

APLIKACE BRASSINOSTEROIDŮ U ŘEPKY OZIMÉ

Application of Brassinosteroids in Winter Rapeseed

Dana HRADECKÁ, David BEČKA, Pavel KLOUČEK

Česká zemědělská univerzita v Praze

Summary: Precise small plot field experiments were established at Experimental site of Faculty of Agrobiological Sciences, Food and Nature Resources in Červený Újezd, where we monitored influence of three brassinosteroids (K3, 24-epi and 4154 BR) on chlorophyll content, leaves fluorescence, growth and yield indicators. Application of brassinosteroids increases activity of PS, chlorophyll production and alters yield Fv/Fm. Compared substances differ in length of action time, which depends on chemical structure. No statistically confirmative differences were observed in yield, HTS or oil content of seeds. But impact of 4154BR on monitored indicators was evident. None of applied brassinosteroids has crucial influence on rapeseed oil quality.

Keywords: winter rapeseed, brassinosteroids, chlorophyll, fluorescence, photosynthesis, yield, TGW, oil content, fatty acids

Souhrn: Přesné maloparcelkové polní pokusy byly založeny na Výzkumné stanici FAPPZ v Červeném Újezdě, kde jsme sledovali vliv tří brassinosteroidů (K3, 24-epi a 4154 BR) na obsah chlorofylu, fluorescenci listů, růstové a výnosové ukazatele. Aplikace brassinosteroidů zvyšují aktivitu PS, tvorbu chlorofylu a mění výtěžek Fv/Fm. Porovnávané látky se liší délkou doby působení, závislé na chemické struktuře. Ve výnosu, HTS ani olejnatosti semen nebyly pozorovány statisticky průkazné rozdíly. Je však patrný účinek 4154BR na sledované ukazatele. Žádný z aplikovaných brassinosteroidů nemá zásadní vliv na kvalitu řepkového oleje.

Klíčová slova: řepka ozimá, brassinosteroidy, chlorofyl, fluorescence, fotosyntéza, výnos, HTS, olejnatost, mastné kyseliny

Úvod

Brassinosteroidy jsou zatím poslední objevenou skupinou rostlinných hormonů. Byl prokázán jejich pozitivní vliv na výnos mnoha polních plodin (ZULLO a ADAM, 2002; KRIPACH a kol., 1999), a také na snižování vlivu různých stresových podmínek, jako

např. sucha a vysokých teplot (KRISHNA, 2003; SASSE, 1997). Nejvíce používaným syntetickým brassinosteroidem je dnes 24-epibrassinolid, jeho vysoká cena nicméně omezuje jeho praktické využití.

Materiál a metody

Přesné maloparcelkové polní pokusy byly založeny na Výzkumné stanici FAPPZ v Červeném Újezdě, o. Praha západ. Stanice se nachází na rozhraní okresů Kladno a Praha-západ, cca 25 km od Prahy. Zeměpisné údaje: 50°04' zeměpisné šířky a 14°10' zeměpisné délky, nadmořská výška 398 m n. m. Převažujícím půdním substrátem je hnědozem, půda má střední až vysokou sorpční kapacitu, sorpční komplex je plně nasycen. Půdní reakce je neutrální, obsah humusu střední. Obsah P a K je střední až dobrý. Pokusné stanoviště spadá do oblasti mírně teplé, průměrná roční teplota vzduchu je 6,9 °C, průměrný roční úhrn srážek je 549 mm. Délka vegetačního období činí 150-160 dní.

