

**THE SENSITIVITY OF PISUM SATIVUM CV. OLIVÍN TO SOME HEAVY METAL IONS**

Beáta Piršelová, Anna Gogoláková, Roman Kuna

**ABSTRACT**

Most crop plants are sensitive to higher concentrations of heavy metals (HM) in soils. Such contaminations can cause serious damages in plants including poor growth, defects in respiration and photosynthesis and inactivation of enzymes. Ability of crop plants to grow on contaminated soils or to accumulate metals in their tissue parts varies inter - as well as intraspecifically. In this study the effect of selected metal (lead, cadmium and arsenic) ions on root length, shoot length and photosynthetic rate of pea (*Pisum sativum* L., cv. Olivín) was monitored. Each of the metals caused significant though various inhibition of root lengths (by 26,1 – 71,4 %). Influence of arsenic on selected chlorophyll fluorescence parameters of *Pisum sativum* was measured by fluorescence spectrophotometry method. Arsenic caused significant increase in minimum and maximum fluorescence (by 16,5 % and 8,3 % respectively). We also observed effect of arsenic on decrease of photochemical effectiveness of PSII photosystem (by 2,5 %).

**Keywords:** pea, metal tolerance, chlorophyll fluorescence

**ÚVOD**

Ťažké kovy patria medzi základné skupiny kontaminujúcich látok, ktoré sa sledujú v rôznych zložkách životného prostredia. Ide o pomerne rozsiahlu skupinu kontaminantov s variabilnými vlastnosťami, účinkami i zdrojmi svojho pôvodu a v mnohých prípadoch aj meniacimi sa prístupmi a názormi odbornej verejnosti na ich nebezpečenstvo pre človeka. Predmetom svetového monitoringu sú najmä prvky As, Cd, Hg a Pb. Tieto sa všeobecne považujú za najškodlivejšie pre ľudí a zvieratá (Đurža, 2003). Toleranciu k ťažkým kovom možno definovať ako schopnosť istých rastlín prežiť v pôdach toxických pre iné rastliny a prejavuje sa ako interakcia medzi genotypom a jeho životným prostredím (Macnair et al., 2000). Rastliny disponujú širokou škálou potenciálnych mechanizmov, ktoré súvisia s procesmi detoxifikácie a tým i tolerance ku stresu vyvolaným ťažkými kovmi. Nie je však známa celková rezistencia ale iba rezistencia rastliny určitého genotypu. Poľnohospodárske plodiny sa výrazne odlišujú v tolerancii k ťažkým kovom. Špecifická genetická variabilita existuje tiež v rámci bôbovitých rastlín, avšak genetický polymorfizmus z hľadiska ich tolerance nie je dostatočne preskúmaný. Mnohé odrody fazule sa napríklad líšia toleranciou ku kadmiu a zinku (Polson, Adams, 1970), odrody sóje a vigny sa líšia toleranciou k mangánu (White et al., 1979; Horst, 1983). Korene sóje prejavujú tiež rôznu toleranciu k iónom kadmia a arzénu (Golovatiuk et al., 2010). Bôbovité rastliny vrátane hrachu vykazujú podľa doterajších poznatkov nižšiu toleranciu najmä ku kadmiu ako obilniny a trávy (Inohue et al., 1994). Belimov et al. (2003) testovali variabilitu 99 odrôd hrachu na toleranciu ku kadmiu ( $5 \mu\text{mol.l}^{-1} \text{CdCl}_2$ ). Tolerančný index stanovený na základe množstva biomasy sa štatisticky významne líšil medzi genotypmi v rozmedzí 35 – 90 % a 54 – 100 % v prípade pestovania rastlín v pôde s obsahom kadmia 7 a 5  $\text{mg.kg}^{-1}$ . Variabilitu vo fyziologickej a biochemickej odpovedi rôznych odrôd hrachu voči kadmiu testovali aj Metwally et al. (2005). Korelácie zistené medzi rastovými parametrami a metabolickou odpoveďou (aktivita antioxidantných enzýmov, chitináz) naznačili vyššiu mieru Cd

