

METABOLICKÉ ZMENY AGÁTU BIELEHO (*ROBINIA PSEUDOACACIA* L.) VYVOLANÉ ALELOCHEMIKÁLIAMI KONKURENČNÝCH DREVÍN

METABOLIC CHANGES OF BLACK LOCUST (*ROBINIA PSEUDOACACIA* L.) CAUSED BY ALLELOCHEMICALS OF COMPETITIVE WOODY PLANTS

Dominika Bošiaková^{1,2}, Peter Ferus¹, Jana Konôpková¹, Peter Hořka¹

¹ Ústav ekológie lesa SAV, d.p. Arborétum Mlyňany, Vieska nad Žitavou 178, 951 52 Slepčany, dominika.bosiakova@savba.sk

² Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre, FPV, katedra botaniky a genetiky, Nábřežie mládeže 91, 949 74 Nitra

Summary

Black locust (*Robinia pseudoacacia* L.), despite of many positive features, as an invasive species represents significant environmental risk. For this reason, we tested possibilities of its bioregulation using allelochemicals of competitive woody plants black cherry (*Prunus serotina* Ehrh.) and common hackberry (*Celtis occidentalis* L.). For this reason parameters of N metabolism (ureids, proteins), stress level (hydrogen peroxide) and photosynthetic pigments (chlorophylls, carotenoids) were analyzed. Allelochemicals of common hackberry are more effective for bioregulation of black locust, than allelochemicals of black cherry.

Key words: black locust (Robinia pseudoacacia L.), allelochemicals, black cherry (Prunus serotina Ehrh.), common hackberry (Celtis occidentalis L.)

Súhrn

Agát biely (*Robinia pseudoacacia* L.), napriek množstvu pozitívnych vlastností, ako invázny druh predstavuje značné ekologické riziko. Z tohto dôvodu sme sa zamerali na otestovanie možností bioregulácie agátu prostredníctvom alelochemikálií konkurenčných drevín čremchy neskorej (*Prunus serotina* Ehrh.) a brestovca západného (*Celtis occidentalis* L.). Za týmto účelom sme analyzovali parametre dusíkatého metabolizmu (ureidy, proteíny), mieru stresu (peroxid vodíka) a fotosyntetické pigmenty (chlorofyly, karotenoidy). Alelochemikálie brestovca západného sú účinnejším prostriedkom bioregulácie agátu bieleho ako alelochemikálie čremchy neskorej.

Kľúčové slová: agát biely (Robinia pseudoacacia L.), alelochemikálie, čremcha neskorá (Prunus serotina Ehrh.), brestovec západný (Celtis occidentalis L.)

ÚVOD

Biologické invázie sú jedným z najväčších problémov, ktoré negatívne poznačujú globálnu biodiverzitu. Alelopatia je vo všeobecnosti považovaná za jeden z kľúčových mechanizmov stojacich za úspechom invázných druhov rastlín /2/. Využitie alelopatického účinku jedného rastlinného druhu voči inému sa však javí ako potenciálna možnosť regulácie invázných druhov.

Agát biely patrí na Slovensku k najrozšírenejším cudzokrajným drevinám a zároveň je jediným nepôvodným druhom, ktorý vytvára súvislé lesné porasty /1/. O možnostiach regulácie agátu bieleho prostredníctvom inhibičného účinku alelochemikálií vybraných druhov rastlín boli v posledných desaťročiach publikované viaceré práce /4, 7/.

Brestovec západný a čremcha neskorá majú výrazné alelopatické účinky /3/. V agátových lesoch v blízkosti Arboréta Mlyňany SAV a Botanickej záhrady ÚEB MAV vo Vácrátote v Maďarsku možno pozorovať unikátne interakcie medzi týmito druhmi. Na základe pozorovaní v prírodných podmienkach sme sa zamerali na charakteristiku supresívnych účinkov

alelochemikálií čremchy neskorej a brestovca západného na agát biely rastúci v kontrolovaných podmienkach.

MATERIÁL A METODIKA

Príprava, inokulácia a kultivácia rastlinného materiálu

Semená agátu bieleho (*Robinia pseudoacacia* L.) boli pozberané na jeseň 2013 v blízkosti Arboréta Mlyňany SAV. Následne sme ich skarifikovali po dobu 90 minút v 93% kyseline sírovej a do začiatku pokusu boli uchovávané v chlade. Na začiatku pokusu sme najskôr semená nechali naklíčiť, naklíčené semená sme preniesli na agarové médium (7g práškového agaru rozpusteného v 1000 ml LNS) a kultivovali v kontrolovaných podmienkach pri 16 hodinovej fotoperióde. V kultivačnej komore bola udržiavaná teplota $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ cez deň a $16\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas noci a intenzita osvetlenia $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Po uplynutí troch týždňov sme semená inokulovali ponorením ich koreňovej sústavy na 90 minút do suspenzie obsahujúcej bakteriálne kultúry *Rhizobium* sp. Inokulované semená (10 ks na jednu nádobu) sme vysadili do nádob sterilizovaných 3,5% roztokom NaClO so substrátom (riečny piesok), ktorý bol sterilizovaný teplom (100°C po dobu 3 hodín). Nádoby so semenami sme umiestnili do kultivačnej komory s totožným nastavením svetelných, teplotných a vlhkostných pomerov. Vysadené rastliny sme pravidelne (jedenkrát týždenne) zalievali 250 ml LNS média /5/ s pridaním 0,8% vodného roztoku dusičnanu amónneho. Po dvoch mesiacoch sme uskutočnili selekciu rastlín, v nádobách boli ponechané vyrovnané jedince (extrémne prípady boli vylúčené) a zároveň sme zvýšili objem zálievky na 500 ml, kultivačné podmienky ostali nezmenené.