Pokusy byly založeny ve čtyřech opakováních na parcelách o velikosti 1,25 x 9,5 m (netto) na hybridní odrůdě Spirit. Přehled jednotlivých agrotechnických zásahů během vegetace je uveden níže:

- 23.8.2005..... sklizeň předplodiny (pšenice), sláma rozdrvena a rozptýlena
- 24.8.2005..... mulčování
- 26.8.2005..... aplikace 170 kg síranu amonného/ha na rozklad slámy
- 27.-28.8.2005 orba (20cm) + předseťová příprava
- 29.8.2005..... setí (výsev bezsezbojovým secím strojem, mořené osivo Cruiser OSR do hloubky 1,5-2 cm a šířka řádků 25 cm, výsevek 70 klíčivých semen na 1m²)
- 30.8.2005..... postřik Butisan Star (2 l/ha)
- 1.9.2005..... instalace tyček s hadříky a aplikace Hukinolu proti černé zvěři

- 9.9.2005..... aplikace graminicidu Agil 100 EC (0,5 l/ha)
- 13.9.2005..... aplikace Vanish na slímáčky - kolem pole
- 6.10.2005..... aplikace Stabilan (1,5 l/ha) + Caramba (0,8 l/ha) (řepka přerůstala)
- 12.10.2005..... aplikace Gallant Super (0,5 l/ha)
- 9.3.2006..... hnojení N 1A dávka (40 kgN/ha)
- 3.4.2006..... hnojení N 1B dávka (35 kgN/ha)
- 18.4.2006..... hnojení 2. dávka (50 kgN/ha)
- 21.4.2006..... aplikace Nurelle D (0,6 l/ha)
- 26.4.2006..... aplikace brassinosteroidů (varianty 2-4)**
- 2.5.2006..... hnojení N 3. dávka (30 kgN/ha)
- 4.5.2006..... aplikace Karate Zeon (0,15 l/ha)
- 9.5.2006..... aplikace Decis EW50 (0,15 l/ha)
- 15.5.2006..... aplikace Decis EW50 (0,15 l/ha)
- 26.7.2006..... sklizeň

Přehled pokusných variant

Varianta	Přípravek	Termíny měření fluorescence
1	neošetřená kontrola	- před aplikací
2	K3	- za dvě hodiny po aplikaci /I./
3	24-epi	- po 7 dnech /II./
4	4154BR	- po 14 dnech /III./

Na porosty byly aplikovány tři vybrané brassinosteroidy (26.4.2006). Ozimá řepka se nacházela ve fázi přizemní růžice listů po přezimování. Aplikáční dávka látek činila 1.10⁻⁶ mol.l⁻¹. Byly testovány následující přípravky: nová látka K3, brassinolid 24-epi a 4154BR. První jmenovaná látka je předmětem výzkumu, který předchází patentovému řízení. Její účinnost byla porovnávána s oběma známými látkami a s neoše-

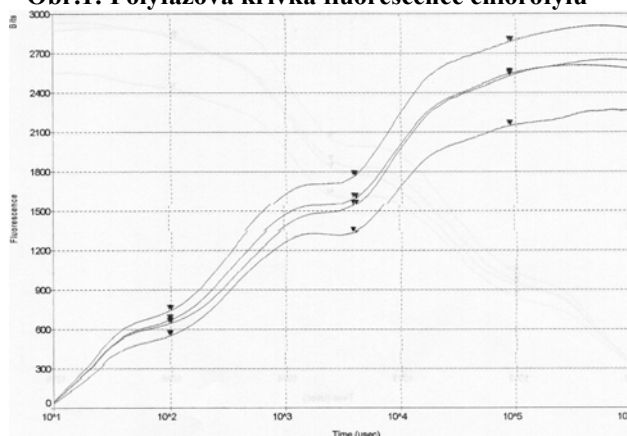
třovanou kontrolou. Aktivita přípravků v sezoně byla hodnocena metodou rychlé fluorescence indukce (RFI), umožňující rozbor energetické bilance fotosyntézy a vyhodnocení „produktivity“ přeměny nestabilní zářivé sluneční energie ve stabilní chemicky vázanou formu, ukládanou rostlinami v sacharidových produktech - celulóze rostlinných těl, zásobních látkách i biochemicky složitějších metabolitech, u olejnin v tucích.