indukovaného stresu u Cd-senzitívnych genotypov. Genetický aparát kontrolujúci toleranciu k iónom ťažkých kovov a ich akumulácia rastlinou sú do určitej miery nezávislé. Z hľadiska pestovania odrôd hrachu v mierne kontaminovaných pôdach je dôležitý výber odrody s vysokou toleranciou k ťažkým kovom a ich nízkou koncentráciou v rastlinách. Cieľom našich analýz bolo charakterizovať odrodu hrachu (*Pisum sativum* cv. Olivín) z hľadiska tolerance voči iónom olova, kadmia a arzénu na základe bežných ukazovateľov rastu (čerstvá hmotnosť, dĺžka koreňov a výhonkov) a tiež na základe zmien v parametroch fluorescence chlorofylu asimilačných listov.

**MATERIÁL A METODIKA****Analýza citlivosti koreňov hrachu siateho voči iónom olova, kadmia a arzénu**

Semená hrachu siateho (*Pisum sativum* L., cv. Olivín) boli sterilizované 5 minút v 75 % etanole, následne 10 minút v 1 % roztoku chlórnanu sodného a prepláchnuté destilovanou vodou. Po premytí boli semená nakličované v Petriho miskách s navlhčeným filtračným papierom v termostate pri 25 °C, kým koreňky nedosiahli dĺžku 6 – 8 mm (Rucinska et al., 2004). Nakličované semená boli následne prenesené do Petriho misiek s filtračným papierom navlhčeným roztokom kontaminantu (300 a 500  $\text{mg.l}^{-1} \text{Pb}^{2+}$ ; 100 a 300  $\text{mg.l}^{-1} \text{Cd}^{2+}$  a 50 a 100  $\text{mg.l}^{-1} \text{As}^{3+}$ ). Ťažké kovy boli aplikované vo forme roztokov  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  a  $\text{As}_2\text{O}_3$ . Semená kontrolného variantu boli zaliatie destilovanou vodou. Po štyroch dňoch inkubácie klíčencov v roztokoch kovov bola stanovená čerstvá hmotnosť koreňov kontrolných i stresovaných rastlín pomocou digitálnych analytických váh (Explorer Pro EP 114 CM). Tolerancia voči iónom ťažkých kovov bola stanovená tolerančným indexom podľa Wilkinsa (1978).

**Analýza citlivosti hrachu siateho voči iónom arzénu v podmienkach nádobového pokusu**

Predklíčené semená hrachu siateho s dĺžkou koreňov 6 – 8 cm boli zasadené do zmesi rašelinovej zeminy BORA (pH 7,5) a perlitu v pomere 4:1. Nádobové pokusy boli uskutočnené v klimaboxe, kde

boli zabezpečené konštantné podmienky počas celého trvania pokusu (teplota 20 °C, vlhkosť vzduchu 60 – 70 %, svetelná perióda 12 hod. svetlo/12 hod. tma, intenzita žiarenia maximálne 800  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , v ranných a večerných hodinách sa cca na 1 hodinu intenzita žiarenia znižovala na polovičnú hodnotu). Rastliny boli pestované do štádia vytvorenia prvých asimilačných listov. Následne boli zaliate roztokom  $\text{As}^{3+}$  ( $\text{As}_2\text{O}_3$ ) (50  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  pôdy) alebo destilovanou vodou (rastliny kontrolného variantu). Zálievky v ďalších štádiách pokusu už neobsahovali kov. Počas celého experimentu boli pozorované morfológické zmeny na rastlinách spôsobené arzénom. Po 15 dňoch rastu v kontaminovanej pôde bola odmeraná dĺžka koreňov a výhonkov a taktiež čerstvá hmotnosť kontrolných i stresovaných rastlín. Lisy boli použité na meranie fluorescence chlorofylu.

