

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra botaniky a fyziologie rostlin



**Vliv vodního deficitu na obsah pigmentů v listech špenátu
setého a čtyřboče rozložitě**

Bakalářská práce

Autor práce: Pavel Rechcigl

Vedoucí práce: doc. Ing. František Hnilička, Ph.D.

© 2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv vodního deficitu na obsah pigmentů v listech špenátu setého a čtyřboče rozložitě" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 15. 4. 2016

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval panu doc. Ing. Františku Hniličkovi, Ph.D. za jeho ochotu, poskytnuté materiály, cenné rady a neuvěřitelnou trpělivost při vypracování této práce.

Souhrn

Na vodní deficit citlivě reagují zeleniny, a to především zeleninové druhy, které ve svých pletivech obsahují velké množství vody. Cílem práce bylo vyhodnotit změnu rostlinných pigmentů špenátu setého a čtyřboče rozkladité během vodního stresu.

Pokus probíhal ve sklenících FAPPZ a v laboratořích katedry botaniky a fyziologie rostlin. V částečně řízených podmínkách skleníku byly v nádobách pěstovány rostliny špenátu setého (odrůda Matador) a rostliny čtyřboče rozložité. Rostliny byly pěstovány v nádobách o velikosti 11x11 cm, ve směsi zahradního substrátu A a křemičitého písku, v poměru 2:1. Schéma pokusu zahrnovalo dvě varianty – stresovou a kontrolní. U stresové varianty byl metodou postupného vysychání substrátu navozen vodní deficit, který přetrvával prvních 12 dnů od zahájení pokusu, poté došlo k obnově zálivky na úroveň kontrolní varianty. Kontrolní varianta byla zavlažována po celou dobu pokusu na úroveň 70 % VVK. U rostlin byl ve dvoudenních intervalech měřen obsah fotosynteticky aktivních pigmentů pomocí přístroje chlorofylmetr CCM 200 (OptiSciences, Velká Británie), fluorescence chlorofylů přístrojem OS1-FL (OptiSciences, Velká Británie) a spektrofotometrie chlorofylů na přístroji Helios gamma, která proběhla v laboratoři FAPPZ po dokončení všech měření. Pokus byl zahájen po vzejití čtvrtého listu.

Bylo prokázáno, že z vybraných rostlin na vodní stres nejcitlivěji reaguje špenát setý. Během pokusu bylo zaznamenáno, že u špenátu došlo ke snížení obsahu pigmentů mezi variantami u rostlin stresovaných v průměru o $0,063 \text{ mg.cm}^{-2}$ v porovnání s kontrolní variantou. U rostlin čtyřboče bylo toto snížení v průměru $0,00074 \text{ mg.cm}^{-2}$. Dále bylo u testovaných rostlin zjištěno, že hladina karotenoidů se vlivem vodního deficitu zvyšuje v porovnání s rostlinami zavlažovanými. Čtyřboč vykazoval vyšší nárůst karotenoidů, ve srovnání se špenátem, tento rozdíl činil v průměru $0,011 \text{ mg.cm}^{-2}$. Výsledky fluorescence dokazují, že vyšší hodnoty poměru Fv/Fm jsou dosaženy u rostlin stresovaných oproti zavlažovaným. U špenátu byla naměřena nižší hodnota poměru Fv/Fm v porovnání s rostlinami čtyřboče v průměru o 0,002.

Na základě výsledků lze konstatovat, že spektrofotometrické stanovení obsahu pigmentů je přesnější, neboť se stanovují všechny pigmenty samostatně, oproti měření chlorofylmetrem, který stanovuje pouze celkový obsah pigmentů.

Klíčová slova špenát; čtyřboč; vodní deficit; obsah pigmentů; fluorescence

Summary

Vegetables in general are very sensitive on any kind of a water deficiency, especially such species that contain enormous amount of water within their contexture. The aim of this work is to evaluate a change of botanical pigmentation during a water distress of *Spinacia oleracea* and *Tetragonia tetragonioides*.

The experiment was carried out within the premises of FAPPZ (greenhouses) and those of botany and physiology department (laboratory). As stated above, plants of *Spinacia oleracea* (Matador mutation) and *Tetragonia tetragonioides* cultivated in bins were used as testing material. Scheme of the experiment included two variants – the stressing and the controlling one. As for the initial variant, using a gradual substrate's dehydration method lead to water deficiency which lasted for the first 12 days of the experiment. Afterwards, a watering level was equated to controlling variant level. During the latter variant, a plant was being watered during a whole period of the experiment at level of 70 % VKK. Volume of photosynthetically active pigmentations within the plants was measured in 2 days intervals. CCM 200 Unit (OptiSciences, UK) was used for the measuring. Fluorescence of chlorophylls was measured with OS1-FL Unit (OptiSciences, UK) and spectrophotometry of chlorophylls with Helios gamma Unit. This excercises were carried out after the fourth leaf germinated in FAPPZ laboratories.

It was proven that among studied plants, spinach was the most susceptible to water stress. The experiment showed that pigment content of various types of stressed spinach plants was decreased on average by $0,063 \text{ mg.cm}^{-2}$ as compared to the unstressed plants. . Various types of tetragonia plants decreased their pigment concentration on average by $0,00074 \text{ mg.cm}^{-2}$. The experiment also showed that the stressed plants increased their cartenoid levels as opposed to the unstressed plants. The increase in these levels was higher in the case of tetragonia plant. Compared to spinach, this difference was on average $0,011 \text{ mg.cm}^{-2}$. The results of flourescence showed that the non-irrigated plants had higher Fv/Fm ratio when compared to the irrigated plants. The spinach plants had their Fv/Fm ratio lower when compared to the tetragonia plants, on average by 0,002.

Based on this thesis, it can be said that spectrophotometric determination of pigment content is more precise. In this kind of determination, each pigment is considered separately, as compared to the determination by the chlorophyll meter, which only determines overall pigment content.

Keywords: spinach, tetragonia, water deficit, pigment content, fluorescenc

Obsah

1	Úvod.....	4
2	Literární přehled	5
2.1	Botanická charakteristika špenátu a čtyřboče	5
2.1.1	Špenát setý (<i>Spinacia oleracea</i> L.)	5
2.1.2	Čtyřboč rozložitá (<i>Tetragonia tetragonioides</i> L.).....	6
2.1.3	Historie a současnost pěstování špenátové zeleniny.....	7
2.2	Nároky na pěstování	9
2.2.1	Špenát setý	9
2.2.2	Čtyřboč rozložitá.....	10
2.3	Obecná charakteristika stresu	11
2.4	Vodní deficit	14
2.4.1	Vodní stres	14
2.4.2	Sucho	14
2.4.3	Vliv vodního deficitu na rostliny	17
2.5	Rostlinné hormony a jejich role ve stresových podmínkách	20
2.5.1	Kyselina abscisová (ABA).....	20
2.5.2	Gibereliny	21
2.5.3	Cytokininy	22
2.5.4	Auxiny	22
2.5.5	Etylén	23
2.6	Fotosynteticky aktivní pigmenty	23
3	Cíle a hypotézy	26
4	Metodika	26
4.1.1	pokusný materiál.....	26
4.1.2	Založení pokusu	27
4.2	Měření fyziologických charakteristik	28
4.2.1	Spektroskopické stanovení obsahu pigmentů	28
4.2.2	Stanovení obsahu pigmentů pomocí chlorofylmetru	29
4.2.3	Stanovení fluorescence chlorofylů.....	30
5	Výsledky	32
5.1	Obsah fotosynteticky aktivních pigmentů	32
5.2	Obsah pigmentů stanovený chlorofylmetrem	35
5.3	Fluorescence pigmentů	37
6	Diskuze	40
6.1	Obsah pigmentů	40
6.2	Fluorescence chlorofylů.....	41
7	Závěr	42
8	Použitá literatura	43

1 Úvod

Zelenina je významnou složkou potravy každého člověka. Je významným zdrojem vitamínů C, A, B, E a K. Dále obsahuje minerální látky, jako jsou hořčík, fosfor, draslík, vápník, železo, síra a další.

Listová zelenina se stává více oblíbenou a její spotřeba v České republice stoupá. Mezi již tradiční listovou zeleninu řadíme špenát, který má významný podíl minerálních látek a vitamínů – především kyseliny listové a vlákniny. Mezi méně tradiční listové zeleniny lze zařadit např. čtyřboč, která je zeleninou malopěstitelů. Shodně se špenátem obsahuje vitamín C, B1, B2, B3, B5, provitamin A, vápník, fosfor, železo, draslík, hořčík, sodík. Roční špenátu je zhruba 1,3 kg na osobu.

Pěstování zeleniny je omezeno působením faktorů vnějšího prostředí, protože rostliny jsou během svého života vystavovány různým stresorům, mezi které patří např. vysoké teploty, sucho, zasolení, nadbytek/nedostatek živin, chlad a jiné. V našich podmínkách je jedním z nejvíce limitujících faktorů nedostatek vody, který omezuje růst rostlin, brzdí vývoj a snižuje výnosy. Během nedostatku vody se sníží otevírání průduchů, omezuje svůj metabolismus, tvorbu následně i výši a kvalitu získávané produkce. Při znalosti těchto poznatků můžeme do jisté míry omezit stres a zvýšit produktivitu rostlin ve světě, a to i v některých rizikových oblastech.

Problematika stresů zůstává i nadále aktuální téma nejenom základního, ale také aplikovaného výzkumu. Vzhledem k měnícím se klimatickým podmínkám je možné očekávat, nárůst teploty, nerovnoměrného rozdělení srážek, výskyt nových druhů škůdců a chorob apod. a proto je uvedená problematika stále aktuální.

2 Literární přehled

2.1 Botanická charakteristika špenátu a čtyřboče

2.1.1 Špenát setý (*Spinacia oleracea* L.)

Pekárková (2014) uvádí, že rostlina špenátu je jednoletá. Za krátkých jarních a podzimních dnů vytváří růžici sytě zelených hladkých listů, v prodlužujícím se letním dni rychle vybíhá do květu rozvětveným 60-70 cm vysokým stonkem (obr. 1). Původní odrůdy špenátu byly vesměs dvoudomé, navíc morfologicky rozlišené. Samčí rostliny byly slaběji olistěné, dříve kvetly, a proto prokvetly a byly méně cenné, než rostliny samičí, které vyprodukovaly větší množství listů. V posledních letech nám vhodné F1 odrůdy zajišťují jednotné, jednodomé, vzrůstem samčím podobné rostliny (Emilia F1, Monores, Misano F1, Previa F1). Další výhodou geneticky upravených odrůd je, že mají vyšší odolnost vůči některým kmenům plísně špenátové. Květy špenátu jsou drobné, žlutozelené, nahloučené v paždí listu. Plodem je nažka s velmi tvrdým zelenavým oplodím.

Podle Hejného a Slavíka (2003) je lodyha přímá, 30-60 (někdy i 100) cm vysoká, lysá a nepravidelně hranatá. Samičí rostliny jsou o něco nižší a hustěji olistěné, než rostliny samčí. Přízemní listy krátce, nebo dlouze řapíkaté, s čepelí nejčastěji zaobleně trojúhelníkovou, trojúhelníkově vejčitou až slabě hrálovitou, až 25 cm dlouhou. Lodyžní listy mají kratší řapík a jsou užší, většinou zaobleně střelovité až hrálovité. Horní lodyžní lístky jsou kopinaté, nebo podlouhlé, mladé lístky mají měchýřkovité trichomy. Květy jsou jednopohlavné, ojediněle oboupohlavné (u některých kultivarů je výskyt oboupohlavných květů častější). Plodem je nažka obalená neúplně srostlými a ztvrdlými listenci. Buď jsou kulovité až vejcovité, hladké nebo číhovitě, se 2-6 masivními ostnitými výrůstky, velkými 2 - 4 mm.

