

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA



Bakalářská práce

**Ekologická odpověď *Knautia arvensis*  
na hadcový substrát**

Markéta Dortová  
2009

Školitel: Ing. Milan Štech, PhD.  
Konzultant: Bc. Filip Kolář

Dortová, M. (2009): Ekologická odpověď *Knautia arvensis* na hadcový substrát. (Bakalářská práce.) [Ecological response of *Knautia arvensis* to serpentine soil. – Bc. Thesis, in Czech] – 38 p., Fakulty of Sciences, The University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

### **Annotation:**

Serpentine soils produce specialised habitats with extreme edaphic conditions and frequently host unique plant communities and „islands“ of biodiversity with many restricted and endemic taxa. The effects of Ni and Mg, two factors involved in the infertility of serpentine soils, were studied in *Knautia arvensis*. Seedlings of *Knautia arvensis* (L.) COULTER were placed in solutions with higher concentrations of Ni, Mg and Ni+Mg. It was measured the total root growth of plants from serpentine and non-serpentine populations. The serpentine populations showed higher tolerance to Ni and Mg stress than non-serpentine populations.

Tato práce byla financována z grantu GAAV B601110627 „Evolutionary history of relict serpentine populations of *Knautia arvensis* s. l. (Dipsacaceae) in Central Europe.“

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně, pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě, fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

.....  
V Českých Budějovicích, 29. 4. 2009

## **Poděkování**

Děkuji svému školiteli Milanu Štechovi za odborné vedení mé bakalářské práce, za mnohé rady, které mi poskytoval během celého bakalářského studia.

Děkuji svému konzultantovi Filipu Kolářovi za jeho cenné rady, za pomoc při průběhu kultivačního pokusu a za poskytnutí mnoha různých literárních pramenů.

Velký dík patří také Radce Sudové za pomoc při sběru materiálu (plodů chrastavců) v terénu, Majce Šmilauerové za cenné rady ohledně kořenové soustavy, Janu Lepšovi děkuji za radu při statistickém zpracování výsledků. Dále děkuji paní Bočkové za přípravu roztoků potřebných k hydroponii.

A samozřejmě děkuji své rodině za psychickou podporu a pochopení během psaní této práce. Také děkuji svým přátelům, kteří mi poskytovali skvělé odreagování a podporu.

# Obsah

<b>1. Úvod</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Hadec a rostliny</b> .....	<b>3</b>
2.1 Chemické složení, vzhled .....	3
2.2 Výskyt .....	5
2.3 Rostliny na hadcových půdách .....	6
2.4 Působení prvků (Ca, Mg, těžké kovy) na rostliny .....	8
2.4.1 Těžké kovy .....	8
2.4.2 Vápník, hořčík a jejich vzájemné působení .....	13
2.5 Adaptace rostlin .....	14
2.5.1 Ekologická adaptace .....	15
2.5.2 Akumulace těžkých kovů v rostlinách .....	16
<b>3. <i>Knautia arvensis</i></b> .....	<b>19</b>
3.1 Popis .....	19
3.2 Stanoviště, rozšíření .....	20
3.3 Hadcové populace .....	21
<b>4. Metodika kultivačního pokusu</b> .....	<b>24</b>
4.1 Materiál, pomůcky, chemikálie .....	24
4.2 Postup .....	26
4.3 Statistické analýzy .....	27
<b>5. Výsledky kultivačního pokusu</b> .....	<b>29</b>
<b>6. Diskuse</b> .....	<b>32</b>
<b>7. Závěr</b> .....	<b>35</b>
<b>8. Seznam použité literatury</b> .....	<b>36</b>
<b>Přílohy</b>	

# 1. Úvod

Již dlouhou dobu jsou hadcové půdy středem zájmu bádání mnoha vědců. S tímto tématem se tedy setkáváme v mnoha pracích. V současnosti se výzkum zajímá o hadcové půdy v souvislosti s adaptací rostlin na tento substrát.

Hadcové půdy představují unikátní mikrostanoviště pro studium adaptivní evoluce a vzniku specializovaných rostlinných ekotypů. Tyto půdy jsou zvláštní svými fyzikálními a chemickými vlastnostmi, které pro rostliny představují stresující faktory. Pro řadu druhů je hadcový substrát téměř neobyvatelný, naopak některé rostliny jsou významné svým výskytem jen na hadcových lokalitách. Rostliny hadcových půd vytvářejí jisté adaptace, které jim umožňují zde přežívat.

Jednou z rostlin rostoucích na hadcových půdách je *Knautia arvensis* – chrastavec rolní, celkově rozšířený téměř v celé Evropě.

Polyploidní komplex *Knautia arvensis* je v České republice zastoupen dvěma cytotypy, a to diploidy ( $2n = 2x = 20$ ) a tetraploidy ( $2n = 4x = 40$ ). Oba tyto cytotypy se vyskytují jak na hadcové, tak nehadcové půdě.

Hadcové populace jsou považovány za reliktní výskyty původního diploidního předka, které se mikroevolucí ve specifických podmínkách hadcového prostředí vyvinuly v typy s vlastní odlišnou morfologií a chováním ve společenstvu. Morfologickou diferenciací je přitom možné pozorovat nejen mezi hadcovými a nehadcovými typy, ale i mezi jednotlivými hadcovými populacemi navzájem, což je důsledek jejich unikátní evoluční historie (KAPLAN 1998).

Má bakalářská práce obsahuje teoretickou i praktickou část a je doplněna fotodokumentací.

Teoretickou část mám rozdělenou do dvou kapitol. První kapitola je zaměřena na hadcovou půdu z hlediska jejích vlastností ve vztahu k rostlinám a rozšíření. Pozornost je věnována i adaptacím rostlin právě na tuto nehostinnou půdu.

Druhá kapitola je popisem studované rostliny *Knautia arvensis*. V popisné části se zaměřuji na popis rostliny s důrazem na kořenovou soustavu, která souvisí s mým pokusem. Hlavní část této kapitoly je především věnována rozšíření a hadcovým populacím.

Praktická část bakalářské práce obsahuje experimentální pokus, jehož podkladem je hydroponická kultivace semenáčků *Knautia arvensis* v roztocích

odlišné koncentrace (kontrola, roztok niklu, roztok hořčiku a roztok Ni+Mg) s následným měřením kořenové soustavy jednotlivých semenáčků a délky nejdelšího listu.

Cílem práce je zodpovězení následujících otázek:

- Rešerše – vliv nepříznivých chemických a fyzikálních vlastností půdy na rostliny, boj rostlin proti nepříznivým faktorům hadcové půdy.
- Popsání morfologické, fenotypové plasticity *Knautia arvensis* ve vztahu k hadcovému substrátu.
- Hydroponické pěstování semenáčků v roztocích odlišných koncentrací.

K poznání problematiky měl přispět také orientační kultivační pokus založený na pozemcích Katedry Botaniky PřF JČU, který se však nezdařil. V krátkosti se o něm zmíním.

Z několika populací *Knautia arvensis* lišících se ploidií a typem substrátu bylo vybráno po ca 5 kvetoucích jedincích s postraními růžicemi. Kvetoucí část byla odstraněna (morfologické analýzy) a zbylá část rostliny byla zasazena do běžného zahradnického substrátu. Po několika měsících byla každá populace rozdělena na polovinu – část byla ponechána v zahradnickém substrátu a část byla vsazena do hadcového substrátu (z hadcového lomu u Borovska). Rostliny v hadcovém substrátu nepřežily. Díky tomu, že byl velký úhyn rostlin, nebyl pokus dokončen a vyhodnocen.

## 2. Hadec a rostliny

Studiem hadcových hornin se zabývalo mnoho badatelů, ať již z hlediska jejich zvláštního chemizmu, jeho dopadu na vegetaci i faunu, nebo z hlediska technického jako dobrého štěrkového kamene.

### 2.1 Chemické složení, vzhled

Hadec (*serpentin*) je druh metamorfované horniny vzniklé z ultrabazických vyvřelých hornin, zejména pak peridotitů (HRUŠKA & BAJER 2005). Často v nich nacházíme zbytky původních minerálů, zejména olivín a pyroxeny, které se označují jako bastit. Pod mikroskopem můžeme rozlišit dva základní typy minerálu serpentinu – vláknitý chrysotil a lupenitý antigorit, často se vyskytuje i téměř isotropní hmota, označovaná jako serpofit (HRUŠKA & BAJER 2005). Jako vedlejší minerály mohou být v hadcích zastoupeny například granáty, enstatit, bronzit, dialag, mastek, olivín, chromit, picotit, magnetit, chlorit, opál, zirkon a pyrit. Tyto vedlejší minerály jsou pak zejména zdroji mikroelementů (např. chrom, nikl, zinek).

Hornina je barvy šedozelené, černošedé až černé, někdy i skvrnitá nebo pravidelně žilkovaná světle zeleným chryzotilem.

Hadce jsou většinou celistvé, mají všestrannou stavbu a matný lesk. Ve vrypu jsou bělavé nebo našedlé. Tvrdost podle relativní stupnice tvrdosti se pohybuje mezi stupni 3 a 4, hustota v  $\text{g/cm}^3$  je pak 2,5 – 2,7.

Ke vzniku hadce (tzv. serpentinizaci) je potřeba vysoká teplota (nepřevyšující však  $700^\circ\text{C}$ ), zvýšený tlak a dostatek vody. Během serpentinizace dochází k nahrazování původních minerálů minerály serpentinové skupiny. Důsledkem toho je značná variabilita hadců. Variabilita spočívá v nahrazování různých prvků, například část  $\text{MgO}$  může být nahrazena  $\text{FeO}$  nebo v mnohých odrůdách hadce může být obsažen skromný podíl  $\text{Al}_2\text{O}_3$ .

Hadec ( $\text{Mg}_3\text{SiO}_5(\text{OH})_4$ ) je podle chemického složení tvořen 43,50 %  $\text{SiO}_2$ , 43,46 %  $\text{MgO}$ , 13,04 %  $\text{H}_2\text{O}$ . Mimo toto základní složení je v hadci obsaženo značné množství železa, stopové množství těžkých kovů (nikl, chrom, kobalt) a v menším množství fosforečnany, vápenaté, draselné a sodné ionty.

Oxidy ( $\text{FeO}$ ,  $\text{MnO}$ ,  $\text{CaO}$ ,  $\text{MgO}$ ), které se v hadci vyskytují, mají různý obsah v profilové dynamice (HRUŠKA & BAJER 2005).  $\text{FeO}$  se ve svrchních horizontech

zvětralinového pokryvu hromadí, ve výplních a puklinách matečné horniny a v matečné hornině – podle kvality těchto výplní a stupně navětrání – dochází k jeho hromadění nebo ztrátě (HRUŠKA & BAJER 2005). U MnO dochází zvětrávacími procesy ke značnému hromadění skoro ve všech horizontech. Zastoupení CaO závisí hlavně na obsahu druhotných uhličitanů v profilu, na době jejich vzniku a tím i jejich přechodu na rozpustnou formu a odplavení. Obsah CaO v profilech je dosti vysoký a směrem do svrchních horizontů se obvykle zvyšuje. HRUŠKA & BAJER (2005) uvádějí, že obsah hlavní stavební složky hadcových hornin i minerálu serpentinu – MgO – zvětráváním a rozpadem vodnatého křemičitanu hořečnatého (serpentinu) a ostatních hořečnatých minerálů přechází Mg do pohyblivé formy a jeho obsah se směrem do svrchních horizontů rychle snižuje.

Hadcové půdy se vyznačují variabilitou zrnitostního složení půdního profilu, která je způsobena zvětráváním, jak chemického, tak i fyzikálního a u některých typů i příměsí organické hmoty ve svrchních horizontech. HRUŠKA & BAJER (2005) uvádějí, že tyto zmíněné faktory ponejvíce ovlivňují obsah nejjemnější jílové frakce. Písčité frakce jsou tvořené drobnými úlomky matečné horniny, resp. hadcových minerálů v různém stupni zvětrávání a přeměn. Prakticky ve všech horizontech je vysoký obsah matečného skeletu, jeho zastoupení do spodin vždy stoupá. Skelet je ostrohranný, v různém stupni navětrávání, bez usměrněného uložení, nejsou patrné ani náznaky soliflukce (půdotok) nebo jiných svahových pohybů (HRUŠKA & BAJER 2005). Zcela výjimečně jsou svrchní horizonty bez skeletu. Obsah uhličitanů je u většiny profilů dosti vysoký. Nejvyšší CaCO<sub>3</sub> je nutno přičíst proběhlému chemickému zvětrávání – karbonizaci, kdy CaCO<sub>3</sub> se dostává i do půdních pokryvů.

Zastoupení organické hmoty přímo závisí na složení porostu a opadu a na klimatických podmínkách (mineralizace – hromadění). Organická hmota ovlivňuje zvětrávací procesy produkcí organických kyselin, které se uplatňují při rozpouštění půdních minerálů, a přínosem minerálních látek do svrchních horizontů půdního pokryvu (HRUŠKA & BAJER 2005).