Merania fluorescence chlorofylu boli uskutočnené pomocou kinetickej fluorescenčnej kamery GFPCam (Photon Systems Instruments, Brno, Česká republika) na fyziologicky dospelých listoch hrachu siateho. Experiment zahŕňal 2 varianty: variant K – kontrolné rastliny, variant A – rastliny ošetrované arzénom (50  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  pôdy  $\text{As}^{3+}$ ). Merania fluorescence chlorofylu na intaktných listoch hrachu siateho sme opakovali minimálne 5 krát v oboch variantoch. Po svetelnej adaptácii rastlinného materiálu cca 5 minút sme prístrojom zaznamenávali nasledujúce parametre fluorescence chlorofylu:  $F_0$  – minimálna fluorescencia,  $F_m$  – maximálna fluorescencia,  $F_v$  – variabilná fluorescencia,  $F_v/F_m$  – maximálny kvantový výťažok fluorescence. Fluorescencia chlorofylu bola indukovaná 1s impulzom excitačného žiarenia ( $\lambda = 650 \text{ nm}$ , 120  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) na list rastliny. Okamžité zmeny chlorofylvej fluorescence počas indukovanej kinetiky fluorescence chlorofylu (Kautského efekt) boli zaznamenávané s časovým rozlíšením 0,04s a uchovávané prostredníctvom imaginárneho softvéru FluorCam verzia 6 s rozlíšením 0,1  $\text{mm}^2/1 \text{ pixel}$ . Úroveň maximálnej fluorescence bola meraná pridaním hypersaturačného pulzu ( $> 5000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ). Frekvencia a dĺžka pulzu je stimulovaná kontrolnou jednotkou P.A.M., ktorá automaticky zabezpečuje zmeny frekvencie modulácie počas dĺžky pulzu na 100 kHz (Trtílek et al., 1997).

#### Spracovanie a vyhodnotenie výsledkov

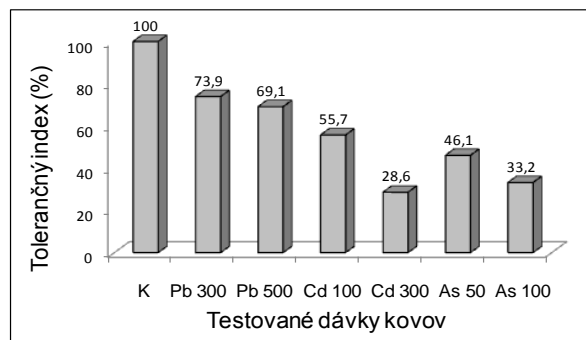
Morfologické parametre boli vyhodnotené Studentovým t-testom preukaznosti rozdielov v počítačovom programe EXCEL. Vybrané parametre fluorescence chlorofylu boli štatisticky vyhodnotené analýzou rozptylu ANOVA pomocou programu SigmaStat 2.03.

#### VÝSLEDKY A DISKUSIA

Po 96 hodinách inkubácie klíčencov v roztokoch kovov sme zaznamenali štatisticky významné zmeny ( $P \leq 0,001$ ) v čerstvej hmotnosti koreňov. Najvyššiu toleranciu prejavili korene k iónom  $\text{Pb}^{2+}$ , ktoré v dávkach 300 a 500  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  spôsobili 25,80 a 30,85 % inhibíciu rastu. Chaudhry a Rasheed (2003) pozorovali skrátenie koreňov hrachu o 33 % a výhonkov o 39 % oproti kontrole už vplyvom 50  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$   $\text{Pb}^{2+}$ .

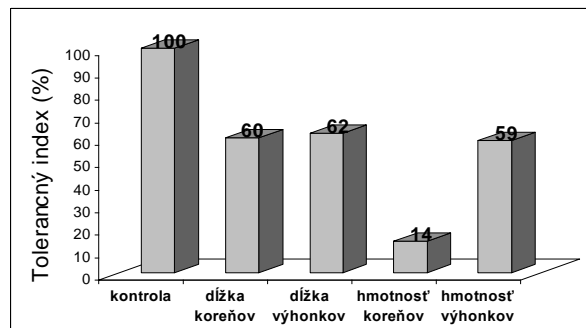
Dávky  $\text{Cd}^{2+}$  (100 a 300  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ) a  $\text{As}^{3+}$  (50 a 100  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ) inhibovali rast koreňov o 44,30 a 71,40 % resp. 53,9 a 66,8 % (obrázok 1).

