

**Průběžná výroční zpráva projektu specifického výzkumu v roce 2016,
zakázka č. 2102**

Název projektu: Fluorescenční vizualizace lokalizace těžkých kovů a jejich vlivů na celkový fyziologický stav rostliny

Specifikace řešitelského týmu

Odpovědný řešitel: RNDr. Zuzana Dučaiiová, PhD.

Studenti doktorského studia na UHK: Mgr. Šárka Moravcová (doktorand PřF UHK 2014 – 2018; Mrg. Martina Benáková, aktivna účast' na grante ako odborník so skúsenosťami vo fluorescenčnej mikroskopii)

Studenti magisterského studia na PřF UHK:

Další výzkumní pracovníci:

Celková částka přidělené dotace: 57950 Kč

Datum zahájení řešení projektu: 1. 3. 2016

Předpokládané datum ukončení řešení projektu: 30. 11. 2017

Stručný popis postupu při řešení projektu (max. 2 strany).

Celkový priebeh riešenia projektu bol rozdelený na tri etapy.

V prvej etape prebiehajúcej v období marec – apríl sme sa zamerali na dokončenie čiastkových priebežných experimentov. Konkrétne sa jednalo o problematiku spolupôsobenia ťažkých kovov (kadmium a zinok) a vodného stresu (výsledky prezentované na medzinárodnej elektronickej konferencii Ph.D. študentov) a problematiku protektívnej úlohy rastlinného hormónu v podmienkach biotického stresu (výsledky boli prezentované formou posteru na medzinárodnej konferencii vo Zvolene).

Druhá a tretia etapa projektu bola zameraná na výskum negatívneho dopadu ťažkých kovov na dve hospodársky významné rastliny, a to konkrétne kukuricu a repku. Jedným z prvých prejavov negatívneho pôsobenia ťažkých kovov je rýchla tvorba reaktívnych foriem kyslíka (ROS). Peroxid vodíka predstavuje jednu z najstabilnejších foriem ROS a vďaka svojej ľahkej difúzii cez membrány vystupuje aj ako rýchly mobilný signál pri spúšťaní obranných reakcií rastlín. Naopak, superoxidový radikál predstavuje vysoko toxickú formu a jeho hromadenie má negatívny dopad na rastlinu. V našich experimentoch sme preto sledovali, aký vplyv má prídavok bežne používaných regulátorov obsahu ROS na celkovú odozvu rastlín. Predpokladali sme, že prídavok benzoátu sodného, vychytávača superoxidového radikálu, do média bude v pozitívnom smere ovplyvňovať negatívny dopad použitého kovu.

V druhej etape projektu v období apríl – jún prebehli skriningové pokusy na určenie vhodnej koncentrácie kovu (kadmium) a použitého vychytávača ROS, benzoátu sodného.

Tretia etapa projektu (jún – december) bola zameraná už na samotné experimenty. Použité experimentálne rastliny boli vybrané na základe ich významnosti v poľnohospodárstve. Ďalej bol pri výbere kladený dôraz aj na to, aby rastliny predstavovali zástupcov jednoklíčnolistových a dvojklíčnoslistových rastlín. Navyše, repka je podľa dostupnej literatúry označovaná aj ako potenciálny hyperakumulátor ťažkých kovov, kde sme teda predpokladali, jej väčšiu odolnosť voči vyšším koncentráciám ťažkých kovov.

Rastliny boli pestované v kontrolovateľných podmienkach v kultivačnom boxe v hydroponických médiách. Na základe skríningových experimentov bola vybraná jedna koncentrácia kadmia, ktorá pôsobila stresujúco, no nie však letálne, a jedna koncentrácia benzoátu sodného, ktorá mala mierny stimulačný efekt. Rastliny boli analyzované na biochemickej úrovni, kde sa stanovili základné parametre odrážajúce mieru stresu. Analýzy prebiehali v laboratóriách KBI UHK s dostupným prístrojovým vybavením. Z fyziologických parametrov sme sa zamerali na zmeny vo fotosyntéze a transpirácii rastlín, fluorescencii, obsahu chlorofylov, celkových fenolov a flavonoidov, ako potenciálnych antioxidantov. Popri kvantifikácii reaktívnych foriem kyslíka a ich negatívneho dopadu na membrány (peroxidácia lipidov) sme sa zamerali aj na ich histochemickú vizualizáciu.

Anatomické zmeny koreňového systému prebiehali po predchádzajúcom špecifickom farbení tenkých rezov. Histochemická vizualizácia pomocou svetelného mikroskopu prebiehala na pracovisku KBI UHK a vizualizácia s použitím fluorescenčných sond prebiehala na Fakulte vojenského zdravotníctva Univerzity obrany v Hradci Králové. Potrebné dodatočné analýzy a odborné konzultácie budú prebiehať v mesiacoch január – február na Katedre experimentálnej biológie Karlovej univerzity v Prahe.

Momentálne prebieha štatistické spracovanie získaných údajov a príprava publikácie. Po dokončení potrebných mikroskopických analýz bude publikácia odoslaná do časopisu s IF (napr. Environmental Science and Pollution Research, Environmental Pollution).

Splnění cílů řešení a přínos projektu.

V priebehu riešenia projektu boli splnené všetky nami zadané ciele. Získane experimentálne dáta budú spracované do publikácie a odoslané do časopisu s IF.