Předpokladem analýz je podchycení kvantového výtěžku fluorescence F_v/F_m . Jeho proměnlivost souvisí s tím, že fyzikálně chemické faktory mění aktivitu chlorofylu na molekulární úrovni. Změnám odpovídají prodlevy na polyfázové fluorescenční křivce „O,I,J,P“ využívané spolu s matematickými vzorci SRIVASTAVY, STRASSERA (1996, 2000) pro bilanční analýzu podílů energie nezbytné k zahájení (excitaci) fotosyntézy a dále biochemicky vázané, energie přeměněné v teplo, které mění porostní mikroklima, a zbytek, emitovaný zpět do atmosféry. (Obr.1)

RFI se stanovila analyzátozem Hansatech Plant Efficiency Analyser, „PEA“ Fy Norfolk verze P02.003, softw. Winpea 32, při 45% světla z 6 diod, napájených 12V baterií. Po dobu 1sec byla měřena fluorescence listů a z ní propočtena energetika fotosyntézy (v bitech μs^{-1}). Světelnému impulzu předchází 25-30 min. zatemnění listu svorkou, během kterého jsou přeneseny do sinku dříve vytvořené asimiláty. Měření se dělalo na 5 rostlinách od varianty. Hodnoty jsou vztaženy v procentech ke kontrole: před aplikací, za dvě hodiny po ní /I./, po 7 dnech /II./, a po 14 dnech /III./. Analýza spočívá v reakci asimilačního pletiva na impuls definovaného světelného zdroje. Hodnocení užívá symboly uvedené v Tab.I: Mimo fluorescenční analýzy byl posuzován i obsah chlorofylu v rostlinách. Byl stan-

ven chlorofylometrem fy Hydro po týdnu a po dvou týdnech od aplikace a porovnán s kontrolou.

Obr.1: Polyfázová křivka fluorescence chlorofylu



Pokusy jsme sklídili 26.7.2006 při současném stanovení vlhkosti a odběru vzorků na posklizňové analýzy (olejnatost – pomocí NMR a HTS).

Po sklizni bylo vyhodnoceno také složení mastných kyselin u jednotlivých variant pomocí plynové chromatografie (Agilent 6890, plamenoionizační detektor). Stanovovány byly metylestery jednotlivých mastných kyselin připravené alkalickou transesterifikací 0,4 M roztokem hydridu sodného. Separace probíhala na kapilární koloně HP-INNOWAX, 60m, 0,25 mm, 0,25 μm za následujících podmínek: split 1:20, 200°C držet 1 min., 250°C při 10°C/min, držet 9 min., 260/270°C nástřik/detektor, nosný plyn N_2 2,5 ml/min.

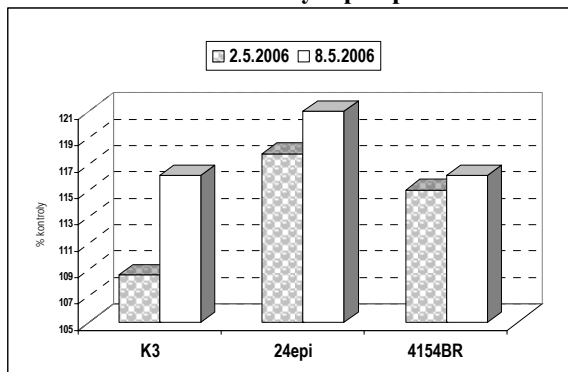
Tab. I: Symbolika užívaná při analýzách RFI