Obrázok 1 Čerstvá biomasa koreňov hrachu v 4. deň



po aplikácii roztoku ťažkých kovov. Dávky kovov sú uvedené v  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ , K – kontrola. Tolerančný index vyjadrujú čísla nad stĺpcami grafu. Všetky zmeny sú štatisticky významné pri  $P \leq 0,001$ .

Citlivosť vybranej odrody hrachu voči iónom arzénu sme testovali aj v podmienkach nádobového pokusu. Pri zvolenej dávke arzénu (50  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  pôdy) sme po 15 dňoch rastu v kontaminovanej pôde zaznamenali štatisticky významné zmeny v rastových parametroch (obrázok 2), pričom toxický účinok arzénu sa v najväčšej miere prejavil v prípade čerstvej hmotnosti koreňov.



Obrázok 2 Rastové parametre hrachu siateho (*Pisum sativum* cv. Olivín) po 15 dňoch aplikácie roztoku arzénu v dávke 50  $\text{mg}(\text{As})\cdot\text{kg}^{-1}$  pôdy. Hodnoty tolerančných indexov sú uvedené nad stĺpcami grafu. Všetky zmeny sú štatisticky významné pri  $P \leq 0,01$ .

Okrem inhibície rastu sme nepozorovali žiadne vizuálne symptómy toxicity kovu. K rovnakým záverom dospeli Sandalio et al. (2001) pri pestovaní hrachu (*Pisum sativum* L. cv. Lincoln) v pôde kontaminovanej dávkou 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$   $\text{CdCl}_2$ . V prípade iných rastlinných druhov však uvedené dávky ťažkých kovov vyvolali výrazné chlorózy (Ouzounidou et al., 1997). Z testovaných bôbovitých rastlín (hrach, bôb, sója) prejavila daná odroda hrachu najvyššiu toleranciu voči arzénom, sója fazuľová (cv. Kordoba) pri uvedenej dávke hynie už po

24 hodinách aplikácie kontaminantu do pôdy (Békésiová, 2008).

Analýza rozptylu potvrdila štatisticky preukazný vplyv arzénu aj na minimálnu fluorescenciu ( $F_0$ ) rastlín hrachu. Hodnoty  $F_0$  rastlín ovplyvnených arzénom boli vyššie priemerne o 16,5 % (tabuľka 1). Vassilev et al. (1995) zistil po ošetroení jačmeňa kadmim zvýšenie hodnôt  $F_0$ . Poukazuje to na účinok kadmia na štruktúru fotosyntetických jednotiek a elektrónového transportu, ktorý zodpovedá za zistené ultraštruktúrne poruchy v chloroplastoch. Aplikácia arzénu spôsobila zvýšenie maximálnej fluorescencie ( $F_M$ ) ošetroených rastlín, čo dokazuje aj štatisticky preukazný rozdiel medzi ošetroenými a kontrolnými rastlinami. Maximálnu fluorescenciu rastlín ovplyvnených arzénom sme zistili priemerne o 8,3 % vyššiu v porovnaní s  $F_M$  kontrolných rastlín (tabuľka 1).

Procházka et al. (1998) uvádzajú, že všetky stresové vplyvy znižujúce rýchlosť fotosyntézy budú zároveň zvyšovať intenzitu fluorescencie.

Tento vzťah je podkladom pre intenzívne štúdium fluorescencie, ktoré umožňuje poznať mnohé

fotochemické deje odohrávajúce sa v pigmentoproteínových komplexoch pri absorpcii a prenose žiarenia. Analýza rozptylu ANOVA nepotvrdila vplyv arzénu na variabilnú fluorescenciu ( $F_v$ ) skúmaných rastlín, čo potvrdzuje aj nepreukazný rozdiel medzi ošetroenými a neošetroenými rastlinami (tabuľka 1).