Od kvality organické hmoty a od obsahu uhličitanů se odvíjí kyselost (pH) půdního profilu. Spodní horizonty jsou více ovlivňovány chemizmem matečné horniny. Proto profilový průběh kolísá od silně kyselých svrchních horizontů až po alkalické minerální horizonty ve spodině (HRUŠKA & BAJER 2005).



Celkové chemické složení zvětralinových a půdních pokryvů je přímo závislé na chemizmu mateční horniny, zejména pak na obsahu SiO<sub>2</sub>, MgO a CaO (HRUŠKA & BAJER 2005). Proto se objevují podstatné odlišnosti u hadcových půd. Chemické složení je také ovlivněno vzdáleností horizontů od matečné horniny a obsahem skeletu. Z toho vyplývá, že půdy nejsou jednotné, ale liší se místo od místa.

Právě zvláštní vlastnosti hadcové horniny značně ovlivňují životní podmínky rostlin.

## 2.2 Výskyt

Hadcové horniny se vyskytují skoro po celém světě a pokrývají přibližně 1 % zemského povrchu (PROCTOR 1999). Ale téměř nikdy netvoří rozsáhlejší tělesa. Vyskytují se spíše jako jednotlivé drobné ostrůvky rozptýlené v nějakém více či méně rozsáhlém území (KOLÁŘ & VÍT 2008). Tyto hadcové ostrovy jsou od svého okolí odděleny svými charakteristickými vlastnostmi substrátu. A tak potenciální kolonisté hadcového substrátu musí být připraveni na tyto specifické podmínky.

Významné lokality hadce nalezneme v Nové Kaledonii, Kanadě (Quebec), USA (severní Kalifornie), Afgánistánu, Cornwallu (nejzápadnější poloostrov Anglie), Číně, Asii, Francii, Norsku a Itálii (<http://en.wikipedia.org/wiki/Serpentine>).

Také v České a Slovenské republice se hadce v podobě nevelkých těles vyskytují na mnoha místech. A to na Českomoravské vrchovině, v jižních a západních Čechách a na severní Moravě. Na Slovensku zejména ve Slovenském rudohoří a v jihozápadní části Slovenského krasu.

V České republice jsou to například lokality Staré Ransko u Havlíčkova Brodu, Holubov u Křemže, Borovsko u Dolních Kralovic, Kutná hora, Posázaví, několik ostrovů v okolí Mariánských lázní (Mnichovské hadce), Mohelno, Hrubšice, Dolní a Horní Bory, Biskoupky a Černín u Jevišovic. Výskyt hadce je zaznamenán na Rudníku (nedaleko Vrchlabí) a vzácně i na Šumperku a Domažlicku.

Nejznámějším hadcovým územím je již zmíněné Mohelno na Ivančicku. Je to hadcová step, která představuje floristicky nejbohatší území. Mohelenské hadce jsou oblastí nejnižše položenou a nejteplejší (jediné hadce v termofytiku). Lokalita je hodnotná především pro cenná xerothermní společenstva hadcové stepi, teplomilných trávníků a hadcových borů (MACKŮ 1960).

Největším hadcovým územím v České republice je komplex Mnichovských hadců ve Slavkovském lese (KOLÁŘ & VÍT 2008). Mnichovské hadce jsou naším nejvýše položeným a nejdeštivějším hadcovým územím. Díky srážkám, které přispívají k mírně kyselé reakci zdejších půd, se zde nachází převážně kyselé trávníky a vřesoviště. Součástí této lokality jsou též prosvětlené reliktní bory a odkryté skalní výchozy, které poskytují stanoviště řadě zajímavých rostlinných druhů.

I v několika dalších lokalitách můžeme nalézt mnoho zajímavých rostlinných druhů, například v oblasti dolnokralovických hadců můžeme nalézt hadcové endemity kuřičku Smejkalovu (*Minuartia smejkalii*) a mochnu Crantzovu hadcovou (*Potentilla crantzi* subsp. *serpentina*).

Hadcové biotopy svojí specifičností vůči zajímavým rostlinným druhům přitahují pozornost mnohých botaniků.

### **2.3 Rostliny na hadcových půdách**

Hadcové půdy jsou suché, živinami chudé substráty, neobyvatelné pro většinu rostlin, které nejsou specificky adaptované na jejich neobvyklé chemické a fyzikální vlastnosti.

Hadcové půdy vytvářejí specifické biotopy s extrémními půdními podmínkami pro život rostlin. Často se stávají domovem unikátních rostlinných společenstev a vytváří tak ostrovy hostící vzácnou a jedinečnou reliktní a endemité flóru (CHIARUCCI & BAKER 2007).

Hadcové endemity jsou taxony svým výskytem omezeny výhradně na hadcové lokality. Mezi endemické rostliny českých hadců řadíme například chrastavec rolní hadcový (*Knautia arvensis* subsp. *serpenticola*), mochnu Crantzovu hadcovou (*Potentilla crantzii* subsp. *serpentina*), trávníčku obecnou hadcovou (*Armeria vulgaris* subsp. *serpentina*), rožec kuřičkolistý (*Cerastium alsinifolium*).

V mnoha případech jsou druhy žijící na hadcových půdách slabými kompetitory na jiných substrátech. A tak tyto geologické ostrovy poskytly útočiště pro některé z nich. Na hranici hadcového území můžeme často pozorovat značné rozdíly ve složení flóry a vegetace (přechody jsou někdy plynulejší, někdy velmi ostré) (KOLÁŘ & VÍT 2008). Většina okolních rostlin nepřekračuje tuto hranici a nerostou na těchto půdách, a to díky stresujícím faktorům půdy (viz níže).

Jsou ale také známy rostlinné druhy, které jsou schopny růst jak na hadcové půdě, tak i mimo ni – *bodenvags* (německé označení znamenající vágní k půdě, bez speciálních požadavků (KRUCKEBERG 1967). Tato „nespecializovanost“ jim umožňuje široké rozšíření. V severozápadní části Spojených států mají tento charakter rozšíření například *Achillea millefolium*, *Quercus dumosa* nebo z keřů *Adenostoma fasciculatum* (KRUCKEBERG 1967).

Nepříznivé vlastnosti půdy můžeme zařadit mezi stresující faktory. Stres je obvykle používán pro souhrnné označení stavu, ve kterém se rostlina nachází pod vlivem stresujících faktorů (PROCHÁZKA et al. 2003). Hadcové půdy představují řadu stresujících faktorů.

Vysoký podíl hořčíku je první důležitou vlastností hadcových půd. Co se týče vlivu na rostliny, ještě důležitější charakteristikou je poměrné zastoupení hořečnatých iontů ve vztahu k iontům vápenatým (KOLÁŘ & VÍT 2008). Vysoký obsah hořčíku v půdě blokuje schopnost rostlin odebírat z půdy živiny, zvláště právě vápník. Bližší popis spolupůsobení vápníku a hořčíku je popsán v následující kapitole.

Vápník však není jediným nedostatečně zastoupeným prvkem hadcových půd. Dalšími nedostatkovými prvky jsou dusík, draslík a fosfor, které se rychle ztrácí během zvětrávání.

Hadcové půdy také obsahují vysoké koncentrace těžkých kovů, zejména niklu, chromu a kobaltu. Těžké kovy, pokud jsou v prostředí zastoupeny ve vyšší míře, působí na mnoho rostlin toxicky (vazbou na některé makromolekuly např. potlačují růst nebo způsobují poruchy fotosyntézy) (KOLÁŘ & VÍT 2008).

Díky nízkému obsahu organického materiálu a jílu, půdy nemohou dobře zadržovat živiny a vodu (nízká půdní vlhkost). V důsledku tmavé matečné horniny a její špatné tepelné vodivosti v průběhu dne může povrchová teplota půdy a skal značně kolísat (HRUŠKA & BAJER 2005). Například v Mohelenské hadcové stepi se povrch skal za slunečného počasí zahřívá až o 24°C oproti okolnímu vzduchu a výsledná teplota může dosahovat až 50°C (KOLÁŘ & VÍT 2008).

Všechny výše zmíněné vlastnosti půdy fungují pro rostliny jako stresující faktory. Představují nehostinné podmínky, na které je nutno se adaptovat. Hadcové půdy tak poskytují vhodný modelový systém pro studium adaptivní evoluce a vzniku specializovaných rostlinných ekotypů.

Je však nutno si uvědomit, že tyto vlastnosti jsou velmi heterogenní na různých lokalitách. Záleží na lokálních klimatických podmínkách, geomorfologii nebo třeba na hloubce půdního profilu. Může se totiž stát, že v lokalitách, kde je dostatečná vrstva půdy, se vliv hadcového podloží vůbec neprojeví a vyskytují se v nich pouze běžné porosty vegetačního typu nebo hospodářské kultury (pole, smrkové výsadby).

## **2. 4 Působení prvků (Ca, Mg, těžké kovy) na rostliny**

Kvalitativně odpovídá obsah prvků v rostlinách jejich výskytu v kořenovém substrátu. Je evidentní, že nepřítomnost prvku v půdě a okolní atmosféře znamená i jeho nepřítomnost v rostlině (PROCHÁZKA et al. 2003). Takže prvky vyskytující se v dosahu kořenů nebo listů rostlin se nacházejí i v jejich strukturách. Ovšem kvantitativní zastoupení jednotlivých prvků v rostlině a v půdě může být naprosto rozdílné. Všechny prvky, vyskytující se v přírodních podmínkách ve formě dostupné pro rostliny, jsou pro rostliny nutné, nikoliv však všechny prvky pro všechny rostliny – stupeň nepostradatelnosti může být pro různé prvky a různé rostliny různý (HRUŠKA & BAJER 2004). Některé prvky, přítomné v rostlinách v nepatrných stopách mohou být patrně nahrazeny prvky jinými, schopnými nahrazovat daný prvek. Velký význam má proto i celkový charakter geochemického prostředí.

V této kapitole bych chtěla vyzdvihnout několik prvků, jejichž nedostatek či nadbytek výrazně ovlivňuje stav rostlin.

### **2. 4. 1 Těžké kovy**

Určité těžké kovy (nikl, zinek, chrom, kobalt) se vyskytují v hadcových půdách, kde při vyšších koncentracích pro rostliny představují jistou dávku toxicity. Toxicita těchto prvků závisí zejména na způsobu jejich vazby v půdních minerálech a sloučeninách, na jejich uvolnitelnosti do vodních roztoků a jejich profilové dynamice. HRUŠKA & BAJER (2004) uvádějí, že určité prvky vyšších koncentrací ovlivňující růst rostlin působí na rostliny jedovatě, a to v pořadí  $Ni > Co > Fe > Cr > Mn$ , resp. ve vazbách  $NO_3 > Cl > SO_4$ . V ionizované formě se projevuje větší toxicita těchto prvků, v komplexních sloučeninách, např. s organickými látkami, je toxicita částečně paralyzována.

Podmínky, ze kterých rostliny přijímají tyto prvky, jsou velmi složité, příjem je nestejněměrný a je vlastně důsledkem mnoha vlivů prostředí v němž rostlina roste

a biologicko-fyziologických dispozic rostliny samé (HRUŠKA & BAJER 2004). Z řady provedených měření vyplývá, že biochemické procesy příjmu těchto prvků jsou u jednotlivých rostlin rozdílné, a že existuje i nadbytečný příjem těžkých kovů rostlinami (HRUŠKA & BAJER 2004). Tyto rozdíly mohou být způsobeny různou schopností rostlin přijímat kovy z různých chemických vazeb z půdy a zvětralin, rozdílným vlivem kořenů rostlin na jejich uvolňování a na převádění do vazeb, ze kterých jsou pro rostliny přístupnější, různým příjmem prvků rostlinami z humusu a z minerálního půdního podílu (HRUŠKA & BAJER 2004).

Kořeny rostliny přijímají prvky v hlubších půdních vrstvách převážně z minerálních sloučenin a v povrchových vrstvách z organické hmoty, odkud jsou uvolňovány mikroorganismy (HRUŠKA & BAJER 2004). K přenosu kovů do rostlin dochází přes biologickou membránu pomocí proteinů s transportní funkcí.

Ale jak vlastně těžké kovy ovlivňují rostliny, co jim způsobují? Pro názornost jsem zvolila prvky nikl, chrom, kobalt a zinek, které jsou pro hadcové půdy charakteristické.

**Chrom (Cr)** je mikroelement, který se koncentruje zejména v ultrabazických horninách, méně pak i v horninách bazických. Koncentrace chromu je závislá na obsahu jeho rozpustných sloučenin v půdách. Toxicita chromu závisí na stupni oxidace a přístupnosti přijatelných forem chromu.

Působením chromu na flóru serpentinitů se zabývala celá řada autorů. Již v r. 1939 J. Pelíšek studoval obsah  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  mohelenských hadcůch a stanovil jejich obsah v horninách na 1 670 – 1 900 ppm, v jejich zvětralinách a půdách na nich pak od 100 – 3 120 ppm, přičemž k akumulaci  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  docházelo hlavně ve svrchních horizontech půd (HRUŠKA & BAJER 2004).

