

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

Habilitační práce

2023

Mgr. Hana Auer Malinská, Ph.D.

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta



**Fyziologické a morfologické změny v důsledku
stresu u ozdobnice obrovské (*Miscanthus x
giganteus*)**

Habilitační práce

Mgr. Hana Auer Malinská, Ph.D.

České Budějovice 2023

Obsah

Úvod	6
Charakteristika ozdobnice obrovské (<i>Miscanthus x giganteus</i>).....	6
Projevy stresu u rostlin.....	7
Měření primární fáze fotosyntézy a hodnocení úrovně stresu u rostlin.....	8
Pěstování ozdobnice na zemědělských půdách	8
Pěstování ozdobnice na marginálních půdách	9
Fyziologické změny vyvolané pěstováním ozdobnice na chudých půdách	9
Změny morfologie rostlin pěstovaných na chudých půdách	11
Fyziologické změny vyvolané pěstováním ozdobnice na půdách kontaminovaných rizikovými prvky	11
Fyziologické změny při pěstování na půdách kontaminovaných uhlovodíky.....	14
Změny morfologie rostlin pěstovaných na kontaminovaných půdách	15
Metody ke snížení projevů stresu:	17
Vylepšení chudých půd pomocí růstových regulátorů (PGR, plant growth regulator)	17
Fyziologické změny v důsledku aplikace PGR.....	17
Morfologické změny v důsledku aplikace růstových regulátorů.....	19
Zmírnění důsledků stresu z půdní kontaminace prostřednictvím PGPR (Plant Growth Promoting Bacteria)	19
Fyziologické změny v důsledku aplikace PGPR.....	20
Možnosti zmírnění účinků stresu a vylepšení plodin pomocí primingu.	20
Aplikace chemických typů předúpravy.....	21
Možnosti využití fyzikálních stresorů- „otuzování“	26
Biologický priming u ozdobnice obrovské	26
Morfologické změny listu v důsledku aplikace primingu	26
Shrnutí:	29

Čestné prohlášení:

Tato práce shrnuje poznatky několikaletého výzkumu pěstování ozdobnice obrovské (*Miscanthus x giganteus*) dvou výzkumných týmů z dvou fakult Univerzity Jana Evangelisty Purkyně v Ústí nad Labem. Všichni autoři souhlasí s použitím společně získaných výsledků pro účely této habilitační práce.

Tento výzkum primárně směřoval k optimalizaci pěstování této rostliny pro maximální výnos biomasy pro energetické účely. Součástí experimentů bylo rovněž dlouhodobé sledování fyziologického stavu rostlin. Těchto experimentů se účastnili studenti, kteří v rámci různých projektů vypracovávali své závěrečné práce. Některé z výsledků dosud nebyly publikovány v odborných časopisech, nicméně výsledky závěrečných prací, jež byly úspěšně obhájeny pod mým vedením v roli školitelky, či konzultantky jsou rovněž součástí této práce. Studenti s použitím těchto výsledků pro účel této práce rovněž souhlasí.

Takto získaná data, jež dosud publikována nebyla jsou buď součástí manuskriptů procházejících v současné době recenzním řízením, nebo budou v nejbližší době publikována.

Dále prohlašuji, že úvod, který je vytvořen pouze pro účely této habilitační práce jakožto komentář uveřejněných vědeckých prací a úspěšně obhájených prací mých studentů shrnující jejich vědecký přínos.

Vědecké práce uveřejněné v impaktovaných vědeckých časopisech, které popisuje a shrnuje tato práce:

Nebeská, D., **Malinská, H. A.**, Vaněk, M., Popelka, J., Adamec, S., Ust'ak, S., ... & Trögl, J. **2022**. Nutrients deficiency affects *Miscanthus x giganteus* physiology and essential metals uptake more intensively than soil contamination. *Industrial Crops and Products*, 189, 115845. **IF=6,449, Q1.**

Auer Malinská, H., Vaněk, M., Nebeská, D., Šubrt, D., Brestič, M., Trögl, J., **2021**. Plant priming changes physiological properties and lignin content in *Miscanthus x giganteus*. *Industrial Crops and Products*, doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114185 **IF=5,645, Q1.**

Nebeská, D., **Auer Malinská, H.**, Erol, A., Pidlisnyuk, V., Kuráň, P., Medžová, A., Smaha, M., Trögl, J., **2021**. Stress Response of *Miscanthus* Plants and Soil Microbial Communities: A Case Study in Metals and Hydrocarbons Contaminated Soils. *Appl. Sci.* 2021, Vol. 11, Page 1866 11, 1866. <https://doi.org/10.3390/APP11041866>, **IF=2,838, Q2.**

Souki, K.S. Al, Burdová, H., Trubač, J., Štojd, J., Kuráň, P., Kříženecká, S., Machová, I., Kubát, K., Popelka, J., **Malinská, H.A.**, Nebeská, D., Ust'ak, S., Honzík, R., Trögl, J., **2021**. Enhanced Carbon Sequestration in Marginal Land Upon Shift towards Perennial C4 *Miscanthus x giganteus*: A Case Study in North-Western Czechia. *Agron.* 2021, Vol. 11, Page 293 11, 293. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY11020293>, **IF=3,417, Q1.**

Malinská, H., Pidlisnyuk, V., Nebeská, D., Erol, A., Medžová, A., Trögl, J., **2020**. Physiological response of *Miscanthus x giganteus* to plant growth regulators in nutritionally poor soil. *Plants* 9. <https://doi.org/10.3390/plants9020194>, **IF=3,935, Q1.**

Pranaw, K., Pidlisnyuk, V., Trögl, J., **Malinská, H.**, **2020**. Bioprospecting of a Novel Plant Growth-Promoting Bacterium *Bacillus altitudinis* KP-14 for Enhancing *Miscanthus x giganteus* Growth in Metals Contaminated Soil. *Biology (Basel)*. 9, 305. <https://doi.org/10.3390/biology9090305>, **IF=5,079, Q1.**

Nebeská, D., Pidlisnyuk, V., Stefanovska, T., Trögl, J., Shapoval, P., Popelka, J., Cerný, J., Medkow, A., Kvak, V., Černý, J., Medkow, A., Kvak, V., **Malinská, H.**, **2019**. Impact of plant growth regulators and soil properties on *Miscanthus x giganteus* biomass parameters and uptake of metals in military soils. *Rev. Environ. Health* 283–291. <https://doi.org/10.1515/reveh-2018-0088>, **IF=3,458, Q2.**

Studentské práce, které přispěly k výše uvedeným publikacím, nebo dosud nebyly publikovány:

Burdová Hana, *Miscanthus x giganteus* stress tolerance and phytoremediation capacities in highly diesel contaminated soils, v recenzním řízení *Journal of Environmental Management*

Vaněk Martin, *Vliv primingu na fyziologický stav Miscanthus x giganteus (DP)*, obhájeno 2022

Hofirková Miroslava, *Charakterizace změn v morfologii listů Miscanthus x giganteus po primingu*, obhájeno 2022

Čechová Barbora, *Vliv primingu na fyziologii energetické rostliny ozdobnice*, obhájeno 2022

Úvod

Orná půda trpí celosvětově množstvím negativních vlivů. Více než polovina je ohrožena erozí, snížením kvality kvůli vyčerpání živin a zhoršení vlastností vlivem mechanizovaného obdělávání (Menšík et al., 2019). Dokonce i v České republice klesá kvalita orných půd a snahy o obnovení její výživové hodnoty neuváženým a nadměrným hnojením v minulosti často vyústily v další ekologické problémy, jako hromadění dusíkatých látek ve vodních nádržích či kumulaci těžkých kovů na polích. Problém s nedostatkem kvalitních orných půd by mohl být do jisté míry zmírněn pěstováním méně náročných plodin na zbytkových a dosud nevyužívaných půdách. Především v oblasti severních Čech je takovýchto ploch velké množství, jde především o výsypky, nevyužívané plochy povrchových dolů a nekompletně rekultivovaných těžebních oblastí, nevyužívané průmyslové areály, bývalé vojenské areály a skládky,...

Během posledních šesti let bylo ve spolupráci Fakulty životního prostředí a Přírodovědecké fakulty Univerzity Jana Evangelisty Purkyně v Ústí nad Labem založeno několik polních pokusů s cílem optimalizovat možnosti pěstování ozdobnice obrovské (*Miscanthus x giganteus*) na marginálních půdách za účelem produkce energetické biomasy.

Význam těchto experimentů popisuje a diskutuje tato habilitační práce.

Charakteristika ozdobnice obrovské (*Miscanthus x giganteus*)

Rod ozdobnice (*Miscanthus*) patří do čeledi lipnicovité (*Poaceae*). Ozdobnice obrovská je vytrvalá rostlina původem z jihovýchodní Asie. Do Evropy byla dovezena jako okrasná rostlina v podobě velkého množství kultivarů. V posledních letech se značně rozšiřuje její průmyslové využití. Díky efektivnímu způsobu fotosyntézy (C4) je tato rostlina za vhodných podmínek vyprodukovat velké množství biomasy a proto je v současné době testována jako možný zdroj obnovitelného zdroje energie. Testy v polním měřítku probíhají celosvětově bez obav z šíření ozdobnice obrovské jako možného invazního druhu díky jejímu genetickému základu. Je totiž sterilním triploidním hybridem ($2n=3x=57$) mezi diploidní ozdobnicí čínskou (*M. sinensis*, $2n=38$) a tetraploidní ozdobnicí cukrovou (*M. sacchariflorus*, $2n=4x=64$). V našich podmínkách téměř nekvete, pokud ke kvetení dojde, semena jsou sterilní a šíření do okolí je tedy nemožné. Přirozeně se rostliny rozmnožují (rozšiřují) zvětšováním oddenků, případně

jejich dělení. V prvních dvou letech jsou rostliny náchylné k povětrnostním vlivům a vytvářejí více biomasy v podzemní části, ale po třech letech rostliny dosahují plné zralosti a vytvářejí mohutné trsy dřevnatých stébel o výšce až tři metry. Na konci vegetační doby prýty odumírají a jedinou živou částí zůstává oddenek, který během sezóny načerpal dostatek energie a živin do následujícího roku.

Biomasa sklizená po vysušení nadzemní části může být využitelná v energetice, papírenství i stavebním průmyslu. Ozdobnice se často nazývá „energetickou plodinou druhé generace“, což naznačuje její hlavní využití v energetice, protože výhřevnost suché biomasy se pohybuje mezi 16 MJ/kg až 19 MJ/kg (Stražil, 2018). Konkrétní využití biomasy závisí na jejím složení, díky relativně vysokému obsahu celulózy (kolem 40%, Weger et al. 2021) je možné využití i k výrobě papíru, případně jako podestýlka pro hospodářská zvířata.