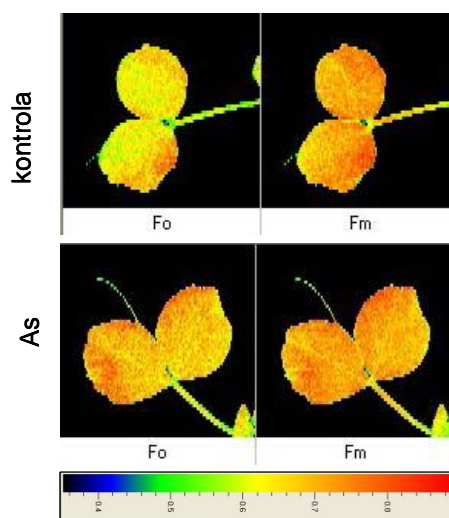
Priemerná hodnota  $F_v$  rastlín ovplyvnených arzénom bola vyššia o 6,4 %. Vizualizáciu minimálnej a maximálnej fluorescencie ošetroených a kontrolných rastlín *Pisum sativum* dokumentuje obrázok 3. Hoci analýza rozptylu nepotvrdila štatisticky preukazný vplyv arzénu na maximálny kvantový výťažok fluorescencie ( $F_v/F_M$ ), výsledky meraní  $F_v/F_M$  rastlín ovplyvnených arzénom však poukazujú na jeho inhibičný vplyv. Maximálny kvantový výťažok fluorescencie rastlín ovplyvnených arzénom bol nižší priemerne o 2,5 %.

Minimálnu hodnotu  $F_v/F_M$  ošetroených rastlín sme namerali 0,67, pri kontrolných rastlinách minimálna hodnota  $F_v/F_M$  bola vyššia 0,72.

Tabuľka 1 Analýza rozptylu a štatistické charakteristiky vybraných parametrov fluorescencie chlorofylu *Pisum sativum*.

Parameter fluorescencie	Variant	Priemer	Max	Min	Med	25%	75%	So	Sch	P
$F_0$	K	73,45	78,49	70,94	72,16	71,85	74,77	2,96	1,32	0,016
	As	85,72	107,53	78,43	81,55	79,17	88,15	12,26	5,49	
$F_M$	K	291,53	312,53	274,58	293,33	281,54	298,13	14,08	6,30	0,021
	As	315,83	330,90	301,13	319,21	303,80	325,15	12,58	5,63	
$F_v$	K	218,07	241,59	201,04	221,18	204,29	226,28	15,10	7,16	0,170
	As	232,11	249,35	215,72	232,70	221,18	242,18	13,31	5,95	
$F_v/F_M$	K	0,744	0,770	0,720	0,750	0,728	0,755	0,019	0,008	0,359
	As	0,725	0,750	0,670	0,740	0,700	0,750	0,038	0,019	

**Vysvetlivky:** Hodnoty jednotlivých parametrov sú uvedené v relatívnych jednotkách,  $F_0$  – minimálna fluorescencia,  $F_M$  – maximálna fluorescencia,  $F_v$  – variabilná fluorescencia,  $F_v/F_M$  – maximálny kvantový výťažok, **K** – kontrolné rastliny, **A** – ošetroené rastliny, **Max** – maximum, **Min** – minimum, **Med** – medián, **So** – smerodajná odchýlka, **Sch** – štandardná chyba, **P** – hladina preukaznosti.



Obrázok 3 Minimálna fluorescencia ( $F_0$ ) a maximálna fluorescencia ( $F_M$ ) listov *Pisum sativum*.

Rozdiel sme zistili aj pri porovnaní maximálnych hodnôt  $F_v/F_M$  skúmaných rastlín, kontrolným rastlinám sme namerali vyššiu hodnotu 0,77, zatiaľ čo rastlinám ovplyvnených arzénom 0,75 (tabuľka 1).

Parametre chlorofylovej fluorescencie sú indikátormi fotochemických procesov vo fotosystéme II (PSII), ktorý je viac citlivý na stres ako fotosystém I (PSI). Prejavuje sa to najmä znižovaním  $F_v/F_M$  stresovaných rastlín (Bjorkman, Demming 1987). Zníženie maximálneho kvantového výťažku jačmeňa siateho vplyvom arzénu zistili aj Stoeva a Bineva (2003). Podobne aj Barraza a Carballeira (1999) zaznamenali nižšie hodnoty  $F_v/F_M$  sledovaním účinku kadmia na riasu *Ulva rigida*.