Původní planý druh špenátu není znám. Pravděpodobně vznikl z druhu *Spicacia tetrandra*, který roste na Kavkazu a přes Turkestán a Írán do Afgánistánu. Prvotní zmínky o špenátu sahají do Španělska. Pro starší národy v Evropě byl špenát neznámý. Pravděpodobně jej z blízkého východu do Španělska dovezli Arabové, nebo křižáci. V 16. a 17. století se stal pro Evropu běžnou zeleninou. Název *spinacia* a z něho vzniklé odvozeniny ve všech evropských jazycích pocházejí buď z perštiny nebo z latinského *spina* (tj. osten) podle původních forem, jejichž semena měla pichlavé ostny. Ostnitá semena má jen druh *Spinacia spinosa*. Ostrosemenné odrůdy, které se zároveň vyznačují zubatě vykrajovanými listy, se však z praktických důvodů již nepěstují, i když je známo, že jejich odolnost vůči mrazům je

největší. Převážná většina dnes používaných odrůd patří ke kulatosemennému druhu *inermis* (Pekárková, 2002).



Špenát setý (*Spinacia oleracea*)



Obr. 1: Špenát setý (*Spinacia oleracea*), (zdroj: <http://slideplayer.cz>)

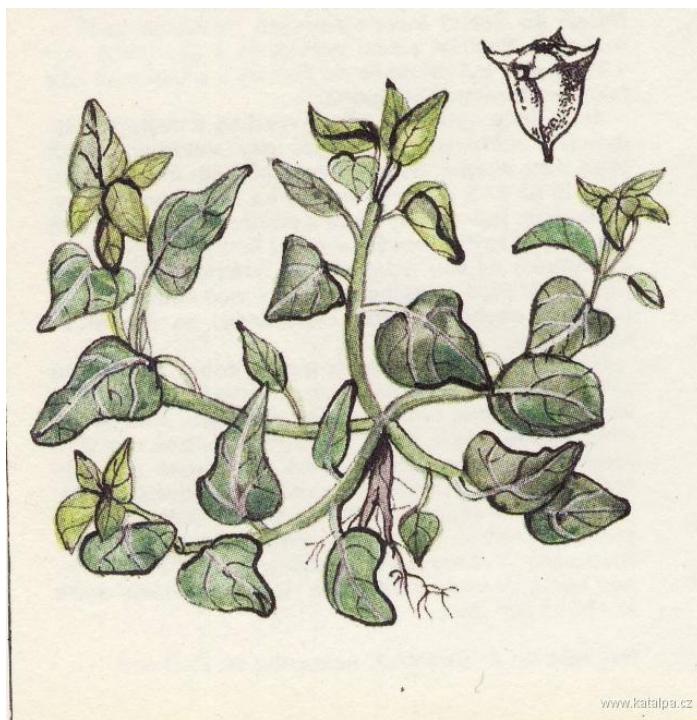
Pekárková (2014) konstatuje, že špenátové listy obsahují bílkoviny, minerální látky (vápník, železo), provitamin A a vitamin B, C a K. Dále obsahuje kyselinu křemičitou a šťavelovou, jejíž obsah je hluboko pod hranicí škodlivosti. Podle Pokludy (2009) je též špenát bohatý na vlákninu, sacharidy, dále na hořčík, vápník, železo a další minerální látky. Moderní odrůdy špenátu jsou šlechtěny na snížený obsah kyseliny šťavelové, pro kterou byl špenát nevhodný pro nemocné lidi, trpící ledvinovými kameny.

2.1.2 Čtyřboč rozložitá (*Tetragonia tetragonioides* L.)

Čtyřboč rozložitá, tzv. novozélandský špenát (obr. 2), je jednoletá zelenina s dužnatými, vstřícnými listy. Květy jsou jednotlivé, okvěti srostlé zeleno až zelenohnědé s třemi až pěti cípy. Semeník 3 – 8 pouzdrý, v každém pouzdru má 1 vajíčko, Plodem je peckovice. Lodyha je bohatě větvená, poléhavá až plazivá. Listy jsou kosníkovité a mají měchýřkovité chlupy.

Květy jsou zelené, nenápadné, bez korolnických staminodií. Plodem je obvejčitá tvrdnoucí peckovice se 4 – 5 trnovými výrůstky (Hejný a Slavík, 2003). Novák (2013) popisuje čtyřboč jako jednoletou zeleninu, která tvoří trsy s rozvětvenými, až jeden metr dlouhými plazivými lodyhami, z nichž se po celé léto sbírají dužnaté (sukulentní) kosočtverečné listy s měchýřkovitými trichomy. Nenápadné květy jsou zelené, plody čtyřboké (odtud rodový název rostliny). Čtyřboč patří do čeledi kosmatcovité (*Mesembryanthemaceae*).

Původní vlastí čtyřboče je nejenom Nový Zéland, jak by se zdálo podle názvu, ale širší oblast Tichomoří a Jižní Ameriky. Do Evropy, původně do Anglie, tuto rostlinu přivezl kapitán James Cook z cesty kolem světa v letech 1768 – 1771. Teprve v Evropě se začala upravovat jako špenát nebo špenátový protlak, na rozdíl od oblastí původního výskytu, kde byla zeleninou salátovou. Dnes se pěstuje téměř na celém světě. Čtyřboč je listová zelenina, přitom je typickou rostlinou pro zahrádky, neboť v době vegetace postupně poskytuje značné množství (až 10 kg) zelené hmoty. Listy nikdy nehořknou a mají dobrou biologickou hodnotu. I když je v nich asi 90 % vody, obsahují více vitamínu C a β karotenu než hlávkový salát, také však obsahují kyselinu šťavelovou. Sklizené listy se konzumují za čerstva nebo v salátových směsích, v polévkách, dušené s omeletami, aj. (Novák, 2013).



Obr. 2: Čtyřboč rozložitá (*Tetragonia tetragonoides* L.), (zdroj: <http://www.katalpa.cz>)

2.1.3 Historie a současnost pěstování špenátové zeleniny

Špenát je po salátu z ekonomického hlediska další důležitou zeleninou. V ČR se pěstuje především pro zpracování v mrazárnách. Technologie pěstování a sklizně i její nákladovost je

podobná pícninám na orné půdě. Celkové náklady na 1 ha sklizňových ploch sledovaných podniků pěstujících špenát dosahují průměrně 29 208 Kč a pohybují se v rozpětí 25 – 39 tisíc tis. Kč. – ha⁻¹. Na rozdíl od jiných zelenin jsou náklady špenátu rozděleny poměrně rovnoměrně na jednotlivé nákladové položky. Tři nejvýznamnější nákladové položky (pracovní náklady, režijní náklady a ostatní přímé služby a náklady) se pohybují cca na úrovni 20% podílu z celkových nákladů, další dvě položky – provoz techniky a náklady na osivo představují cca 15% nákladů, jak uvádí Petříková (2012). V tab. 1 jsou uvedeny základní údaje o roční spotřebě, tržní produkci, nákupu, vývozu a dovozu špenátu v ČR.

Roční spotřeba špenátu na jednoho obyvatele v kg												
	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	
Špenát	0,9	0,9	0,7	0,5	0,5	0,8	0,7	0,7	0,9	1,0	1,0	
Přehled o tržní produkci špenátu v ČR												
	2013		2014		2015 (odhadově)							
	ha	tuny	ha	tuny	ha	tuny						
Špenát	347	5552	466	7456	456	6840						
Nákup špenátu pro zpracování v ČR (t)												
	Nákup zeleniny původem						Nákupní ceny v Kč./kg ⁻¹ bez DPH					
	Z ČR			Ze zahraničí			2012		2013		2014	
	2012	2013	2014	2012	2013	2014	od	do	od	do	od	do
Špenát	4704	2895	5500	-	-	-	3,57	4,17	3,63	9,33	3,65	5,71
Vývoz špenátu konzervovaného, vařeného, zmrazeného												
	2012		2013		2014							
	tuny	Tis. Kč	tuny	Tis. Kč	tuny	Tis. Kč						
Špenát	1 045	15 214	1 662	24 170	1 433	27 117						
Dovoz špenátu do ČR												
	2012	2013	2014	2015	2012	2013	2014	2015				
	V tunách				V tis. Kč							
Špenát	468	785	836	565	28 571	46 488	50 649	31 592				

Tab.1 Přehled o pěstování a ekonomické stránce špenátu, (zdroj: [http://eagri.cz/public/web/mze/vyhledavani/index\\$41111.html?query=situa%C4%8Dn%C3%AD+a+v%C3%BDhledov%C3%A1+zpr%C3%A1va+zelenina&segments=eagri](http://eagri.cz/public/web/mze/vyhledavani/index$41111.html?query=situa%C4%8Dn%C3%AD+a+v%C3%BDhledov%C3%A1+zpr%C3%A1va+zelenina&segments=eagri) .)

Z uvedené tabulky vyplývá, že tržní produkce špenátu mezi rokem 2013 a 2014 znatelně vzrostla. Po výroční zprávě z roku 2015 došlo k drobnému snížení produkce, což může být následkem sucha v letních měsících. Lze očekávat, že v následujících letech bude produkce a spotřeba špenátu nadále stoupat s ohledem na minulé roky.

2.2 Nároky na pěstování

2.2.1 Špenát setý

Špenát je podle Petříkové (2012) teplomilná rostlina. Potřebuje dostatek světla, vláhy a středně těžké, živinami dobře zásobené půdy. Pro špenát jsou proto nevhodné kyselé a utužené půdy. Výhodné jsou otevřené slunné polohy, kde se nadržuje vlhkost. V našich klimatických podmínkách přezimuje. Pod sněhem snáší teploty i -20 °C (Pokluda, 2009).

Pekárková (2002) dále uvádí, že semena se zásadně vysévají přímo na stanoviště. Rozložení sklizně do delšího vegetačního období je možné jen v letním období, kdy rostliny rychle vybíhají do květu. K vybíhání do květu, aniž by se předem vytvořila dostatečná růžice listů, přispívá i sucho, nedostatek živin, zastínění a také příliš hustý porost. Abychom získali mohutně olistěné růžice, vyséváme špenát ve třech rozdílných termínech: brzy na jaře, pozdě v létě a brzy na podzim. Špenát je možné přirychlovat pěstováním pod sklem nebo urychlit jeho vývoj na jaře, popřípadě prodloužit jeho vegetaci v podzimních měsících krytím netkanou textilií. U nás se tyto metody většinou nevyužívají.

Špenát vzejde do čtrnácti dnů. Při pozdějším výsevu předčasně vykvétá. Sběr listů je možný 45 - 90 dní po vysetí. Je vhodný jako následná plodina po jakémkoli druhu zeleniny pěstované v první trati. V suchých měsících podporujeme růst zavlažováním (Pevná a kol., 1985).

V tab. 2. jsou uvedeny základní pěstitelské údaje. Z ní vyplývá, že je špenát na oproti čtyřboči méně náročný na prostor. Čtyřboč sázíme ve sponu 80 x 40 cm, rozdílná je i teplota klíčení, která je pro rostlinu 20 - 30 °C. Dále můžeme špenát sklízet ve třech různých obdobích, jak konstatuje Pekárková (2002).