Projevy stresu u rostlin

Nejzávažším projevem stresu u rostlin je odumírání jejich částí, ale rostliny disponují množstvím adaptačních mechanismů, jak fatálním projevům extrémních stresových podmínek zabránit. Tyto mechanismy se vyvinuly v důsledku nemožnosti lokomoce a to, jak bude rostlina na stres reagovat záleží na jeho typu (biotický, abiotický), intenzitě a především na délce trvání. Obecně se reakce na stres u rostlin rozděluje do čtyř fází. První-poplašná, kdy dojde k rozpoznání stresu, druhá, restituční, kdy dochází k primární reakci např. aktivací kyseliny abscisové. Poté může dojít k třetí fázi, aklimatizační, kdy rostlina minimalizovala účinky stresu na své pochody. V této fázi může rostlina setrvat velmi dlouho a pokud je změna geneticky zakotvena, může tento genotyp v populaci převládnout. Pakliže stres trvá příliš dlouho, je příliš intenzivní nebo není možné minimalizovat jeho důsledky (např. dlouhodobé sucho), rostlina odumírá. Dochází ke čtvrté fázi-fázi vyčerpání.

Již od první fáze dochází ke změnám fyziologického stavu rostliny, a to se týká i nejdůležitějšího rostlinného systému, fotosyntézy. Následky stresu je možné sledovat na mnoha úrovních, při dlouhodobém sledování je však důležité vybrat metodu takovou, která nebude zkoumaným rostlinám sama o sobě působit další stres. Veškerá měření se opírají o měření změn efektivity fotosyntézy vyvolaných stresem, skrze změnu fluorescence chlorofylu. Měření fluorescence chlorofylu je rychlá a neinvazivní metoda a pro svou univerzálnost je široce využívána. Metodika měření je detailně popsána v jednotlivých publikacích. Nicméně

následující experimenty hodnotící fyziologický stav rostlin byly vždy prováděny tak, aby byl stres ze samotného měření pro rostlinu minimální.

Měření primární fáze fotosyntézy a hodnocení úrovně stresu u rostlin

Měření úrovně fotosyntézy je jedním ze základních prostředků k posouzení fyziologického stavu rostliny. Tento proces je však obtížné měřit přímo, proto se, především pro stanovení úrovně primární fáze fotosyntézy využívá měření fluorescence chlorofylu. Standardním ukazatelem úrovně rostlinného stresu je parametr F_v/F_m , maximální kvantový výtěžek primární fáze fotosyntézy u temnostně adaptovaného vzorku. Jde o poměr variabilní fluorescence a maximální získané fluorescence. Výhodou tohoto indexu je jeho univerzálnost, je totiž použitelný pro srovnání napříč taxony, neboť je jeho hodnota standardizována a pro nestresovanou rostlinu je stanovena jako 0,83. U ozdobnice bylo zjištěno, že v mnoha případech je tento parametr málo citlivý k probíhajícím změnám, proto byly k popisu fyziologického stavu ozdobnice pěstované v různých podmínkách použity i jiné parametry.

Pěstování ozdobnice na zemědělských půdách

Ozdobnice upřednostňuje lehčí, strukturální půdy v teplejších oblastech, s vyšší hladinou podzemní vody (max. 60 cm), nejlépe bez zaplevelení vytrvalými plevely. Nevyhovující jsou mělké půdy s dlouhými obdobími sucha během léta a chladné jílovité půdy, optimální pH půdy je mezi 5,5-6,5 (Stražil. 2018).

Obecně se uvádí, že ozdobnice obrovská může na dobré půdě produkovat až 20-30 tun sušiny na hektar za rok (Heaton et al., 2010; Stražil, 2009; Stražil et al., 2015). Je ovšem mnoho faktorů, které produkci biomasy ovlivňují a ty zahrnují kvalitu půdy, dostupnost vody, sluneční svit a správné hospodaření. Česká republika má klima a půdní podmínky, které jsou obecně vhodné pro pěstování této rostliny. Konkrétní výnosy však mohou být ovlivněny lokálními podmínkami a praktikami.

Přestože bylo primárním cílem optimalizovat růst ozdobnice na marginálních půdách, bylo nezbytné zhodnotit růst této rostliny také na zemědělské, na živiny bohaté půdě. Tyto experimenty sloužily jako kontrolní pokusy k následujícím experimentům zahrnujícím na živiny chudé a kontaminované substráty.

Pěstování ozdobnice na marginálních půdách

Přestože je rostlinná biomasa žádaným zdrojem energie, její pěstování na zemědělských půdách je kontroverzní. Naopak pěstování biomasy na marginálních půdách může mít hned několik pozitivních aspektů: Kromě produkce biomasy samotné je při využití nekvalitních půd možné obohatit toto stanoviště mnohými způsoby. Jak bylo prokázáno na studiích s pěstováním ozdobnice na chudých i kontaminovaných půdách, je časté, že už po roce pěstování dojde k obohacení mikroflóry, zlepšení kvality půdy, nemluvě o širším ekologickém dopadu jako je zabránění erozi a poskytnutí útočiště drobným živočichům. Polní experimenty se zakládají na 10-20 let, je tedy zaručen dlouhodobý efekt.

Konkrétním příkladem toho, jak ozdobnice vylepšuje kvalitu půdy je experiment založený v roce 2018 na málo kvalitní půdě na pozemcích VURV Chomutov (Souki et al., 2021). Přestože byla tato půda klasifikována jako zemědělská, v 19. století na tomto místě probíhala povrchová těžba hnědého uhlí. I v současnosti je stále možné na stanovišti pozorovat známky těžby (kousky uhlí,...). Nicméně před výsadbou ozdobnice byla tato plocha pro experimentální účely cyklicky osazována běžnými zemědělskými plodinami. Před založením experimentu byly odebrány vzorky půdy k analýze, totéž bylo provedeno po třech letech kultivace ozdobnice. Půda byla mírně kyselá (pH H₂O 6,30±0,30) a obsah makro i mikroprvků v ní obsažených byl spíše podprůměrný (Souki et al., 2021). Po třech letech pěstování ozdobnice byla patrná mírná acidifikace půdy, pravděpodobně skrze tvorbu kořenových exudátů (nepublikovaná data autorky, experimenty stále probíhají). Byla pozorována zvýšená porozita substrátu, zvýšil se obsah organického uhlíku (především v horních 10cm), zvýšil se obsah SOC a celkový objem mikrobiální biomasy (Souki et al., 2021).

Stres z nedostatku živin zjevně ovlivňuje široké spektrum metabolických drah včetně fotosyntézy. Literatury, která by popisovala konkrétně, které části fotosyntetických procesů se tento typ stresu přímo dotýká však není dostatek. Proto započal rozsáhlý výzkum jevů ovlivňujících fyziologické změny u ozdobnice obrovské pěstované v různých podmínkách.

Fyziologické změny vyvolané pěstováním ozdobnice na chudých půdách

Pro možné využití marginálních ploch v ČR pro pěstování ozdobnice pro energetické účely bylo potřeba nejprve posoudit vliv stresu vyvolaný suboptimálními výživovými podmínkami na produkci biomasy z této rostliny. K dílčímu hodnocení stavu rostlin a úrovně stresu bylo využito měření fyziologických parametrů. V následujícím shrnutí jsou uvedeny závěry nejdůležitějších experimentů:

Ve studii z roku 2019 zkoumal tým složený ze zástupců FŽP a PřF UJEP, Ústí nad Labem fyziologické rozdíly mezi rostlinami pěstovanými na živinami bohaté půdě (C -kompost) a dvou marginálních půdách původem z bývalého letiště v Hradčanech u Mimoně (H1 a H2). Jde o velmi chudé písčité půdy, přestože se obě půdy liší v obsahu nutrientů pouze drobně, růst rostlin na těchto půdách byl odlišný (Malinská et al., 2020). Pro základní zhodnocení fyziologického stavu byla využita metoda měření listové fluorescence. Jak se očekávalo, OJIP křivka zaznamenaná u rostlin rostoucí v bohaté půdě (C) připomíná standardní Kautského křivky z literatury a rostliny vizuálně vypadají v dobré kondici. Zatímco H1 i H2 křivky jsou si navzájem velmi podobné a vykazují výrazný pokles, což je zřejmé i ze vstupních hodnot F_0 a F_m . F_0 je mnohem nižší než u rostlin kultivovaných v kompostu. Také hodnota maximální fluorescence je extrémně nízká. Paradoxně F_v/F_m , tedy parametr, který z těchto hodnot vychází, výrazné rozdíly neukazuje. A to jak u rostlin rostoucích v kompostu, tak na chudých půdách. V literatuře se objevují zmínky o tom, že, ač masivně využívaný, může být parametr F_v/F_m v některých případech málo citlivý, případně nevhodný. To by mohl být případ ozdobnice, proto byla analýza rozšířena o další parametry.

Rostliny kultivované v kompostu mají vysokou absorpci (ABS/CSo i CSm), podobně je tomu i u jiných parametrů (TRo-trapping, TRo/CSo i TRo/CSm, ETo- electron transport, ETo/CSo i ETo/CSm), DIo-dissipace, DIo/CSo i DIo/CSm), kdy se hodnoty těchto parametrů statisticky významně liší u rostlin pěstovaných na živinami bohaté půdě a na půdách H1 a H2 (Malinská et al., 2020). V přepočtu na množství aktivních reakčních center (RC) nejsou hodnoty až tak odlišné od hodnot naměřených u H1 a H2. Z toho je pravděpodobné, že rostliny pěstované na kvalitním substrátu jsou schopny efektivněji absorbovat světlo, udržovat a transportovat energii z něj získanou, nicméně mezi zvýšené parametry patří také tepelná dissipace, tedy je zřejmé, že rostlina tuto energii kompletně nevyužívá na fotochemické procesy. Zvýšení hodnot parametrů v přepočtu na listovou plochu oproti přepočtu (CS) na množství reakčních center (RC) svědčí spíše o tom, že rostlina v dobrém stavu vyvinula velké množství reakčních center fotosystému II. Rozdíly mezi rostlinami s dostatečnou výživou a dvěma skupinami jedinců kultivovaných na půdě H1 a H2 jsou velmi výrazné, naproti tomu rozdíl mezi rostlinami H1 a H2 byl pozorován jen minimálně:

Přestože se H1 a H2 mírně liší množstvím živin, obsah N, P, K a mikronutrientů je velmi nízký a rostliny pěstované na těchto půdách vykazují velkou podobnost i ve většině ostatních fluorescenčních parametrů. Přesto lze najít dílčí rozdíly ve vzezření rostlin (viz dále) ale i ve fyziologii. Nejvýznamnější rozdíl je vysoká hladina PI abs u H2, naznačující, že rostlinám

pěstovaným v půdě H2 se daří o něco lépe. Naopak nízká hodnota parametru REo/RC u H2 naznačuje, že se H2 liší v účinnosti přenosu elektronů v reakčních centrech fotosystému II.