Nejvíce chromu se kumuluje v kořenech, méně v listech a stoncích. Nejnižší obsahy byly zjištěny v zrnu (HRUŠKA & BAJER 2004). Například vědci přisuzují nápadné krnění stromů v okolí Pramenů u Mariánských lázní vysokému obsahu Cr v půdách vyvinutých na hadcích nebo Chlumečku u Křemže (HRUŠKA & BAJER 2004).

**Zinek (Zn)** provází železo v železatohořečnatých minerálech, tj. magnetitu, biotitu a amfibolu. Větráním se uvolňuje a váže výměně na půdní částice. Obsah

celkového zinku v půdách je ovlivněn obsahem humusu (biologická akumulace), jílu (sorpce), půdní reakcí (rozpuštěnost Zn sloučenin) a samozřejmě obsahem zinku v matečné hornině (HRUŠKA & BAJER 2004). Podle Beneše (1966) kolísá celkový obsah zinku v půdách od 15 do 110 ppm, přičemž považuje půdy s obsahem zinku pod 15 ppm za zinkem chudé, obsah zinku vyšší než 200 ppm mají půdy bohaté na zinek (HRUŠKA & BAJER 2004). Obsah zinku na hadcích se pohybuje v rozmezí 20 – 60 ppm, v krajních hodnotách však až v rozmezí 17 ppm – 405 ppm (HRUŠKA & BAJER 2004).

Jak je zinek rostlinám dostupný, závisí na pH půdy. Při alkalickém pH se stává dostupným. Zásoba přístupného zinku v půdách pro rostliny činí jen 3 – 8 % veškerého zinku (HRUŠKA & BAJER 2004). I tak je však obsah přístupného zinku ve většině našich hornin pro rostlinstvo dostatečný. Má dobrou pohyblivost v rostlině, a to i ve floému.

Jako mikrobiogenní mikroelement se zinek významně projevuje jako růstový stimulant při syntéze bílkovin, při přeměně sloučenin vápníku, draslíku, kyslíku a dusíku na formy přístupné pro rostliny. Nedostatek Zn se projevuje ve fyziologii rostlin i vnějškově (zkrácený růst internodií, nekróza listů, chlorotické skvrny, zbělení klíčků u obilnin). Naproti tomu toxická dávka zinku zastavuje elongaci kořenů a způsobuje chlorózu listů.

**Nikl (Ni)** je zastoupený téměř ve všech půdách jako důsledek obsahu v horninách. Jeho obsah je udáván v množství 5,5 – 38,6 g/t (HRUŠKA & BAJER 2004). Jeho zastoupení koresponduje s obsahem hořčíku, tj. pravděpodobně s obsahem olivínu (kde z části nahrazuje Mg) a pyroxenů (nahrazuje dvojmočné železo). Vysoký obsah niklu, vždy přes 400 ppm, je v hadcích.

Obsah niklu v rostlinách kolísá mezi 0,01 g/t a 2 g/t. Nejvíce Ni se koncentruje v listech a obalech semen, u dřevin pak více ve dřevě než v kůře (HRUŠKA & BAJER 2004).

Hunter & Vergnano (1953) pozorovali toxické účinky Ni na rostliny na půdách vyvinutých na serpentinech u White Cairns (Skotsko) (HRUŠKA & BAJER 2004). Rostliny stejného stáří měly různé rozměry a vykazovaly řadu symptomů předávkování niklem. Častá byla chloróza listů a také výskyt nekrotických ploch.

Stupeň postižení byl úměrný obsahu niklu ve tkáních rostlin, avšak také obsah chromu, kobaltu a zinku byl zvýšený.

A. Němec (1954) zjistil v popelu listů břízy, rostoucí na hadcích v oblasti Křemže 2,321 % Ni (HRUŠKA & BAJER 2004).

Počet druhů rostlin se snižuje s přibývajícím obsahem niklu v půdě. Mnoho vědců při zkoumání půd s vysokým obsahem niklu zjistilo závislost mezi obsahem niklu v půdách a četností znetvořených forem rostlin, různým zbarvením květů. Také byl zjištěn zpomalený růst všech rostlin. Vysoký obsah niklu také potlačuje fotosyntézu a transpiraci.

**Kobalt (Co)** je chemicky přechodný prvek. Intenzita jeho příjmu a distribuce v rostlině je závislá na druhu. Rostlinou je přijímán kořenem, ale i listy. Kobalt v rostlině ovlivňuje inhibici syntézy ethylénu, oddaluje senescenci listů, zvyšuje odolnost rostliny při vodním stresu a má vliv na akumulaci alkaloidů.

Toxická dávka kobaltu (nad 0,4  $\mu\text{g Co/g SH}$ ) však způsobuje inhibici aktivního transportu iontů, narušení syntézy RNA, pokles obsahu DNA a RNA v buňce (aktivita nukleáz) a funguje jako mitotický jed. Dále způsobuje opad listů, diskoloraci (různě zbarvené skvrnky) a snížení růstu prýtu.

HRUŠKA & BAJER (2004) provedli výzkum mikroelementů (Cr, Ni, Zn) na hadcových půdách. Zvolili lokality, kde jsou vyloučeny zásahy člověka. Sondy byly umístěny v nadmořské výšce 320 – 861 m v oblastech s průměrnou roční teplotou 5 – 9 °C a ročním úhrnem srážek v rozmezí 450 – 900 mm.

Jejich naměřené hodnoty pak posloužily k lepšímu poznání do chemických vlastností hadcových půd. Několik údajů zjištěných sondami je uvedeno v tabulce 1. Do tabulky jsem vybrala lokality, které jsou známými hadcovými oblastmi – Staré Ransko u Žďáru nad Sázavou, Holubov u Křemže, Borovsko u Dolních Kralovic, Prameny u Mariánských lázní a Mohelno (významná hadcová step).

**Tab. 1:** Obsah Cr, Zn a Ni (v ppm) ve studovaných profilech (podle HRUŠKA & BAJER 2004)

Lokalita	Hloubka v cm	Obsah (ppm)		
		Cr	Zn	Ni
St. Ransko	5 – 23	3650	400	1090
	23 – 41	2800	600	1590
	> 41	3300	500	1750
		1550	750	100
Holubov	2 – 12	1950	50	600
	12 – 30	1800	90	2900
	30 – 48	1350	40	3400
	> 48	1150	50	4200
		1050	210	4200
Borovsko	3 – 15	5700	50	1270
	15 – 30	5200	1800	3100
	30 – 55	850	1500	2800
	> 55	4800	1000	4250
		3300	850	2370
Prameny	3 – 11	150	1500	400
	11 – 23	3450	280	1250
	23 – 42	2350	610	1850
	42 – 70	2450	70	3000
	> 70	3150	240	3900
Mohelno	0 – 1	3480	400	800
	1 – 15	2600	60	1250
	15 – 42	2350	70	1300
	42 – 61	1300	70	3500
		850	7000	3000

Podle vyhlášky Ministerstva životního prostředí č. 13/1994 Sb. patří výše zmíněné prvky (Cr, Zn, Ni, Co) mezi tzv. rizikové prvky v půdách a vyhláška přesně stanovuje maximální přípustné hodnoty v půdách, a to podle jejich zrnitostního složení (Tab. 2) (<http://biom.cz/cz/legislativa/fyto-legislativa/13-1994-sb>).

**Tab. 2:** Maximální přípustné hodnoty vybraných prvků v půdách (mg/kg)

Prvek	Lehké půdy	Ostatní půdy
Cr	100	200
Zn	130	200
Ni	60	80
Co	25	50



## 2. 4. 2 Vápník, hořčík a jejich vzájemné působení

Vápník a hořčík zastávají důležitou roli v rostlinách. A jakou? Pokusím se to objasnit v následujícím.

**Vápník** má pro rostliny mnohostranný význam. Především v nich neutralizuje přebytečné kyseliny a zpevňuje podpurná pletiva. Ovlivňuje také hospodaření rostlin s vodou. Nejvíce vápníku se vyskytuje v listech a ve stoncích. Rostliny přijímají vápník jako kationt  $\text{Ca}^{2+}$  z rozpustných vápenatých solí (PROCHÁZKA et al. 2003) A jak to vypadá s rostlinou, když je vápníku nedostatek?

Vápník je málo pohyblivý a příznaky nedostatku se projevují nejprve na mladých tkáních zejména v meristému, kde se tvoří nové buněčné stěny. Dochází k nekróze listových špiček a okrajů a k nekróze vrcholových pupenů. U mladých listů se také objevuje chloróza a ohýbání špiček listů. Na kořenech se nedostatek projevuje tak, že se netvoří kořenové vlásky, kořeny začínají zahnívat. Na kořenech se tvoří sliz a kořenové buňky se rozkládají a pletivo se přeměňuje na nestrukturní hmotu.

**Hořčík** je nepostradatelnou součástí chlorofylu a je aktivátorem velkého množství reakcí ve fotosyntéze. Jeho vyšší obsah v semenech rostlin umožňuje vzcházejícím rostlinám rychlou tvorbu listové zeleně. Rostlinami je hořčík přijímán jako kationt  $\text{Mg}^{2+}$ , v menším množství než vápník. Na jeho přísunu ke kořenovému vlášení se podílí především tok půdního roztoku a v menší míře i růst kořenů.

Hořčík je jen zřídka limitující pro růst rostlin. Jeho nedostatek se projeví chlorózou listové čepele mezi žilkami u starších listů.

Jaké je zastoupení hořčíku a vápníku v hadcových půdách? Na hadcových půdách je nadbytek hořčíku (až toxické množství) a nedostatek vápníku, což se může projevovat zakrslým růstem rostlin.

Vzájemný vztah těchto prvků je udáván tzv. Loewovo faktorem, tedy poměrem Ca:Mg. V těchto půdách je nízký poměr Ca:Mg iontů. Nízký obsah vápenatých iontů v hadcových půdách a jejich vztah s hořečnatými ionty je pravděpodobně nejdůležitější příčinou neobyvatelnosti hadcových půd pro většinu rostlin (BRADY et al. 2005). Pro optimální růst většiny rostlin musí být poměr Ca:Mg

alespoň 1, na hadcových půdách toto číslo obvykle nepřekračuje hodnotu 0,4 (PROCTOR & WOODDELL 1975). Růst rostlin je značně ovlivněn poměrem výměnných kationtů. Vápník a hořčík jsou hlavními výměnnými kationty a při zvyšování nebo snižování jednoho z nich dochází ke komplementárnímu zvýšení nebo snížení obsahu druhého (WALKER 1954).

Byla provedena řada studií, které zjišťovaly vztah rostlin k nadbytku hořčíku a nedostatku vápníku. Například Walker (1948) testoval tento vztah na rajčeti (*Lycopersicon esculentum*) a endemické rostlině hadců *Streptanthus glandulosus* ssp. *pulchullus*. Růst rajčete byl přímo korelován s obsahem vápníku, zatímco růst *Streptanthus* zůstal relativně nezměněný při různých koncentracích, tento druh je totiž více tolerantní k nízkému obsahu vápníku. V půdách s nízkým poměrem Ca:Mg rajče přijalo významně více hořčíku než *Streptanthus* (BRADY et al. 2005).

Další Walkerův výzkum byl proveden na *Helianthus bolanderi*, který je také druhem vázaným na hadce. V půdě s nízkým obsahem vápníku tento druh absorboval znatelně více vápníku než jeho příbuzný druh běžné slunečnice (*Helianthus annuus*). Naopak *H. bolanderi* absorboval méně hořčíku z těchto půd, kde je i vyšší obsah hořčíku (WALKER 1954).

Hadcové rostliny si vytvořily určitou adaptaci, kdy dovedou zabránit nežádoucímu přísunu hořečnatých iontů (ať už tím, že ho přijímají v malém množství, nebo že se ho lépe zbavují) a naopak výběrově přijímat více vápníku (KOLÁŘ & VÍT 2008). Hadcové rostliny přijímají více vápníku a méně hořčíku.

Z toho vyplývá, že malá úrodnost na hadcových půdách je mimo jiné výsledkem nízké koncentrace Ca a vysoké koncentrace Mg a jen druhy tolerantní na nízkou hodnotu Ca:Mg mohou přežít na hadcových půdách (BRADY et al. 2005).

## 2. 5 Adaptace rostlin

Rostliny jsou v průběhu svého života vystaveny velmi proměnlivým podmínkám vnějšího prostředí. Ty mohou nejen zpomalovat jejich životní funkce, ale také poškozovat jednotlivé orgány a v krajním případě vést i k jejich uhynutí (PROCHÁZKA et al. 2003). Nepříznivé vlivy vnějšího prostředí, které ohrožují rostliny, můžeme označit jako stresové faktory (těžké kovy, sucho). PROCHÁZKA et al. (2003) uvádí, že stresové faktory, ať už fyzikálně-chemické či biotické, mohou pronikat do vnitřního prostředí rostlin různých druhů nesterjně snadno, a to především

v důsledku různě vyvinutých ochranných struktur. Mezi tyto způsoby ochrany můžeme zařadit například tlustou kutikulu listů, rezervoáry vody nebo dokonce i rozsáhlý kořenový systém (hadcové půdy).