Hmotnost 1000 semen	Spotřeba semen	Teplota klíčení	Klíčivost
10 g	3g na 1 m ²	5-10°C	4 roky

Období pěstování	Výsev	Vzdálenost rostlin (v cm)	Sklizeň
Jarní	III-IV	20x15	V-VI
Podzimní	VIII	20x15	X
Přezimující	IX	20x15	III-IV

Tab.2 Základní pěstitelské údaje pro špenát setý upraveno dle Pekárková (2002)

Vhodná doba pro sklizeň špenátu je, po vytvoření 5-6 listů. Sklízíme až do doby, před vznikem květů. Špenát se prodává ve dvou jakostech. Pro přímou konzumaci se dodává celá rostlina s krátkým kořenovým krčkem. Sběr proběhne za sucha, ráno po rose, nebo večer kvůli vadnutí listů. Z rostlin odstraníme poškozené, žluté a zeminou zašpiněné listy. Vyřadíme i rostliny, které přichází do květu. Při druhé jakosti lze zanechat jemně nažloutlé a mírně znečištěné listy od zeminy. Špenát nemá dlouhou dobu skladovatelnosti, proto musí být rychle konzumován, nebo zamražen. V ledničce si uchovává dobrou kvalitu maximálně týden (Pevná a kol.,1985).

2.2.2 Čtyřboč rozložitá

Čtyřboč je podle Pekárkové (2002) teplomilná rostlina, která má ráda vlhko. Uvedená autorka dále konstatuje, že vzhledem k dlouhotrvajícímu klíčení, náchylnosti k mrazu a rozložitosti rostliny se v zásadě vysazují rostliny předpěstované ze skleníku. Plody měří až 1 cm v průměru a jejich osemení je velmi tvrdé, proto se před výsevem namáčí do vody, aby nabobtnaly. Nejdříve po dvou dnech se vysévají do vysévacích nádob nebo sadbovačů. Po vzejití se skupina vzešlých rostlin jednotí. Sazenice se vysazují po mrazech na chráněné místo na venkovních záhonech, výhodné je i vysazení do pařeniště.

Na trvalé stanoviště se sazenice vysazují na tečnou vzdálenost 40 až 80 cm. Vytvářejí značnou listovou hmotu, proto je potřeba vzít v úvahu množství vysazených rostlin. Z počátku rostou pomalu, je proto výhodné umístit je mezi jinou rychle rostoucí a brzy

sklizenou zeleninu. Porost postupně tvoří souvislý přízemní kryt olistěných stonků. První sklizeň bývá 50 až 70 dní po výsevu (Pekárková 2002)

Z rostliny čtyřboče odřezáváme, nebo odštipujeme mladé dužnaté vrcholky výhonů se 4 až 5 listy před zahájením jejich kvetení. Takovou sklizní podpoříme jejich větvení a tvorbu nových výhonů. Rostlinu přitom nechudíme o starší střední listy, důležité pro asimilaci a další vývoj, prospívá jí pravidelná sklizeň. Hlavní růst a sklizeň trvá po dobu 3 až 4 měsíců. Toto období spadá do letních měsíců s vysokými teplotami od července (tehdy pravý špenát začíná kvést a ztrácí svou hodnotu) do září popřípadě října (Pekárková 2002).

2.3 Obecná charakteristika stresu

Stres je v obecném slova smyslu nepříznivý stav, vyvolaný činitelem, který je nazývaný stresor. Stres je odchylka od optimálních podmínek, vyvolávající chvilkové odezvy, trvalé změny a poškození na různých úrovních, které mohou vést až ke smrti rostliny (Kostrej et.al, 1998).

Termín stres se poprvé objevil v pracích kanadského endokrinologa Hanse Selyeho ve třicátých letech dvacátého století. Stres popisuje jako: soubor nespecifických reakcí organismu na kterýkoli tlak na něj kladený. Stres je změna v normální fyziologii organismu, která je tímto abnormálním tlakem prostředí způsobena. Faktory, které stres vyvolávají, se nazývají stresory (Selye 1936).

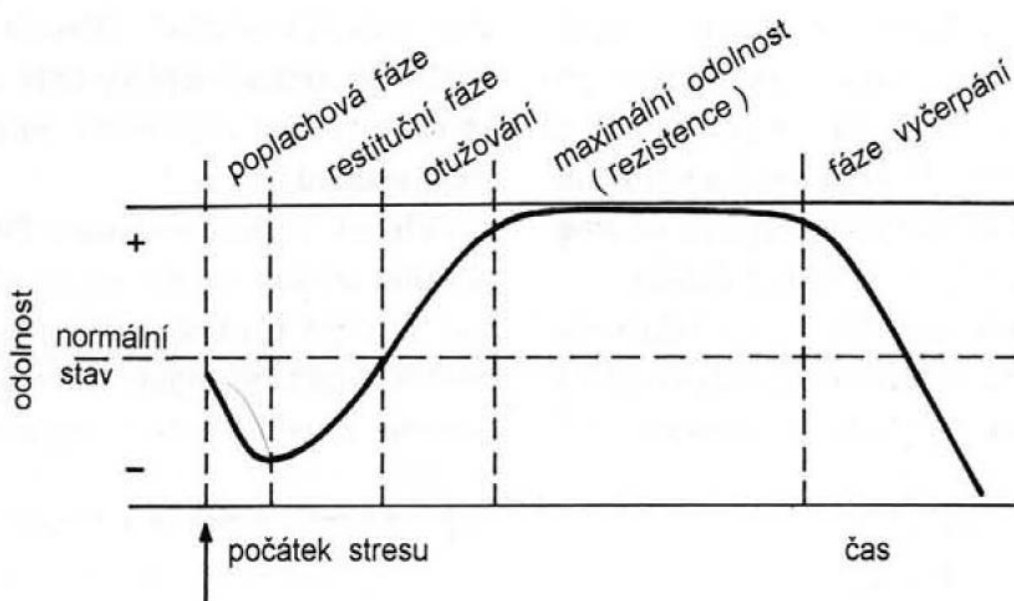
Podle intenzity a průběhu lze stresory rozdělit na: chronické a akutní (Mooney et al. 1991). Tausz (2001) uvádí, že akutní poškození nastává během krátkodobého působení vysokých hodnot daného polutantu (SO_2 , H_2S a O_3) a projevuje se okamžitým viditelným poškozením listů rostliny – dojde k vadnutí, nebo úplnému opadu listů. Chronické poškození se projevuje až po delším působení polutantů a pro vznik negativního účinků obvykle postačují i jeho nízké koncentrace. U rostlin se poškození projevuje sníženou produkcí biomasy, změnou jejich vývoje a morfologie a vyšší náchylností vůči stresům. Viditelné poškození obvykle chybí, nebo se objevuje až po delší době.

Stresové faktory často působí v kombinaci – toto společné působení zesiluje dopady stresu a označujeme ho jako „multiple stress impact“. Podle následnosti jsou stresory predispoziční (oslabují a snižují schopnost adaptace a tolerance), iniciující (podněcují chřadnutí) a přispívající (zesilují tlak, velmi často mají mortální charakter). Podle původu dělíme ještě na abiotické, biotické a antropogenní. Problematika stresu u rostlin je složitější než u živočichů.

Je to způsobeno nejen způsobem života, který jim neumožňuje opustit místo, ve kterém jsou vystaveni nepříznivým faktorům prostředí, ale také tím, že rostliny mají mnohem větší mezidruhovou variabilitu a různou heterogenitu vnitřního prostředí (buněk a pletiv), jak uvádí Mooney et al. (1991).

Brestič a Olšovská (2001) popisují stres jako: závislou proměnnou reakci organismu na libovolné působení okolního prostředí. Stresu v tomto směru můžeme porozumět jako všeobecné adaptační reakci organismu na vznikající narušení homeostázy, všeobecně nespécifikované hormonální reakci biologického systému v podmínkách ohrožujících narušení homeostázy. Je jasné, že tento stav vzniká v důsledku negativního působení faktorů na jeho funkce a procesy.

Skutečnost, že stres může sehrát pozitivní i negativní roli, umožnil autorovi H.Selyemu (1936) vyčlenit tzv. pozitivní stress (eustres) a destruktivní, oslabující, resp. negativní stress (distres). Podle tohoto autora lze za stav charakterizující stres považovat primární reakci organismu na stresové působení nazývanou „stresová reakce“ obr. 3. Pojem stresová reakce poprvé uvedl ve své práci Larcher (1987). Průběh stresové reakce je uveden na obr. 3



Obr. 3 Průběh stresové reakce (upraveno dle Larchera, 1995)

Z uvedeného schématu vyplývá, že poplachová fáze je zahájena ihned po účinku stresoru, kdy jsou jejich působením narušeny životní funkce rostliny a buněčné struktury. V restituční fázi začnou pracovat kompenzační procesy, pokud ovšem není překročena letální mez. Ve fázi rezistentní tyto mechanismy zvyšují odolnost rostliny vůči působícímu stresoru. Při dlouhodobém působení stresoru nemusí být zvýšena odolnost rostliny trvale a může tím dojít

k jejímu poklesu ve fázi vyčerpání. Výsledkem stresové reakce je určitá adaptační schopnost. Přechodně se může zvýšit i úroveň odolnosti vůči abiotickým stresorům – tento jen nazýváme aklimatizace. Některé rostliny se dokáží vyhnout působení stresů, ale většinou se rostlina pokouší nastolit toleranci vůči stresu (Larcher 2003).

Podmínky, které jsou pro jednu rostlinu stresové, mohou být pro jinou rostlinu optimální (Jones, 1989).

Stresové faktory, ať už fyzikálně – chemické či biologické mohou proniknout do vnitřního prostředí rostlin různých druhů, nesterjně snadno a to především díky různě vyvinutým ochranným strukturám. Tento způsob ochrany má především pasivní a dlouhodobý charakter (výrazná impregnace buněčných stěn, tlustá kutikula, rezervoáry vody a lehce rozložitelných látek tlumících jejich nedostatek). Lze to nazvat schopností vyhnout se stresu (stress avoidance), ke které přispívají vhodně načasované životní cykly (Levitt, 1980).

Nepříznivé vlivy vnějšího prostředí mohou zpomalovat životní funkce, poškodit jednotlivé rostlinné orgány, nebo dokonce přivodit smrt rostliny. Každý rostlinný druh má určitou toleranci k jednotlivým faktorům a interval mezi maximální a minimální tolerovanou hodnotou se nazývá ekologická valence faktoru. Optimální je taková hodnota faktoru, při které se organismus optimálně vyvíjí. Není pravidlem, že optimum musí být vždy uprostřed ekologické valence. Vlivem konkurence se často posouvá a může být i značně blízko letálních hranic. Pro jednotlivé vlivy prostředí lze s určitou opatrností stanovit meze, které nejsou pro růst a vývoj rostliny ideální a při kterých jsou už nutné změny vlastností, pro jejich další úspěšný vývoj a rozmnožování (Bláha a kol., 2003).

Schopnost genotypu odolávat nepříznivým podmínkám je však daná souborem vlastností projevujících se na různých úrovních od metabolismů na úrovni buňky, morfologii nadzemních orgánů a kořenů, až po strukturu porostu (Haberle, 2008).

Na živé organizmy nikdy nepůsobí jen jednotlivé faktory vnějšího prostředí, ale celý komplex vlivů abiotických (chemických a fyzikálních) a biotických (živých faktorů včetně člověka), které vstupují do vzájemných interakcí. Z toho vyplývá, že není možné stanovit přesnou hranici, kde se jedná pouze o silný tlak negativních vnějších podmínek a od kdy je již nutná obranná reakce rostliny, či změna genetické výbavy (Larcher, 2003).