Symbol		Výpočet	Význam
F_o	počáteční fluorescence	přímé měření	Energetická hladina, na které se zahajuje fluorescence. Souvisí s \square reakčních center činných ve fotosyntéze
F_m	maximální fluorescence	Přímé měření	Maximum reakčních center činných ve fotosyntéze
F_v	variabilní fluorescence	$F_m - F_o$	Rozdíl $F_m - F_o$ může se měnit s mírou stresu
F_v/F_m	kvant. výtěžek fluorescence	F_v/F_m	Stonásobek je mírou využití světla ve fotosyntéze
$T_{fm(ms)}$	čas dosažení maximální fluorescence	Přímé měření	Rozhoduje o vazbě excitované energie mikrostrukturami
V_j	Redox aktivita	$F_j - F_o/F_v$	biochemické řetězce zprostředkující přenos energie vnitřním strukturám
\square	energie aktivující elektronový transport,	$1 - V_j$	Iničiační energie, zahajující fotosyntézu
E_t/ABS	spotřeba energie na membránách	$1 - F_o/F_m \times \square$	Potřeba membrán thylakoidů a dalších aktivních struktur
\square	Výkon PSII	$1 - F_o/F_m$	Vlastní činnost fotosystémů

Výsledky a diskuse

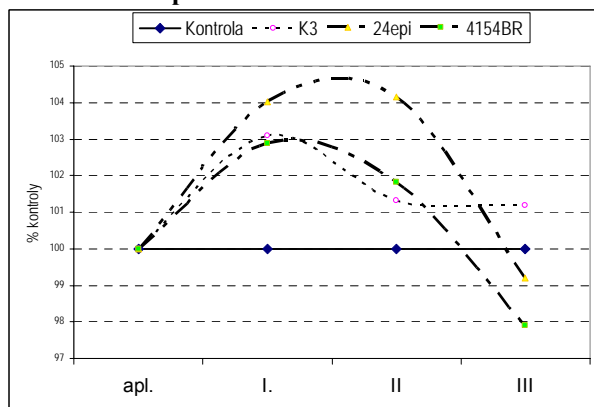
Všechny porovnávané látky zvyšovaly obsah chlorofylu (Obr.2). Z výsledků se jeví nejlépe 24-epi, který zvyšoval obsah chlorofylu během 14 dní po ošetření téměř o 19-21%. Přípravky 4154BR a K3 se zdají být srovnatelné, ale látka 4154BR působí zřejmě rychleji.

Obr. 2: Obsah chlorofylu po aplikaci látek



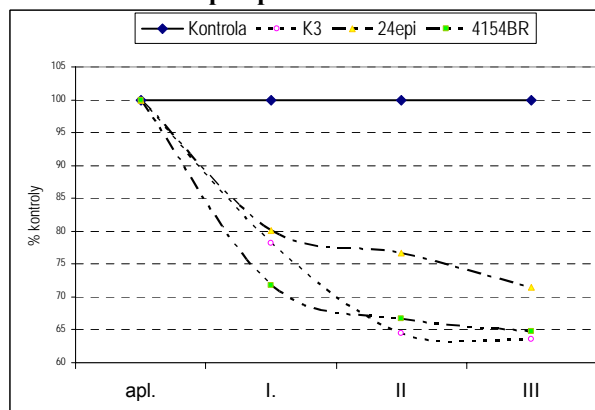
Aplikace brassinosteroidů měnila kvantový výtěžek fluorescence, který je mírou využití fotochemické energie. Průběžně s tím, jak byly látky využívány rostlinami v biochemických přeměnách metabolismu nejprve se míra využití energie zvyšovala zhruba o 3-5% proti kontrole. Během 14 dnů, kdy byly přípravky metabolizovány docházelo postupně k poklesu. Jako nejdéle působící se jevil přípravek K3, nejdříve byl rostlinami využit 4154BR (Obr.3).