Vytvořením těchto ochranných struktur se rostlina přizpůsobuje (adaptuje) k nepříznivým podmínkám prostředí, ve kterých žije. Faktory prostředí, které rostliny obklopují, kolísají v širokých mezích, často až na samou hranici existenčního minima. Přežití v těchto podmínkách by bylo sotva možné bez schopnosti přizpůsobování (adaptability). Čím více a déle se vnější prostředí odchyluje od optima, tím více trvalých změn struktur a funkcí nacházíme u organismů žijících v tomto prostředí.

Limitujících faktorů, které působí na rostlinu, může být obvykle více a přizpůsobení k nim může klást protichůdné požadavky na funkční i strukturní změny. Například kolísání některých faktorů prostředí (např. vlhkosti půdy) je velké a nepravidelné, takže jednoznačně optimální přizpůsobení ani není možné.

Hadcové půdy představují stresové faktory, a to fyzikální a chemické. Kombinace těchto faktorů, s jejich specifickou intenzitou, tvoří tzv. hadcový syndrom (RAJAKARUNA & BAKER 2004). Hadcový syndrom je způsoben nízkým poměrem Ca:Mg, toxicitou hořčiku a těžkými kovy nebo malým obsahem nezbytných živin jako dusík, fosfor a draslík. Rostliny rostoucí na hadcových půdách jsou často morfologicky a fyziologicky adaptované na fyzikální a chemické vlastnosti tohoto extrémního půdního prostředí (RAJAKARUNA & BAKER 2004).

### **2. 5. 1 Ekologická adaptace**

Ekologie hadcového systému je zvláště zajímavá vzhledem k vysokému podílu endemických rostlin, morfologickým adaptacím hadcových rostlin a charakteristickým strukturám hadcového společenstva (BRADY et al. 2005).

Hadcové rostliny mají především adaptace k nízké dostupnosti živin a vysokému obsahu těžkých kovů na hadcových půdách (KAZAKOU 2008). Rostliny vytvářejí různé morfologické adaptace, které souvisejí právě s hadcovou tolerancí. Rostliny jsou často trpasličí a xeromorfní, s chlorotickými, úzkými a šedomodrými listy a mají rozsáhlý kořenový systém (RAJAKARUNA & BAKER 2004). Dále také mají hustější odění listy, kompaktní habitus a vysoký poměr biomasy mezi kořenem a prýtem (RYAN et al. 2006).

Fyziologická adaptace hadcových rostlin je možným stupněm morfologického vzhledu. Fyziologickými adaptacemi rostlin na živinově chudých půdách jsou především pomalá růstová rychlost, vysoké investice do obrany proti herbivorům, selektivita příjmu vápenatých a hořečnatých iontů, nízká saturační rychlost příjmu živin, uskladnění živin a účinného využití živin, flexibilní rozdělení látek (např. přizpůsobivost uvnitř stejného kořenového systému) a nakonec účinné mechanismy vnitřní recyklace živin sloužící k zabezpečení minimálních ztrát živin během senescence listů (KAZAKOU 2008).

Byl proveden pokus u *Bromus hordeaceus*, který zjišťoval fyziologické adaptace na nedostatek vody na hadcových půdách. Tato rostlina má toleranci k nedostatku vody. Její adaptace se projevila snížením průduchové vodivosti a tedy i transpirační rychlosti a zvýšením vodního potenciálu listů.

Rozmístění zdrojů živin a jiných potřebných látek v půdě není nikdy homogenní. A proto nemohou být ani kořeny rostliny rovnoměrně rozmístěny.

Hadcové druhy mají rozsáhleji vyvinutý kořenový systém, který jim usnadňuje příjem vody a živin. Takový kořenový systém lze také považovat jako jistá adaptace na chudé hadcové půdy. U některých hadcových populací dochází k regulaci utváření postranních kořenů vysokým obsahem hořčíku a více živin je transportováno do delších a hluboko rostoucích kořenů, což je důležité v suchých podmínkách (KAZAKOU 2008). Sucho a nízký obsah živin nejsou hlavními příčinami hadcové intolerance. Rostliny se musí adaptovat i na nízký poměr Ca:Mg iontů a vysokému obsahu těžkých kovů. Již jsem se těmito adaptacím ve své práci podrobněji věnovala (poměr Ca:Mg viz Kap. 2.4.2, těžké kovy viz Kap. 2.5.3)

### **2. 5. 2 Akumulace těžkých kovů v rostlinách**

Všechny rostliny jsou schopné akumulovat z půdy nebo z vody těžké kovy, které jsou esenciální pro jejich růst a vývoj. Mnoho anorganických látek, považovaných za kontaminanty prostředí jsou fakticky důležitou živinou, která je absorbována kořenovým systémem. Mezi tyto kovy patří hořčík, železo, mangan, zinek, měď, molybden a i nikl (MEMON et al. 2001). Některé rostliny však dokáží akumulovat i takové těžké kovy, u nichž není prokázána žádná biologická funkce. Mezi tyto kovy patří kadmium, chrom, kobalt, olovo, stříbro, selen a rtuť (MEMON et al. 2001).

Avšak nadměrná akumulace těchto těžkých kovů může být toxická pro většinu rostlin. Těžké kovy v rostlinném prostředí fungují jako stresující faktory, jež způsobují fyziologickou reakci změn. Mohou snižovat vitalitu a zcela inhibovat růst rostlin (BAKER 1987). Schopnost tolerovat zvýšené množství těžkých kovů a akumulovat je ve velmi vysokých koncentracích se vyvinula nezávisle a společně u řady různých druhů rostlin (MEMON et al. 2001). Rostliny vyvinuly různé mechanismy tolerance a odolnosti vůči těžkým kovům. Tyto mechanismy zahrnují únik (*avoidance*) a vyloučení (*exclusion*), které minimalizují buněčnou akumulaci kovů, a toleranci, která dovoluje rostlinám zde přežít, zatímco akumulují vysoké koncentrace kovů (CAI & MA 2003).

U většiny rostlin se schopnost akumulace těchto kovů pohybuje v rozmezí hodnot 0,1 – 100 mg/kg sušiny. Vyšší schopnost akumulovat těžké kovy byla zaznamenána jen u některých rostlin, tzv. hyperakumulátorů.

Hyperakumulace těžkých kovů je u rostlin, které akumulují velké množství kovů do jejich prýtů a listů, zatímco ukládají malé množství do jejich kořenů (STACY et al. 2006). Rostliny jsou zpravidla považované za hyperakumulátory, jestliže v listech je koncentrace niklu, mědi a kobaltu 1000 mg/kg, zinku a manganu 10 000 mg/kg a kadmia 100 mg/kg (STACY et al. 2006).

Častým předmětem zájmu vědců je hyperakumulace u niklu a zinku než u jiných kovů. Ni-hyperakumulace představuje jedinečnou a extrémní adaptaci na niklem bohatých půdách. Analýzy mnoha tisíců druhů hadcových rostlin identifikovaly více než 360 druhů rostlin (skoro výhradně dvouděložných), u kterých byly koncentrace Ni nad 1000 mg/kg (KAZAKOU 2008). 85 – 90 % těchto druhů byly hadcovými endemity. Další se vyskytují na různém substrátu, ale Ni hyperakumulaci ukazují na hadcových půdách, například *Alyssum bracteatum* (Írán), *Psychotria grandis* (Mexiko) a *Thlaspi ochroleucum* (východní Evropa).

Vyvstává otázka, proč některé rostliny akumulují prvky o koncentracích, které jsou toxické pro většinu jiných organismů. Jaká selektivní výhoda vedla k vývoji hyperakumulace?

Existuje několik teorií:

1. *Odolnost vůči suchu*: Nikl může být hyperakumulován do rostlinných buněk, aby snížil vodní potenciál rostliny (KAZAKOU 2008). To by umožnilo fotosyntetizovat za suchých podmínek.

2. *Interference*: Hyperakumulace Ni může sloužit k přežití nebo obraně proti kompetici ze strany jiných druhů. Vysoký obsah kovů uvolněný prostřednictvím dekompozice humusu vyprodukovaného hyperakumulátory může zabraňovat nebo poškozovat v růstu rostliny citlivé na zvýšený obsah kovů.
3. *Nechtěný příjem*: Vysoká koncentrace kovů v hyperakumulátorech může být jen nechtěný následek jiných charakteristik jako nedostatek mykorrhizy nebo velké transpirace rostlin v suchých hadcových oblastech (KAZAKOU 2008).
4. *Obrana*: Hyperakumulace Ni může sloužit jako obrana proti hmyzu nebo houbovým patogenům.

Většina vědců se přiklání k teorii, že se jedná o obranu rostlin proti herbivorům a patogenům a také k obraně proti okolním konkurentům.

#### Mechanismy akumulace kovů

Rostliny uvnitř distribuují kovy do mnoha různých částí. Většinou lokalizují vybrané kovy v kořenech nebo lodyhách, nebo akumulují a ukládají jiné kovy v netoxické formě pro pozdější distribuci a užití (MEMON et al. 2001).

Mechanismus tolerance či akumulace v rostlinách zřejmě zahrnuje vazbu toxických kovů k buněčné stěně kořenů a listů (mimo citlivá místa uvnitř buňky – například cytosol, mitochondrie a chloroplasty) nebo jejich ukládání do vakuol (bezpečná skladiště nebezpečných látek v buňce). Také zvýšenému obsahu těžkých kovů se rostliny mohou bránit například vylučováním chelatačních látek, které se dokážou navázat na daný kov a tím ho inaktivují (CAI & MA 2003).

### 3. *Knautia arvensis*

*Knautia arvensis* L. (chrastavec rolní; čeleď: *Dipsacaceae*) je velmi proměnlivý druh. Bylo popsáno množství vnitrodruhových taxonů založených na morfologických odchylkách, jako například charakteru členění listů nebo velikosti strboulů. Ale většina těchto odchylek představuje pouze individuální odchylky běžné uvnitř populací chrastavců (bez taxonomického významu).

Přesto významná část mezipopulační proměnlivosti je pravděpodobně odůvodněně taxonomicky hodnocená jako podklad pro rozlišování několika geograficko-ekologických poddruhů (ŠTĚPÁNEK 1997). Také dochází k prolínání areálů *Knautia arvensis* a jiných druhů. Na kontaktu dochází k hybridizaci, často introgresivního charakteru, nebo dokonce ke vzniku hybridogenních taxonů (ŠTĚPÁNEK 1997). Například k rozsáhlé k introgresivní hybridizaci dochází mezi druhy *Knautia kitaibelii* a *Knautia arvensis* (pouze tetraploidním cytotypem). Morfologicky jdou tyto hybridy poznat podle barvy koruny – různé kombinace barev jejich rodičů (růžové až modrofialové barvy *K. arvensis* a nažloutle bílé až světle žluté *K. kitaibelii*). K spolehlivému odlišení hybridů od obou rodičovských taxonů se používá chromatografie květních barviv (ŠTĚPÁNEK 1979).

#### 3. 1 Popis

*Knautia arvensis* je vytrvalá, 25 až 80 cm vysoká bylina. Lodyhy má přímé, 1 – 2x vidličnatě větvené, za květu obvykle bez postranních přízemních listových růžic. Dolní internodia jsou většinou řídce chlupatá, horní hustě pýřitá.

Lodyžní listy jsou vstřícné, přisedlé, peřenosečné až peřenoklané (a to v horní části rostliny), v obrysu kopinaté až široce vejčité. Listové úkrojky zpravidla celokrajné, kopinaté. Listy jsou bylinné, měkké konzistence a chlupaté.

Typ květenství je strboul. Strbouly jsou s květy oboupohlavnými nebo funkčně samičími. Zákrovní listeny kopinaté až vejčité, 2 – 3x delší než široké, chlupaté. Barva květů je zpravidla růžová, fialově růžová, fialově červená až modrofialová, vzácně bělavá. Prašníky a blizny jsou bělavé nebo růžové. Doba květu červen až září. Plodem rostliny je nažka. Dozrávání plodů v červenci až říjnu. Počet chromosomů:  $2n = 20, 40 (39, 41)$  (ŠTĚPÁNEK 1979).

Obsahovými látkami *Knautia arvensis* jsou například třísloviny, silice, minerální látky, oleje a hořčiny.

Nyní bych se chtěla detailněji zmínit o kořenové soustavě, protože experimentální část práce je zaměřena na kořenovou soustavu této rostliny. Rostlina má křulovitý kořen. Půdní prokořenění je kuželovité, dole často rozšířené, středně husté a hluboko zasahující (viz příloha č. 1).

Vývoj kořenové soustavy: Klíček vyvíjí kulovitý kořen o průměru 0,6 – 0,8 mm, s postranními kořeny po 0 – 1 cm. U dospělé rostliny je hlavní kořen rozvětvený s krátkými větvemi, některé větve zesilují – rostlina je vícehlavá (KUTSCHERA 1992). Kořeny jsou dužnaté, žlutohnědé až hnědé.