2.4 Vodní deficit

2.4.1 Vodní stres

Vodní stres může vzniknout důsledkem dvou faktorů. Prvním je nadbytek vody, což má za následek především snížený přívod kyslíku ke kořenům – anoxie, nebo hypoxie. Druhým je naopak vodní deficit, kde dochází k vyčerpání zásoby vody. Pokles kyslíku v půdě (hypoxie) je nejběžnější typ stresového působení spojeného s utužením nebo zaplavením půdy. Může nastat například při krátkodobém zaplavení, kdy jsou kořeny rostlin ponořené pod vodou a jejich spotřeba kyslíku převyšuje celkové množství dostupného kyslíku. Míra hypoxie se liší v různých vrstvách vodního sloupce. Při hladině a ve svrchních vrstvách vody je koncentrace kyslíku nejvyšší, postupně však ubývá a v hlubších vrstvách může přejít až v tzv. anoxii. Anoxie, je naprostý nedostatek kyslíku, který nastává během dlouhodobého zaplavení zejména v hlubších vrstvách půdy. Kromě přímého negativního vlivu na fyziologické procesy v rostlinách má anoxie vliv i na chemismus půdy a mikrobiální složky rhizosféry (Ponnamperuma, 1984; Kirk et al., 2003).

Půdní mikroorganismy a kořeny rostlin potřebují pro svůj metabolismus kyslík. V zaplavené půdě je jeho přísun značně omezený. Po jeho spotřebování přecházejí aerobní mikroorganismy do klidové fáze nebo odumírají. Mnoho půdních mikroorganismů má ale schopnost využívat jako akceptory elektronů i jiné sloučeniny a převádět je tak do redukovaného stavu (např. redukce síranů na sulfan, denitrifikace). V půdě se hromadí rozpuštěný CO₂, který je produkován při anaerobní glykolýze v kořenech, a pH půd se většinou zvyšuje. Zaplavená půda má tedy nižší redoxní potenciál a obvykle neutrální pH (Ponnamperuma, 1984; Kirk et al., 2003).

2.4.2 Sucho

Sucho je obecné označení pro nedostatek vody v krajině. Vyvolává ho nedostatek atmosférických srážek v důsledku výskytu suchých období a je ovlivňováno mnoha dalšími faktory, včetně antropogenních. Definice sucha není proto jednoznačná a autoři k hodnocení jeho intenzity používají různé indexy sucha. Lze přitom vycházet z několika hledisek, která na sebe navazují - meteorologické sucho vyvolává agronomické sucho, hydrologické sucho a socioekonomické sucho. C. W. Thornthwaite (1947) rozlišoval tři hlavní druhy sucha

- stálé sucho, způsobující ariditu klimatu,

- sezonní sucho, nastávající periodicky v období sucha,
- nahodilé sucho, tvořící nepravidelně se vyskytující epizody sucha.

Sucho patří mezi největší meteorologicky podmíněná přírodní ohrožení zejména v chudých zemích (<http://slovník.cmes.cz>).

Sucho meteorologické je definované pomocí meteorologických prvků, především srážek, resp. jejich nedostatku, často vztahovaného ke klimatologickému normálu. Vzniká následkem dlouhých, nebo často se opakujících období sucha, přičemž důležitou roli hrají i další faktory, především výpar. Indexy sucha k hodnocení meteorologického sucha proto berou často v úvahu kromě množství a intenzity srážek buď přímo výpar, nebo meteorologické prvky, které ho ovlivňují: vlhkost vzduchu, teplotu vzduchu, rychlost větru, aj. V teplé části roku přitom bývá srážkový deficit často provázen nadnormální teplotou vzduchu, nižší relativní vlhkostí, zmenšenou oblačností a delším trváním slunečního svitu. Tyto faktory mají za následek větší evapotranspiraci a zmenšování vlhkosti půdy, což vyvolává agronomické sucho. Sucho agronomické definujeme jako nedostatek vody v půdě, který se projevuje nízkou půdní vlhkostí způsobenou meteorologickým suchem. Z dalších vlivů mají značný význam vlastnosti půdy, způsob jejího obhospodařování a celá řada dalších faktorů. (<http://slovník.cmes.cz>).

Larcher (1988) sucho popisuje jako období chudé srážkami, během něhož se obsah půdní vody sníží natolik, že rostliny trpí jejím nedostatkem. V místech, kde roční výpar přesahuje celkové roční srážky, nastává pravidelné a dlouhodobé sucho.

Bláha (2003) definuje sucho jako: nedostatek vody. Sucho snižuje aktivitu všech enzymů a zpomaluje růst celé rostliny. Příčinou nedostatku vody pro rostliny bývají nejčastěji klimatické poměry a průběh počasí. Vlastní příjem vody rostlinou je také závislý na obsahu živin a solí v půdě, ale také na půdní reakci. Vodní deficit je často ovlivňován i zasolením.

Brestič a Olšovská (2001) konstatují, že sucho vede k narušení vodní bilance a k nerovnováze mezi příjmem vody a požadavky na vodu během ontogeneze rostlin. V semiaridních podmínkách je vodní deficit frekventovaným jevem, se kterým se rostliny vyrovnávají podle stupně rezistence, resp. tolerance.

Dostupnost půdní vody a její nedostatek lze posoudit z různých hledisek. Hranici negativního působení z agronomického hlediska lze považovat stav, kdy začne docházet ke snižování růstů rostliny s průkaznými důsledky pro kvalitu a výnos produkce. Tomuto stavu předchází období, kdy rostlina není schopna pokrýt plně potřebu vody, ale dopad na celkový výnos je nevýznamný. V reakci na nedostatek vody se spouští v rostlině biochemické a fyziologické procesy a morfologické změny, jejichž pomocí se rostlina adaptuje na sníženou dostupnost

vody. Tyto adaptace lze pozorovat jako: urychlený vývoj, stáčení a vadnutí listů za horkých dnů, nebo rychlejší žloutnutí a opad listů. Citlivost k suchu i vysokým teplotám se mění v průběhu vývoje rostliny (Haberle, 2008).

Dostupnost vody je pro rostlinu daná jejím obsahem v půdních kapilárách a schopností jimi vzlínat. Při nižší vlhkosti je voda v kapilárách méně pohyblivá a její dostupnost pro rostlinu se snižuje. Rozmezí mezi lehce a těžce pohyblivou kapilární vodou udává tzv. lentokapilární bod (http://web2.mendelu.cz/af_291_sklad/frvs/hrudova/index_soubory/Page2275.htm).

Při jehož poklesu pod určitou hodnotu je voda pro rostlinu nepřístupná. Významný ukazatel zásobení půdy vodou je tzv. bod vadnutí, ten je stanoven na hodnotu sacího tlaku pF 4,19 a udává vlhkost půdy, kdy jsou rostliny vystaveny trvalému nedostatku vody, při kterém rostliny vadnou. Pokud jsou zavlaženy, dojde k obnově turgoru. Bod trvalého vadnutí je dán množstvím vody v půdě, při kterém rostlina vadne a již není schopna obnovit turgor po zpřístupnění vody. Kromě půdních podmínek je daný i druhem rostliny (http://web2.mendelu.cz/af_291_sklad/frvs/hrudova/index_soubory/Page2275.htm).

Nejsou-li v průběhu několika dnů nebo týdnů žádné srážky, vyčerpají se zásoby vody v půdě a vodní bilance rostlin se začne postupně zhoršovat. Během této situace snižují rostliny humidních oblastí svou spotřebu vody tím, že otevírají průduchy méně a na kratší dobu (Larcher 1988).

Je třeba rozpoznat sucho atmosférické, které je zvláště nebezpečné, protože nastupuje v poměrně krátké době a rostliny se mu většinou nestihnou přizpůsobit (suchý padavý vítr, tzv. fen) a sucho půdní, které je charakteristické nedostatkem vody v půdě. Pro výši výnosu je velmi nepříznivé, když po vlhkém jaru a začátku léta, přijde sucho, nebo suché větry v druhé polovině léta. U některých rostlin, které jsou odolné vůči suchu, bylo zjištěno, že mají otevřené průduchy i během nedostatku vody. Ztrácí vodu velmi pomalu, protože v její cytoplazmě stoupá množství dispergovaných hydrofilních částic, které poutají množství vody potřebné pro hlavní fyziologické funkce. Vedle fyziologických zvláštností mají rostliny i některé morfologické a anatomické zvláštnosti (tloušťka kutikuly, voskový povlak listů, redukce plochy listů, trichomy, postavení a velikost průduchů, aj.) Některé rostliny mohou svinout a skládat listy (kostřavy, kavyl, srha, aj.) Během nedostatku vody tím snižují transpirační povrch listů (Rožnovský, 2004).

2.4.3 Vliv vodního deficitu na rostliny

Snížení vodního potenciálu v rostlině ovlivní fyziologii buněk v několika směrech – dochází k poklesu chemické aktivity vody, čímž se mění struktura vody v buňce. To může vést ke změně struktury hydratačního pláště kolem bílkovin a sníží se tak jeho účinnost. Nastanou změny mezi intracelulárními membránami jádra, mitochondrií, chloroplastů, plazmalemou, endoplazmatickým retikulem a dalšími. Během ztráty turgoru se mění prostorové uspořádání kanálů a membránových enzymů a snižuje se tloušťka membrán. Následným smrštěním buněčné stěny se může zmenšit množství vody v subcelulárních místech (Nilsen et Orcutt, 1996).

Hayashi et Murata(1998), uvádí že – rostliny reagují na sucho vývojovými a fyziologickými změnami. Fyziologické mechanismy ochrany zahrnují soubor genů, které účinkují v několika možných cestách, a jsou regulované různými externími faktory. Analýzy pořadí těchto genů ukazují, že výsledné produkty těchto genů – proteiny na translační a transkripční úrovni mohou být funkční v odolnosti k suchu, jako i v jiných reakcích. Zvýšení genetické odolnosti rostlin vůči suchu se ukazuje jako významný problém v hospodářství. Geny, které jsou prakticky aplikovatelné v genovém inženýrství zvyšující odolnost vůči suchu a zasolení byly rozdělené do tří skupin:

- geny kódující všeobecně vyskytující se proteiny LEA, HSP, RAB, dehydriny, osmotín, apod.),
- geny kódující proteiny, které jsou potřebné pro transport iontů a iontovou homeostázu (kanály pro vodu, iontové kanály, Ca^{2+} ATP ázaapod...),
- geny kódující enzymy, které regulují syntézu osmoticky aktivních komponentů (enzymy pro syntézu pinitolu, prolinu, sorbitolu, glycinbetainu a nebo klíčové enzymy CAM mechanismu) Cellier et al. (1998).

Manipulace s geny první skupiny může být méně efektivní, než manipulace s geny jiných kategorií, které přímo souvisí s odolností k osmotickému stresu. Biotechnologie má v současnosti podle Cellier et al. (1998) 4 základní strategie na identifikaci mechanismů odolnosti vůči suchu na molekulární úrovni:

- Discovery strategy, která spočívá v identifikaci proteinu, který roste ve stresových a nestresových podmínkách, poté se izoluje gen, který způsobuje odolnost vůči suchu, ten se následně transferuje do jiného organismu, který nemá stejnou toleranci, aby se potvrdil jeho účinek,

- interference strategy, ve které dojde k zabudování genu do rostliny citlivé na stres a zjišťuje se, jestli vzniklá linie má požadovanou odolnost,
- strategie „antisense“, při které se odolný druh transformuje pomocí „antisense“ konstruktů, v jehož přítomnosti se netvoří žádný protein. Pokud linie ztratí svou odolnost, tak je pravděpodobně cílový gen ten správný,
- strategie využití mutantů. Zde dochází k selekci mutované linie odolných druhů, bez přítomnosti znaků a ty se poté transformují s genem, který má předpokládanou vlastnost.

Předpokládá se, že exprese genů během vodního stresu zvyšuje odolnost buněk vůči dehydrataci, ochranné funkce v cytoplazmě, udržují vodní potenciál pro příjem vody. Z množství genů a jejich produktů indukovaných během stresu stojí za zmínění především *lea* geny a LEA proteiny, poprvé identifikované během dozrávání semen (Bray 1993). Dále HaElip 1, HaDhn 1, a HaDhn2 geny a jejich produkty – dehydriny nacházející se v embryích a vegetativních pletivech (Cellier et al., 1998).