Závěrem můžeme vyvodit, že nedostatek klíčových nutrientů vede u ozdobnice obrovské k neodvratnému poškození fotosyntetického aparátu, který lze jen obtížně zvrátit.

Změny morfolgie rostlin pěstovaných na chudých půdách

V důsledku stresu byla pozorována i změna morfolgie rostlin. U rostlin kultivovaných v kompostu jsou celé rostliny včetně listů tmavší a více strukturované. Rostliny H1 mají na okrajích listů červený pruh, zatímco listy H2 jsou světlé ale bez červeného okraje. Na řezu jsou listy z chudých půd ploché a bez výrazných cévních svazků a shluků sklerenchymatických buněk. Listy H1 a H2 měly více průduchu a tenčí listy než rostliny z kompostu (C). Některé H1 rostliny vykazovaly abnormální tvar xylémových elementů a nevyvinuté, nebo abnormálně vyvinuté cévní svazky, tyto rostliny měly i méně buliformních buněk, což svědčí o tom, že hluboce podvyživené rostliny nebyly schopny investovat dostatečně ani do klíčových elementů. Systémy ochrany a nekritické struktury jsou potlačeny (Malinská et al., 2020).

Fyziologické změny vyvolané pěstováním ozdobnice na půdách kontaminovaných rizikovými prvky

Chudá půda z Hradčan byla využita i v dalším experimentu. Na bývalém vojenském letišti se nalézají také oblasti kontaminované těžkými kovy. V důsledku vojenské činnosti tato půda s vysokým obsahem Cd, Pb a Zn byla použita k dalšímu nádobovému pokusu, kdy jako kontrola sloužila půda z nedalekého pole. Tato půda byla před sběrem analyzována ručním XRF přístrojem a ten neodhalil významné množství kontaminujících složek, ovšem laboratorní analýza odhalila významnou kontaminaci Cd. Ta se do půdy dostala s největší pravděpodobností extenzivním využíváním průmyslových hnojiv v tomto experimentu tedy nejde o srovnání kontroly a kontaminované půdy, ale o porovnání vlastností dvou kontaminovaných půd s rozdílnými vlastnostmi (Nebeská et al., 2021). Zemědělská (AGR) půda obsahuje více živin především, fosforu a dusíku. Množství nutrientů není výrazně vyšší, ovšem zásadně se liší sktrukturou, je více humózní a tedy lépe zadržuje vodu. „Vojenská“ (MIL) půda je chudší na živiny, je velmi písčité a obsahuje nadlimitní koncentrace Cd, Pb a Zn. Rostliny pěstované v těchto dvou typech půdy byly podrobeny standartnímu měření fluorescence. Z JIP testu vyplývá, že rostliny pěstované na zemědělské půdě (AGR) mají OJIP křivky podobného tvaru i hodnot jako při měření ozdobnic rostoucích v půdě „C“-kompost

v předchozím experimentu. Překvapivě to však platí i pro rostliny z půdy „MIL“, tedy půdou kontaminovanou těžkými kovy. Stejně jako u výše zmíněných chybí distinktní stupně „J“ a „I“. Další podobnost je v celkovém habitatu rostliny.

Hodnoty F_v/F_m ani ostatních měřených parametrů (E_{To} , TR_o , ABS/CS) nepotvrdily statisticky významný rozdíl mezi rostlinami pěstovanými v AGR a MIL. Můžeme tedy usoudit, že vliv kontaminace těžkými kovy není pro fungování základních procesů ozdobnice tak podstatný. Z předchozích experimentů vyplývá, že ozdobnice je rostlina tolerující široké spektrum různých podmínek, nicméně přítomnost kadmia jistě hraje ve fyziologii rostliny značnou roli, neboť hodnota F_v/F_m , která je považována za univerzální indikátor stresu je u AGR a MIL hluboce pod standardní hodnotou (0,83). Vzhledem k tomu že medián všech měřených rostlin se pohybuje kolem 0,55, je zjevné, že těžké kovy přítomné v půdě významně zasahují do procesu fotosyntézy (Nebeská et al., 2021).

Další oblastí s marginální půdou, která byla využita v experimentech s ozdobnicí byla oblast bývalého povrchového lomu, nyní součást skládky ve Všebořicích nedaleko centra Ústí nad Labem. Analýza půdy prokázala nízké pH ($pH_{H_2O} = 5$), tedy výrazně nižší pH, než u všech předchozích (H1, H2, AGR i MIL). Obsah esenciálních prvků byl relativně dobrý, vyhovující pro nezemědělsky obdělávanou půdu, kromě fosforu. Jeho množství bylo srovnatelné s množstvím fosforu v nejhudší z půd, H1. V kombinaci s velmi nízkým pH je už tak malé množství fosforu hůře dostupné a rostliny v této půdě mohou trpět jeho nedostatkem. S nízkým pH se výrazně snižuje i vstřebatelnost dalších důležitých prvků jako Mg, P i K, přestože je jich v této půdě relativní dostatek (Pranaw et al., 2020). Při analýze tohoto substrátu byly nalezeny nadlimitní koncentrace některých potenciale nebezpečných prvků. Mírné zvýšení bylo naměřeno pro nikl a zinek, které samy o sobě nemusejí znamenat ohrožení pro zvířata nebo rostliny v této oblasti. Výrazně nadlimitní hodnoty (cca dvojnásobná hodnota oproti preventivní hodnotě dané vyhláškou) byly však naměřeny v případě chromu, který může znamenat potenciale riziko. Vysoké hodnoty byly naměřeny i pro vanad a stroncium, pro tyto prvky však neexistují jasné limity v tomto typu půdy, takže toto srovnání je pouze empirické, v porovnání s hodnotami z jiných využívaných stanovišť.

Na této lokalitě bylo vysazeno 300 oddenků ozdobnice obrovské a experiment probíhá od roku 2018 doteď. V prvním roce byl zaznamenán výrazný úhyn rostlin (přežilo pouze 40%) v roce 2019 bylo přeživších rostlin cca 25%. Na vině je kromě kontaminace půdy a v jistých ohledech

nedostatečná výživa také samotný charakter půdy, který je velmi písčité a špatně zadržuje vodu. Rostliny v prvním roce trpěly suchem a úhyn při přechodu do následujícího roku byl primárně zapříčiněn mrazy. Ozdobnice jakkoli nesmírně odolná rostlina, je především v prvním roce života velmi náchylná k vymrzání. Z původního množství přežila přibližně čtvrtina, tedy cca 75 rostlin. Tyto rostliny byly monitorovány a pravidelně měřeny. Minimálně v prvním roce nebyly v příliš dobrém fyziologickém stavu, což dokazuje průměrná hodnota F_v/F_m $0,38 \pm 0,09$, což je nejnižší hodnota F_v/F_m ozdobnice ze všech stanovišť využívaných pro experimenty. Také velmi nízký PI index ($0,15 \pm 0,09$) dokazuje, že stanoviště je pro rostliny až příliš exponované. Výsledná průměrná produkce biomasy byla tedy v prvním roce velmi nízká s vysokou směrodatnou odchylkou ($6,4 \pm 6,6$ g, nepublikovaná data autorky). Proto byl polní experiment upozaděn a půda z této lokality využívána především k nádobovým experimentům.

Z předchozích experimentů je zřejmé, že je velmi komplikované odlišit negativní vliv nedostatku esenciálních makro a mikroprvků v půdě a toxický efekt kontaminujících prvků, nebo přímo těžkých kovů na metabolismus ozdobnice. Nepřímá metoda měření fluorescence chlorofylu a má sice množství výhod, není však specifická pro určitý druh stresu. Nicméně i pomocí této metody je možné odlišit některé specifické rysy působení například těžkých kovů, atp.

Pro poslední experiment pro stanovení účinku kontaminujících prvků v půdě byl jako kontrola použit komerčně produkováný certifikovaný substrát bohatý na živiny. Experimentální varianty byly vytvořeny postupným smícháním tohoto substrátu se silně kontaminovanou půdou z řeky Litavka (okres Příbram), z místa kontaminovaného produkty těžebního průmyslu (Faměra et al., 2018). Půda z Litavky je písčité s nižší výživovou hodnotou, než kompost ale obsahuje více esenciálních mikroprvků a makroprvků než například H1 a H2. Navíc vlivem těžby uniklo do tohoto substrátu nadlimitní množství olova, kadmia, arzenu a zinku. Smícháním kompostu s touto kontaminovanou půdou v poměrech 2:1 vznikla varianta M1, stejným poměrem obou typů půd vznikla varianta M2, 1:2 s převahou kontaminované půdy varianta M3 a M4 je čistá půda z Litavky, bez přidání kompostu. U rostlin pěstovaných v M4 byl vliv kontaminace zjevný na první pohled, byly nižší a celkově méně statné. To, že stav rostlin M4 nebyl dobrý je zjevné z měření křivek rychlé fluorescenční indukce, kdy křivka M4 je zploštělá a poškození fotosyntetického aparátu je zřejmé také z vysoké disipace (D_{Io}/RC) (Nebeská et al., 2022). Neuspokojivý stav byl také patrný nejnižšího výtěžku biomasy.

U variant s jistým podílem kompostu (M2 a M3) byl pozorován mnohem lepší stav, a v mnohých parametrech se rostliny M2 a M3 vyrovnaly kontrolním rostlinám. M2 v produkci

biomasy kontrolu předčily, u M3 je patrný narůstající vliv toxických prvků a množství biomasy je oproti kontrole menší. Zvláštní hodnoty byly naměřeny u rostlin H1, kdy tyto rostliny vykazovaly vyšší ABS/RC, TRo/RC i ETo/RC než rostliny kontrolní (i M2-M4), přičemž DIo/RC byla srovnatelná s kontrolou. Také produkce biomasy u těchto rostlin byla velmi vysoká. Tento fakt lze u M1 a M2 vysvětlit fenoménem zvaným hormoneze. Tento jev byl pozorován u mnohých rostlin a spočívá v aktivování různých mechanismů v důsledku jisté dávky stresu. Stimulační efekt toxických látek na růst byl, stejně jako v tomto případě popsán již u kukuřice, kdy stimulačním efektem působily těžké kovy olovo a kadmium (Małkowski et al., 2020).

Hlavním cílem tohoto experimentu však bylo zjistit, co má na fyziologii ozdobnice větší vliv, nedostatek živin, či přítomnost kontaminujících prvků. Ozdobnice obrovská je zjevně nesmírně odolnou rostlinou tolerující velké množství nestandardních podmínek. Je schopna přežít, a dokonce prospívat v půdě s toxickým množstvím arsenu, kadmia a olova, ale při srovnání s rostlinami rostoucími na půdách chudých na živiny, je zjevné, že nízký obsah esenciálních prvků v půdě má na fyziologické procesy ozdobnice zásadnější negativní vlivy než kontaminace zmíněnými prvky.