Ve vyhřáté půdě je křulovitý ztlustlý kořen silně dominantní. Proto nedojde k vývoji silnějších, hlouběji zasahujících postranních kořenů. V chladnějších vrstvách půdy ztrácejí křulové kořeny svoji schopnost dále růst do hloubky. Převládá tedy růst kořenů do strany. V hornější, křulovité silnější části jsou kořeny obklopeny mnoha tenkými, těsně zhuštěnými postranními kořeny způsobem, který je pro tento druh charakteristický (KUTSCHERA 1992).

Z textu vyplývá, že *Knautia arvensis* je velmi ovlivněna podmínkami prostředí, které udávají její charakter. Například vzhled kořenové soustavy. Na hadcových půdách rostliny více investují do podzemní části než nadzemní. Kořenový systém je rozsáhlejší. Kořenová soustava se proto stala hlavní bodem mého zkoumání.

### **3. 2 Stanoviště, rozšíření**

Rozšíření druhu zahrnuje severní polovinu Evropy a západní Asie, od západní Evropy po západní Sibiř, na sever zasahuje až k polárnímu kruhu.

V České republice je *Knautia arvensis* poměrně hojná na celém území. Vyhýbá se pouze horským polohám a uzavřenějším lesním komplexům. Roste na suchých a mezofilních loukách, pastvinách, travnatých a křovinatých svazích, náspech a v příkopech komunikací, lesních lemech. Vyhovují jí slabě kyselé až zásadité půdy a suchá až mírně vlhká stanoviště.

V Čechách je *Knautia arvensis* zastoupena dvěma cytotypy, a to diploidy a tetraploidy (viz příloha č. 2). Tetraploidní cytotyp, označovaný jako *Knautia arvensis* subsp. *arvensis* se vyskytuje vesměs po celé České republice od nížin až po



podhorské polohy. Chybí pouze ve vysokých nadmořských výškách a v části jižní Moravy. Naproti tomu diploidní cytotyp, nazývaný *Knautia arvensis* subsp. *pannonica* je omezen na teplé oblasti jižní a jihovýchodní Moravy (KAPLAN 1998).

Kromě těchto dvou rozšířených cytotypů nalézáme ještě několik izolovaných diploidních populací na reliktních „ostrovech“ uvnitř souvislého areálu tetraploidní *K. arvensis* subsp. *arvensis*. Jednou z izolovaných diploidních populací je *Knautia arvensis* subsp. *pseudolongifolia*, která se vyskytuje na karbonátových skalách v karu Kotelné jámy v Krkonoších. Tento stenoendemitní taxon je poměrně dobře morfologicky odlišen (KAPLAN 1998). Další diploidní populace, provizorně nazývané *Knautia arvensis* subsp. *serpentinicola*, se vyskytují v reliktních hadcových borech, vzácněji i na hadcových skalách (například Borovsko).

Na hadcových ostrovech však kromě diploidních populací můžeme nalézt i tetraploidní rostliny. U *Knautia arvensis* rostoucí na hadcových půdách Slavkovského lesa (Vlčí hřbet a Planý Vrch) se vyskytují diploidní a tetraploidní populace společně (KOLÁŘ et al. 2008).

### 3. 3 Hadcové populace

Tato kapitola se podrobně zabývá *Knautia arvensis* (diploidní a tetraploidní cytotypy) rostoucí na hadcové půdě v České republice.

Diploidní *K. arvensis* subsp. *serpentinicola* roste v lesích poblíž Starého Ranska ve Žďárských vrších (zde byla také poprvé odhalena), na dolnokralovických hadcích (u osady Borovsko) a na hadcovém okrsku u vesničky Woja v severním Bavorsku (asi 15 km západně od Aše), není tedy čistě českým endemitem, ale spíše endemitem Českého masivu (KOLÁŘ & VÍT 2008). Diploidní populace nalezneme i na několika místech Slavkovského lesa (Vlčí hřbet a Planý vrch).

Na dalších hadcových ostrovech v České republice byly zjištěny již jen tetraploidní populace. Lokality tetraploidních hadcových populací jsou známy ve Slavkovském lese (Dominova skalka, Křížky, Pluhův bor, Vlčí hřbet, Planý vrch) a na křemžských hadcích u Holubova.

Na Planém vrchu a Vlčím hřbetu se vyskytují tetraploidní i diploidní populace společně. Tyto hadcové tetraploidní populace jsou fenotypově podobnější ke koexistujícím diploidním populacím než k jejich široce-rozšířeným nehadcovým protějškům (KOLÁŘ et al. 2008). Tetraploidní z Mnichovských hadců Slavkovského

lesa patří k méně odlišným typům. Malá odlišnost hadcových tetraploidních rostlin od nehadcových rostlin možná může být vysvětlena morfologickými změnami spojenými s polyploidizací anebo dokonce sekundární hybridizací *K. arvensis* subsp. *arvensis* (KAPLAN 1998). Křížení i zcela vzdálených druhů stejné ploidie je častým jevem u rodu *Knautia* (KAPLAN 1998).

Hadcové chrastavce se liší svými stanovištními podmínkami od jejich nejbližších příbuzných. Tetraploidi i panonští diploidi rostou na mezofilních loukách, stráních a člověkem ovlivňovaných bezlesích biotopech. Oproti tomu hadcové chrastavce rostou ve světlých reliktních borech.

Proč je tomu tak? Co vedlo k izolaci diploidů, že vytvořily ostrůvky mezi rozšířenějšími tetraploidy? Abychom dokázali odpovědět, musíme se podívat do minulosti, vývoje krajiny. V raně postglaciálním období s převažující nelesní vegetací v relativně mírném klimatu zřejmě začaly chrastavce migrovat do dnešní střední Evropy. Pravděpodobně nejdříve osídlily otevřenou krajinu diploidi. Po nástupu lesa světlomilné chrastavce postupně vymizely z většiny území. Přežily pouze na několika stanovištích reliktního charakteru (hadcové bory) nebo nad horní hranicí lesa (*K. arvensis* subsp. *pseudolongifolia*). Je možné, že jiné typy také ustoupily do jižní části střední Evropy, kde se stále vyskytuje diploidní *K. arvensis* subsp. *pannonica* (KAPLAN 1998). S příchodem člověka a odlesňování se začal šířit do nově otevřené krajiny již nový, lépe uzpůsobený tetraploidní cytotyp. Mezitím již izolované reliktní hadcové populace mohly podlehnout řadě změn.

Vliv specifického charakteru hadcového substrátu, společně s faktem, že nové populace se vyvinuly z omezených reliktních populací prostorově a ekologicky izolovaných od jejich předka, hrály klíčovou roli v jejich mikroevoluci (KAPLAN 1998).

Ale tato teorie nevysvětluje postavení tetraploidů z hadců Slavkovského lesa. Zdejší rostliny sice vzhledem i ekologií připomínají diploidní hadcový poddruh, jsou však tetraploidní (KOLÁŘ & VÍT 2008). Co bylo příčinou výskytu tetraploidních rostlin v této lokalitě? Koexistence diploidních a tetraploidních rostlin ve dvou hadcových populacích v západních Čechách (Vlčí hřbet a Planý vrch) ukazuje, že se může jednat o nezávislý autopolyploidní původ hadcových tetraploidů z jejich diploidních předků (KOLÁŘ et al. 2008). Na základě cytometrie a genetických studií

se mnoho vědců domnívá, že hadcový tetraploidi mohly zdědit svojí schopnost tolerovat hadcové půdy právě od svého diploidního předka.

Díky unikátní evoluční historii hadcových populací je možné pozorovat jejich morfologickou diferenciaci nejen mezi hadcovými a nehadcovými typy, ale i mezi jednotlivými hadcovými populacemi navzájem.

## 4. Metodika kultivačního pokusu

Experimentální pokus probíhal od roku 2007. Cílem byla hydroponická kultivace semenáčků *Knautia arvensis* v roztocích odlišných koncentrací, které simulovaly nepříznivé podmínky hadcových půd. Konečné výsledky byly zpracovány v roce 2008 statistickou metodou.

### 4.1 Materiál, pomůcky, chemikálie

#### Materiál

Nažky *Knautia arvensis* použité v pokusu byly sbírány jak na hadcových, tak nehadcových lokalitách České republiky v roce 2007, pouze Vlčí hřbet v roce 2006. V několika případech byly použity vzorky ze Slovenska a Maďarska. Byly sbírány podle ploidie (diploidi 2x, tetraploidi 4x), abych získala od každé ploidie její hadcový a nehadcový typ.

Nažky diploidních rostlin byly použity z hadcových lokalit Staré Ransko a Borovsko a nehadcových lokalit Szombathely (Maďarsko), Lajdovce (Slovensko) a Javorník.

Nažky tetraploidních rostlin byly sbírány na hadcových lokalitách Křížky, Pluhův bor a Vlčí hřbet a na nehadcových lokalitách Aš a Chanovice.

(podrobnější výčet lokalit viz příloha č.3)

#### Pomůcky a chemikálie

Celý pokus probíhal za konstantních podmínek klimaboxu při teplotě 18°C, dvanáctihodinové periodě, 8 – 20 hod světla.

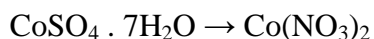
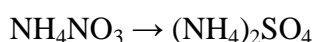
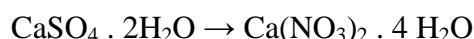
Před naklíčením byla semena opláchnuta v roztoku manganistanu, aby se předešlo plísním (přesto roztok tomu nezabránil).

Semena byla vyseta na Petriho misky, které byly vypodloženy navlhčeným filtračním papírem. Filtrační papír se udržoval neustále navlhčený.

Další příprava spočívala v úpravě nádob (500 ml). Součástí nádoby byl kruhový plovák se čtyřmi otvory, který jsem zhotovila z pěnových táček. Plovák s naklíčenými rostlinami byl poté umístěn do nádoby s živným roztokem. Za pomoci pinzety jsem opatrně vyjmula naklíčené rostliny a umístila do otvoru plováku.

### Příprava živného roztoku:

Podle článku HUSS-DANELL (1978) byly připraveny zásobní roztoky s koncentrací  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (0,083 mol/l),  $\text{K}_2\text{SO}_4$  (0,16 mol/l),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0,017 mol/l),  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (0,06 mol/l),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0,05 mol/l),  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0,0018 mol/l),  $\text{H}_3\text{BO}_3$  (0,0023 mol/l),  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (0,0005 mol/l),  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (80  $\mu\text{mol/l}$ ),  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (30  $\mu\text{mol/l}$ ),  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (20  $\mu\text{mol/l}$ ),  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (0,036 mol/l),  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  (50  $\mu\text{mol/l}$ ),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,2 mol/l). Připravované roztoky byly 100x koncentrovanější (pro snazší přípravu) a tři z nich byly nahrazeny:



Za použití pipety jsem z každého roztoku odebrala 1 ml. Celkem jsem tedy dostala 14 ml. A z celkového množství jsem odpipetovala 5 ml do 500 ml odměrné baňky a dolila destilovanou vodou po rysku. Tím vznikl živný roztok pro 1 nádobu na pěstování.

Roztoky pro testování tolerance byly také 100x koncentrovanější: 500  $\mu\text{mol/l}$   $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  a jak už jsem již zmínila 0,2 mol/l  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Tyto roztoky představovaly pro rostliny stresující podmínky.

Podle NYBERG BERGLUND (2003) bylo potřeba, aby výsledný stresující roztok Ni měl koncentraci 15  $\mu\text{mol/l}$  a výsledný stresující roztok Mg 5 mmol/l. Roztok Ni jsem připravila tak, že jsem k živnému roztoku přidala 15 ml 500  $\mu\text{mol/l}$   $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Na přípravu stresujícího roztoku Mg jsem použila stejné množství roztoků na živný roztok, s výjimkou toho, že jsem vynechala 0,2 mol/l  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , ten jsem pak dodala ve zvýšeném množství (12,5 ml). Roztok Ni+Mg jsem udělala podobně – živný roztok bez Mg + 15 ml  $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (500  $\mu\text{mol/l}$ ) + 12,5 ml  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,2 mol/l).

Z dalších pomůcek jsem použila šupleru na měření nejdelšího listu, fotoaparát (616 dpi) a skener (300 dpi) na zobrazení kořene. Alobal na obalení nádob z důvodu zabránění tvorby řas.

## 4.2 Postup

Veškerý pokus probíhal v klimaboxu na katedře botaniky PŘF JČU. Semena z 10 výše uvedených lokalit byla umístěna na vlhký filtrační papír. Každá populace klíčila jinou rychlostí. Například největší produkce semenáčku byla u semen z lokality Szombathely a Křížky. Oproti tomu semena z populace nasbírané z lokality Vlčí hřbet neklíčila vůbec.

Po naklíčení určitého počtu semenáčku (tak aby se daly založit bloky s jednotlivými roztoky) jsem jednotlivé semenáčky umístila na kruhový plovák a dala do nádoby s živným roztokem (Obr. 1). V plovoucím kruhu byly vedle sebe umístěny 4 semenáčky z následujících kategorií:

diploidi – hadec (2x H)

nehadec (2x N)

tetraploidi – hadec (4x H)

nehadec (4x N)

Každá kategorie zahrnovala různé populace a vzájemná poloha semenáčků různých typů v každém opakování byla náhodně pozměněna. Pěstování ve standardním živném roztoku trvalo 11 dní.