Obr. 3: Kvantový výtěžek (Fv/Fm) fluorescence po aplikaci brassinosteroidů



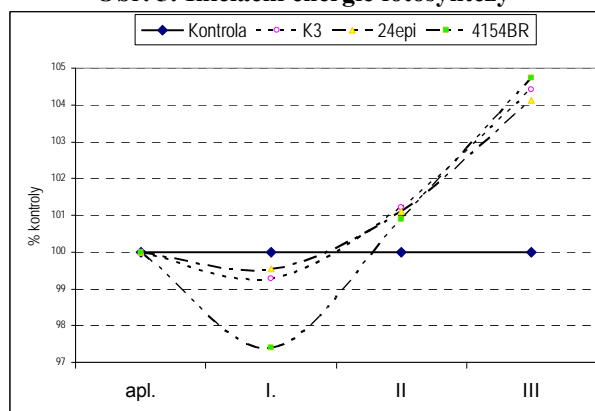
Látky měnily délku doby potřebné pro dosažení fluorescenčního maxima. Tento čas odpovídá metabolickým přeměnám energie ve fotosyntéze a množství energie, které jsou schopny rostliny využít a je výchozím parametrem k dalším propočtům energetické bilance fotosyntézy. Zbytek se v podobě vyzařování resp. fluorescence vrací zpět do atmosféry. Porovnání délky doby nezbytné pro dosažení maxima fluorescence listů rostlin ošetřených testovanými brassinosteroidy je předmětem Obr. 4. Je z něho zřejmé, že látky urychlují přeměnu zářivé energie a zkracují čas nutný k dosažení fluorescenčního maxima.

Obr. 4: Čas (Tfm) dosažení fluorescenčního maxima po aplikaci látek



Pomocí vzorců, které uvádí STRASSER (1996, 2000) lze zjistit mechanismus působení látek, který souvisí s využitím energie dílčími strukturami, participujícími na fotosyntéze. Jsou zachyceny na Obr. 5-8. Porovnáním Obr.2 a Obr.5 je zřejmé, že využití fotochemické energie se v čase mění. Pokles souvisí se stoupajícími nároky na energii potřebnou k zahájení fotosyntézy což může souviset s biologickým věkem rostlin, zátěží, i třeba nenadálou změnou stanovištních parametrů nečekanými nekontrolovatelnými faktory.

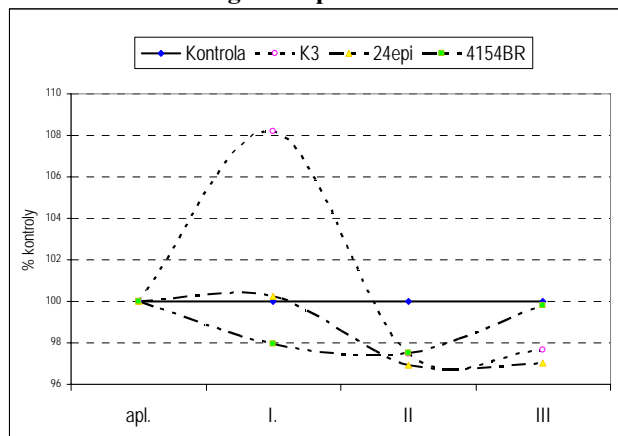
Obr. 5: Iničiační energie fotosyntézy



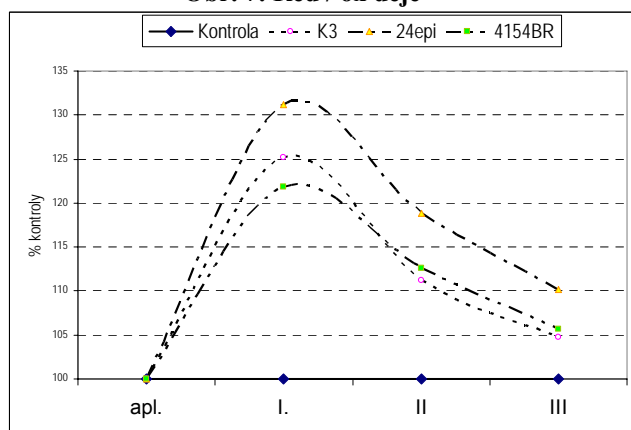
Energetická potřeba membrán, (Obr.6) aktivita redukčně oxidačních přenosů energie (Obr.7) a výkon fotosystémů (Obr.8) mají analogický průběh, vyznačující se zpočátku během týdne zprvu vzestupem, později, do 14 dnů, setrvalým poklesem hodnot. Jsou dokladem toho, že aplikace vyvolává u rostlin mírnou zátěž, na kterou ony odpovídají mohutnější přeměnou látkovou a intenzivnějším přenosem energie na molekulární sub-orgánové úrovni. Detailní rozbor je stále předmětem nevyjasněných literárních diskusí typu: které membrány, detaily kumulace ATP, která část redukčně oxidačních řetězců se kdy podílí na přenosu energie, kolik činí vlastní metabolická potřeba fotosystému a kolik se využije na jeho vlastní výkon a další komentář jeví uvedených v obrázcích by se mohl jevit příliš odvážný. Nicméně je zřejmé, že porovnávané látky