Dehydriny tvoří samostatnou skupinu v rámci velké rodiny LEA proteinů, která se vyznačuje charakteristickými strukturními vlastnostmi i specifickými funkcemi. Jejich úloha ve stresových reakcích nebyla dosud zcela objasněna. (Kosová et al., 2008). Dehydriny se vyskytují u všech vyšších rostlin (nahosemenných, krytosemenných, kaprad'orostů), přičemž v genomech krytosemenných rostlin se u všech zkoumaných rostlin vyskytuje několik dehydrinových genů kódujících proteiny, které patří do odlišných strukturních podskupin. Proteiny, které jsou podobné dehydrinům (dehydrin-likeproteins) obsahují ve svých molekulách strukturní a funkční analogie charakteristické dehydrinové sekvence tzv. K – segmenty, byly zjištěny u všech zkoumaných fotosyntetizujících organismů (mechů, chaluh, sinic) (Kosová et al., 2008).

Dehydriny jsou bohaté na polární aminokyseliny (threonin, serin) a na glycin. Jsou velmi hydrofilní, ve vodním roztoku se rozpustí po krátkém varu, to se využívá i k jejich izolaci. Nejvýznamnější funkcí dehydrinu, která je přímo spojená s aminokyselinovým složením jejich molekul a s jejich sekvenčním motivem – K – segmentem, je funkce ochranná. Dehydriny váží ve svých molekulách značné množství vody. V plně hydratovaném stavu jejich molekuly zaujímají konformaci randomcoil, která má tu vlastnost, že se v ní nachází jen minimum intracelulárních vodíkových vazeb, proto prakticky všechny aminokyselinové zbytky, které mohou tvořit vodíkové vazby, jsou využity k navazování molekul vody. Během dehydratace cytoplazmy, molekul vody v bezprostřední blízkosti dehydrinů ubývá, což vede

ke tvorbě intracelulárních vodíkových vazeb a ke svinování úseku K- segmentů do konformace α helixu (Kosová et al., 2008).

Předpokládá se, že poklesem turgoru v buňce, dochází ke změně vlastností některých klíčových proteinů cytoplazmatické membrány, aktivaci jejich kanálů, což spouští přenos signálu indukujícího expresi genu potřebného pro odolání vůči stresu (Assmann 1993).

Akumulace kyseliny abscisové (ABA) během vodního stresu je jedním z dalších kroků k přenosu signálu, který následně vyvolává expresi potřebných genů (Brestič a Olšovská 2001).

Podle Hoekstra et al. (2001) lze rozdělit kritický obsah vody na dvě fáze. Při první fázi dojde k dehydrataci rostliny, kde obsah vody v rostlině klesne na úroveň, při které se může ještě bez poškození rehydrot. Při druhé fázi dojde k dehydrataci, která vede k trvalému poškození buněk. Pokles vodního potenciálu se negativně projeví na růstu a vývoji rostlin. Ovlivňuje například růst a tvorbu buněčné stěny, citlivost průduchů, syntézu proteinů a biochemické a fotochemické procesy ve fotosyntéze.

Farooq (2008) konstatuje, že během sucha rostlinné buňky vykazují řadu biochemických a fyziologických reakcí. Sucho poškozuje buněčné membrány a narušuje aktivitu různých enzymů, nejvíce těch, které syntetizují ATP a fixují CO_2 . Buněčný růst je velmi citlivý na sucho v důsledku snížení turgoru. Při velkém nedostatku vody může být prodlužování buněk vyšších rostlin inhibováno přerušением vodního proudu z xylému na okolní prodlužující se buňky. Poruchy mitózy, poruchy prodlužování buněk a expanze může mít ve finální fázi za následek nižší výšku rostlin a zmenšenou listovou plochu.

V suchých oblastech mají podle Larchera (1988) rostliny zpravidla kořeny, rozrůstající se hluboko do půdy, a pletiva, ve kterých mohou uchovávat vodu, takže rychlost transpirace (a současně příjmu CO_2) se nemusí snižovat tak brzy. Tato schopnost je výsledkem přizpůsobení rostlin k suchým stanovištím. Některé efemérní druhy neomezují výpar vůbec a uchovávají si rychlost transpirace, dokud neuhynou. Haberle (2008) konstatuje, že rostlina reaguje na nedostatek vody zvýšeným růstem kořenů na úkor nadzemní části. Silný vodní stres však tvorbu kořenů snižuje, protože rostlina nemá dostatek asimilátů. Hlubší kořenový systém zlepšuje přístup k vodě v podorniční vrstvě, vyšší hustota kořenu zvyšuje příjem živin z vysychající půdy. Rostliny mohou vylučovat vodu přijatou z hlubších vrstev a uvolňovat ji v povrchových vrstvách, kde tím dočasně zlepší příjem živin. Pokud dojde k obnovení srážek, může mohutnější kořenový systém představovat výhodu, oproti rostlinám, které stresu vystaveny nebyly.

Snížení chlorofylu během vodního deficitu je považováno za typický oxidační stres a může být výsledkem fotooxidace pigmentů a degradace chlorofylu. Fotosyntetické pigmenty jsou důležité pro "sběr" světla během fotosyntézy a jejich snížení má negativní dopad, pro energetický provoz rostliny. Snížení chlorofylu *a* a *b* je úzce spjata s hladinou půdní vody a chlorofyl *a* je na nedostatek vody mnohem citlivější, než chlorofyl *b*. Změny chlorofylů byly sledovány na mnoha druzích rostlin v závislosti na trvání a intenzitě sucha. Ztráta chlorofylu během stresu je považováno jako hlavní příčinou inaktivace fotosyntézy. Nízké koncentrace fotosyntetických pigmentů mohou přímo omezit fotosyntetický potenciál a tím i primární produkci (Shakeel, 2011).

2.5 Rostlinné hormony a jejich role ve stresových podmínkách

2.5.1 Kyselina abscisová (ABA)

Nejvíce studovaným rostlinným hormonem s ohledem na sucho je kyselina abscisová (ABA). Některé z fyziologických důsledků sucha a indukce ABA v rostlinách zahrnují – především opad (listů, květů, ovoce), dormanci (semen, hlíz a oddenkových hlíz), kvetení (inhibice a stimulace), uzavírání průduchů, zvýšenou vodivost kořenů, zvýšený růst trichomů a ostnů, sníženou životaschopnost pylu, snížení odnožování trav, dále dochází k inhibici růstu a klíčení semen (Trewavas and Jones 1991).

Jednou z nejvíce studovaných fyziologických reakcí je uzavírání průduchů v důsledku působení ABA. Rostliny mají dva mechanismy, kterými mohou kontrolovat uzavírání průduchů. První mechanismus zahrnuje přemístění volné ABA z chloroplastů do apoplastu a navázání se k vnitřní straně membrán, což má za následek změnu transportu iontů, který vede ke změně turgoru a následnému uzavírání průduchů. Druhý mechanismus může přenést signál o indukci ABA prostřednictvím xylému. Je známo, že rostliny vystavené suchu vytváří vyšší hladinu ABA v kořenech, ta se poté může přemístit xylémem dále do rostliny. Tato hypotéza nám naznačuje, že podle množství ABA v kořenech lze s odhadem určit stupeň vlhkosti půdy. Kyselina abscisová se chová jako chemický signál, který je transportován do listů, kde dle potřeby uzavírá průduchy (Nielsen and Orcutt, 1996).

Za předpokladu, že atmosférické sucho působí na listy a průduchový aparát bezprostředně a půdní sucho je snímané prostřednictvím kořenů, jeho projev se bude časově a i funkčně lišit. Na atmosférické sucho reaguje rostlina velmi rychle zavíráním průduchů. Oproti tomu půdní sucho vzniká postupně a dochází zde k adaptačním reakcím v odlišné intenzitě. Vodivost

průduchů je v těsnější korelaci s obsahem půdní vody, než s obsahem vody v listech (Epron, 1993).

Ve špičkách kořenu se syntetizuje ABA, která slouží jako chemický signál a mediátor sucha. Transpiračním proudem se dostává do listů, kde způsobuje uzavírání průduchů, což má za následek snížení transpirace bez výrazné změny vodního potenciálu. Pro signalizaci změn v dostupnosti půdní vody stačí jen malé množství kořenů, které vytvoří dostatečné množství ABA. Nerovnoměrné rozmístění kořenů v různých vrstvách půdy s nerovnoměrným vodním potenciálem může představovat efektivní mechanismus pro řízení vodního režimu v polních podmínkách. Zásobení rostlin vodou závisí na stavu vody v horizontech kořenového profilu a na přenosu vody mezi jednotlivými horizonty (Epron, 1993).

ABA může mít vliv na syntézu giberelinů, které kontrolují rychlost expanze buněk, nebo může mít vliv na syntézu dalších hormonů, jako cytokininy a auxiny. ABA má pověst jako "inhibitor růstu". Existují přesvědčivé důkazy o tom, že zvýšená produkce ABA za sucha potlačuje hromadění etylénu, který by jinak růst inhiboval (Lenoble et al., 2004).

Kromě kyseliny abscisové se v buňkách akumulují prolin, betain a amoniové soli. Jejich akumulace a syntéza je součástí osmotického přizpůsobení rostlin k vodnímu nedostatku. Koncentrují se v cytoplazmě a udržují vodní potenciál buněk stabilní delší dobu a zvyšují postupnou toleranci k dehydrataci okolního prostředí (Hanson and Hitz, 1982).

2.5.2 Gibereliny

Gibereliny patří do velké skupiny tetracyklických, diterpenových fytohormonů, které regulují růst rostlin. Gibereliny ovlivňují různé vývojové procesy, jako klíčení semen, stimulují prodlužovací růst, zrání pylu, přechod z vegetativního růstu do květu, ovlivňují pohlaví květu (Olszewski et al., 2002). Kyselina giberelinová (GA) se rychle hromadí v rostlině, pokud je vystavena biotickému, nebo abiotickému stresu s cílem snížit nepříznivé účinky stresoru, např. zasolení. Bylo zjištěno, že podporuje růst rýže a pšenice v zasolených půdách a zvyšuje klíčivost semen (Ashraf, 2004).

Urbanová (2011) konstatuje, že gibereliny regulují indukci klíčení semen přerušením jejich dormance, indukci kvetení a také indukci prodlužování stonku zvýšením intenzity buněčného dělení. V současnosti je identifikováno přes 130 giberelinů, ale jen malá část je biologicky aktivních (GA₁, GA₃ a GA₄). Účinnost extrakce giberelinů z rostlinných pletiv závisí na jejich subcelulární lokalizaci a současně se také mění s polaritou molekuly giberelinu samotného, která je u této skupiny hormonů velmi rozdílná.

2.5.3 Cytokininy

Cytokininy (CK) jsou fytohormony, které mají antagonistickou funkci ke kyselině abscisové. Jsou známé v oblasti regulace růstu, buněčném dělení, mobilizaci živin, vývoji chloroplastů, podporují vznik pupenů, zpomalují stárnutí, způsobují apikální dominanci u kořenů a porušují apikální dominanci u stonku (Ashraf, 2004).

Cytokininy se tvoří především v kořenech, odkud se pohybují v xylému do nadzemní části rostliny. Cytokininy, které se vytváří v pupenech, se pohybují floémem směrem opačným – ke kořenům. Z celkových poznatků vyplývá, že během stresu se snižuje zásoba cytokininů v kořenech, což vede ke změně genové exprese ve výhonech. Rostlina tím následně získává větší odolnost vůči stresu (Ashraf, 2004).

Teplotní stres způsobuje přechodné zvýšení hladiny bioaktivních cytokininů převážně N⁶ - (2 - isopentenyl) adenosin. Souběžně byl pozorován přechodný pokles kyseliny abscisové (Dobrá, 2010).