Po 11 dnech jsem všechny kořeny vyfotila a změřila šuplerou nejdelší list jednotlivých rostlin. Poté začala samotná kultivace. Živný roztok užitý v experimentu byl upraven, bylo k němu přidáno určité množství „stresujících“ prvků. Zásahy, které byly provedeny: kontrola, roztok Ni, roztok Mg a roztok Ni+Mg.



Obr. 1: Vzhled pokusu

V první nádobě byla kontrola = živný roztok. V druhé nádobě byl roztok Ni (15  $\mu\text{mol/l}$ ). V třetí nádobě byl roztok Mg (5  $\text{mmol/l}$ ). A ve čtvrté nádobě kombinace roztoků Ni+Mg.

Každé 3 dny jsem roztoky měnila a prohazovala jednotlivé nádoby. Celkem jsem provedla 6 opakování zásahů. Kultivovala jsem 25 dní, poté jsem kořeny oddělila od nadzemní části a naskenovala. A opět změřila délku nejdelšího listu.

Fotodokumentace byla pořízena, protože rostliny nešlo z plováku vyjmout, aniž by se poškodily. Na konci pokusu bylo již možné kořeny naskenovat, protože byla oddělena nadzemní a podzemní část rostliny.

### 4.3 Statistické analýzy

#### Rozdíl kořenového přírůstku:

Pomocí počítačového programu RootArch (program pro měření kořenové architektury) jsem zjistila celkovou délku kořenového systému, jak z nafocených, tak naskenovaných vzorků. Udělala jsem rozdíl celkové délky kořenového systému po 25 dnech a v čase 0 (před změnou roztoků).

Rostliny, které byly odumřelé již v čase 0, jsem odstranila (nechala prázdná pole). Rostliny s negativním přírůstkem byly kódovány jako 0. Data jsem zlogaritulovala ( $=\log(x+1)$ ).

K samotnému zpracování výsledků jsem použila program Statistika 8.0, metodu obecného lineárního modelu (GLM) s hierarchickým uspořádáním a interakcí. Jako závislé proměnné byly použity přírůstky kořene (transformovaná data). Jako kategoriální proměnné nádoba, roztok (K, Ni, Mg, Ni+Mg), ploidity (diploidi, tetraploidi) a původ rostlin (hadcové a nehadcové rostliny). Faktor s náhodným efektem byl nádoba. Analýza měla hierarchické uspořádání (roztok vnořený do nádoby).

Interakce: ploidity x původ rostlin – interakce mezi původem rostlin a ploidit

roztok x ploidity – interakce mezi roztokem a ploidit

roztok x původ rostlin – interakce mezi roztokem a původem rostlin

Testovány byly následující nulové hypotézy:

$H_0$  (ploidity): rozdíl v přírůstků kořenové soustavy u rostlin různých ploidit se neliší

$H_0$  (původ rostlin): rostliny pocházející z různých substrátů se v kořenovém přírůstků neliší

$H_0$  (roztok): rostliny pěstované v různých roztocích se neliší v kořenovém přírůstků

$H_0$  (ploidity x původ rostlin): každý cytotyp reaguje na rozdílný původ stejně (neexistuje interakce mezi ploidit a původem rostlin)

$H_0$  (roztok x ploidity): každý cytotyp reaguje na rozdílné roztoky stejně (není interakce)

$H_0$  (roztok x původ rostlin): u rostlin pocházejících z různých substrátů se přírůstek kořenové soustavy neliší podle roztoků (není interakce)

Za limitní hodnotu pro zamítnutí nulové hypotézy byla zvolena 5 % hladina významnosti.

### **Délka nejdelšího listu:**

Ze získaných dat jsem udělala rozdíl délky nejdelšího listu po 25 dnech a v čase 0 (před změnou roztoků).

Rostliny, které byly odumřelé již v čase 0, jsem odstranila (nechala prázdné pole). Rostliny se zápornými hodnotami rozdílů délek listů byly kódovány jako 0. Data jsem opět zlogaritmovala ( $=\log(x+1)$ ).

Poté k samotnému zpracování výsledků jsem použila program Statistika 8.0 metodu obecného lineárního modelu (GLM) s hierarchickým uspořádáním a interakcí. Jako závislá proměnná byl použit rozdíl nejdelšího listu rostliny (transformovaná data). Jako kategoriální proměnné nádoba, roztok (K, Ni, Mg, Ni+Mg), ploidie (diploidi, tetraploidi) a původ rostlin (hadcové a nehadcové rostliny). Faktor s náhodným efektem byl nádoba. Analýza měla hierarchické uspořádání (roztok vnořený do nádoby).

Interakce: roztok x původ rostlin – interakce mezi roztokem a původem rostlin

### Testována byla následující nulová hypotéza:

$H_0$  (roztok x původ rostlin): u hadcových a nehadcových rostlin se rozdíl délky nejdelšího listu neliší podle roztoků (není interakce)

Za limitní hodnotu pro zamítnutí nulové hypotézy byla zvolena 5 % hladina významnosti.



## 5. Výsledky kultivačního pokusu

V experimentu bylo celkem využito 96 semenáčků *Knautia arvensis* (48 diploidů a 48 tetraploidů; z každých diploidů a tetraploidů bylo 24 hadcových a 24 nehadcových rostlin). Jedna rostlina byla odumřelá již před první focením (vyloučena z analýzy), šest dalších rostlin bylo odumřelých na konci pokusu (kódovány jako 0).

### Výsledky analýzy rozdílu přírůstku kořenové soustavy

Tabulka 3 shrnuje stanoviska k nulovým hypotézám z hlediska rozdílu přírůstku kořenové soustavy.

Tab. 3: Výsledky statistické metody obecného lineárního modelu s hierarchickým uspořádáním ukazují vlivy původu rostlin (hadcové a nehadcové populace), roztoků (K, Ni, Mg a Ni+Mg) a ploidie (tetraploidi, diploidi) a jejich interakce na kořenový přírůstek *Knautia arvensis*.

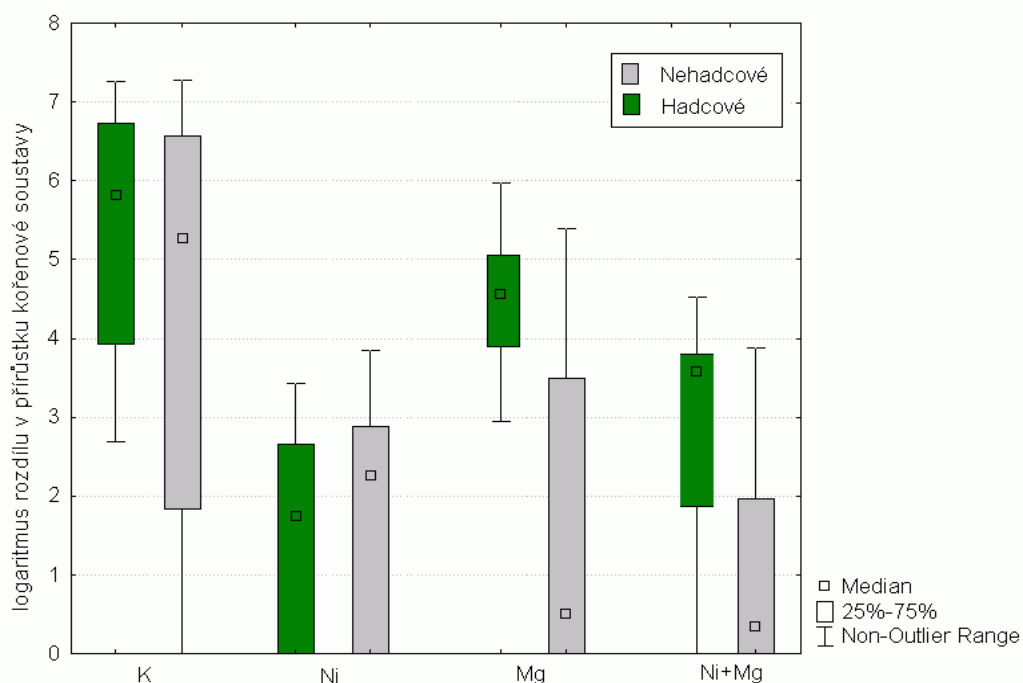
	Effect	df	MS	F	p
<b>nádoba(roztok)</b>	<b>Random</b>	<b>20</b>	<b>5,3071</b>	<b>2,3505</b>	<b>0,005456</b>
<b>roztok</b>	<b>Fixed</b>	<b>3</b>	<b>47,9767</b>	<b>9,0565</b>	<b>0,000541</b>
ploidie	Fixed	1	6,8690	3,0423	0,086078
<b>původ</b>	<b>Fixed</b>	<b>1</b>	<b>41,9233</b>	<b>18,5679</b>	<b>0,000060</b>
roztok*ploidie	Fixed	3	2,9364	1,3006	0,282264
ploidie*původ	Fixed	1	3,6072	1,5976	0,210971
<b>roztok*původ</b>	<b>Fixed</b>	<b>3</b>	<b>10,5126</b>	<b>4,6560</b>	<b>0,005342</b>

p < 0,05 (průkazné)

Z tabulky vyplývá, že nejsem schopna zamítnout nulovou hypotézu, že ploidie nemá vliv na přírůstek kořene. Dále nebyl zjištěn průkazný efekt u interakcí ploidie x původ a roztok x ploidie, nulovou hypotézu tedy opět nemohu zamítnout. Rozdíl v přírůstku kořenové soustavy se u diploidů a tetraploidů neliší podle toho, zda rostlina rostla na hadcovém či nehadcovém substrátu a také se neliší podle toho, v jakém roztoku byly pěstovány. Průkazný vliv byl zjištěn u jednotlivých typů roztoků p = 0,000541 a u původu rostliny p = 0,00006. To znamená, že velikost kořenového přírůstku závisí na tom, zda se jedná o hadcovou či nehadcovou rostlinu a na typu roztoku, v kterém byla pěstována. Velmi zajímavá je interakce roztok x původ, p = 0,005342, kdy zamítám nulovou hypotézu. Což znamená, že rozdíl

kořenového přírůstku hadcových a nehadcových populací se liší podle roztoku, ve kterém byly pěstovány.

Z obrázku 2 je vidět výrazný rozdíl v reakci na roztok hořčíku, kdy hadcové rostliny lépe snášejí nadbytek hořčíku. Zatímco u roztoku niklu nebyl zjištěn rozdíl. Jak hadcové, tak nehadcové rostliny rostly špatně v tomto roztoku. V roztoku Ni+Mg rostly hadcové rostliny lépe, i když výrazný rozdíl se neprojevil. Celkově je možno konstatovat, že největší přírůstek v kořenovém systému měly hadcové rostliny, které více investují do kořenů než do nadzemních částí. Důkazem je měření nejdelšího listu rostlin, které je neprůkazné (viz níže).



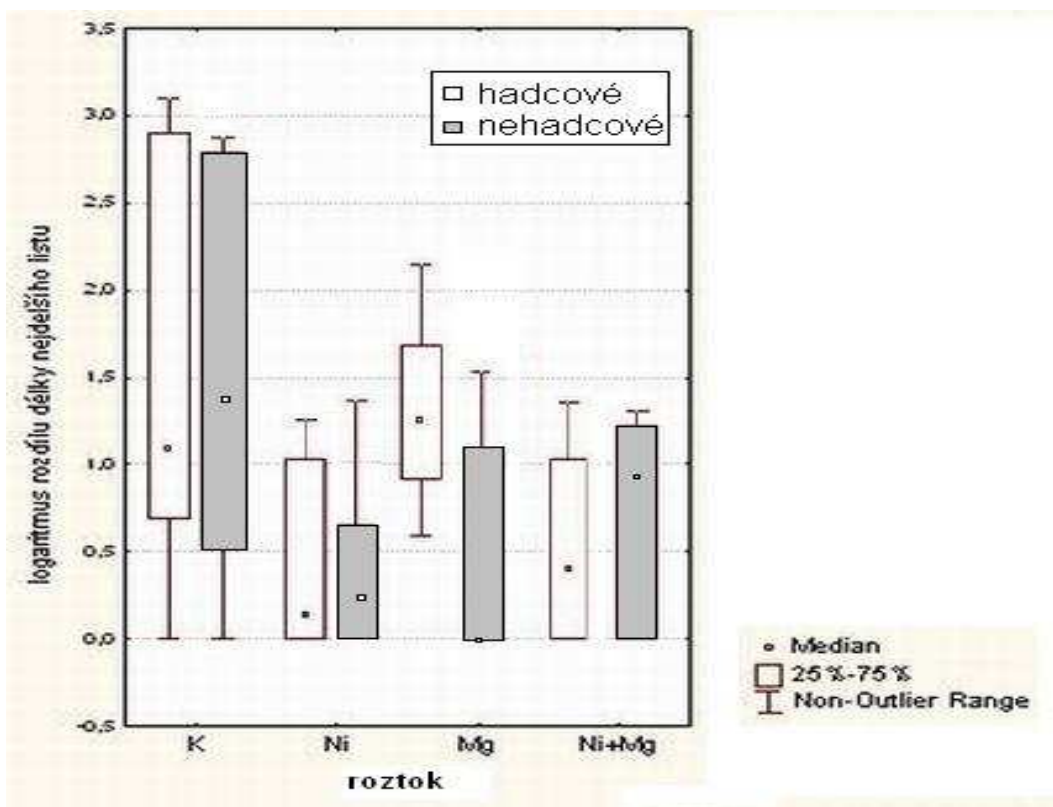
Obr. 2: Rozdíl v přírůstku kořenové soustavy hadcových a nehadcových populací *Knautia arvensis* v kontrole (K) a roztocích kovů (Ni, Mg, Ni+Mg) ( $F = 4,656$ ;  $p = 0,005342$ )

#### Výsledky analýzy rozdílu délky nejdelšího listu

Zajímala mě především interakce zásah x původ rostlin, tedy zda se délky nejdelších listů mezi hadcovými a nehadcovými rostlinami liší podle toho v jakém roztoku byly pěstovány.

