základě energie klíčení (GE, %) a statisticky vyhodnocena pomocí Tukeyho post hoc testu (rozdílná písmena indikují statisticky významné rozdíly).

Plodina	Ošetření	GE (%)	SE	Tukey test
Beta BTS 7535N	Kontrola	45.33	13.27	a
Beta BTS 7535N	Laser 7-8	70.00	5.37	a
Beta BTS SMART 9635	Kontrola	32.67	12.36	ab
Beta BTS SMART 9635	Laser 25-4	18.67	11.62	a
Beta BTS SMART 9635	Laser 7-8	69.33	1.25	b
Beta BTS SMART 9635	Laser 67-8	16.00	7.48	a

Porovnání obou kultivarů (Tabulka 1) ukázalo rozdílnou citlivost na laserové ošetření. V obou případech byla nejvyšší energie klíčení semen dosažena po aplikaci varianty Laser 7-8. Výsledky současně ukazují, že pozitivní účinek nebyl univerzální pro všechny použité expozice. U kultivaru Beta BTS 9635 vedly varianty Laser 25-4 a Laser 67-8 ve čtvrtém dnu klíčení ke snížení energie klíčení semen pod úroveň kontroly. To potvrzuje, že biologická odpověď semen cukrové řepy na laserové záření je závislá nejen na genotypu, ale také na konkrétních parametrech použitého záření. Z toho vyplývá, že pro praktické využití je třeba

ZÁVĚR

Lze konstatovat, že varianta Laser 7-8 (638 nm / 3 W) vykázala výrazný biostimulační efekt a představovala nejúčinnější způsob ošetření semen v rámci hodnoceného experimentu. Naopak ostatní testované varianty laserového záření nepřinesly pozitivní efekt na klíčení a v některých případech vedly ke snížení sledovaného parametru. Tyto výsledky naznačují potřebu další optimalizace parametrů laserového ošetření pro různé kultivary cukrové řepy.

LITERATURA

- /1/ Hernández, A.C., Domínguez, P.A., Cruz, O.A., Ivanov, R., Carballo, C.A., Zepeda, B.R.: Laser in agriculture. *International Agrophysics*, 24, 2010: 407-422.
- /2/ Hernández-Aguilar, C., Domínguez-Pacheco, A., Cruz-Orea, A., Podlešna, A., Ivanov, R., Carballo Carballo, A., Pérez Reyes, M.C., Sánchez Hernández, G., Zepeda Bautista, R., López-Bonilla, J.L.: Laser biostimulation in seeds and plants. *Gayana Botanica*, 73(1), 2016: 132-149.
- /3/ Cheng, F., Qi, Y., Lei, K., Yang, H., Lei, Y., Ahmed, T., Qi, X., Li, Z.: Laser diode irradiation mitigates salt stress in rice through coordinated physiological and molecular responses. *Frontiers in Plant Science*, 16, 2025: 1653494.
- /4/ Korrani, F.M., Amooaghaie, R., Ahadi, A.: He-Ne Laser Enhances Seed Germination and Salt Acclimation in *Salvia officinalis* in a Manner Dependent on Phytochrome and H₂O₂. *Protoplasma*, 260, 2023: 103-116.
- /5/ Thorat, S.A., Srivaishnavi, M., Kaniyassery, A., Chandrashekar, H.K., Mahato, K.K., Muthusamy, A.: He-Ne laser pre-exposure alleviates salinity stress through physio-biochemical regulation and enhanced withanolide production in *Withania somnifera* (L.) Dunal. *Industrial Crops and Products*, 216, 2024: 118776.
- /6/ Podlešný, J., Stochmal, A., Podlešna, A., Misiak, M.: Effect of laser light treatment on some biochemical and physiological processes in seeds and seedlings of white lupine and faba bean. *Plant Growth Regulation*, 67, 2012: 227-233.
- /7/ Ahmed, T., Lei, Y., Noman, M., Li, Z., Ondrasek, G., Shahid, M.S., Petrínek, B., Qi, X., Li, B., Qi, Y.: Laser-enabled biotechnology platforms for climate-resilient crop production: Mechanistic insights and future prospects. *Food and Energy Security*, 15(4), 2026: e70285.
- /8/ VP AGRO. Odrůdy BETASEED pro rok 2026 [online]. Praha, 2025 [cit. 2026-07-22]. Dostupné z: VP Agro produktové materiály
- /9/ Šerá B.: Methodological contribution on seed germination and seedling initial growth tests in wild plants. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 51, 2023: 13164.