Během sucha se snižuje hladina cytokininů v některých částech rostliny, vyšší koncentrace zůstává v horních listech a kořenech. Aktivita cytokininoxidázy a dehydrogenázy je silně stimulována v horních listech a kořenech stresovaných rostlin. Cytokinin oxidáza ovlivňuje hladinu cytokininů v rostlinách. Genetickou manipulací s cytokinin oxidázou také může být modifikováno množství cytokininů v rostlině (Dobrá, 2010).

Na konci července 2012 udělil evropský patentový úřad (EPO) evropský patent na látku INCYDE. Výhodou této látky jsou extrémně nízké dávky, kombinovatelnost cytokininových antagonistů s jakýmkoliv jiným komerčním přípravkem pro moření osiv, nulové riziko fytotoxicity na cílových plodinách, nulové ekologické riziko v případě použití jak pro životní prostředí, tak i pro člověka. INCYDE podporuje růst kořenové soustavy, zvyšuje výnos a také odolnost rostlin proti suchu, které aktuálním problémem zemědělství v posledních letech a neexistuje zatím jiné efektivní řešení (<http://www.cr-hana.eu/1815/novy-evropsky-patent-pro-c-r-hana/>).

2.5.4 Auxiny

Rostlinný hormon auxin (IAA) je klíčový regulátor mnoha vývojových procesů rostlin. Jeho zásadní úloha spočívá v regulaci prostorových a časových aspektů růstů rostlin a přispívá tak k integraci a koordinaci jejich vývoje. Auxin se na rozdíl od ostatních růstových regulátorů vyznačuje tím, že jeho molekuly jsou v některých pletivech transportovány na větší vzdálenost a jejich transport je polární (<http://lhr.ueb.cas.cz/index.php?clanek=9>).

Ashraf (2004) konstatuje, že auxin má významnou úlohu v regulaci růstu rostlin. Řídí prodlužování buněk, vývoj vodivých pletiv a apikální dominanci. Bylo dokázáno, že reaguje na zasolení. Obsah auxinu v rostlině během zasolení je podobný jako u kyseliny abscisové. Aplikace auxinů během zasolení částečně snižuje účinky soli, což dokazuje, že zasolení způsobuje nerovnováhu rostlinných hormonů, která vede k poruchám růstu.

Auxiny mají společný aromatický skelet s karboxylovou skupinou v postranním řetězci. Nejdůležitější zástupce přirozených auxinů je kyselina indolyl-3-octová (IAA). Mezi další látky auxinové povahy, patří: kyseliny 4-chlor-indolyl-3-octová (4-Cl-IAA), indolyl-3- máselná (IBA) nebo fenyl-3-octová (PAA), které se vyskytují v rostlinách v mnohem menších množstvích a jejich význam je proto pouze okrajový (Penčík 2009).

2.5.5 Etylén

Etylén je rostlinný hormon zapojený do řady vývojových procesů. Urychluje dozrávání ovoce, stárnutí květů, opad listů, zvyšuje odolnost vůči stresu. Tvorba etylénu v rostlině je ovlivněna auxiny (Sheng, 2004).

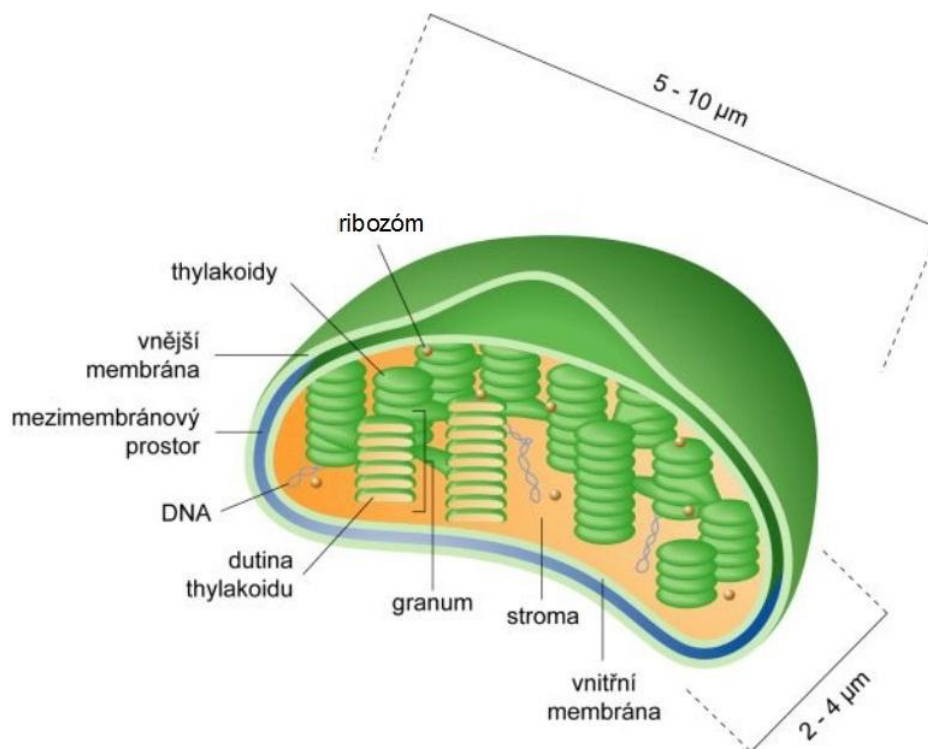
Etylén antagonisticky působí na kyselinu abscisovou. Jeho signál je přijímán EIN (ethyleneinsensitive protein), ETR (ethylene response) a ERS (ethylene response sensor). ETR1 ovlivňuje toleranci k zasolení a osmotickému stresu, je také ovlivňován kyselinou abscisovou. Mezi alelami téhož genu se liší vztahy. Mutant ETR1 – 1 je citlivější ke kyselině abscisové a jeho projevem se snížená tolerance vůči stresu, zatímco ETR1 – 7 je ABA insenzitivní a rostlina je více tolerantní (Wang et al., 2008a).

Podle Narayana a kol. (1991) podporují různé druhy stresu produkci etylenu u rozdílných rostlinných druhů v různých rostlinných pletivech. Mezi stresy, podporující tvorbu etylenu, patří záplavy, napadení hmyzem, mechanické poranění, silné záření, chemické látky, zchlazování, zmrazování, vysoké teploty a také výše zmiňované sucho.

2.6 Fotosynteticky aktivní pigmenty

Chloroplast (obr. 4) je buněčná organela, která patří mezi plastidy. Je bohatý na membrány a je nedílnou součástí fotosyntézy. Fotosyntetizující buňka může obsahovat pouze jeden chloroplast, nebo naopak tisíce. Chloroplasty mají různé tvary i velikosti. Nejčastěji bývají ve tvaru elipsoidu o velikost přibližně 5 μm . Vnější obal je tvořen silně prostupnou vnější membránou a téměř nepropustnou vnitřní membránou, která odděluje poměrně úzký mezi

membránový prostor. Uvnitř chloroplastu se nachází tzv. stroma, které obsahuje kromě enzymů i tzv. chloroplastovou DNA, RNA a ribozomy. Thylakoidy tvoří soustavu membrán, která vypadá jako mincovité váčky poskládané na sebe do sloupců, tzv. grana, a pospojovaných můstky, tzv. stromálními thylakoidy. Chloroplast běžně obsahuje 10 - 100 gran (<http://www.gate2biotech.cz/dictionary.php?word=57>).



Obr. 4 Struktura chloroplastu (zdroj: <https://eluc.kr-olomoucky.cz/verejne/lekce/7>)

Průměrný list tvoří zhruba 70 milionů buněk obsahujících cca $5 \cdot 10^9$ chloroplastů. Každý list obsahuje asi 600 milionů molekul chlorofylu, jehož celkový počet se odhaduje na 10^{18} (von Wettstein et al, 1995).

Chlorofyl a je nezbytný pro přeměnu energie ve fotosyntéze, všechny ostatní pigmenty plní jen funkci pomocnou – zachycují kvanta záření, které rezonančním mechanismem přenášejí na chlorofyl a (von Wettstein et al., 1995).

Karotenoidy jsou přírodní pigmenty, které jsou syntetizovány mikroorganismy a rostlinami. Struktura každého karotenoidu určí jeho barvu i fotochemické vlastnosti jeho molekuly. Dále z této struktury vyplývá i chemická reaktivita karotenoidů vzhledem k oxidačním agens nebo volným radikálům, která v organismu živočichů konzumujících karotenoidy v potravě hraje významnou roli (Hlubík a Opltová, 2004).

Karotenoidy jsou jedny z nejdůležitějších přírodních pigmentů. Odhaduje se, že roční tvorba karotenoidů v biosféře je 10^8 tun, i když je jejich koncentrace v přírodním materiálu cca 0,02 – 0,1% sušiny. Pro praktické využití se karotenoidy získávají extrakcí z rostlinného materiálu, v průmyslovém měřítku se provádí jejich částečná i totální syntéza. Karotenoidy se využívají jako potravinářská barviva a v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu (Vondrážka 1996).

V rostlinách jsou karotenoidy principiálně asociovány s chlorofyly v chromoplastech, (resp. chloroplastech). V dnešní době je známo cca 700 přirozeně se vyskytujících karotenoidních pigmentů. Z tohoto počtu asi 50 sloučenin vykazuje aktivitu vit. A, které se nazývají provitaminy A a patří mezi retinoidy (Masák a kol. 1992).

Karotenoidy se dělí na dvě hlavní skupiny:

- uhlovodíky nazývané karoteny,
- kyslíkaté sloučeniny (aldehydy, alkoholy, epoxidy, ketony) odvozené od karotenů, které se nazývají xantofyly.

Podle struktury uhlovodíkové molekuly může karotenoidy rozdělit na:

- karotenoidy s acyklickou strukturou (např. lykopen),
- karotenoidy s monocyklickou strukturou (např. γ -karoten, δ -karoten),
- karotenoidy s bicyklickou strukturou (α -karoten, β -karoten, lutein)

(Masák a kol. 1992).

Nejdříve se odbourávají chlorofyly a probíhá syntéza sekundárních karotenoidů. Sníží se obsah luteinu, β – karotenu, i neoxantinu. V procesu zrání plodů se kompletně mění obsah chromoplastů a dominují deriváty β – karotenu – zeaxantin (Moosner 1990).

3 Cíle a hypotézy

V dnešní době je vodní deficit významným stresovým faktorem, který limituje zemědělskou produkci. Po vyčerpání dostupné půdní vody se rostlina přestává optimálně vyvíjet, což má za následek snížení výnosu. Na vodní deficit velmi citlivě reagují zeleniny, které mají vyšší nároky na vodu, a proto byly stanoveny následující cíle práce:

- stanovit změny obsahu pigmentů u sledovaných druhů rostlin ve vztahu k vodnímu deficitu.
- stanovit vliv druhu rostlin na obsah fotosynteticky aktivních pigmentů.

Na základě cílů byly navrženy hypotézy:

- existují mezi genotypové rozdíly v reakci na vodní deficit?
- existují rozdíly v obsahu pigmentů a jejich fluorescence při působení vodního deficitu?

Cílem této práce je zjištění změn fotosynteticky aktivních pigmentů, během nedostatku vody u vybraných druhů zelenin. Byl vybrán špenát setý a čtyřboč rozložitý, poněvadž se jejich produkce a poptávka v posledních letech zvyšuje.

4 Metodika

U rostlin špenátu setého a čtyřboče rozložitě byl sledován vliv vodního deficitu na obsah fotosynteticky aktivních pigmentů a jejich fluorescence v závislosti na působení vodního deficitu.

4.1.1 pokusný materiál

Do pokusu byly zařazeny rostliny čtyřboč rozložitě a špenátu setého odrůdy Matador. Osivo uvedených rostlin bylo získáno z komerčních zdrojů.