Fyziologické změny při pěstování na půdách kontaminovaných uhlovodíky

Paralelně s experimentem zkoumajícím vliv těžkých kovů na stav ozdobnice, byl založen podobný experiment využívající vojenskou půdu (MIL). Letiště v Hradčanech u Mimoně bylo dlouhou dobu využíváno v Sovětskou armádou a letecký provoz zanechal na této rozlehlé oblasti své důsledky. A to především v půdě kolem hangárů, kde byla uskladněna letadla docházelo zde k vypouštění paliva z letadel do volné přírody. Po prvotní sanaci tohoto území se zde stále nacházelo velké množství polutantů, proto bylo okolí hangárů vybráno jako místo, pro odběr půdy pro další experimenty. V důsledku dlouhodobého sucha ovšem došlo k poklesu hladiny spodní vody a alifatické uhlovodíky klesly pod dostupnou hranici (hlouběji než 1 m). Aby mohl být experiment proveden, byla původní úroveň kontaminace uměle napodobena přidáním odpovídajícího množství leteckého benzínu k půdě v okolí Hangáru (MIL). Půda odpovídající původní koncentraci je v publikaci označena jako „OIL“, stejně jako rostliny ozdobnice v ní kultivované (Nebeská et al., 2021).

Oproti rostlinám bez kerosinu v půdě tyto rostliny rostly pomaleji. Biomasa vyprodukovaná těmito rostlinami po ukončení vegetační sezóny odpovídá velmi špatnému fyziologickému stavu rostlin, což dokumentuje OJIP křivka s velmi pozvolným horizontálním průběhem.

Fv/Fm u těchto rostlin vykazoval velkou variabilitu, dokazující neutěšený stav rostlin. Absorpce, trapping i transport energie byl statisticky významně snížen, dokonce i oproti rostlinám kultivovaných na kontaminovaných půdách. Křivka OJIP rostlin pěstovaných na půdě „OIL“, velmi připomíná svým tvarem a pozvolným nárůstem křivky rostlin z půd H1 a H2.

Celkově špatný stav rostlin „OIL“ je zjevný z drobného vzrůstu, mizivého přírůstu biomasy a žlutého zabarvení listů. Paradoxně Fv/Fm dosahuje průměrné hodnoty 0,45, což je nízká hodnota, než by bylo standardní pro zdravou rostlinu, ovšem ve srovnání s H1 a H2 rostlinami, u nichž byly naměřeny podobné hodnoty, rostliny pěstované v uhlovodíky kontaminované půdě rostou mnohem pomaleji a dosahují mnohem menší produkce biomasy. Nicméně u všech měřených parametrů byla u varianty „OIL“ pozorována vysoká variabilita, tedy není možné vyvodit jednoznačný závěr, nicméně ABS/CSm, ETo/CSm i TRo/CSo byly ve srovnání s variantami „AGR“ i „MIL“ výrazně sníženy.

Změny morfologie rostlin pěstovaných na kontaminovaných půdách

Přestože měření fluorescence kromě OJIP křivky nepotvrdilo zásadně lepší stav AGR rostlin, morfologické parametry jasně dokázaly, že vliv výživy je u ozdobnice zásadní. Rostliny pěstované na zemědělské, přestože kontaminované půdě, tvořily ve dvou po sobě následujících letech téměř stejné množství stonků. V druhém roce mnohem výrazněji investovaly do tvorby listů a podobně tomu bylo i u rostlin z vojenské půdy (MIL). Celkový výtěžek biomasy v každém z těchto dvou let byl oproti rostlinám ze zemědělské půdy (AGR) mnohem menší.

Rostliny pěstované na půdě značené jako „MIL“ měly statisticky významně užší listy a rostliny z „AGR“ půdy tvořily tlustší listy, které měly více sklerenchymu na koncích listů, kolem cévních svazků a silnou kutikulu (Nebeská et al., 2021).

Příčné řezy listem ozdobnice byly vyhotoveny i pro variantu „OIL“, jisté změny byly patrné na první pohled, například extrémně málo sklerenchymu. Po celém listu byly cévní svazky téměř stejné velikosti, obvyklým stavem je, že jedna centrální žilka obsahuje velký cévní svazek obklopený sklerenchymatickými pochvami z obou stran a směrem k okraji listu se střídají větší či menší cévní svazky prokládané shluky buliformních buněk. V případě varianty „OIL“ je velikost cévních svazků téměř srovnatelná, bez jasně rozeznatelných buliformních buněk. Větší kolenchymatické buňky přecházejí volně v buňky pokožkové. Rovněž byly pozorovány různé abnormality ve tvaru a struktuře cévních svazků. Listy použité k tvorbě řezů byly však velmi křehké, řezy se lámaly a nebylo možné získat dostatek kvalitních vzorků. Není tedy možné

rozhodnout, které ze strukturních abnormalit jsou skutečně způsobeny působením kontaminujících látek a které jsou artefakty. Vzhledem k nízké kvalitě řezů „OIL“ nebyly tyto výsledky nikdy publikovány.

Vzhledem k výrazným změnám v růstu rostlin kultivovaných v půdě s přidavkem leteckého bezínu (Burdová 2023, v recenzním řízení) byl připraven nádobový experiment s běžnou zemědělskou půdou (Chomutov) arteficiálně přidané nafty v různých koncentracích (0, 2 500, 5 000, 10 000, 15 000, 20 000, 25 000, 30 000, 40 000 a 50 000 mg.kg⁻¹).

Je zřejmé, že kontaminace uhlovodíky má velký vliv na fyziologii rostlin. Test OJIP ukázal, že velké změny tvaru křivky ovšem nekorelují s nárůstem koncentrace nafty v substrátu absolutně.

Minimální fluorescence (F_o, O krok) stoupá s rostoucí kontaminací v půdě, což naznačuje, že v rostlinách postižených kontaminací je vyšší procento Q_B⁻ neredukčních reakčních center. Může to být ale také známka menšího poměru periferních antén k centrálním anténám. U nezasazených rostlin (kontrola) je pravděpodobně větší poměr periferních antén. F_m, maximální fluorescence (P krok) je extrémně nízká pro rostliny pěstované ve vysoké koncentraci uhlovodíků, což naznačuje buď větší plastochinonový pool v postižených rostlinách, nebo vyšší rychlostní konstantu reoxidace plastochinonu (Strasser and Stirbet, 1998).

Počáteční sklon křivky, který lze definovat pomocí parametru M_o, pozitivně koreluje s rostoucím počtem uhlovodíků v půdě. Další parametry, jako Ψ_O a Φ_{Eo}, negativně korelují s rostoucí koncentrací uhlovodíků. Φ_{Ro} vykazuje mírnou negativní korelaci a vykazuje neočekávaně vysoké hodnoty během prvního měření v červnu 2019 ve variantách 5000 a 10 000, nikoli však u varianty 2500. Tento parametr zůstává nezměněn po celou dobu experimentu.

Podobný vzorec lze pozorovat u Φ_{Po}, maximálního kvantového výtěžku primární fotochemie, což naznačuje, že ve variantách 5000 a 10 000 vedla zvýšená výtěžnost přenosu elektronů (z akceptorů Q_A⁻ na PSI) k celkově lepšímu stavu těchto rostlin.

Tento jev by mohl být vysvětlen jevem zvaným "hormeze" - "zlepšení" fyziologických hodnot rostlin za stresových podmínek. Tento jev by u ozdobnice již pozorován v případě kultivace na chudých půdách kontaminovaných těžkými kovy (viz výše).

V případě nafty se hormeze neuplatňuje u nejnižší koncentrace uhlovodíků (M2500), protože množství kontaminace je pravděpodobně příliš nízké na to, aby ovlivnilo fyziologické procesy. Na druhé straně to také nelze pozorovat při extrémně vysokých kontaminacích uhlovodíků,

protože kontaminace je prostě příliš vysoká a převažuje toxický účinek kontaminujících sloučenin.

Pokles křivky OJIP je zřejmý, nicméně neexistuje lineární korelace mezi výškou kroku P a koncentrací nafty v květináčích. Nejen kroky "P" a "O", které definují "výšku" křivky, se liší, ale také tvar křivek je v některých variantách odlišný, což naznačuje, že vyšší a nižší koncentrace uhlovodíků mohou mít různý dopad na různé fáze primární fotochemie.

Metody ke snížení projevů stresu:

Výše uvedené experimenty dokládají, že vliv výživy má na růst ozdobnice zásadní vliv. Obohacování půdy samotné hnojením je v mnohých případech nevhodné, vzhledem k písčitému charakteru půd. Jistým východiskem se jevila aplikace růstových stimulantů přímo na rostliny ozdobnice.

Vylepšení chudých půd pomocí růstových regulátorů (PGR, plant growth regulator)

Využití růstových regulátorů se zdálo jako velmi perspektivní z hlediska vylepšení odolnosti, produkce biomasy i jiných vlastností rostlin. V případě ozdobnice byly využity dva komerční růstové regulátory. Stimpo a Regoplant, které byly v minulosti již úspěšně využity při pěstování jiných jednoděložných plodin na Ukrajině. Jejich složení je kryto patentem, ale obsahují především analogy fytohormonů, mikroprvky a jiné látky jako např. polysacharidy získané z různých druhů mikroorganismů.

Fyziologické změny v důsledku aplikace PGR

Při prvotních polních experimentech na chudé zemědělské půdě na Ukrajině (Dolyna), byl účinek na produkci biomasy velmi pozitivní, avšak v důsledku nekontrolovaných podmínek byla mezi rostlinami velká variabilita v její produkci a nebylo možné rozhodnout, jak vysoká koncentrace, jakého stimulantu, při jakém způsobu aplikace je pro pěstování ozdobnice na marginálních půdách v Dolyně nejvhodnější.

Byl tedy vytvořen nádobový experiment se stejnými PGR, ve stejných koncentracích, kde byla sledována navíc listová fluorescence. Z praktických důvodů nepocházela použitá půda z Ukrajiny, ale byla využita již definovaná, na nutrienty chudá půda z letiště v Hradčanech (H1 a H2).

Celkově se dá konstatovat, že ani Stimpo, ani Regoplant nevylepšil stav zkoumaných rostlin na H1 ani H2 s výjimkou nejnižší kontaminace se Stimpo. Oba preparáty obsahují směs

fytohormonů a mikronutrientů, sacharidů a mastných kyselin (přesné složení kryto patentem), a z výsledků vyplývá, že vyšší koncentrace růstového regulátoru k lepšímu fyziologickému ústavu rostlin nepřispívá. Zajímavé je, že stejná koncentrace stimulantu působí jinak na H1 a H2. Přestože jsou si tyto půdy, co do obsahu živin, velmi podobné, především po aplikaci Stimpo, pozorujeme výrazný rozdíl, kdy u H2+Stimpo dochází k výraznému nárůstu absorpce energie (ABS/CSm) ale snížení disipace (DIO/RC). Zatímco u H1 se stejnou koncentrací Stimpo dochází k dramatickému nárůstu disipace, přičemž listy těchto rostlin nejsou schopny absorbovat takové množství fotonů jako H2. Podobně je tomu i u jiných parametrů jako ETo/CS nebo PI abs, což naznačuje, že Stimpo má pravděpodobně vliv na vylepšení absorpce energie a transportu elektronů v rámci PSII. Nicméně tento pozitivní efekt se projevuje pouze u H2. H1, přesto že je svým složením také velmi chudá půda, u rostlin na ní pěstovaných není schopná ani díky Stimpo vylepšit jejich fyziologický stav (viz. zvýšená disipace). Regoplant nevykazuje zásadní pozitivní efekt jak u H1 ani u H2, spíše ve vyšších koncentracích škodí (vysoká disipace a snížené množství reakčních center).