Poděkování

The research was supported by the EU NextGenerationEU through the Recovery and Resilience Plan for Slovakia under the projects No. 09I03-03-V02-00036.

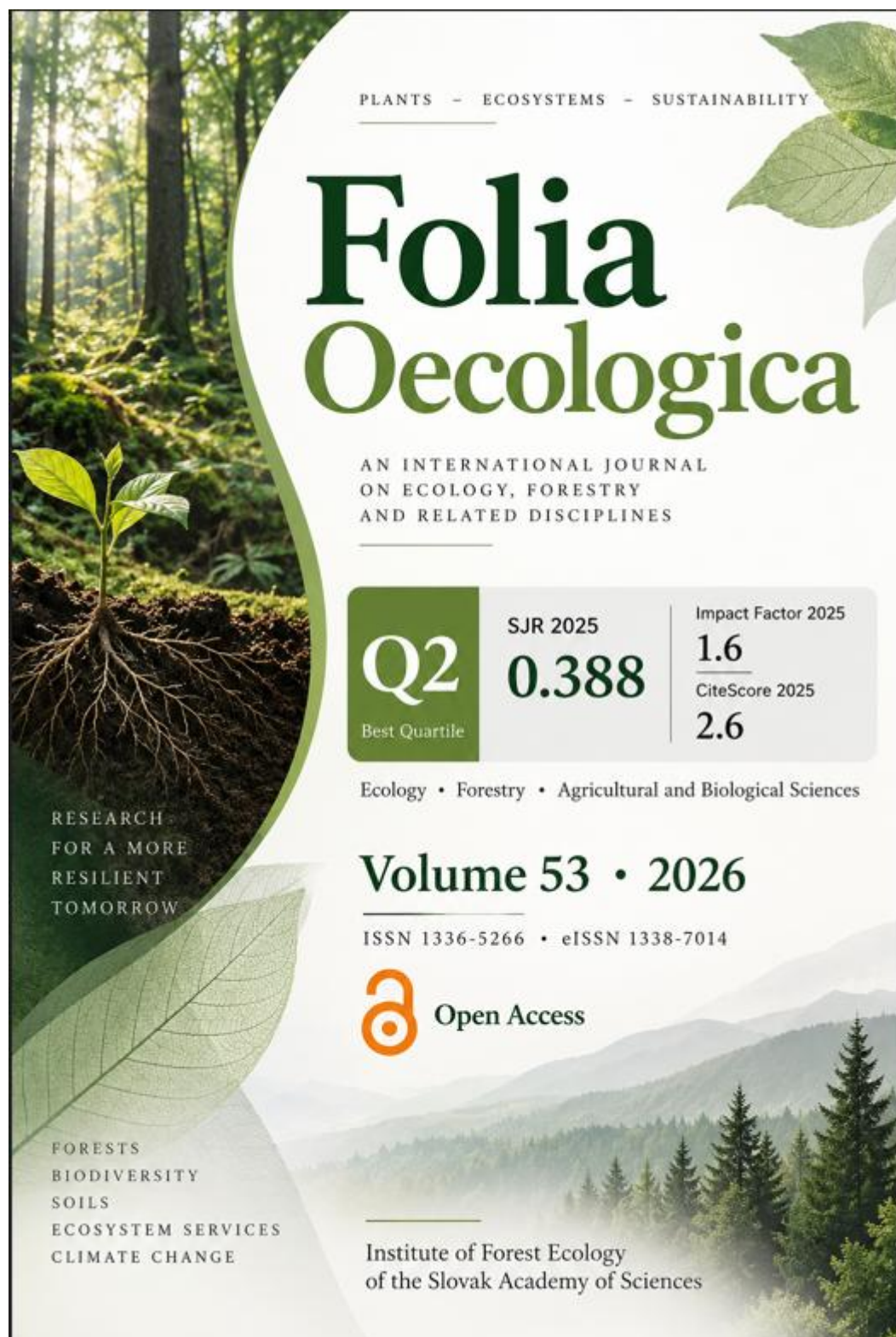
Sponzoři

176

MEDIÁLNÍ PARTNEŘI



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



Check out the unique collection of 11 peer-reviewed
OPEN ACCESS AGRICULTURAL JOURNALS
published by the Czech Academy of Agricultural Sciences