Čtyřboč rozložitá

Jedná se o jednoletou bylinu, která tvoří mohutné trsy s rozvětvenými, až metr dlouhými lodyhami, které bohatě větví. Plody se před výsevem namáčejí do vlažné vody, aby

nabobtnaly a urychlilo se tak jejich vzcházení. Vysévají se na začátku března do pařeniště a jejich počáteční růst je pomalý. Na stanoviště se vysazují, jakmile pomine riziko pozdních mrazů a sází se ve sponu 80 x 40 cm. Během První sklizeň probíhá 50 – 70 dní po výsevu. Odštipujeme vrcholky výhonů se 4 – 5 listy. Lze sklízet i samostatné listy. Výživa a způsob úpravy je stejný jako u špenátu. Sklizeň spadá do letního období s vysokými teplotami, kdy obyčejný špenát vybíhá do květu. Hlavní přednost novozélandského špenátu je vysoký výnos a minimum odpadní při zpracování

(<http://www.semo.cz/homegardencz/index.php?s=&druhid=526&Spenat-novozelandsky>).

Špenát setý 'Matador'

Raná odrůda vhodná pro jarní i podzimní sklizeň. Rostlina je střední, až mohutná s polovzpřímenými, až vzpřímenými listy. Ty jsou oválné se zakulacenou špičkou, světle zelené, slabě bublinaté. Má dobrou odolnost proti vymrzání. Vegetační doba je u jarní kultury přibližně 52 dní, u podzimní přibližně 64 dní a u zimní zhruba 240 dní. Ze 100 m² lze sklídit z jarní sklizně 200 kg, z podzimní sklizně 180 kg a ze zimního pěstování 240 – 250 kg listové hmoty. Matador je výnosná odrůda se značnou odolností proti plísním a vybíháním do květu.

Rychlým počátečním růstem umožňuje časté sklizně

(<http://www.semo.cz/homegardencz/index.php?druhid=43&odrudaid=39022>).

4.1.2 Založení pokusu

Rostliny byly pěstovány v částečně řízených podmínkách skleníku FAPPZ. Teplotní režim byl ve dne nastaven na 21 °C a v noci na 17 °C. Rostliny byly pěstovány za přirozené délky dne a přirozeného osvětlení.

Schéma nádobového pokusu zahrnuje dvě varianty: variantu kontrolní a variantu stresovanou. Varianta kontrolní byla zavlažována na úroveň 70 % VVK (půdní vodní kapacity), což znamená, že každá rostlina byla zalita zhruba 250 ml vody. U varianty stresované byl vodní stres navozen postupným přirozeným vysycháním substrátu po dobu 12 dnů a poté byla obnovena zálivka na úroveň kontrolních rostlin (rehydratace). Pro výsev byl zvolen zahradnický substrát A, který je vyroben z kůrového kompostu, dřevního vlákna, vrchovištní světlé a černé rašeliny slabě až středně rozložené s přípravkem vápence pro úpravu pH a minerálního hnojiva NPK. Substrát je vhodný pro zlepšení půdních vlastností – přidáním do půdy ji provzdušňuje. Jeho optimální pH je od 5,5 do 6,5. Spalitelné látky min. 35 %, částice nad 25 mm max. 5 %. Obsah živin činil: N – 80 až 120 mg.l⁻¹, P₂O₅ – 50 až 100 mg.l⁻¹, K₂O – 100 až 150 mg.l⁻¹. Obsah rizikových

prvků splňuje zákonem stanovené limity mg.kg^{-1} sušiny. Cd 1; Pb 100; Hg 1; As 10; Cr 100; Cu 100; Ni 50; Zn 200.

Jako nádoby byly použity kontejnery o velikosti 11 x 11 cm. Každá nádoba obsahovala jednu rostlinu. Rozmístění nádob v řízených podmínkách vycházelo z principu metod Latinského čtverce. Pokus byl zahájen po vytvoření čtyř pravých listů. Fyziologické parametry pokusných rostlin byly sledovány ve dvoudenních intervalech.

4.2 Měření fyziologických charakteristik

4.2.1 Spektroskopické stanovení obsahu pigmentů

Spektrofotometricky byl stanoven obsah chlorofylů podle platných metodických pokynů (Šesták a kol., 1966).

Pro výpočet koncentrace chlorofylů v extraktu byly použity matematické vztahy Arnona (1956)

$$ca = 12,25 \cdot E_{663} - 2,79 \cdot E_{647}$$

$$cb = 21,50 \cdot E_{647} - 5,10 \cdot E_{663}$$

$$cc = \frac{1000 \cdot E_{470} - 1,82 \cdot ca - 85,02 \cdot cb}{198}$$

198

Příprava vzorku pro měření probíhala v laboratoři katedry botaniky a fyziologie rostlin. Odebraný rostlinný materiál byl zhomogenizován a převeden do polárního rozpouštědla, kterým byl aceton, p. a. K měření absorbance extraktu při daných vlnových délkách byl použit přístroj Helios gamma, viz obr. 5.



Obr. 5 Spektrofotometr Helios gamma

Přístroj slouží k měření spektra v oblasti ultrafialového a viditelného záření. Slouží pro analýzu chemických látek na principu objektivního - instrumentálního porovnání jejich barevnosti (<http://www.firebrno.cz/pracoviste-laborator/pristrojove-vybaveni>).

4.2.2 Stanovení obsahu pigmentů pomocí chlorofylmetru

Měření obsahu chlorofylů pomocí chlorofylmetru CCM200 (Chlorophyll Content Meter), obr. 7, patří k nedestruktivním metodám (během měření nedojde k poškození rostlinného materiálu).

Chlorofylmetr, využívá k měření koncentrace chlorofylů v rostlinném vzorku rozdílné absorpce chlorofylů v živých listech, v různých vlnových délkách viditelného světla. Chlorofyly mají dvě hlavní absorpční maxima a to v modré a červené oblasti viditelného světla. Minimální absorpce chlorofyly nastává při infračerveném záření a v zelené oblasti spektra (Návod k přístroji CCM - 200). Za pomoci interferenčních filtrů se změní rozdíl absorpcí listu při 670 a 750 nm (Šesták, Čatský, 1996). Obsah fotosynteticky aktivních pigmentů je stanovován jako hodnoty SPAD.

Měřicím prostorem přístroje je kolečko o průměru 1 cm, které se před měřením přiloží na list. Každé měření trvá 2-3 s. Detektory jsou dvě silikonové diody s integrovanými zesilovači pro

měření absorpce a zdroj energie, který monitoruje teplotní kompenzaci. Rozsah teplot měření chlorofylmetru se pohybuje v rozmezí od 0 do 50 °C (Návod k přístroji CCM - 200).

4.2.3 Stanovení fluorescence chlorofylů

Fluorescence chlorofylu není statická veličina, ale mění se v závislosti na čase. Pokud rostlinu adaptovanou na temno vystavíme kontinuálnímu světlu intenzita fluorescence začne vykazovat změny. Tyto změny jsou způsobeny rozdíly v rychlostech fotochemie v chloroplastech. V temnotně adaptovaném stavu, který je fotochemicky neaktivním stavem thylakoidní membrány, jsou obecně všechna reakční centra PSII a přenašeče elektronů na akceptorové straně PSII reoxidovány. V tomto stavu je možné zaznamenat tzv. minimální výtěžek fluorescence (F_0 nebo O), jestliže je vzorek v před zatemněným stavu ozářen slabým měřícím paprskem fluorimetru. Pokud je vzorek následně ozářený krátkým saturačním pulzem bílého světla, způsobí tento pulz uzavření všech aktivních reakčních center PSII, protože dochází k úplné redukci primárního elektronového akceptoru, doprovázeno úplným vysycením fotochemických procesů v PSII. Tím je zaznamenán maximální výtěžek fluorescence F_m . Rozdíl mezi F_m a F_0 je označován jako maximální výtěžek variabilní fluorescence v temnotě F_v . F_v vypočítáme podle vztahu:

$$F_v = F_m - F_0.$$

Nejčastějším způsobem využití metody měření fluorescence chlorofylu je pozorování reakce na ozáření rostlin (listů), které jsou adaptované na tmu na malých vzdálenostech (1 – 100 mm). Při této metodě se používají fluorometry pracující na principu pulzní amplitudované modulace

(http://kfrserver.natur.cuni.cz/lide/edmunz/praktika_fr/mb130c14/navody/3_fluorescence.pdf)

.

Pro měření v daném pokusu byl použit fluorometr OS1-FL(OptiSciences, Velká Británie) viz obr. 6.



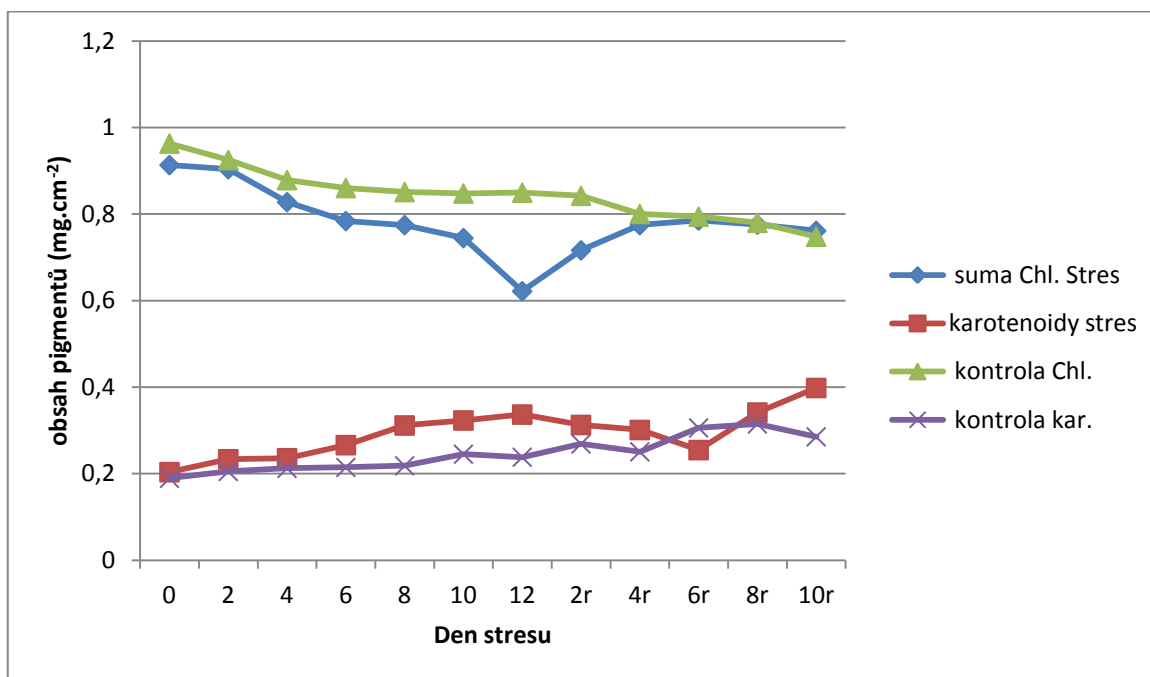
Obr. 6 Příklad OS1-FL (OptiSciences, Velká Británie)