## ZÁVER

Korene klíčencov hrachu inkubovaných v roztokoch ťažkých kovov prejavili najvyššiu toleranciu k iónom olova ( $TI_{Pb300}=73,90$ ;  $TI_{Pb500}=69,10$ ) a najnižšiu voči

vyšším dávkam kadmia a arzénu ( $TI_{Cd300}=28,60$ ;  $TI_{As100}=33,20$ ). V podmienkach nádobového pokusu došlo vplyvom iónov arzénu najmä k zníženiu čerstvej hmotnosti koreňov (o 86 %), pričom okrem inhibície rastu sme nepozorovali žiadne vizuálne symptómy toxicity kovu. Vplyvom iónov  $As^{3+}$  došlo ku zvýšeniu minimálnej fluorescencie o 16,5 % a k zníženiu maximálneho kvantového výťažku fluorescencie o 2,5 % oproti kontrole, čím došlo k zníženiu fotochemickej efektívnosti fotosystému PSII. Poznatky o toleranci rastlín k ťažkým kovom sú významné nielen pre štúdium mechanizmov interakcií rastlina-ťažký kov, ale aj pre ich potenciálne využitie v programoch zameraných na zvýšenie tolerance poľnohospodárskych plodín k ťažkým kovom resp. na zníženie akumulácie týchto kovov v rastlinách.