Interakce roztok x původ rostliny na základě 5 % hladiny významnosti vyšla neprůkazně:  $p = 0,255344$ ,  $F = 1,38625$ ,  $df = 3$ . Rozdíly délek nejdelších listů mezi hadcovými a nehadcovými populacemi se tedy neliší.

Názorné zobrazení ukazuje obrázek 4. Je vidět, že hadcové a nehadcové populace se nelišily v rozdílu délky nejdelšího listu. Menší odchylka je pouze vidět u hadcových rostlin pěstovaných v roztoku hořčíku.



Obr. 4: Rozdíl v délce nejdelšího listu hadcových a nehadcových populací *Knautia arvensis* v kontrole (K) a roztocích kovů (Ni, Mg, Ni+Mg) ( $F = 1,38625$ ;  $p = 0,255344$ )

## 6. Diskuse

Je známo, že hadcové rostliny vytvářejí rozsáhlejší kořenový systém než jejich nehadcoví příbuzní. Pokud investují do rozvoje kořenů, nezbude jim dostatek zdrojů na rychlý růst nadzemních částí, rostou tedy pomaleji a dosahují menšího vzrůstu (KOLÁŘ & VÍT 2008). Je to díky fyzikálním a chemickým vlastnostem hadcových půd. Třem hlavním nepříznivým faktorům musí rostliny čelit na hadcových půdách, a to vysokému obsahu hořčíku a niklu a naopak nízkému obsahu vápníku (KAZAKOU 2008).

Hadcové a nehadcové populace *Knautia arvensis* poskytují dobrou příležitost ke studiu hadcové tolerance. Testováním hadcových a nehadcových rostlin *Knautia arvensis* v roztocích se zvýšeným obsahem hořčíku, niklu a kombinací Ni+Mg se prokázala tolerance rostliny vůči stresujícím prvkům, které jsou typické pro hadcové půdy. Zjistila jsem výrazné odchylky mezi hadcovými a nehadcovými populacemi v toleranci na Ni, Mg a jejich kombinaci. Rostliny z hadcových populací ukázaly obecně vyšší toleranci k Ni a Mg než rostliny z nehadcových populací. Toleranci k těmto prvkům zaznamenal ve své práci již Nyberg Berglund et al. (2003), který porovnával hadcové a nehadcové populace *Cerastium alpinum*. To nasvědčuje, že hadcová tolerance je adaptace spíše než základní rys (NYBERG BERGLUND et al. 2003).

Středem pozornosti mého výzkumu se stala hlavně kořenová soustava *Knautia arvensis*, protože adaptace se projevuje převážně právě zde. Zabývala jsem se měřením i délky nejdelších listů rostlin.

Dospěla jsem k názoru, že délka listu není dostatečně citlivý znak, aby nám prokázal odchylky mezi hadcovými a nehadcovými populacemi. Proto výsledná analýza rozdílů délky nejdelšího listu vyšla neprůkazně. Takže hadcové a nehadcové rostliny se neliší v délce nejdelšího listu (obr. 4, viz kap. 5). Některé listy byly úzké a chlorotické, jako to odpovídá rostlinám na hadcových půdách (RAJAKARUNA & BAKER 2004), ale tyto znaky se objevily jak u hadcových, tak nehadcových rostlin.

V průběhu pokusu se na kořenech a stěněch některých nádob objevovaly řasy, které odebíraly rostlinám živiny a způsobovaly jim žloutnutí listů. Což mohlo být také důkazem, proč všechny rostliny měly obdobný vzhled nadzemní části. Ale do jaké míry mohly řasy ovlivnit růst rostlin (nadzemní i podzemní části), je obtížné

určit. Nenašla jsem žádnou literaturu týkající se právě problému výskytu řas. Díky těmto uvedeným skutečnostem vzhled listů nelze považovat za důležitý znak.

Pro nalezení odchylek mezi hadcovými a nehadcovými rostlinami je vhodnější použití měření kořenové soustavy. Růst hlavního kořene, zahájení a rozvádění postranních kořenů reaguje odlišně na různé vnější podmínky (NYBERG BERGLUNG 2003). Proto je i vhodnější přiklonit se spíše k měření kořenové soustavy než k měření nejdelšího listu.

Názorné odchylky v rozdílu kořenového přírůstku mezi hadcovými a nehadcovými populacemi *Knautia arvensis* zobrazuje obrázek 2 (viz kap. 5). Z obrázku je patrné, jak *Knautia arvensis* odpovídá na hadcový stres.

Výrazná odchylka v rozdílu kořenového přírůstku se projevila mezi hadcovými a nehadcovými rostlinami v roztoku Mg, kdy hadcovým rostlinám se dařilo lépe. Hadcové rostliny měly větší kořenový systém. To je dáno tím, že hadcové rostliny dokážou omezit nežádoucí přísun hořčíku (KOLÁŘ & VÍT 2008). I KRUCKEBERG (1984) uvádí, že hadcové rostliny tolerují vysokou koncentraci hořčíku omezením jeho příjmu. V literatuře je rozvoj kořenové soustavy udáván spíše ve spojení s nedostatkem vápníku a nadbytkem hořčíku, než se samotnou toxicitou hořčíku. Hadcové rostliny přijímají méně hořčíku a více vápníku než nehadcové rostliny, tudíž nadbytek hořčíku představuje pro nehadcové rostliny větší míru toxicity. Vysoké koncentrace hořčíku jsou antagonistické k rostlinnému příjmu vápníku (KAZAKOU 2008). Nadbytek hořčíku by proto mohl potenciálně indukovat nedostatek vápníku v kořenových špičkách a tím vést k nekróze kořenových špiček (KAZAKOU 2008). To bylo pozorováno na nehadcových semenáčcích rostoucích na hadcovém substrátu. Z toho vyplývá, že u hadcových rostlin, možná díky přítomnosti specializovaných fyziologických mechanismů pro zvládnutí vysokého obsahu hořčíku a nízkého obsahu vápníku, nedochází k odumírání kořene (KAZAKOU 2008). Ty by odpovídalo i mému pokusu, protože v připraveném stresujícím roztoku hořčíku bylo nadbytek hořčíku a málo vápníku.

V roztoku Ni rostly hadcové i nehadcové rostliny špatně. Domnívám se, že příčinou jsou použité vysoké koncentrace roztoku Ni. Rostliny měly malé kořeny, usychající listy a některé i odumřely. Vysoký obsah Ni v půdách je znám především svou inhibicí kořenového růstu u některých citlivých druhů (GABBRIELLI et al. 1990). Oproti tomu hadcové druhy jsou adaptované na toxicitu niklu. Záměr mé práce

tolerance k niklu u *Knautia arvensis* se nezdařil. Použila jsem stejné koncentrace roztoku niklu (15  $\mu\text{mol/l}$ ), jako byly uvedeny v článku Nyberg Berglund (2003), kde se pokus týkal tolerance *Cerastium alpinum* na zvýšený obsah Ni. Pokus u hadcových populací *C. alpinum* se zdařil. Domnívám se, že je to tím, že různé rostliny zvládnou přežít různé množství těžkých kovů. To by znamenalo, že 15  $\mu\text{mol/l}$  koncentrace roztoku Ni by pro *Knautia arvensis* představovala už nadmíru jejího zvládnutí.

Velmi překvapivý byl výsledek v roztoku Ni+Mg, kdy hadcové rostliny rostly lépe, i když výrazný rozdíl v přírůstku kořenové soustavy se neprojevil. Předpokládala jsem, že když se v roztoku budou Ni a Mg vyskytovat společně, tak to bude mít efekt na rostliny ještě horší (více agresivnější) než je tomu u jednotlivých roztoků. Můj předpoklad se nepotvrdil. GABBRIELLI & PANDOLFINI (1984) uvádějí, že kombinace  $\text{Ca}^{2+}$  a  $\text{Mg}^{2+}$  může účinněji redukovat toxicitu  $\text{Ni}^{2+}$ , dokonce i když  $\text{Ca}^{2+}$  je v roztoku obsažen v malém množství. V pokusu použitý živný roztok obsahoval roztok vápníku, který kromě dodávání živin rostlinám, způsobil tedy zřejmě spolu s hořčíkem i účinný prostředek proti toxicitě niklu. Samotný vápník by zřejmě nepotlačil nepříznivé účinky niklu, ale s hořčíkem redukuje jeho sílu.

Vysoké obsahy hořčíku a niklu patří mezi dva důležité faktory, které udávají neúrodnost hadcových půd (NYBERG BERGLUND et al. 2003). Rostliny z hadcových populací ukázaly obecně vyšší toleranci k těmto prvkům než rostliny z nehadcových populací.

Rozdíly mezi hadcovými a nehadcovými populacemi se projeví v rozdílu přírůstku kořenové soustavy. Potvrdilo se, že hadcové populace mají rozsáhlejší kořenový systém. Celkově mohu říci, že hadcové populace *Knautia arvensis* vyvíjejí jisté adaptace, které jim umožňují přežít na stanovištích, kde nejsou příznivé půdní podmínky.

## 7. Závěr

Prostřednictvím kultivačního experimentu se prokázala tolerance hadcových populací *Knautia arvensis* vůči zvýšenému obsahu hořčíku a niklu. Zvýšené množství hořčíku a niklu představují nepříznivé faktory hadcových půd, na které se rostliny musí adaptovat, aby zde mohly přežít.

Tolerance u *Knautia arvensis* se projevila v celkové délce kořenové soustavy, kdy hadcové rostliny tvořily rozsáhlejší kořenový systém oproti nehadcovým protějškům. Naopak bezvýznamným znakem bylo měření nejdelšího listu rostliny.

Pokus přispěl k hlubšímu poznání podstaty hadcových půd ve vztahu k rostlinám.

## 8. Seznam použité literatury

- BAKER A.J.M. (1987): Metal tolerance. – *New Phytologist* 106: 93–111
- BRADY K.U., KRUCKEBERG A.R. & BRADSHAW H.D. (2005): Evolutionary ecology of plant adaptation to serpentine soils – *Annual review of ecology, evolution and systematics* 36: 243–266
- CAI Y. & MA Q.L. (2003): Metal tolerance, accumulation, and detoxification in plants with emphasis on arsenic in terrestrial plants. – *American Chemical Society*: 95–114
- CASPER B.B. & CASTELLI J.P. (2007): Evaluating plant-soil feedback together with competition in a serpentine grassland. – *Ecology letters* 10: 394–400
- FUENTES D., DISANTE K.B., VALDECANTOS A., CORTINA J. & VALLEJO V.R. (2007): Sensitivity of Mediterranean woody seedlings to copper, nickel and zinc. – *Chemosphere* 66: 412–420
- GABBRIELLI R. & PANDOLFINI T. (1984): Effect of  $Mg^{2+}$  and  $Ca^{2+}$  on the response to nickel toxicity in a serpentine endemic and nickel-accumulating species. – *Physiologia Plantarum* 62: 540–544
- GABBRIELLI R., PANDOLFINI T., VERGNANO O. & PALANDRI M.R. (1990): Comparison of two serpentine species with different nickel tolerance strategies. – *Plant and soil* 122: 271–277
- GALARDI F., CORRALES I., MENGONI A., PUCCI S., BARLETTI L., BARZANTI R., ARNETOLI M., GABBRIELLI R. & GONNELLI C. (2007): Intra-specific differences in nickel tolerance and accumulation in the Ni-hyperaccumulator *Alyssum bertolonii*. – *Environmental and Experimental Botany* 60: 377–384
- HRUŠKA B. & BAJER A. (2002): Stanovištní poměry na ostrovech gabrových hornin jihozápadních, středních a východních Čech. – Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, p. 1–82
- HRUŠKA B. & BAJER A. (2004): Geochemie Cr, Ni a Zn v Českých a slovenských hadcových horninách a jejich zvětralinách a půdách. – Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, p. 1–68
- HRUŠKA B. & BAJER A. (2005): Hadcové horniny vybraných lokalit ČR a SR, jejich mineralogie, petrografie, geochemie a podrobná charakteristika zvětralinových a půdních pokryvů. – Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, p. 1–144
- HUSS-DANEL K. (1978): Nitrogenase activity measurements in intact plants of *Alnus incana* – *Physiologia Plantarum* 43: 372–376
- CHIARUCCI A. & BAKER A.J.M. (2007): Advances in the ecology of serpentine soils – *Plant soil* 293: 1–2
- KAPLAN Z. (1998): Relict serpentine populations of *Knautia arvensis* s. l. (*Dipsacaceae*) in the Czech Republic and an adjacent area of Germany. – *Preslia* 70: 21–31