Růstový regulátor Stimpo byl použit ještě v dalším experimentu, v polních podmínkách, ale tentokrát v České republice. Již zmiňovaná lokalita ve Všebořicích (součást Ústí nad Labem) se zdála jak umístěním, tak složením půdy jako velmi příhodná. Na živiny ne příliš bohatá, písčité půda bývalé skládky navíc obsahuje nadlimitní množství chromu a jiných prvků. Na stanovišti byly kromě kontrolních rostlin vysazeny i oddenky ozdobnice máčené v přípravku Stimpo. Vzhledem k faktu, že Regoplant neměl významný vliv na vylepšení růstu ozdobnic na podobném typu půd H1 a H2), byl vybrán další růstový regulátor Charkor. Charkor je směs rostlinných a mikrobiálních extraktů, který je na Ukrajině úspěšně používán již od roku 2002. Dle vyjádření výrobce jde o méně „pokročilý“ biostimulátor (oproti Stimpo nebo Regoplant), nicméně přesné složení je rovněž kryto patentem. V prvním i druhém roce bylo procento přeživších stejné jako u kontrolních rostlin (první rok 40%, druhý rok 25%), měřená listová fluorescence dokazovala, že se rostlinám nevede dobře. Hodnoty F_v/F_m pro Stimpo ($0,43 \pm 0,07$) i Charkor ($0,44 \pm 0,10$) naznačovaly, že by oba stimulanty mohly potencionálně zlepšovat fyziologické funkce rostlin, neboť naměřené hodnoty byly ve srovnání s kontrolními rostlinami vyšší ($0,38 \pm 0,09$), nicméně nejde o statisticky významný rozdíl. Podobně je tomu u hodnot PI abs a množství vyprodukované biomasy. V prvním roce byla celková produkce sušiny za danou variantu (cca 25 rostlin pro každou variantu) pro neošetřené rostliny $6,40 \pm 6,60g$, u rostlin po aplikaci Stimpo $3,90 \pm 4,10g$ a pro Charkor $5,9 \pm 7,20g$. Naměřené hodnoty mají vysokou směrodatnou odchylku a nejsou mezi nimi statisticky významné rozdíly

(ANOVA, nepublikovaná data autorky). V prvním roce experimentu se tedy nepodařilo potvrdit významný pozitivní vliv těchto komerčních biostimulátorů pro pěstování ozdobnice na marginální půdě, a proto nebyly uvedené výsledky nikdy publikovány. Lokalita „Všebořice“ se ukázala z různých důvodů jako problematická a proto byl polní experiment pozastaven. Další experimenty s touto půdou probíhaly už jen v nádobách.

Morfologické změny v důsledku aplikace růstových regulátorů

Aplikace růstového regulátoru Stimpo a nízké koncentrace látky Regoplant neměly na změnu morfologie zásadní vliv. Ovšem nejvyšší koncentrace stimulatoru Regoplant, který byl aplikován na rostliny v půdě H2 (H2_R250x250) zásadně změnila morfologii listových elementů ozdobnice. Působením vysoké dávky Regoplant došlo oproti neošetřeným rostlinám na stejné půdě (H2) ke změně počtu sklerenchymatických buněk kolem cévních svazků, zmenšení velikosti cévních svazků jako takových a zmenšení vzdálenosti mezi jednotlivými svazky. Celkově je list takto ošetřených rostlin užší (Malinská et al., 2020).

Zmírnění důsledků stresu z půdní kontaminace prostřednictvím PGPR (Plant Growth Promoting Bacteria)

Jednorázová přímá aplikace biostimulantů v podobě roztoků na oddenky ozdobnice neposkytovala na marginálních půdách rostlinám takovou ochranu a stimulaci k růstu, jak se původně očekávalo. Vzhledem k tomu, že dříve používané komerční stimulatory obsahovaly bakteriální extrakty, byla zvažována možnost otestovat aplikaci bakteriálních kultur, které by stimulanty produkovaly dlouhodobě. Touto možností se zabývala studie z roku 2020, kdy byly vyizolovány bakteriální kmeny, které byly dále využity k experimentům s ozdobnicí obrovskou.

Nejprve však byly z půdy odebrané z lokality „Všebořice“ vyizolovány různé kmeny bakterií, které byly kultivovány a testovány na toleranci k různým faktorům (teplota, pH, ...). Dále byla testována jejich schopnost přispět k růstu rostlin: Kultury byly testovány na produkci fytohormonů (IAA), amoniaku, sideroforů a také schopnosti kompetovat rostlinným patogenním houbám (Pranaw et al., 2020). Z devíti izolátů byla vybrána kultura gram pozitivní bakterie *Bacillus altitudinis* KP-14, jejich charakteristiky měly vysoký potenciál pro případné další využití. Nejprve byla testována schopnost bakterie stimulovat klíčení rostlin, což není možné přímo otestovat u ozdobnice obrovské, neboť tento sterilní hybrid neprodukuje funkční semena. K testu byla využita semena hořčice seté (*Brassica alba*), přičemž účinek na její klíčení

byl velmi pozitivní. Došlo k výraznému zvýšení klíčivosti (dvojnásobně), prodloužení kořene i prýtu mladých rostlin.

Fyziologické změny v důsledku aplikace PGPR

Kultura KP-14 byla tedy otestována na ozdobnici obrovské. Oddenky byly před vysazením namočeny na 1 hodinu do suspenze bakteriální kultury, poté zasazeny do nádob (s plným dnem) s půdou z lokality „Všebořice“, tedy do půdy z níž byl samotný bakteriální kmen izolován a po dobu experimentu byly ponechány v semikontrolovaných podmínkách skleníku katedry biologie UJEP. Na konci vegetační doby byly tyto rostliny vyšší a vyprodukovaly významně více biomasy, než neinokulovaná kontrola (Pranaw et al., 2020). Tento experiment byl pouze předběžný a vzhledem k nízkému počtu rostlin (n=4), není možné globalizovat účinky kmene *Bacillus altitudinis* KP-14 na růst ozdobnice na dalších typech půd, nicméně potenciál této i dalších bakteriálních kultur byl otestován v dalších experimentech.

Možnosti zmírnění účinků stresu a vylepšení plodin pomocí primingu.

Priming je postup, kdy se díky aplikaci řízené dávky stresu na rostlinu, stane tato rostlina odolnější, nebo získá jiné vlastnosti, než měla doposud. Tento jev využívá strategií, které si rostliny vyvinuly pro boj s často se měnícími vlivy prostředí. Nezřídka se priming zaměřuje s otužováním, což je ovšem zavádějící, jednak proto, že typ stresu, užitý pro priming nemusí být pouze chlad (fyzikální stresor), ale může jít o stres chemický či dokonce biologický. Přestože pojem „priming“ není v biologii ještě tak dobře zaveden, používá se pouze pro aplikaci stresu v brzkém vývojovém stádiu rostliny. Zatímco „otužování“ je možné po celý její život. V českém jazyce by se tedy dalo využít alternativních názvů, jako například „předúprava“. Nejpoužívanější typ primingu je předúprava semen. Z mnoha ohledů je to výhodný postup, je využitelný pro různé typy stresu a z hlediska velikosti a náročnosti experimentu je to nejčastěji využívaný postup. U experimentálních systémů, kde modelová rostlina neposkytuje fertilní semena, což je případ i ozdobnice obrovské, probíhá priming jiným způsobem. Je možné využít aplikaci chemického, či biologického agens přímo na oddenek například namáčením v roztoku či suspenzi. U fyzikálních stresorů může být využita aplikace přímo na mladé rostliny, stejně jako u roztoků, které je možné aplikovat na mladé rostliny ve formě postřiku. Hlavním cílem primingu je obvykle (a to i v tomto případě) zvýšení odolnosti rostlin, vylepšení jejich růstu, což by se mělo odrazit v posílení fyziologických procesů a následně ve vyšší produkci biomasy.

V roce 2019 byl založen první z několika experimentů zkoumající vliv různých typů předúpravy na fyziologii, morfologii a především na výnos biomasy ozdobnice obrovské. Dlouhodobým cílem stále bylo vylepšení růstu ozdobnice na marginálních půdách, ale po zkušenostech z předchozích experimentů byla pro prvotní účinky primingu vybrána standardní půda s dostatkem živin. Hlavním důvodem bylo zabránit případnému pleiotropnímu účinku nedostatku živin či kontaminace a předúpravy jako takové. Všechny následující experimenty byly tedy prováděny jako nádobové pokusy, oddenky byly sázeny do komerčního substrátu a zpočátku byly kultivovány v kontrolovaném prostředí fytotronu při dané teplotě a osvětlení. Ozdobnice velmi rychle dorůstají výšky, která již není pro banky fytotronu vyhovující. Ve chvíli, kdy dosáhla většina rostlin maximální kapacity svých bank, byly všechny rostliny přesunuty do experimentálního skleníku katedry biologie, kde byly pravidelně monitorovány.

Vzhledem k měnícímu se klimatu, i v České republice zažíváme nezvyklá období sucha a horka. Proto byl stanoven jako hlavní stresor, který měl prověřit odolnost ozdobnice po primingu stres z vysokých teplot a sucha, který jde obvykle ruku v ruce. Priming v jednotlivých experimentech byl různý, ale stres, který pro rostliny následoval byl podobný. Teploty v experimentálním skleníku dosahují (v závislosti na venkovních teplotách toho roku) běžně 45°C. Horko často doprovází i sucho a toho bylo dosaženo limitovaným přísunem závlivky. V ne příliš horkých dnech byla závlivka 300ml destilované vody na rostlinu (v květináči), v horkých dnech 500ml. Další závlivka byla aplikována až po kompletním vysušení substrátu (substrát se odlepuje od stěn květináče).