CAAS CZECH ACADEMY OF
AGRICULTURAL SCIENCES

www.cazv.cz | www.agriculturejournals.cz

Follow us on:



CALL FOR PAPERS

Publish your article in

CZECH JOURNAL OF GENETICS AND PLANT BREEDING

published by the Czech Academy of Agricultural Sciences

TOPICS OF INTEREST

Theoretical and Applied Plant Genetics Plant Biotechnology Plant Breeding

WHY CJGPB?

- ▶ International peer-reviewed journal
- ▶ Open access
- ▶ Double-blind reviewing
- ▶ Published quarterly since 1965
- ▶ Web of Science (IF 2025: 2.1, 5-year IF: 1.5)
Q2 - Agronomy, Q2 - Plant Sciences
- ▶ SCOPUS (SJR 2025: 0.46), Q2 - Plant Science



Visit: <https://cjgpb.agriculturejournals.cz/>
Contact: cjgpb@cazv.cz

CAAS CZECH ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES



CALL FOR PAPERS

Publish your article in

PLANT PROTECTION SCIENCE

published by the Czech Academy of Agricultural Sciences

TOPICS OF INTEREST

Plant Protection	Infectious Diseases and Pests	Plant Pathology	Environmental Ecology	Weed Biology and Management
------------------	-------------------------------	-----------------	-----------------------	-----------------------------

WHY PPS?

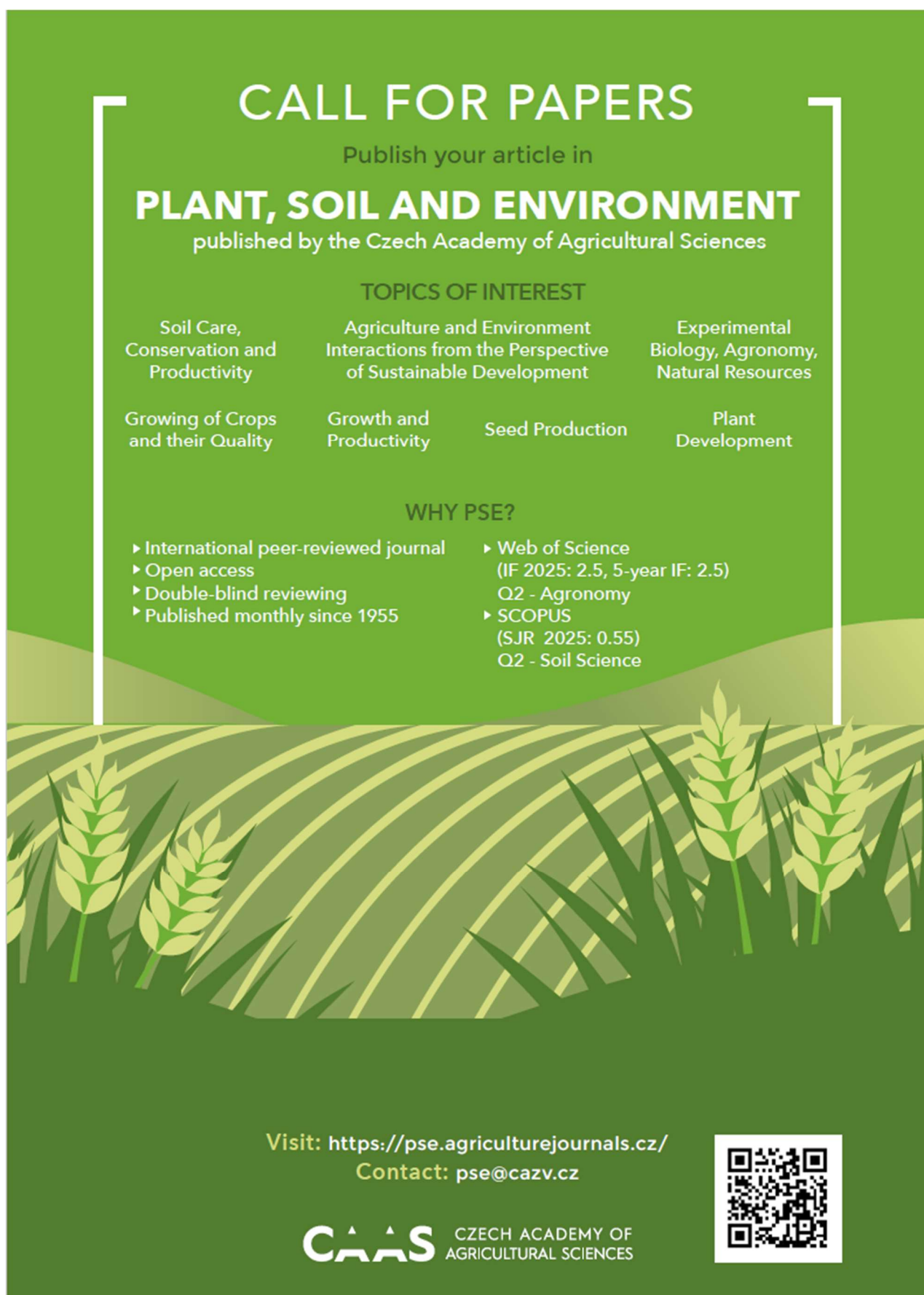
▶ International peer-reviewed journal	▶ Web of Science
▶ Open access	(IF 2025: 1.0, 5-Year IF: 1.4)
▶ Double-blind reviewing	Q3 - Agronomy, Q4 - Plant Sciences
▶ Published quarterly since 1921	▶ SCOPUS
	(SJR 2025: 0.35)
	Q3 - Agronomy; Q3 - Plant Sciences