Aplikácia alelochemikálií a stanovenie metabolitov

Po mesiaci kultivácie rastlín sme pristúpili k aplikácii výluhov z čremchy neskorej (*Prunus serotina* Ehrh.) a brestovca západného (*Celtis occidentalis* L.). Aplikovali sme 100 ml 1% výluhu z čremchy neskorej a brestovca západného na listy a 500 ml 1% výluhu z čremchy neskorej resp. brestovca západného v LNS vo forme zálievky. Objem a frekvencia zálievky ostali nezmenené.

Pred aplikovaním výluhov (variant CC – 1. kontrolný pokus) a po ukončení pokusu (varianty K – kontrolný pokus bez aplikácie výluhov; PS – aplikácia výluhu z čremchy neskorej a CO – aplikácia výluhu z brestovca západného) sme odobrali rastlinný materiál (listy a koreňové hľúzky), ktorý sme použili na stanovenie koncentrácie vybraných metabolických parametrov. Zamerali sme sa na spektrofotometrické (Jasco-V630, Japonsko) stanovenie koncentrácie fotosyntetických pigmentov (Lichtenthaler, 1987), ureidov (Knipp & Vašák, 2000), celkových proteínov (Bradford, 1976) a peroxidu vodíka (Mukherjee & Choudhuri, 1983).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V priebehu pokusu sme zaznamenali nárast obsahu fotosyntetických pigmentov (Tab. 1). V prípade kontrolného pokusu bez aplikovania výluhov (K) a variantu s aplikovaním výluhu z čremchy neskorej (PS) došlo k výraznému nárastu obsahu sledovaných parametrov. Vo variante s aplikáciou výluhu z brestovca západného (CO) bol tento nárast najmenší, namerané hodnoty sa od hodnôt prvého kontrolného pokusu (CC) líšili minimálne. Zároveň, v porovnaní s kontrolným pokusom (K) a variantom s aplikáciou výluhu z čremchy (PS), sú zaznamenané hodnoty sledovaných parametrov štatisticky preukazne nižšie. Získané výsledky poukazujú na inhibičné účinky brestovca západného.

Obsah ureidov a celkových proteínov v listoch agátu sa v priebehu pokusu zvýšil (Tab. 2). Najmenší nárast oproti prvému kontrolnému pokusu (CC) sme opäť zaznamenali vo variante s aplikáciou výluhu z brestovca (CO). V oboch sledovaných parametroch je ich obsah štatisticky preukazne nižší v porovnaní s kontrolným pokusom (K). Pri vyhodnotení obsahu ureidov v koreňových hľúzkach agátu sme pozorovali výrazný pokles, ktorý je štatisticky preukazný, vo variante s aplikáciou čremchy neskorej (PS). Vo variante s aplikáciou výluhu z brestovca západného (CO) boli namerané hodnoty obsahu ureidov v hľúzkach podobné tým z kontrolného

pokusu (K). Za vyšším obsahom ureidov v koreňových hlúčkach agátu ovplyvňovaného výluhom z brestovca môže stáť stres spôsobený jeho alelochemikáliami. Stres, napr. vyvolaný dehydratáciou, vedie k akumulácii ureidov v koreňových hlúčkach, tento jav vyvolá spätnú väzbu, ktorej výsledkom je znížená fixácia atmosférického dusíka /6/.

Tab. 1: Obsah fotosyntetických pigmentov v listoch agátu bieleho

Variant	Parameter		
	Karotenoidy [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$]	Chlorofyl b [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$]	Chlorofyl a [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$]
CC	2,0133 \pm 0,2772 a	2,6158 \pm 0,5095 a	8,6732 \pm 1,3823 a
K	3,2777 \pm 0,5779 c	4,7674 \pm 0,8339 b	13,8482 \pm 3,19857 b
PS	2,8673 \pm 0,0422 bc	4,6362 \pm 0,7897 b	12,9857 \pm 1,6954 b
CO	2,4631 \pm 0,3074 ab	3,3545 \pm 0,4074 a	9,6587 \pm 0,9076 a