Aplikace chemických typů předúpravy

V roce 2019 byl založen první z experimentů využívající chemický priming pro podporu růstu ozdobnice obrovské. Na základě informací z literatury byly vybrány dvě anorganické (dusičnan amonný a modrá skalice) a dvě organické sloučeniny (vitamín B a vitamín C). Koncentrace a typ aplikace se rovněž řídila úspěšnými pokusy z literatury. Rostliny byly sledovány v prvním roce bezprostředně po aplikaci primingu až do konce vegetační sezóny, i v následujícím roce 2020, kdy již k žádné další úpravě nedocházelo. Výsledky z roku 2019 byly publikovány v *Industrial Crops and Products* (Auer Malinská et al., 2021) a kompletní výsledky prvního i druhého roku experimentu byly úspěšně obhájeny v rámci diplomové práce studenta autorky (MV) a budou v nejbližší době publikovány i formou vědeckého článku v recenzovaném periodiku.

Z výsledků vyplývá, že předúprava, byla u většiny rostlin v experimentu úspěšná, neboť se projevila snížením Fv/Fm v důsledku stresu z předúpravy. Všechny experimentální varianty se postupem času přizpůsobily, mnohdy na úroveň samotné kontroly, nebo se jim dařilo dokonce lépe. Tento trend dokládá měření z následujícího roku, kdy již k žádné předúpravě nedocházelo, přesto varianta „N“ vykazovala statisticky významně vyšší kvantový výtěžek a také mnohem vyšší produkci biomasy než kontrola. Můžeme diskutovat o tom, že vylepšený fyziologický stav rostlin byl způsoben efektem hnojení dusičnanu amonného, aplikovaná dávka byla ovšem tak nízká, že tento efekt je minimální. Pozitivní vliv dusíku dokládá i PI v prvním i druhém roce, zatímco v roce 2020 u varianty „Cu“ pozorujeme spíše negativní vliv, přesto měla tato varianta v druhém roce výrazně více výhonků, než kontrolní rostliny. Efekt dusíku na počet výhonků byl v prvním i druhém roce výrazně pozitivní. Do dalších experimentů byla zařazena varianta „N“ po aplikaci dusíku, především z důvodu výrazně vyšší produkce biomasy, což bylo pravděpodobně způsobeno oddálením senescence (rostliny byly zelené ještě v prosinci, zatímco ostatní varianty v podmínkách skleníku usychají během listopadu). K dalším studiím byla vybrána také varianta „Cu“. Produkce biomasy u této varianty byla obdobná jako u jiných variant, počátku byl u rostlin předupravených mědí patrný výrazně zrychlený růst.

Vitamín C působil během prvního roku na rostliny spíše pozitivně, rostliny byly vyšší, což je shodný závěr s publikací, kde byla kyselina askorbová aplikována na semena pšenice (Farooq et al., 2013). Ozdobnice v některých měsících vykazovaly pozitivní hodnoty jistých fyziologických parametrů, celkově se ale v prvním ani v druhém roce výrazný pozitivní vliv neprojevil. Množství vyprodukované biomasy bylo v prvním i druhém roce stejné, jako u kontrolních rostlin, do dalších experimentů tedy nebyla tato varianta dále zařazena.

Aplikace vitamínu B nepřinesla žádný pozitivní efekt, jistý negativní efekt byl pozorován na konci vegetační doby, u některých rostlin se projevovала předčasná senescence, která se projevovала degradací listových barviv. U prosa (*Pennisetum glaucum*) byl podle původní publikace prokázán pozitivní vliv na růst (Pushpalatha et al., 2011), jistý nárůst objemu biomasy byl v prvním roce zřetelný i u ozdobnice, v následující sezóně byl však stejný jako u kontrolních rostlin, do dalších experimentů tedy nebyla tato varianta dále zařazena.

U pilotního experimentu byly při aplikaci dusíkatých a jiných látek zaznamenány jisté pozitivní změny, nebylo však zcela jasné, jak vysoké koncentrace by bylo vhodné pro priming ozdobnice použít. Především na dusičnan amonný a modrou skalici ozdobnice reagovala velmi různě v důsledku vyšších koncentrací, především u varianty „dusík“ rostliny předupravené stejnou koncentrací dusičnanu amonného, ale pěstované v o něco menších nádobách odumíraly. Ostatní

chemické předúpravy neústily v žádný významný efekt na růst rostliny, nebyly proto v dalších experimentech zahrnuty.

Následující sezónu bylo nezbytné stanovit koncentraci vhodnou pro priming ozdobnice a také nejvhodnější typ aplikace pro případný polní experiment. Jako chemické látky byly testovány pouze varianty o různé koncentraci dusičnanu amonného a modré skalice, které jsou co do aplikace velmi praktické, a navíc v předchozích experimentech vykazovaly slibné výsledky co se týče rychlosti růstu rostlin a nárůstu biomasy.

Množství vyprodukované biomasy u nových variant 2020 nebylo zásadně pozitivně ovlivněno. U variant N a N R, tedy u variant s nejvyšší koncentrací dusičnanu amonného (24g aplikováno jako pevná látka na povrch substrátu (N) anebo rozpuštěného v destilované vodě (N R) je možné pozorovat mírný nárůst průměrného množství biomasy, ale hodnoty nejsou významně rozdílné oproti kontrole. Naopak zásadní pokles množství biomasy pozorujeme u variant s aplikací nejvyššího množství mědi, u Cu10 (tedy 24g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ aplikovaného jako pevnou látku na povrch substrátu) a Cu10R (tedy 24g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ rozpuštěného v destilované vodě) se pravděpodobně projevuje již toxická úroveň množství supplementu. U variant N10 a N10R, tedy velmi malé suplementace dusíkem (2,4g) byla velmi vysoká variabilita v hmotnosti biomasy a proto nebylo možné kriticky posoudit účinek treatmentu.

Metoda upravená podle Cooke a Pitre (COOKE et al., 2003; Pitre et al., 2007) navrhuje jako nejvhodnější přímou aplikaci dusičnanů v roztoku. Oproti tomuto doporučení vedly vysoké koncentrace dusičnanu amonného aplikované v jednorázové dávce roztoku u ozdobnice k tvorbě nekrotických skvrn, a dokonce k úhynu rostlin.

Z fyziologického hlediska pozorujeme dramatický rozdíl mezi kontrolami a rostlinami ošetřených přídatkem dusičnanu amonného. Přídavek dusíku razantně prodloužil vegetační dobu rostlin, stejně jako to bylo pozorováno v předchozím experimentu v předchozím roce. Tento jev by bylo možné vysvětlit „hnojivým efektem“ dusičnanů, nicméně u většiny takto upravených rostlin se tento efekt přenášel i do dalších let, kdy nedocházelo k žádné předúpravě, hnojení ani výměně substrátu.

Také varianta N10, s desetkrát menším obsahem dusíku než varianta N vedla k prodloužení vegetační doby, ale nijak zásadně neovlivnila efektivitu fotosyntézy.

Největší pozitivní vliv na efektivitu fotosyntézy měla varianta N2, tedy množství dusičnanu, které odpovídá polovině toho, co bylo aplikováno na variantu N (která obsahuje stejné množství

dusičnanu v půdě jako varianta „dusík“ v roce 2019). Naopak aplikace vyšších dávek dusičnanů působí na fotosyntetické procesy spíše inhibičně (varianta N s dvojnásobným množstvím dusíku) nedosahuje tak vysokých hodnot Fv/Fm jako varianta s polovičním obsahem NH₄NO₃.

Performance index (PI abs) v podstatě potvrzuje teorii, že nejvýhodnější pro fitness rostlin je koncentrace dusičnanu amonného 12 g/rostlina (odpovídající variantě N2, N2R). Během celého roku vykazuje nejvyšší hodnoty varianta N2, tedy 12g dusičnanu aplikováno ne v roztoku, ale přímo na povrch substrátu v blízkosti rostliny. Jednorázová aplikace vyšší koncentrace rozpuštěné látky má především na počátku vegetační doby negativní vliv na fitness rostliny i fotosyntetické procesy.

Aplikace mědi ve formě síranu měďnatého neměla tak jednoznačný efekt jako bylo zaznamenáno u dusíku. Velmi záleží na kombinaci dané koncentrace a typu aplikace. V zásadě žádná z koncentrací se po dobu celého roku neprojevovala stálým zlepšením efektivity fotosyntézy či zvýšením performance indexu. Od září se oba parametry (PI abs i Fv/Fm) udržovaly na vysokých hodnotách u variant „Cu“, tedy aplikace 2,4 g CuSO₄.5H₂O na povrchu substrátu a u varianty Cu10R, tedy desetinásobku (24g) aplikovaného jednorázově v roztoku. Aplikace zvýšených dávek mědi by mohly mít potenciál k prodloužení vegetační doby (varianty Cu10 a Cu10R), ale v tomto případě šlo pouze o jednu rostlinu (resp. dvě v případě Cu 10R), nicméně bezprostředně po aplikaci byl pozorován rychlý růst a zvýšení hodnot Fv/Fm a PI, proto byla i možnost aplikace mědi vybrána do finálního experimentu.

V roce 2021 byl založen polní experiment na pozemku Wekus s.r.o. společně s třetím nádobovým experimentem, který kopíroval tento pokus v semikontrolovaných podmínkách skleníku katedry biologie UJEP.

Výsledky tohoto experimentu byly zpracovány ve formě diplomové práce (BČ) obhájené v roce 2022. Data budou rovněž v brzké době publikována ve formě vědeckého článku v impaktovaném periodiku.

Pro tento experiment byly využity totožné koncentrace dusičnanu amonného a modré skalice, jako v předchozím pokusu, tedy 2,4g; 12g a 24g chemické látky rozpuštěné v destilované vodě. Odlišná však byla aplikace roztoku. Vzhledem k nevýrazným výsledkům aplikace v zálivce, či jako pevné látky, byly tentokrát oddenky máčeny daným roztokem. Jako kontrola byly použity neupravené rostliny a rostliny máčené v destilované vodě bez přídavku chemikálií.

Druhou variantou byl stejný roztok aplikovaný na listy cca 1m vysokých rostlin (asi měsíc staré rostliny). Jako kontrola zde byly použity rostliny bez postřiku a rostliny stříkané stejným množstvím destilované vody.

Všechny rostliny byly pravidelně monitorovány. Fyziologický stav rostlin se v průběhu sezóny dramaticky lišil, ne jak by se dalo předpokládat, mezi jednotlivými látkami. Lišily se především rostliny s různým typem aplikace stresoru. Bezprostředně po primingu, se u všech rostlin, kterým byl aplikován dusičnan nebo měď ve formě roztoku na oddenky, projevoval výrazný stres. Tvar OJIP křivek především během července naznačoval, že rostliny se aklimatizují jen pomalu a to především u vyšších koncentrací dusičnanu. Měď aplikovaná na oddenky měla mírně pozitivní vliv na rostliny, nicméně obě varianty (N a Cu) vykazovaly velmi podobný trend.