výkon fotosystému stimulují, že působí různou intenzitou po nesterjně dlouhé časové údobí, kdy napomáhají rostlinám překonávat stresovou zátěž, vyplývající z nenadálých fyzikálně chemických faktorů stanoviště eventuálně neočekávaných kalamit, a pomáhají rostlinám udržet dobrý zdravotní stav.

Obr. 6: Energetická potřeba membrán



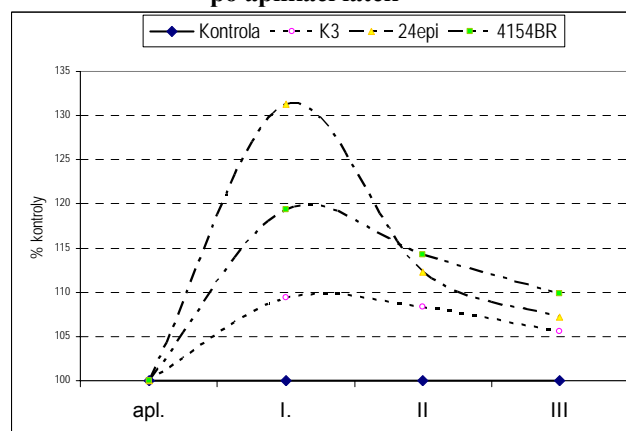
Obr. 7: Red / ox děje



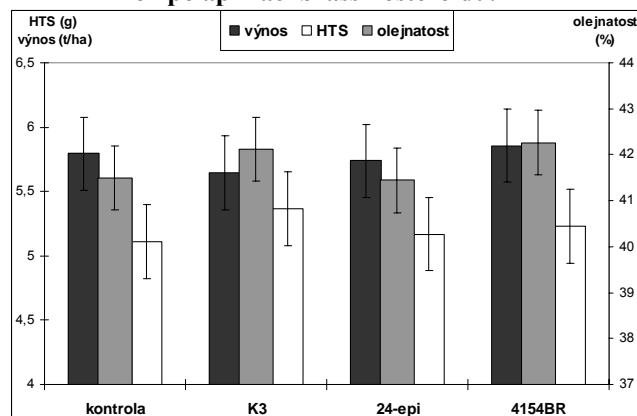
Z Obr 9. je patné, že mezi variantami nebyly pozorovány statisticky průkazné rozdíly ve výnosu, HTS ani olejnatosti semen. Byl však prokázán pozitivní účinek některých brassinosteroidů (především 4154BR) na tyto ukazatele výnosu a kvality. U výnosu semen se mírně nad úroveň kontroly dostala varianta 4 (4154BR), rozdíl činí pouze 0,062 t/ha (tj. 1,2 %). U olejnatosti jsou nad úroveň kontroly (41,5 %) již varianty dvě: var. 4 (4154BR, 42,3 %) a var. 2 (K3,

42,1 %). Nejlépe vychází HTS, kde všechny varianty s brassinosteroidy jsou nad neošetřenou kontrolou.

Obr. 8: Maximální výkon fotosystému PSII po aplikaci látek



Obr. 9: Výnos (t/ha), HTS (g) a olejnatost (%) semen po aplikaci brassinosteroidů.