- KAZAKOU E., DIMITRAKOPOULOS P.G., BAKER A.J.M., REEVES R.D. & TROUMBIS A.Y. (2008): Hypotheses, mechanisms and trade-offs of tolerance and adaptation to serpentine soils: from species to ecosystem level – *Biological Reviews* 83: 495–508
- KOK R. (2002): Are plant adaptations to growing on serpentine soil rare or common? A few case studies from New Caledonia. – *Adansonia* 24: 229–238
- KOLÁŘ F. (2007): Metodické přístupy ke studiu evoluční historie reliktních hadcových populací *Knautia arvensis*. – Bc. thesis [Katedra Botaniky Přírodovědecké fakulty JČU], České Budějovice
- KOLÁŘ F. & VÍT P. (2008): Endemické rostliny českých hadců: 1. Zvláštnosti hadcových ostrovů. – *Živa* 1: 14–17
- KOLÁŘ F. & VÍT P. (2008): Endemické rostliny českých hadců: 2. Chrastavec, mochna, hvozdík a trávníčka. – *Živa* 2: 67–69
- KOLÁŘ F., ŠTECH M., TRÁVNÍČEK P., RAUCHOVÁ J., URFUS T., VÍT P., KUBEŠOVÁ M. & SUDA J. (2009): Towards resolving the *Knautia arvensis* agg. (*Dipsacaceae*) puzzle: primary and secondary contact zones and ploidy segregation at landscape and microgeographic scales. – *Annals of Botany* 103(6): 963–974
- KRUCKEBERG A.R. (1967): Ecotypic response to ultramafic soils by some plant species of Northwestern United States. – *Brittonia* 19: 133–151
- KRUCKEBERG A.R. (1984): California serpentines: flora, vegetation, geology, soils, and management problems. – University of California Press, p. 180
- KUTSCHERA L. & LICHTENEGGER E. (1992): *Knautia arvensis* L. – Gewöhnliche Witwenblume – In: Wurzelatlas mitteleuropäischer Grünlandpflanzen: 545–547, *Gustav Fischer Verlag*, Stuttgart.
- MACKŮ J. (1960): Mohelenská hadcová step. – *Živa* 1960/2: 42–45
- MEMON A.R., AKTOPRAKLIGIL D., ÖZDEMİR A. & VERTII A. (2001): Heavy metal accumulation and detoxification mechanisms in plants. – *Turk J Bot* 25: 111–121
- NYBERG BERGLUND A.B., DAHLGREN S. & WESTERBERGH A. (2003): Evidence for parallel evolution and site-specific selection of serpentine tolerance in *Cerastium alpinum* during colonization of Scandinavia. – *New Phytologist* 161: 199–209
- O'DELL R.E., JAMES J.J. & RICHARDS J.H. (2006): Congeneric serpentine and nonserpentine shrubs differ more in leaf Ca:Mg than in tolerance of low N, low P, or heavy metals. – *Plant and Soil* 280: 49–64
- PROCHÁZKA S., MACHÁČKOVÁ I., KREKULE J. & ŠEBÁNEK J. (2003): Fyziologie rostlin. – Academia Praha: 90–91, 115–116, 412–414, 422, 426–429
- PROCTOR J. (1999): Toxins, nutrient shortages and droughts: the serpentine challenge. – *Tree* 14: 334–335
- PROCTOR J. & WOODDELL S.R.J. (1975): Ecology of serpentine soils. – *Advances in Ecological Research*. 9: 255–365

- RAJAKARUNA N. & BAKER A.J.M. (2004): Serpentine: a model habitat for botanical research in Sri Lanka – *Ceylon Journal of Science (Biological Sciences)* 32: 1–19
- SHAW A.J. (1990): Heavy metal tolerance in plants: Evolutionary aspects – CRC Press, p. 355
- ŠTĚPÁNEK J. (1979): Příspěvek k řešení taxonomicko-chorologické problematiky komplexu *Knautia arvensis* v ČSSR. – Msc. thesis [Katedra Botaniky Přírodovědecké Fakulty UK], Praha
- ŠTĚPÁNEK J. (1997): *Knautia* L. – chrastavec. – In: Slavík B. (ed.) Květena České republiky 5: 543–554, Academia, Praha.
- TAYLOR S.I. & LEVY F. (2002): Response to soils and a test for adaptation to serpentine in *Phacelia dubia* (*Hydrophyllaceae*). – *New Phytologist* 155: 437–447
- TAYLOR S.I. & MACNAIR M.R. (2006): Within and between population variation for zinc and nickel accumulation in two species of *Thlaspi* (*Brassicaceae*). – *New Phytologist* 169: 505–514
- VANDVIK V. & VANGE V. (2003): Germination ecology of the clonal grassland herb *Knautia arvensis*: Regeneration strategy and geographic variation. – *Journal of Vegetation Science* 14: 591–600
- VLAMIS J. & JENNY H. (1948): Calcium deficiency in serpentine soils as revealed by absorbent technique. – *Science* 107: 549
- WALKER H.M., WALKER R.B. & ASHWORTH P.R. (1954): Calcium–magnesium nutrition with special reference to serpentine soils. – *Plant physiology* 30: 214–221
- WHITTAKER R.H. (1954): The ecology of serpentine soils. – *Ecology* 35: 258–288

#### Internet:

- [http://bioregion.ucdavis.edu/book/09\\_McLaughlin\\_Mine/09\\_05\\_lyons\\_serpbot.html](http://bioregion.ucdavis.edu/book/09_McLaughlin_Mine/09_05_lyons_serpbot.html)
- <http://botanika.wendys.cz/kytky/K54.php>
- [http://en.wikipedia.org/wiki/Serpentine\\_soil](http://en.wikipedia.org/wiki/Serpentine_soil)
- <http://en.wikipedia.org/wiki/Serpentine>
- <http://www.dnr.state.md.us/wildlife/serpentine.asp>
- <http://biom.cz/cz/legislativa/fyto-legislativa/13-1994-sb>
- [http://old.mendelu.cz/~agro/af/221/multitexty/html/biogenni\\_prvky/](http://old.mendelu.cz/~agro/af/221/multitexty/html/biogenni_prvky/)

## Seznam příloh

**Příloha č. 1** *Knautia arvensis*

**Příloha č. 2** Mapa rozšíření *Knautia arvensis* v České republice

**Příloha č. 3** Výčet lokalit sběru nažek

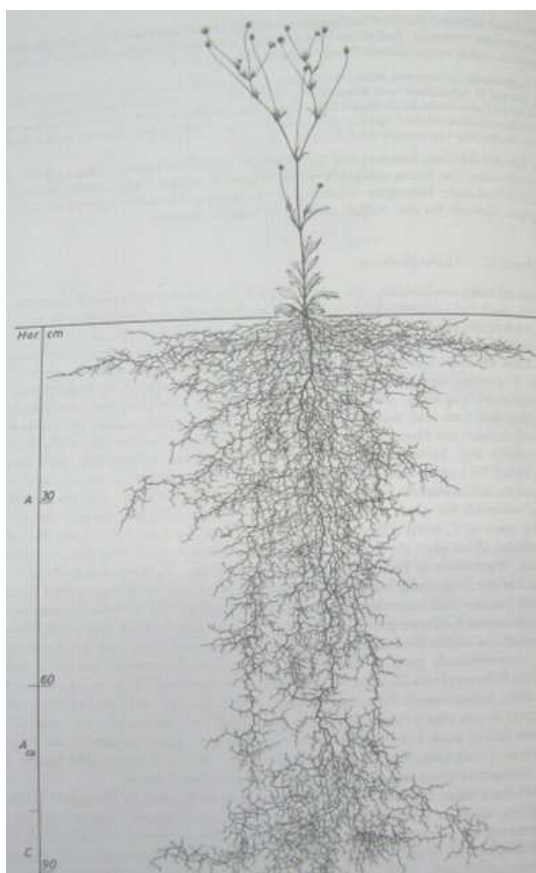
**Příloha č. 4** Hadcové lokality

**Příloha č. 5** Kultivační pokus

**Příloha č. 1: *Knautia arvensis***

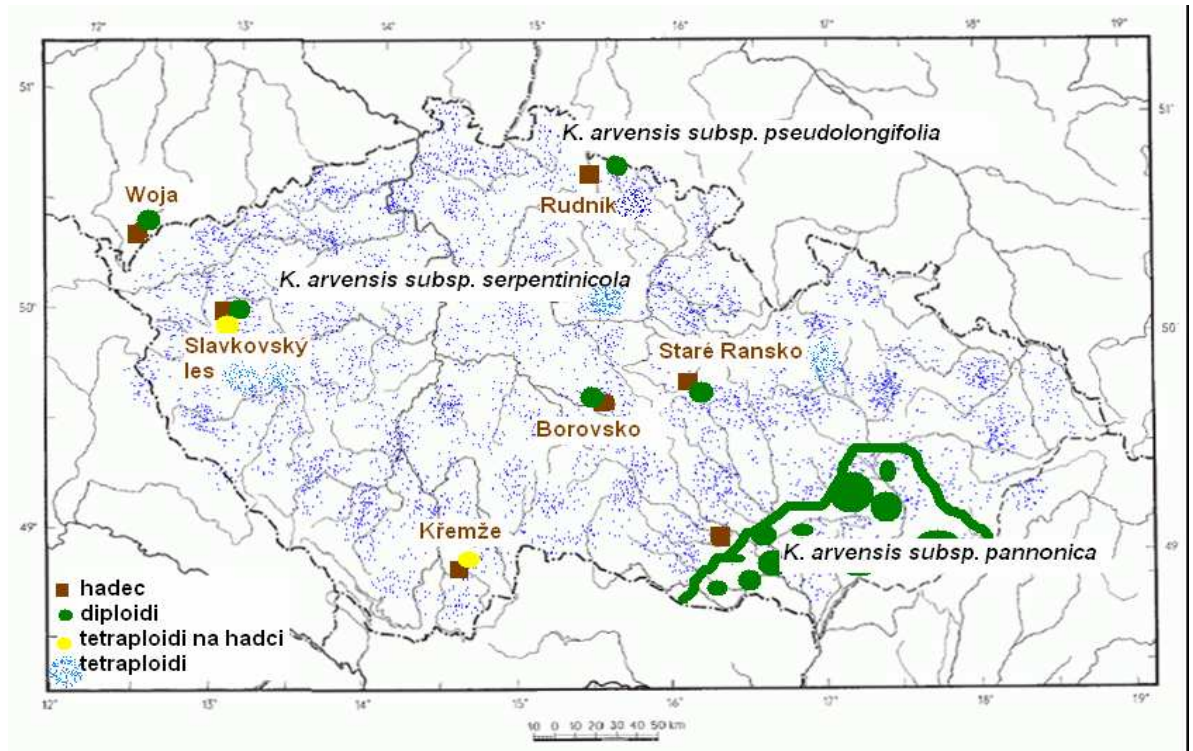


**Tetraploidní cytotyp *Knautia arvensis*  
na lokalitě Křížky**



**Kořenový systém (Kutschera et al. 1992)**

## Příloha č. 2: Mapa rozšíření *Knautia arvensis* v České republice



**Příloha č. 3: Výčet lokalit sběru nažek**

<b>Ploidie</b>	<b>Substrát</b>	<b>Lokalita</b>	<b>Popis místa sběru</b>
2x	nehadec	Szombathely (Maďarsko)	podél silnice Szombathely – Csorna, 1 km od odbočky do Rum
2x	nehadec	Lajdovce (Slovensko)	Prašník, Lajdovci, louka vedle odbočky do Pusté Vsi, od silnice Vrbové – Březová pod Bradlom
2x	nehadec	Javorník	Javorník nad Veličkou, podél cesty
2x	hadec	Staré Ransko	podél silnice kolem hranice rezervace Ranská Jezírka, 2 km severně od vesnice
2x	hadec	Borovsko	borový les se skalními výchozy, vedle dálnice D1
4x	nehadec	Aš	bývalý cvičák mezi Aší a Vernerovem
4x	nehadec	Chanovice	louka severovýchodně od obce, směrem na Bezděkov
4x	hadec	Vlčí hřbet	Prameny, borový les na kopci Vlčí hřbet, 2 km severně od vesnice
4x	hadec	Pluhův bor	borový les, podél silnice Prameny – Bečov
4x	hadec	Křížky	Prameny, hadcová skalka NPP Křížky, 2,1 km severovýchodně od vesnice



## **Příloha č. 4: Hadcové lokality**



**NPP Křížky**



**NPR Pluhův bor**

## Příloha č. 5: Kultivační pokus



Klíčení semen v klimaboxu



Uspořádání pokusu