Při aplikaci stejných látek ve stejných koncentracích na list však byla situace naprosto odlišná. Bezprostředně po aplikaci roztoků postřikem na list sice byl patrný negativní účinek na všechny rostliny, později se však rostliny po aplikaci Cu aklimatizovaly a jejich OJIP křivky byly srovnatelné s kontrolními rostlinami. Naopak měsíc po aplikaci postřiku došlo u varianty N24 L (aplikace 24g NH_4NO_3 /l) k dramatickému poklesu křivky a naopak u varianty 2,4L (aplikace 2,4g NH_4NO_3 /l) k výraznému nárůstu strmosti křivky OJIP. Již v předchozích experimentech bylo prokázáno, že nízké koncentrace dusičnanu amonného mohou rostlinám ozdobnice prospívat a vysoké koncentrace působí spíše negativně, u ozdobnice obrovské však při aplikaci na list takovýto výsledek dosud pozorován nebyl.

Co se týče růstu rostlin po aplikaci, při aplikaci mědi na oddenky byly rostliny statisticky významně nižší oproti kontrolám, a to tím výrazněji, čím vyšší koncentrace modré skalice byla k postřiku použita. Naopak u mědi aplikované na list se zdálo, že jsou rostliny vyšší ale rozdíl oproti kontrole nebyl statisticky významný. Bezprostředně po aplikaci postřiku s dusičnanem byly rostliny sice nižší, avšak na konci vegetační doby nejsou rozdíly mezi variantami s dusičnanem aplikovaným na oddenek či na list vůči kontrolám statisticky významné.

Zásadní pro celý experiment byla produkce biomasy. Hmotnost biomasy byla významně vyšší u všech aplikací na list, tedy u všech koncentrací dusičnanu amonného i síranu měďnatého. Paradoxně byla produkce biomasy výrazně vyšší také u varianty, kdy byly na listy aplikován postřik čisté vody.

Možnosti využití fyzikálních stresorů- „otuzování“

K předúpravě je možné využít i fyzikální faktory jako například vliv vysokých či nízkých teplot. Tři sady oddenků v substrátu byly kultivovány při různých fyzikálních podmínkách. První sada byla kultivována při stejném osvětlení jako ostatní rostliny experimentu (včetně kontroly) při 10°C, druhá sada při stejném osvětlení ale při teplotě 34°C a třetí sada byla inkubována při laboratorní teplotě (stejně jako kontrola) bez přístupu světla. Experiment měl původně trvat celý měsíc, ovšem po dvou týdnech projevovala skupina rostlin pěstovaných ve tmě nekrotické změny na listech a v důsledku odumírání rostlin trvala předúprava pouze 20 dní. Rostliny byly přesunuty na světlo a později spolu s ostatními do experimentálního skleníku.

Všechny zmíněné faktory měly bezprostředně po aplikaci velmi negativní vliv na kvantový výtěžek, PI, výšku i počet výhonků. Varianta „tma“ ovšem po delší aklimatizaci vykazovala vyšší Fv/Fm než kontrolní rostliny a byla celkově nejvyšší. PI abs i PI total se v průběhu srpna a září se u některých variant zvýšil tak výrazně, že například u varianty předupravené chladem i vysokou teplotou byly tyto hodnoty statisticky významně vyšší než u kontrolních rostlin. Tento efekt se částečně udržel i v následujícím roce, bohužel ani v prvním, ani v druhém roce se neodrazil v produkci biomasy. Množství vyprodukované těmito dvěma variantami bylo celkově velmi nízké, v prvním roce dokonce nejnižší ze všech variant. Tyto varianty tedy rovněž nebyly zahrnuty do dalších experimentů.

Biologický priming u ozdobnice obrovské

Biologický priming byl na ozdobnici obrovské také testován prostřednictvím aplikace PGPR získaných v předchozích experimentech (Pranaw et al., 2020). Kultury KP13, KP14 a KP16 byly aplikovány prostřednictvím máčení oddenků na podzemní části zkoumaných rostlin. V průběhu vegetační doby byly měřeny standardní fyziologické parametry (listová fluorescence, atd...), ve srovnání s kontrolními rostlinami bez aplikace nebyl žádný z těchto parametrů v důsledku aplikace PGPR statisticky významně odlišný. Experimenty s KP13, KP14 a KP16 i nadále pokračují v polním měřítku.

Morfologické změny listu v důsledku aplikace primingu

Přestože na fyziologické procesy neměla aplikace různých forem primingu často významný vliv, na tvaru listu případně jeho částí se často manifestovala velmi výrazně. Při kvantitativním i kvalitativním porovnání listových řezů bylo zjištěno, že se liší, jak vývojový stav jednotlivých listů, tak jejich morfologie.

Měření šířky a tloušťky listu bylo prováděno vždy mimo hlavní cévní svazek. Pro každou variantu bylo vyhodnoceno 5 řezů. U jednotlivých variant byl zjištěn překvapivý rozdíl v tloušťce listů. „Nejtlustší“ listy měla varianta „10°C“, tyto hodnoty byly statisticky významné jak oproti kontrole, tak vůči ostatním variantám. U této varianty došlo k nárůstu výšky listu v průměru o čtvrtinu oproti kontrole. U variant „dusík, vitamín B, vitamín C a měď“ byly listy výrazně tenčí než kontrola. Tento efekt byl ještě mnohem výraznější u variant „34°C, tma a sucho“, kde došlo k poklesu tloušťky listů o polovinu.

Ke zúžení listu tedy došlo u většiny variant (všech kromě chladu). Tento jev se často projevuje u zastíněných listů. Vzhledem k tomu, že všechny varianty měly po celou dobu (kromě variant 5 a 6, které strávily několik týdnů ve fytotronu a kromě varianty „tma“) stejné světelné podmínky, přisuzujeme tento znak důsledku předúpravy. Pochopitelně u varianty „tma“ by se dalo spekulovat o vlivu temnostního období, ovšem studovaný list byl vytvořen až po uplynutí temnostní periody, a proto tento efekt zanedbáváme.

Běžné vzezření listu Ozdobnice zahrnuje množství ložisek sklerenchymu, které více než jeden metr dlouhým listům dávají oporu. Vyskytují se na okrajích listů a nad a pod hlavními cévními svazky. Na svrchní straně listu jsou obvykle patrné velké, tzv. „Buliformní buňky“, které v případě poklesu turgoru sevřou list a tím zmenší jeho plochu. Silná vrstva kutikuly chrání především svrchní stranu listu. Cévní svazek s typickou C4 anatomíí obvykle obsahuje dobře vyvinutý metaxylém, u jednotlivých experimentálních variant se však vyskytly různé malformace:

U variant s přidaným dusíkem bylo pozorováno výrazně zvýšené množství chloroplastů, nestandardní tvar cév a velmi málo sklerenchymu, což vyústilo ve značnou lámavost řezů, což velmi ztěžovalo jejich úspěšnou analýzu. Naopak varianta „Vitamín B“ obsahovala velké množství sklerenchymu, velké cévní svazky s převládajícím floémem. I varianta „Vitamín C“ vykazovala zvláštní tvar cév („hranaté“) a převládající floém. Navíc však byla pozorována zvláštní vrstva druhotně ztlustělých buněk pod pochvou cévního svazku.

Rostliny po aplikaci mědi vykazovaly velmi zvláštní anatomii listu, byly téměř bez kutikuly, téměř bez buliformních buněk, zato jsou všechny pokožkové buňky zvětšené. V podstatě nebylo možné odlišit buliformní buňky od buněk pokožkových.

Chlad (10°C) způsobil změny listů tak, že měly málo buliformních buněk, málo sklerenchymu, velmi tenké buněčné stěny, a to i u buněk pochvy cévního svazku, které jsou obvykle velmi silné. Paradoxně vysoká teplota (34°C) měla., co se fyziologie i morfologie velmi podobný

výsledek, listy těchto rostlin měly rovněž málo buliformních buněk a velmi málo sklerenchymu. Na rozdíl od rostlin po působení nízkých teplot (10°C), ale zde jsou však stěny buněk pochvy cévních svazků ztlustělé.

Rostliny pěstované určitou dobu ve tmě měly velmi málo sklerenchymu, zvláštní strukturu pochvy cévního svazku s nejednotným typem buněk jakoby „zevnitř ztlustělých“. Převládá abnormálně tvarovaný xylém.

Tato data jsou součástí výzkumné zprávy k projektu TAČR.

U experimentu, kde byly aplikovány různé koncentrace $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ a NH_4NO_3 na oddenek a list v tekuté formě došlo k několika statisticky významným změnám oproti standardnímu habitatu rostliny. Při aplikaci 12g síranu měďnatého na oddenek budoucích rostlin bylo během vegetační doby pozorováno, že dochází ke statisticky významnému zkrácení a zúžení listů. Také průduchů je u této varianty významně méně a to především na spodní straně listů. Naopak při aplikaci stejné koncentrace roztoku na list došlo po stejné době k významnému nárůstu délky u šířky listů. Aplikace dusíku neměla výrazný vliv na tvar listů, jediným statisticky významným výsledkem bylo zvýšení počtu průduchů na horní straně listů N2,4.

Na mikroskopické úrovni bylo pozorováno, že aplikace Cu na oddenek má za následek zmenšení sklerenchymatických pochev cévních svazků a sníženou lignifikaci xylémových elementů, což bylo pozorováno po barvení mikroskopických řezů fluoroglucinolem (+HCl).

Naopak aplikace dusičnanu vyústila ve vyšší množství ligninu v xylému cévních svazků. Po aplikaci zmíněných roztoků na list tomu bylo podobně, jen ne s tak výrazným výsledkem.

Tyto výsledky byly součástí diplomové práce úspěšně obhájené v roce 2022 (MH).

Závěrem je možné shrnout, že nejen koncentrace látky, ale také typ aplikace primingu může mít zásadní vliv jak na fyziologické, tak na morfologické rysy rostliny ozdobnice obrovské. Velkým překvapením bylo zjištění, jak extrémním nárůstem biomasy tato rostlina reagovala na postřik listů, především na postřik čistou destilovanou vodou. Tento jev bude nutno do budoucna blíže prozkoumat.

Shrnutí:

Hlavním cílem popisovaných experimentů bylo optimalizovat pěstování ozdobnice na velkých zemědělsky nevyužívaných plochách. Otázka využití marginálních půd pro pěstování různých plodin včetně ozdobnice je velmi lákavou výzvou. Stále se zvyšující potravinové a energetické nároky lidstva a zároveň snižující se dostupnost fosilních paliv doslova vybízí k jejímu přijetí. Nicméně pěstování ozdobnice v podmínkách ČR má jistá úskalí. Ozdobnice obrovská je nesmírně odolnou rostlinou a díky efektivnímu metabolismu dovede růst i za velmi stresujících podmínek s minimální výživou. Snáší dobře vysoké teploty i málo závlahy, množství srážek však v posledních letech i v podmínkách střední Evropy dosahuje velkých extrémů. To se projevilo jako zásadní při polních pokusech na stanovištích „Hradčany“ a „Všebořice“ s lehkou písčitou půdou. Při dostatku závlahy je ozdobnice bez problémů schopna růst i na takovémto typu půdy (třebaže za cenu nižší produkce biomasy). Bohužel během horkých a suchých lét, kdy byly některé experimenty prováděny, nebylo možné v těžko přístupném terénu rostliny zalévat a sucho byl jeden z faktorů, který přispěl k velké úmrtnosti rostlin. Pěstování ozdobnice na velmi písčitých půdách se tedy nedá doporučit.