## LITERATÚRA

- BARRAZA, J. E., CARBALLEIRA, A., 1999. Chlorophyll fluorescence analysis and cadmium-copper bioaccumulation in *Ulva rigida* (C. Agardh). In *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, vol. 15, no. 1-4, 1999, p. 395-399.
- BĚKĚSIOVÁ, B. 2008. *Molekulárno-biologická charakteristika reakcií rastlín na ióny ťažkých kovov*: dizertačná práca. Nitra : UKF, 2007, 131 s.
- BELIMOV, A. A., SAFRONOVA, V. I., TSYGANOV, V. E., BORISOV A. Y., KOZHEMYAKOV, A. P., STEPANOK, V. V., MARTENSON, A. M., GIANINAZZI-PEARSON, V., TIKHONOVICH, I. A., 2003. Genetic variability in tolerance to cadmium and accumulation of heavy metals in pea (*Pisum sativum* L.). In *Euphytica*, vol. 131, no. 1, 2003, p. 25-35.
- BJORKMAN, O., DEMMING, B., 1987. Photon yield of oxygen evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origin. In *Planta*, vol. 170, 1987, p. 489-504.
- ĐURŽA, O., 2003. Využitie pôdnej magnetometrie v environmentálnej geochemii ťažkých kovov. In *Acta geologica universitatis comenianae*, Bratislava, vol. 58, 2003, p. 29-55.
- GOLOVATIUK, I., MÉSZÁROS, P., PIRŠELOVÁ, B., LIBANTOVÁ, J., MORAVČÍKOVÁ, J., MATUŠÍKOVÁ, I., 2010. Intra-species variability of soybean (*Glycine max* L.). Roots in response to heavy metals. In *The Proceedings of 15th International Conference on Heavy Metals in the Environment*. Gdansk : University of Technology, 2010, p. 334-337. ISBN 978-83-92-8986-5-8
- HORST, W. J., 1983. Factors responsible for genotypic manganese tolerance in cowpea (*Vigna unguiculata*). In *Plant and Soil*, vol. 72, no. 2-3, 1983, p. 213-218.
- CHAUDHRY, N. Y., RASHEED, S., 2003. To study the external and internal morphology of *Pisum sativum* L., following treatments with growth hormones i.e., IAA and Kinetin and heavy metal i.e., lead nitrate. In *Online Journal of Biol. Sci.*, vol. 6, no. 4, p. 407-421.
- INOHUE, M., NINONNYA, S., TOHOYAMA, H., JOHO, M., MURAYAMA, T., 1994. Different characteristics of roots in the cadmium-tolerance and Cd-binding complex formation between mono- and dicotyledonous plants. In *Journal of plant Research*, vol. 107, no. 3, 1994, p. 201-207.
- MACNAIR, M. R., TILSTONE, G. H., SMITH, S. E., 2000. The genetics of metal tolerance and accumulation in higher plants. In Terry N., Banuelos G. eds. *Phytoremediation of contaminated soil and water*. In *CRC Press LLC*, 2000, p. 235-250.
- METWALLY, A., SAFRONOVA, V. I., BELIMOV, A. A., DIETZ, K. J., 2005. Genotypic variation of the response to cadmium toxicity in *Pisum sativum* L. In *Journal of Experimental Botany*, vol. 56, no. 409, 2005, p. 167-178.
- OUZOUNIDOU, G., MOUSTAKAS, M., ELEFTHERIOUS, E. P., 1997. Physiological and ultrastructural effects of cadmium on wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves. In *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 32, no. 2, 1997, p. 154-160.
- POLSON, D. E., ADAMS, M. V., 1970. Differential response of navy beans (*Phaseolus vulgaris* L.) to Zn. I. Differential growth and element composition at excessive Zn levels. In *Agronomy Journal*, vol. 84, 1970, p. 469-474.
- PROCHÁZKA, S., MACHÁČKOVÁ, I., KREKULE, J., ŠEBÁNEK, J., 1998. In *Fyziologie rostlin*. Praha: Academia, 1998. 484 s. ISBN 80-200-0586-2.
- RUCINSKA, R., SOBKOWIAK, R., GWÓZDŹ, E. A., 2004. Genotoxicity of lead in lupin root cells as evaluated by the comet assay. In *Cellular and Molecular Biology Letters*, vol. 9, no. 3, 2004, p. 519-528.
- SANDALIO, L. M., DALURZO, H. C., GOMEZ, M., ROMERO-PUERTAS, M. C., DEL RIO, L. A., 2001. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. In *Journal of Experimental Botany*, vol. 52, no. 364, 2001, p. 2115-2126.
- STOEVA, N., BINEVA, T., 2003. Oxidative changes and photosynthesis in oat plants grown in As-contaminated soil. In *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, vol. 29, no. 1-2, 2003, p. 87-95.
- TRTÍLEK, M., KRAMER, D. M., KOBLÍZEK, M., NEDBAL, L., 1997. Dual-modulation LED Kinetic fluorometer. In *Journal of Luminescence*, vol. 72, 1997, p. 597-599.
- VASSILEV, A., IORDANOV, I., CHAKALOVA, E., KERIN, V., 1995. Effect of cadmium stress on growth and photosynthesis of young barley plants. In *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, vol. 21, no. 4, 1995, p. 12-21.
- WHITE, M. C., DECKER, A. M., CHANEY, R. L., 1979. Differential cultivar tolerance in soybean to phytotoxic levels of soil Zn. I. Range of cultivar response. In *Agronomy Journal*, vol. 71, 1979, p. 121-126.
- WILKINS, D. A., 1978. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root length. In *The New Phytologist*, vol. 80, 1978, p. 623-633.

### Pod'akovanie:

Práca bola vypracovaná v rámci riešenia projektov: APVV LPP-0125-07 a UGA VII/29/2009.

**Contact adress:**

RNDr. Beáta Piršelová, PhD. Department of Botanics and Genetics, Faculty of Natural Sciences, Constantine the Philosopher University, Nábrežie mládeže 91, 949 74 Nitra, Slovakia, E-mail: [bpirselova@ukf.sk](mailto:bpirselova@ukf.sk).

Ing. Anna Gogoláková, PhD. Department of Botanics and Genetics, Faculty of Natural Sciences, Constantine the Philosopher University, Nábrežie mládeže 91, 949 74 Nitra, Slovakia, E-mail: [agogolakova@ukf.sk](mailto:agogolakova@ukf.sk).

Doc. RNDr. Roman Kuna, PhD. Department of Botanics and Genetics, Faculty of Natural Sciences, Constantine the Philosopher University, Nábrežie mládeže 91, 949 74 Nitra, Slovakia, E-mail: [rkuna@ukf.sk](mailto:rkuna@ukf.sk).