Visit: <https://pps.agriculturejournals.cz/>
Contact: pps@cazv.cz

CAAS CZECH ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES





CALL FOR PAPERS

Publish your article in

PLANT, SOIL AND ENVIRONMENT

published by the Czech Academy of Agricultural Sciences

TOPICS OF INTEREST

Soil Care, Conservation and Productivity	Agriculture and Environment Interactions from the Perspective of Sustainable Development	Experimental Biology, Agronomy, Natural Resources
Growing of Crops and their Quality	Growth and Productivity	Seed Production
		Plant Development

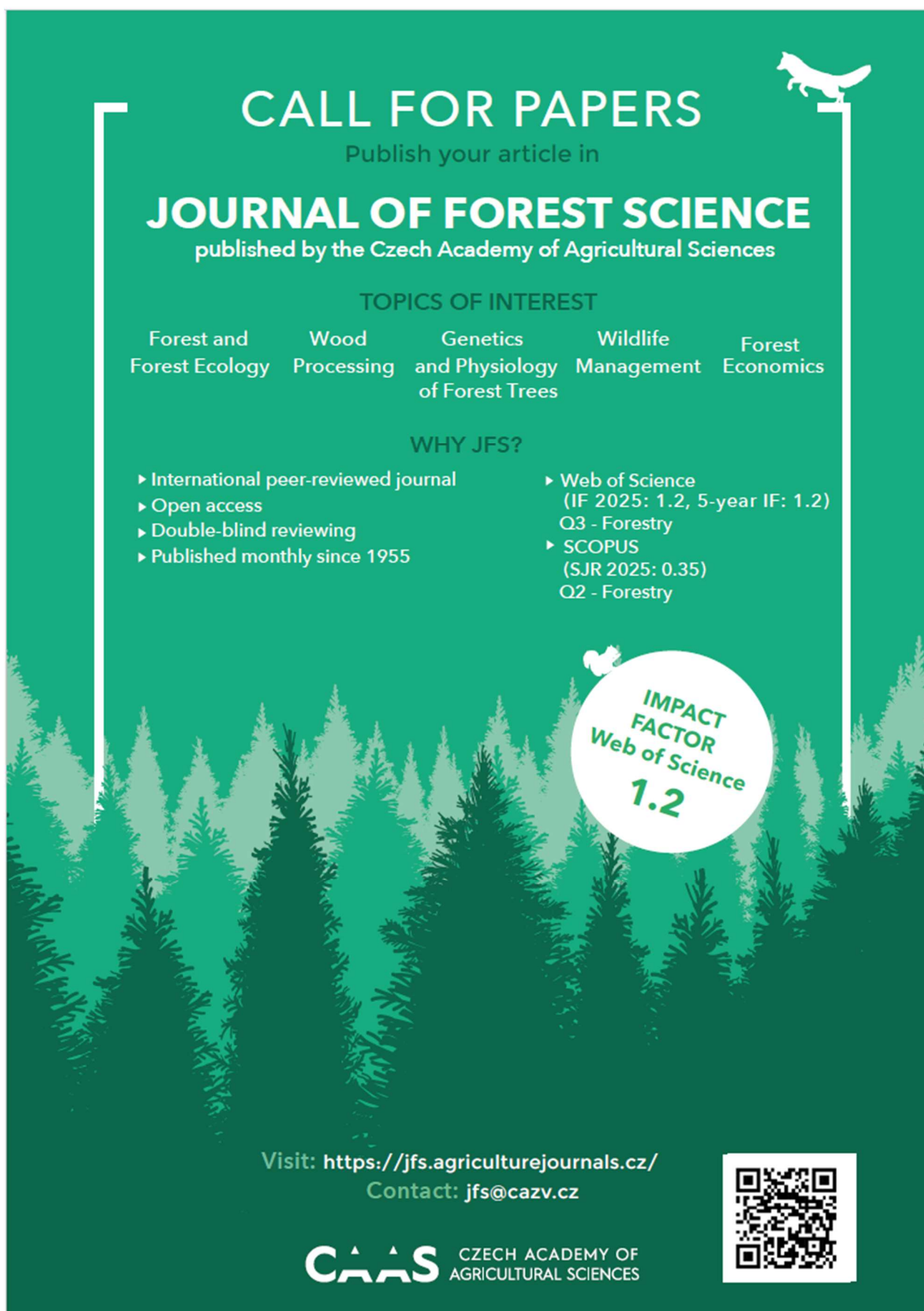
WHY PSE?