Nejvíce zasaženou lokalitou byla oblast bývalé skládky Všebořice, kde se kromě sucha, málo výživné půdy, kontaminace toxickými prvky negativně projevilo na počtu přeživších rostlin mráz. Ozdobnice obrovská pochází z jihovýchodní Asie, je tedy primárně adaptovaná na teplé, vlhké klima. V podmínkách České republiky obvykle dobře prospívá, kritickou dobou je ovšem zima v prvním roce po výsadbě. Pokud v této době působí na oddenky v zemi silné mrazy, stébla obvykle v následující sezóně nevyraší a oddenek odumírá. Přesně taková situace nastala v prvním roce experimentu na lokalitě „Všebořice“. Zima 2018/2019 co do teplot nijak extrémní, nicméně mírné mrazy v kombinaci se silně obnaženým povrchem po výsadbě měly za následek velký úhyn rostlin. V prvním roce po výsadbě rostlin je tedy nezbytné dbát na ochranu rostlin před mrazy zakrytím například slámou nebo senem, případně prodyšnou textilií.

Zkušenost z výše uvedených polních pokusů dokazuje, že autentické marginální půdy jsou příliš komplexní a výsledky získané kultivací ozdobnice na chudých a kontaminovaných půdách jsou nejednoznačné. Naznačují také, že kultivace ozdobnice bez zmírnění negativního účinku podvýživy není reálná. Kultivace na kontaminovaných půdách sice skýtá, díky vysoké schopnosti ozdobnice tolerovat těžké kovy a metaloidy, jistou perspektivu, prozatím jde však pouze o úzce omezené rozmezí koncentrací určitých prvků.

Možnosti vylepšení růstu rostlin bylo prověřeno na několika úrovních:

Slibnou možností se zdálo využití růstových stimulátorů pro vylepšení růstu rostlin jak na chudých, tak na kontaminovaných půdách. Celkově se však aplikace komerčních biostimulátorů na oddenek prokázala, jako strategie pro vylepšení produkce biomasy, málo účinná.

Další perspektivní možností vylepšení růstu ozdobnice, byla metoda aplikace krátkodobého regulovaného stresu, tzv. priming (předúprava). V průběhu několika let byly použity různé metody předúpravy oddenků i listů, případně různé formy aplikace stresorů jak fyzikálních, chemických tak i biologických. Biologický priming pomocí kmenů bakterií KP13, KP14 a KP 16 nepřinesl významné výsledky, ale bude předmětem dalšího zkoumání. Aplikace fyzikálních a chemických stresorů měly výrazný vliv na všechny měřené parametry ale v různé míře. Některé působily kladně, některé typy aplikace působily na rostlinnou fyziologii výrazně negativně. Často se účinek počátečního stresoru odrazil i ve změně morfologie samotné rostliny či konkrétní změně pozorované např. na pletivech listu.

Pro hodnocení úspěšnosti typu aplikace daného stresoru v určité koncentraci a dávce byly upřednostněny dva rysy rostlin, a to fyziologický stav (reprezentovaný různými parametry) a především objem vyprodukované biomasy. Z tohoto úhlu pohledu se jako nejvýhodnější jeví aplikace nízké koncentrace dusičnanu amonného, který má při foliární aplikaci navíc hnojivý efekt. Pozitivní vliv na tvorbu biomasy udržuje i v následujících letech, kdy rostliny rostou ve značně vyčerpaném substrátu. Překvapivě bylo vysokých výnosů biomasy dosaženo i po aplikaci čisté destilované vody přímo na list, podobně jako v předchozím případě i když méně výrazný.

Závěrem je možné konstatovat, že hodnocení fyziologických parametrů, ať už tradičně používaných (měření výšky rostlin), nebo velmi specializovaných (jako v našem případě měření listové fluorescence), mohou mít velmi jasné a praktické využití při pěstování různých plodin, včetně ozdobnice. U ozdobnice obrovské je však tradičně využívaný parametr hodnotící maximální kvantový výtěžek fotosystému II málo citlivý a obtížně hodnotitelný.

Výsledky všech měření naznačují, že jednoduchou předúpravou běžně dostupnými chemickými látkami, či fyzikálními faktory, je možné u ozdobnice ovlivnit délku vegetační doby, či schopnost regenerace rostlin po stresovém působení. Z praktického hlediska je možné ovlivnit výšku rostliny a tím omezit poléhání, což komplikuje mechanizovanou sklizeň. Citlivou aplikací vhodné koncentraci dané látky je dále možné výrazně zvýšit

produkci biomasy, což bylo prozatím potvrzeno pouze při kultivaci na vysoce výnosné půdě.
Testování na marginálních půdách bude předmětem dalšího bádání...

Publikace citované v práci:

COOKE, J.E.K., BROWN, K.A., WU, R., DAVIS, J.M., 2003. Gene expression associated with N-induced shifts in resource allocation in poplar. *Plant. Cell Environ.* 26, 757–770. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2003.01012.x>

Faměra, M., Kotková, K., Tůmová, Elznicová, J., Matys Grygar, T., 2018. Pollution distribution in floodplain structure visualised by electrical resistivity imaging in the floodplain of the Litavka River, the Czech Republic. *CATENA* 165, 157–172. <https://doi.org/10.1016/J.CATENA.2018.01.023>

Farooq, M., Irfan, M., Aziz, T., Ahmad, I., Cheema, S.A., 2013. Seed Priming with Ascorbic Acid Improves Drought Resistance of Wheat. *J. Agron. Crop Sci.* 199, 12–22. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2012.00521.x>

Heaton, E.A., Dohleman, F.G., Miguez, A.F., Juvik, J.A., Lozovaya, V., Widholm, J., Zabotina, O.A., McIsaac, G.F., David, M.B., Voigt, T.B., Boersma, N.N., Long, S.P., 2010. Miscanthus. A Promising Biomass Crop, in: *Advances in Botanical Research*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381518-7.00003-0>

Malinská, H., Pidlisnyuk, V., Nebeská, D., Erol, A., Medžová, A., Trögl, J., 2020. Physiological response of miscanthus x giganteus to plant growth regulators in nutritionally poor soil. *Plants* 9. <https://doi.org/10.3390/plants9020194>

Malinská, H.A., Vaněk, M., Nebeská, D., Šubrt, D., Brestič, M., Trögl, J., 2021. Plant priming changes physiological properties and lignin content in *Miscanthus x giganteus*. *Ind. Crops Prod.* 174, 114185. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2021.114185>

Małkowski, E., Sitko, K., Szopiński, M., Gieroń, Ż., Pogrzeba, M., Kalaji, H.M., Zieleźnik-Rusinowska, P., 2020. Hormesis in Plants: The Role of Oxidative Stress, Auxins and Photosynthesis in Corn Treated with Cd or Pb. *Int. J. Mol. Sci.* 21. <https://doi.org/10.3390/IJMS21062099>

Menšík, L., Hlisnikovský, L., Kunzová, E., 2019. The State of the Soil Organic Matter and Nutrients in the Long-Term Field Experiments with Application of Organic and Mineral Fertilizers in Different Soil-Climate Conditions in the View of Expecting Climate Change. *Org. Fertil. - Hist. Prod. Appl.* <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.86716>

Nebeská, D., Malinská, H.A., Erol, A., Pidlisnyuk, V., Kuráň, P., Medžová, A., Smaha, M.,

- Trögl, J., 2021. Stress Response of Miscanthus Plants and Soil Microbial Communities: A Case Study in Metals and Hydrocarbons Contaminated Soils. *Appl. Sci.* 11.
- Nebeská, D., Malinská, H.A., Vaněk, M., Popelka, J., Adamec, S., Ust'ak, S., Honzík, R., Trögl, J., 2022. Nutrients deficiency affects *Miscanthus x giganteus* physiology and essential metals uptake more intensively than soil contamination. *Ind. Crops Prod.* 189, 115845. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2022.115845>
- Pitre, F.E., Cooke, J.E.K., Mackay, J.J., 2007. Short-term effects of nitrogen availability on wood formation and fibre properties in hybrid poplar. *Trees* 21, 249–259. <https://doi.org/10.1007/s00468-007-0123-5>
- Pranaw, K., Pidlisnyuk, V., Trögl, J., Malinská, H., 2020. Bioprospecting of a Novel Plant Growth-Promoting Bacterium *Bacillus altitudinis* KP-14 for Enhancing *Miscanthus x giganteus* Growth in Metals Contaminated Soil. *Biology (Basel)*. 9, 305. <https://doi.org/10.3390/biology9090305>
- Pushpalatha, H.G., Sudisha, J., Geetha, N.P., Amruthesh, K.N., Shekar Shetty, H., 2011. Thiamine seed treatment enhances LOX expression, promotes growth and induces downy mildew disease resistance in pearl millet. *Biol. Plant.* 55, 522–527. <https://doi.org/10.1007/s10535-011-0118-3>
- Souki, K.S. Al, Burdová, H., Trubač, J., Štojdl, J., Kuráň, P., Kříženecká, S., Machová, I., Kubát, K., Popelka, J., Malinská, H.A., Nebeská, D., Ust'ak, S., Honzík, R., Trögl, J., 2021. Enhanced Carbon Sequestration in Marginal Land Upon Shift towards Perennial C4 *Miscanthus x giganteus*: A Case Study in North-Western Czechia. *Agron.* 2021, Vol. 11, Page 293 11, 293. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY11020293>
- Strasil, Z., 2009. Základy pěstování a možnosti využití ozdobnice (*Miscanthus*).
- Stražil, Z., Weger, J., Hutla, P., Kára, J., 2015. The cultivation of *Miscanthus* determined for energy use (a summary of long-term monitoring), in: *Biopaliva z Pohledu Energetiky a Vlivu Na Životní Prostředí*. pp. 29–41.
- Strasser, R.J., Stirbet, A.D., 1998. Heterogeneity of photosystem II probed by the numerically simulated chlorophyll a fluorescence rise (O-J-I-P). *Math. Comput. Simul.* 48, 3–9. [https://doi.org/10.1016/s0378-4754\(98\)00150-5](https://doi.org/10.1016/s0378-4754(98)00150-5)
- Weger, J., Hutla, P., Kára, J., n.d. Pěstování ozdobnice (*Miscanthus*) určené pro

energetické využití (Shrnutí dlouholetého sledování) The cultivation of Miscanthus determined for energy use (a summary of long-term monitoring).

Zdeněk Stražil Základy pěstování a možnosti využití, 2018.