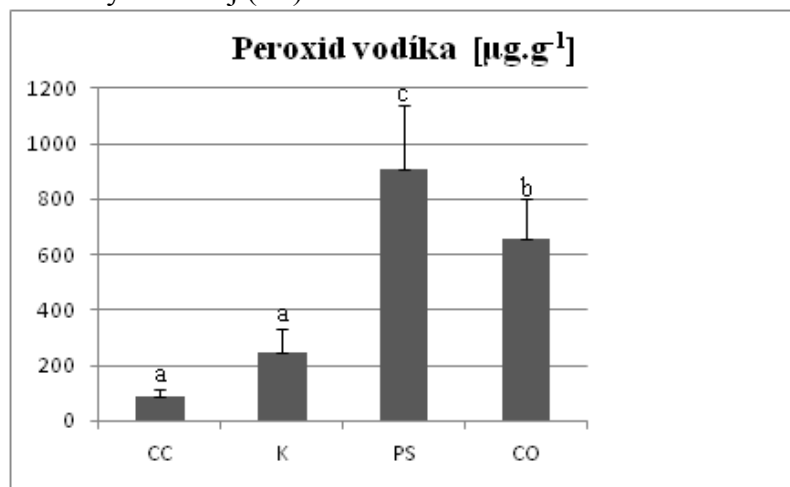
Vysvetlivky: CC – prvý kontrolný pokus, ukončený pred aplikáciou výluhov; K – kontrolný pokus bez aplikácie výluhov; PS – variant s aplikáciou výluhu z čremchy neskorej; CO – variant s aplikáciou výluhu z brestovca západného. Rozdiely v písmenovom označení hodnôt predstavujú štatisticky preukazný rozdiel na 95 % hladine významnosti (LSD test).

Tab. 2: Parametre dusíkatého metabolizmu listov a koreňových hlúčiek agátu bieleho

Variant	Parameter		
	Ureidy [$\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$]	Ureidy - hlúčky [$\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$]	Bielkoviny [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$]
CC	12,2951 \pm 2,4382 a	1,4006 \pm 0,2859 a	0,2421 \pm 0,0114 a
K	20,9542 \pm 7,9169 b	3,2959 \pm 0,9174 b	0,5116 \pm 0,0548 d
PS	19,7533 \pm 4,8024 ab	2,2028 \pm 0,4963 a	0,4521 \pm 0,0482 c
CO	13,8357 \pm 3,8043 a	3,4253 \pm 0,8319 b	0,3636 \pm 0,0617 b

Rozdiely v písmenovom označení hodnôt predstavujú štatisticky preukazný rozdiel na 95 % hladine významnosti (LSD test).

Obsah peroxidu vodíka v listoch agátu bieleho (graf 1) sa výrazne zvýšil po aplikovaní výluhov z oboch konkurenčných drevín. Štatisticky preukazné rozdiely sme zaznamenali nielen medzi variantmi s aplikáciou výluhov a oboma kontrolnými pokusmi (CC a K), ale aj medzi jednotlivými variantmi výluhov. Výraznejší nárast obsahu peroxidu vodíka bol zistený v prípade aplikácie výluhu z čremchy neskorej (PS).



Graf 1: Obsah peroxidu vodíka v listoch agátu bieleho. Odlišné písmenové označenie výsledkov zodpovedá štatisticky významnému rozdielu na 95 % hladine významnosti

Nami získané výsledky potvrzují alelopatické účinky brestovca západného /3/. Při naší práci sme v takmer všetkých sledovaných parametroch zaznamenali inhibičné účinky brestovca na agát biely. V prípade čremchy neskorej sme pozorovali mierne inhibičné účinky, štatisticky významné rozdiely v obsahu sledovaných parametrov oproti kontrolnému pokusu sme zaznamenali len v niekoľkých prípadoch (koncentrácia ureidov v koreňových hľúzkach, celkových proteínov a peroxidu vodíka).

LITERATÚRA

- /1/ Benčať, T., Ťavoda, P.: Význam agáta bieleho (*Robinia pseudoacacia* L.) a duglasky tisolostej (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) v tvorbe krajiny. Vybrané problémy tvorby krajiny, 2007: 108 – 116.
- /2/ Callaway, R. M., Aschehoug, E. T.: Invasive plants versus their new and old neighbours: a mechanism for exotic invasion. *Science*, 290, 2000: 521 – 523.
- /3/ Csiszár, A.: Allelopathic effects of invasive woody plant species in Hungary. *Acta Silvatica & Lignaria Hungarica*, 5, 2009: 9 – 17.
- /4/ Larson, M. M., Schwarz, E. L.: Allelopathic inhibition of black locust, red clover and black alder by six common herbaceous species. *Forest Science*, 26, 1980: 511 – 520.
- /5/ Serraj, R., Vadez, V., Denison, R. F., Sinclair, T. R.: Involvement of ureides in nitrogen fixation inhibition in soybean. *Plant Physiologist*, 119, 1999: 289 – 296.
- /6/ Sinclair, T. R., Serrej, R.: Dinitrogen fixation sensitivity to drought among grain legume nodules. *Nature*, 378, 1995: 344.
- /7/ Wu, A. P. et al.: Differential belowground allelopathic effects of leaf and root of *Mikania micrantha*. *Tree-Structure and Function*, 23, 2009: 11 – 17.

Pod'akovanie

Táto práca vznikla vďaka finančnej podpore vedeckých projektov Vega 2/0159/11, 1/0084/13 a COST TD 1209.