▶ International peer-reviewed journal	▶ Web of Science (IF 2025: 2.5, 5-year IF: 2.5)
▶ Open access	Q2 - Agronomy
▶ Double-blind reviewing	▶ SCOPUS (SJR 2025: 0.55)
▶ Published monthly since 1955	Q2 - Soil Science

Visit: <https://pse.agriculturejournals.cz/>
Contact: pse@cazv.cz

CAAS CZECH ACADEMY OF
AGRICULTURAL SCIENCES





CALL FOR PAPERS

Publish your article in

JOURNAL OF FOREST SCIENCE

published by the Czech Academy of Agricultural Sciences

TOPICS OF INTEREST

Forest and Forest Ecology	Wood Processing	Genetics and Physiology of Forest Trees	Wildlife Management	Forest Economics
------------------------------	--------------------	---	------------------------	---------------------

WHY JFS?

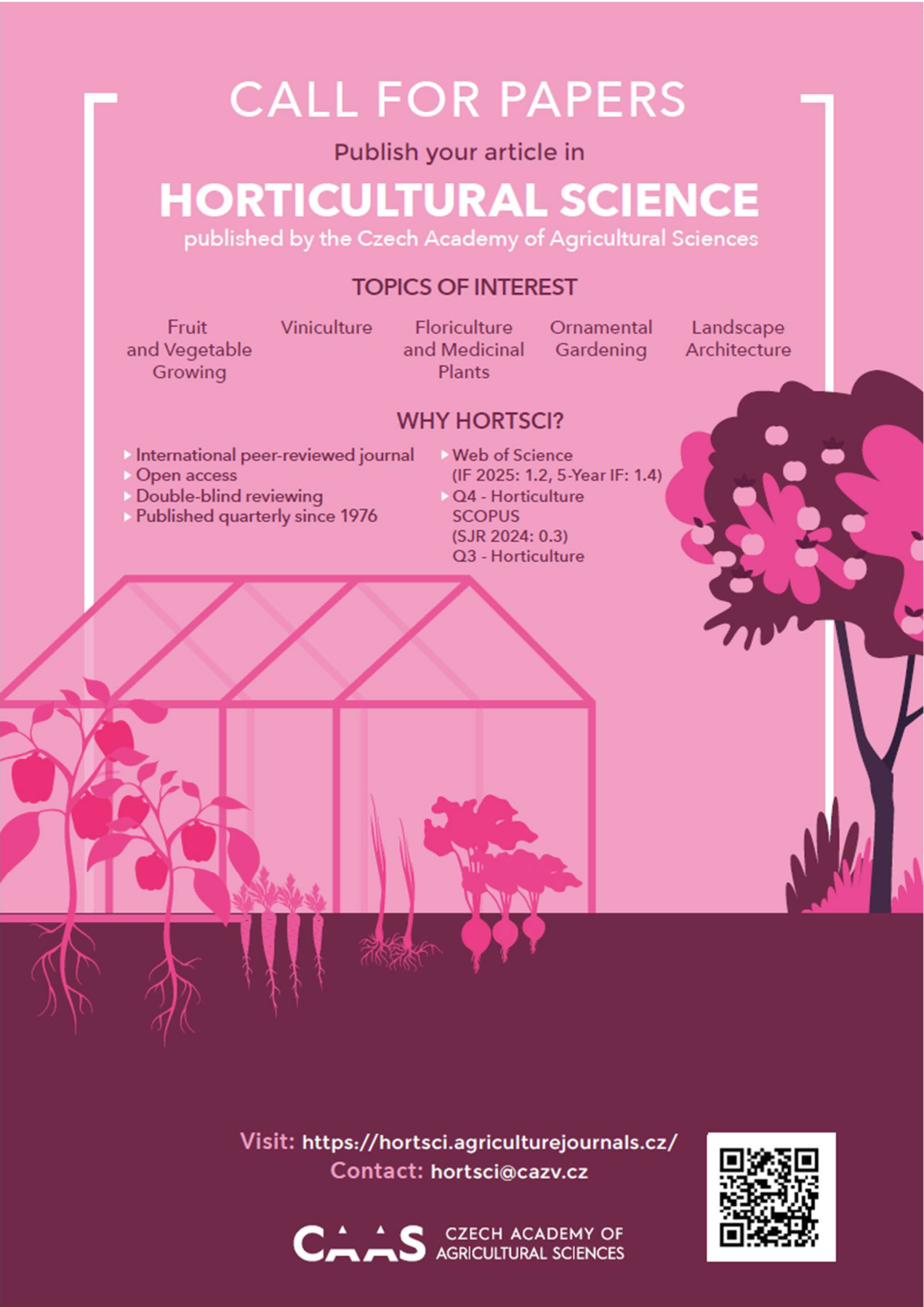
- ▶ International peer-reviewed journal
- ▶ Open access
- ▶ Double-blind reviewing
- ▶ Published monthly since 1955
- ▶ Web of Science (IF 2025: 1.2, 5-year IF: 1.2) Q3 - Forestry
- ▶ SCOPUS (SJR 2025: 0.35) Q2 - Forestry

IMPACT FACTOR
Web of Science
1.2

Visit: <https://jfs.agriculturejournals.cz/>
Contact: jfs@cazv.cz

CAAS CZECH ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES





CALL FOR PAPERS