Z hlediska složení mastných kyselin v oleji byl vliv brassinosteroidů minimální. Statisticky významně se od kontroly lišila varianta 24-epi, která zvyšovala obsah kyseliny eikosenové, a varianta 4154Br, která zvyšovala obsah kyselin eikosenové a behenové. Tyto kyseliny nicméně nemají zásadní vliv na kvalitu oleje a jsou v něm obsaženy pouze v malém množství (cca. 1,25% respektive 0,35%). Lze tak konstatovat že žádný z aplikovaných brassinosteroidů nemá zásadní vliv na kvalitu řepkového oleje.

Tab. II Složení mastných kyselin v oleji u jednotlivých variant (%)

	C 16:0	C 16:1	C 18:0	C 18:1	C 18:2	C 18:3	C 20:0	C 20:1	C 22:0	C 22:1
Kontrola	5.09	0.29	1.50	62.43	19.66	8.90	0.56	1.20	0.33	0.04
K3	5.15	0.29	1.55	62.21	19.98	8.67	0.57	1.21	0.33	0.04
24-epi	5.07	0.29	1.52	62.79	19.44	8.66	0.58	1.25	0.35	0.04
4154BR	5.24	0.31	1.49	61.91	20.06	8.78	0.57	1.24	0.35	0.04

C 16:0 – kys. palmitová, C 16:1 - kys. palmitolejová, C 18:0 - kys. stearová, C 18:1 - kys. olejová, C 18:2 - kys. lino-
lová, C 18:3 - kys. linolenová, C 20:0 - kys. arachidová, C 20:1 - kys. eikosenová, C 22:0 - eikosenová behenová,
C 22:1 – kys. eruková.

Závěr

Působení látek, závisí na vyspělosti ošetřovaného porostu i na stanovištních podmínkách. Aplikace zvyšují aktivitu PS, tvorbu chlorofylu a mění výtěžek F_v/F_m . Porovnávané látky se liší délkou doby působení, závislé na chemické struktuře. Ta reguluje rychlost příjmu jejích molekul do koloběhu látkové výměny, kterou následně ovlivňují. Substance působí různě dlouhou dobu po kterou omezují stresory.

Ve výnosu, HTS ani olejnatosti semen nebyly pozorovány statisticky průkazné rozdíly. Je však patrný účinek některých brassinosteroidů na olejnatost semen a především HTS. Pouze brassinosteroid 4154BR ve všech těchto ukazatelích překonal neošetřenou kontrolu.

Žádný z aplikovaných brassinosteroidů nemá zásadní vliv na kvalitu řepkového oleje.

Použitá literatura

- KHRIPACH, V. A. - ZHABINSKII, V. N. de GTOOT, A. E. (1999): Brassinosteroids - a new class of plant hormones. Academic press, San Diego, USA. p. 456.
- KRISHNA, P. (2003): Journal of Plant Growth Regulation. 22. 4: 289-297.
- SASSE, J. M. (1997): Physiologia Plantarum. 100. 3: 696-701.
- SRIVASTAVA, A.-GREPPIN, G. -STRASSER, R.J. (1995): The steady state *chlorophyll a* fluorescence exhibits in vivo an optimum as a function of light intensity which reflects the physiological state of the plant. Plant Cell Physiol. 36,: 839-848.
- STRASSER, R.J., SRIVASTAVA, A., MEROPE-TSIMILLI-MICHAEL, L. (2000): The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. Geneva, 225 pp.
- ZULLO, M. A. T. - ADAM, G. (2002): Brazilian Journal of Plant Physiology. 14. 3: 143-181.

Kontaktní adresa

RNDr. Dana Hradecká, CSc., Katedra rostlinné výroby, ČZU v Praze, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6-Suchdol, tel. 22438 2537, e-mail: hradecka@af.czu.cz

Řešeno za finanční podpory grantu AVČR IQS510680561 „Nové přípravky na ovlivnění růstu rostlin“