Počas projektu bola nadviazaná spolupráca s odborníkmi z Fakulty vojenského zdravotníctva Univerzity obrany v Hradci Králové a Katedry experimentálnej biológie Karlovej univerzity v Prahe. Riešitelia si počas projektu osvojili nové metodické postupy a osvojili si prácu s fluorescenčným mikroskopom.

Splnění kontrolovatelných výsledků řešení.

- článok v zborníku na medzinárodnej konferencii:
Martina Benakova, Zuzana Ducaiova, Jiri Tuma – The efficiency of cadmium and zink accumulation and influence on nutrient uptake and water stress in *Brassica napus* L. In: 5th Biannual CER Comparative European Research Conference; International Scientific Conference for Ph.D. Students of EU Countries, Marec 28-31, 2016, London, s. 116-119
- článok v zborníku na medzinárodnej konferencii:

Zuzana Dučaiová Martina Benáková, Šárka Moravcová, Jiří Tůma – The role of methyl jasmonate during the biotic stress in *Matricaria chamomilla* L. In: Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2016. 12-14.9. Zvolen, s. 121-124

- článek v časopise s IF – k publikácii článku sú nutné ešte dodatočné mikroskopické analýzy a konzultácie s odborníkom v danej oblasti

Tab. 1 Sumár výstupů řešení projektu¹

Typ výstupu	Plán v žádosti o projekt	Splněno	Plán do konce 12/2017	Poznámka (např. vyšlo, přijato, v redakčním řízení apod.)
Počet obhájených dizertačních prací				
Počet obhájených diplomových prací				
Počet Jimp (databáze WoS)	1		1	
Počet Jsc (databáze SCOPUS)				
Počet Jneimp (databáze ERIH PLUS)				
Počet Jrec (seznam českých rec. čas.)				
Počet B (odborná kniha)				
Počet C (kapitola v odborné knize)				
Počet D (článek ve sborníku)	1	2		
Počet výsledků celkem	2	2	1	

Podrobné zdůvodnění výdajů a doložení dodatečných žádostí o změnu rozpočtu:

- a) **osobní náklady** (mzdy, odměny; odvody na zdravotní, sociální a úrazové pojištění; tvorba sociálního fondu, dohody o provedení práce a dohody o pracovní činnosti) a jejich stručné zdůvodnění,

RNDr. Zuzana Dučaiová, PhD. – 2500 Kč (plus odvody 860,53 Kč); vedenie projektu, príprava a realizácia experimentov, vyhodnotenie dát, príprava publikácie

- b) **stipendia** a jejich stručné zdůvodnění,

Mgr. Šárka Moravcová – 5000 Kč; príprava a realizácia experimentov

Mgr. Martina Benáková – 1232 Kč; v uvedenej čiastke je zahrnuté ubytovanie a strava na konferencii vo Zvolene

- c) **spotřební materiál** (výdaje na pořízení kancelářských potřeb a ostatního spotřebního materiálu) a jejich stručné zdůvodnění

35452,98 Kč – v uvedenej čiastke je zahrnutý spotrebný materiál (mikroskúmvky, špičky na pipety, materiál na mikroskopiu, kultivačné nádoby) a chemikálie (fluorescenčné a histochemické farbivky, rozpúšťadlá, chemikálie potrebné na analýzy rastlín) nutné na zabezpečenie kultivácie pokusných rastlín a ich následnú analýzu

- d) **drobný hmotný majetek** a jejich stručné zdůvodnění,

6655 Kč – z grantu bola zakúpená automatická pipeta na malé objemy

e) **další náklady** a jejich stručné zdůvodnění,

X

f) **náklady nebo výdaje na služby** a jejich stručné zdůvodnění,

3674,67 Kč – suma zahrňuje konferenčný poplatok (1500 Kč Benáková a 1900 Kč Dučaiová) a tlač posteru na medzinárodnú konferenciu „Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2016“ konanú vo Zvolene.

g) **doplňkové (režijní) náklady** nebo výdaje v souladu s příslušným řídicím aktem UHK,

X

h) **cestovné** a jeho stručné zdůvodnění.

2834 Kč – ubytovanie a stravné na konferencii vo Zvolene

Výsledek čerpání finančních prostředků uveďte v jednotné přehledné tabulce 2.

Tab. 2 Čerpání finančních prostředků v Kč

Položka	Plán	Žádost o změnu rozpočtu	Skutečnost
Počet členů řešitelského týmu čerpajících mzdové prostředky	1	1	
Počet studentů čerpajících mzdové prostředky	0	0	
Stipendia	5000	9500	6232
DPP, DPČ - studenti	0	0	
Odměny, DPP, DPČ - ostatní	2500	2500	2500
Zákonné zdravotní a sociální pojištění	850	850	860,53
Celkem osobní náklady	8350	12850	9592,53
Spotřební materiál	30000	30000	35452,98
Drobný hmotný majetek	6600	6600	6655
Materiálové náklady celkem	36600	36600	42107,98
Služby celkem	13000	4400	3674,67
Cestovné celkem	0	4100	2834
Celkové náklady	57950	57950	58209,18

Ke zprávě přiložte:

- kopie publikačních výstupů,
- výpis z OBD – výstupy podpořené tímto projektem,
- výsledovku z ekonomického informačního systému Magion – vyúčtování dotace.

Datum: 5.1. 2017

Podpis odpovědného řešitele