Publish your article in

HORTICULTURAL SCIENCE

published by the Czech Academy of Agricultural Sciences

TOPICS OF INTEREST

Fruit and Vegetable Growing	Viniculture	Floriculture and Medicinal Plants	Ornamental Gardening	Landscape Architecture
-----------------------------------	-------------	---	-------------------------	---------------------------

WHY HORTSCI?

- ▶ International peer-reviewed journal
- ▶ Open access
- ▶ Double-blind reviewing
- ▶ Published quarterly since 1976
- ▶ Web of Science (IF 2025: 1.2, 5-Year IF: 1.4)
- ▶ Q4 - Horticulture SCOPUS (SJR 2024: 0.3)
- ▶ Q3 - Horticulture

Visit: <https://hortsci.agriculturejournals.cz/>
Contact: hortsci@cazv.cz

CAAS CZECH ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES



Název: Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2026

Editor: František Hnilička

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

Česká zemědělská univerzita v Praze

Odborní recenzenti: Mgr. Jana Šlégrová

Tisk: online

Počet stran: 196

Vydání: první

Rok vydání: 2026

ISBN: 978 – 80 – 89408 – 41 – 2 Ústav ekológie lesa Slovenskej akadémie vied, v.v.i.

Texty příspěvků neprošly jazykovou úpravou