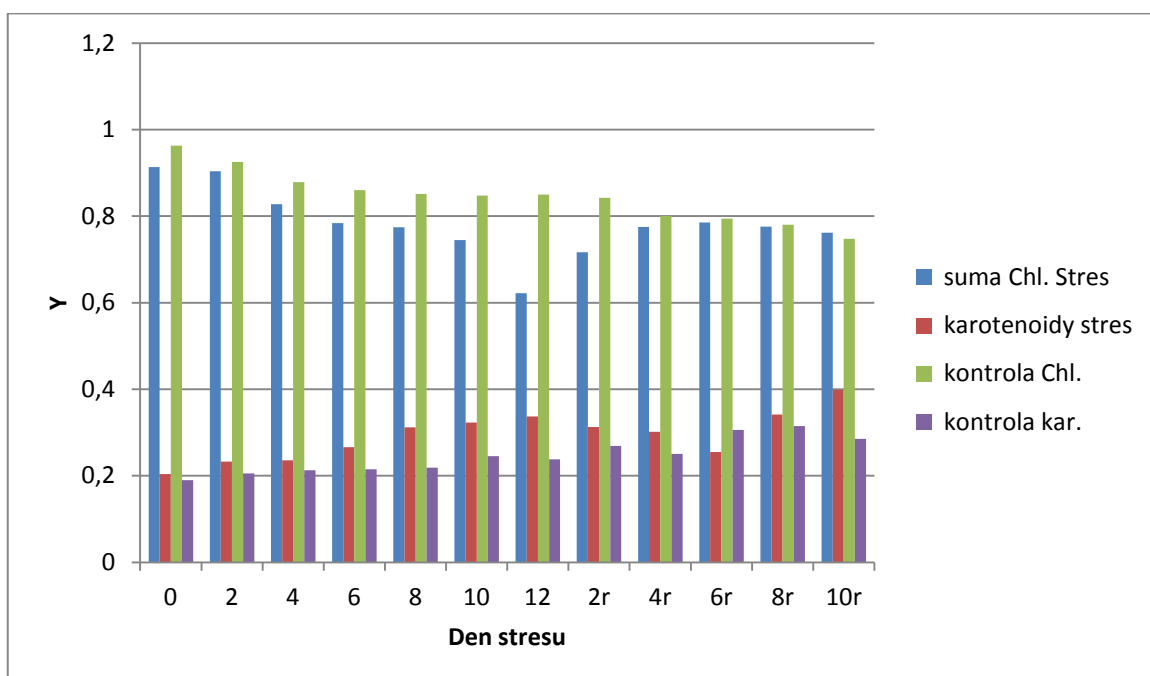
Obr. 7 CCM 200 (OptiSciences, Velká Británie)

5 Výsledky

5.1 Obsah fotosynteticky aktivních pigmentů



Graf 1. Obsah chlorofylů a karotenoidů ($\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}$) v listech špenátu setého v závislosti na variantě pokusu.



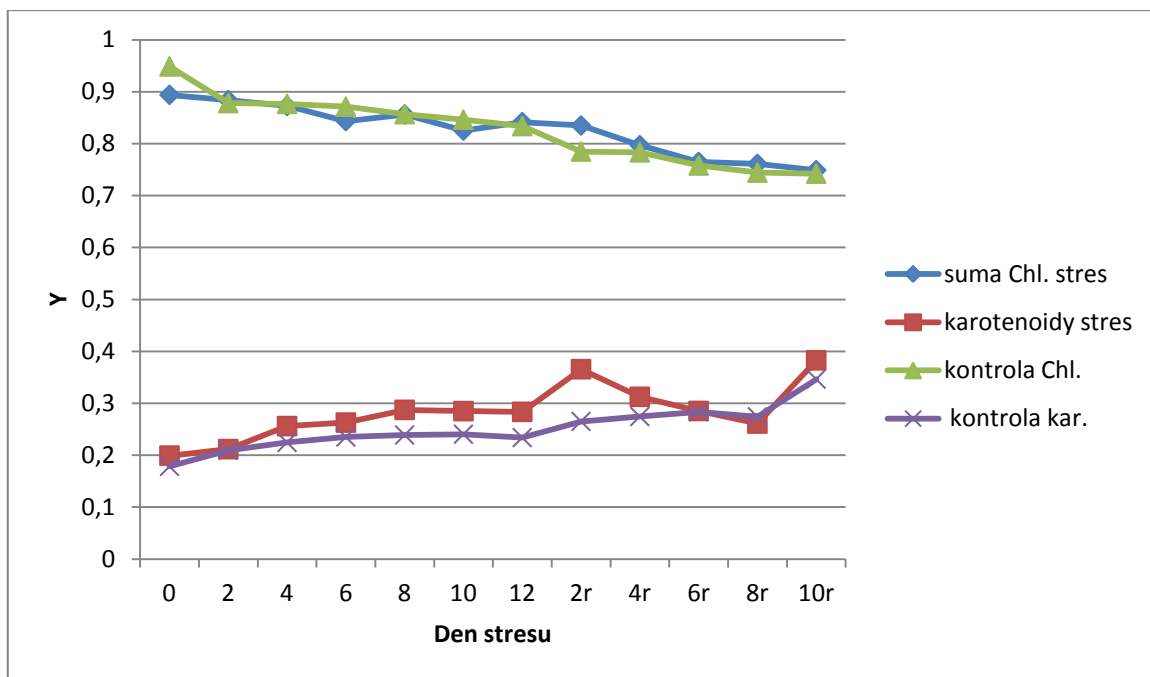
Graf 2. Obsah chlorofylů a karotenoidů ($\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}$) v listech špenátu setého v závislosti na variantě pokusu.

V grafu 2 jsou zobrazeny změny obsahu pigmentů v listech špenátu setého v závislosti na variantě pokusu a délce trvání stresu. Obsah pigmentů byl stanoven spektrofotometricky. Nejvyšší hodnota obsahu chlorofylů byla zjištěna u obou variant pokusu během prvního měření (0. den stresu) – 0,913 mg.cm⁻². Naopak nejnižší naměřená hodnota byla zjištěna u rostlin stresovaných 12. den stresu – 0,622 mg.cm⁻². V rozmezí těchto hodnot docházelo k plynulému poklesu obsahu chlorofylů *a* a *b* v listech špenátu stresovaných rostlin. Po obnovení zálivky se obsah chlorofylů v listech stresovaných rostlin špenátu postupně zvyšoval z hodnoty 0,622 mg.cm⁻² (12. den stresu) na hodnotu 0,785 mg.cm⁻² (6. den rehydratace). Následně byl zaznamenán pokles obsahu chlorofylu o 0,024 (10. den rehydratace), jak je patrné z grafu 2.

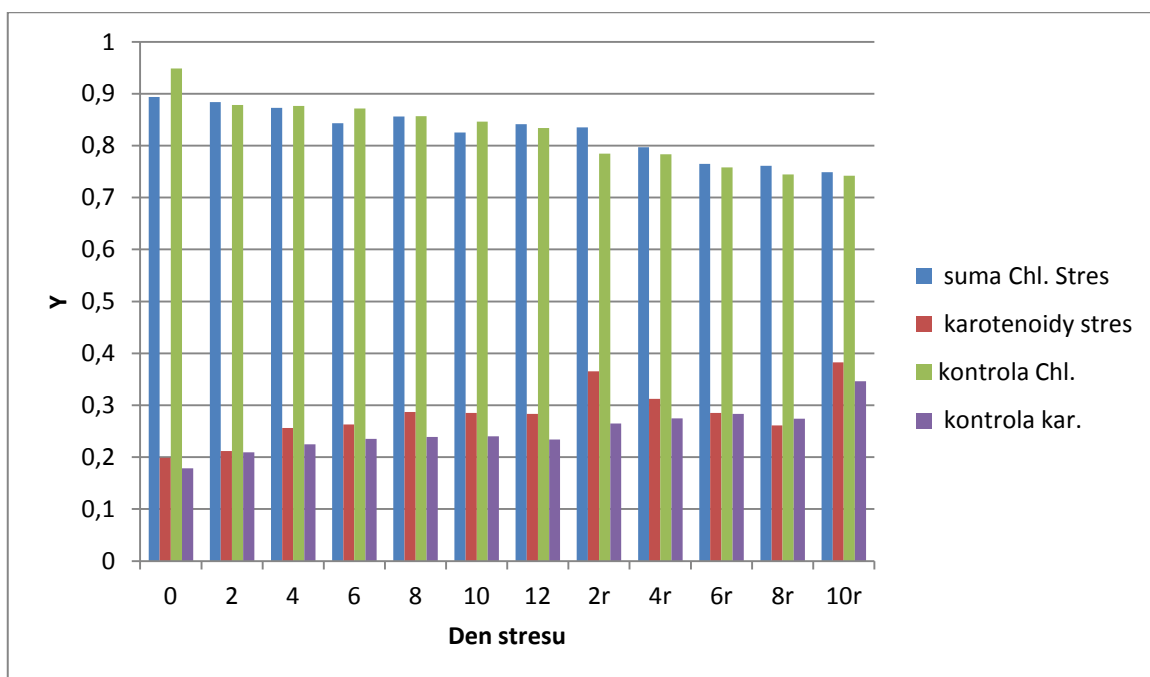
U kontrolní varianty byla zaznamenána nejvyšší hodnota obsahu chlorofylů při prvním měření (0,963 mg.cm⁻²) a nejnižší na konci pokusu 0,747 mg.cm⁻² (10. den rehydratace). Nejvyšší rozdíl mezi stresovanou a kontrolní variantou byl zjištěn 12. den stresu. Rozdíl činil 0,227 mg.cm⁻² mezi stresovou (0,622 mg.cm⁻²) a kontrolní variantou (0,849 mg.cm⁻²), jak dokládá graf 2.

Z grafu 2 je dále patrné, že obsah karotenoidů se v listech špenátu setého během působení vodního stresu zvyšoval. Nejnižší naměřená hodnota byla zjištěna během prvního měření (0,204 mg.cm⁻²). Vlivem zvyšujícího se nedostatku vody, narůstal postupně obsah karotenoidů, který dosáhl nejvyšší hodnoty před rehydratací – 12. den stresu (0,336 mg.cm⁻²). Je tedy zřejmé, že sucho zvýšilo hladinu karotenoidů mezi těmito termíny o 0,132 mg.cm⁻². Po obnovení zálivky obsahovaly listy nejméně karotenoidů 6. den rehydratace (0,254 mg.cm⁻²). V posledních dvou termínech došlo k opětovnému nárůstu, 10. den rehydratace byl naměřen nejvyšší obsah karotenoidů za celý průběh pokusu (0,398 mg.cm⁻²).

V případě rostlin kontrolních byl obsah karotenoidů mezi 0. dnem stresu (0,189) a 8. dnem stresu (0,218). Relativně vyrovnané. Nárůst obsahu karotenoidů se zvýšil mezi 8. dnem stresu a 10. dnem stresu o 0,027 mg.cm⁻². Velmi výrazný nárůst obsahu karotenoidů v listech kontrolních rostlin byl naměřen 6 den rehydratace (0,305 mg.cm⁻²) a 8 den rehydratace, při kterém byla naměřena nejvyšší hodnota – 0,315 mg.cm⁻². Stresované rostliny dosahovaly u karotenoidů vyjma 6. dne rehydratace vyšších naměřených hodnot obsahu karotenoidů.



Graf 3. Výsledky měření sumy chlorofylů a karotenoidů ($\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}$) u čtyřboče rozložitě



Graf 4. Výsledky měření sumy chlorofylů a karotenoidů ($\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}$) u čtyřboče rozložitě

Z grafu 4. je patrné, že rostliny po vystavení stresu reagují pomaleji na vodní deficit, než rostliny špenátu, viz. graf 2. Nejnižší hodnota obsahu chlorofylů byla naměřena 10. den rehydratace – $0,748 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-2}$, naopak nejvyšší během prvního odběru – $0,893 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-2}$. Od začátku působení stresu se obsah chlorofylu v listech čtyřboče pozvolna snižoval, k znatelnějšímu poklesu došlo 6. den stresu ($0,843 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-2}$), kde obsah činil o $0,029 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-2}$ méně, než v předchozím termínu ($0,872 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-2}$). Dále došlo k drobnému nárůstu mezi 10 a

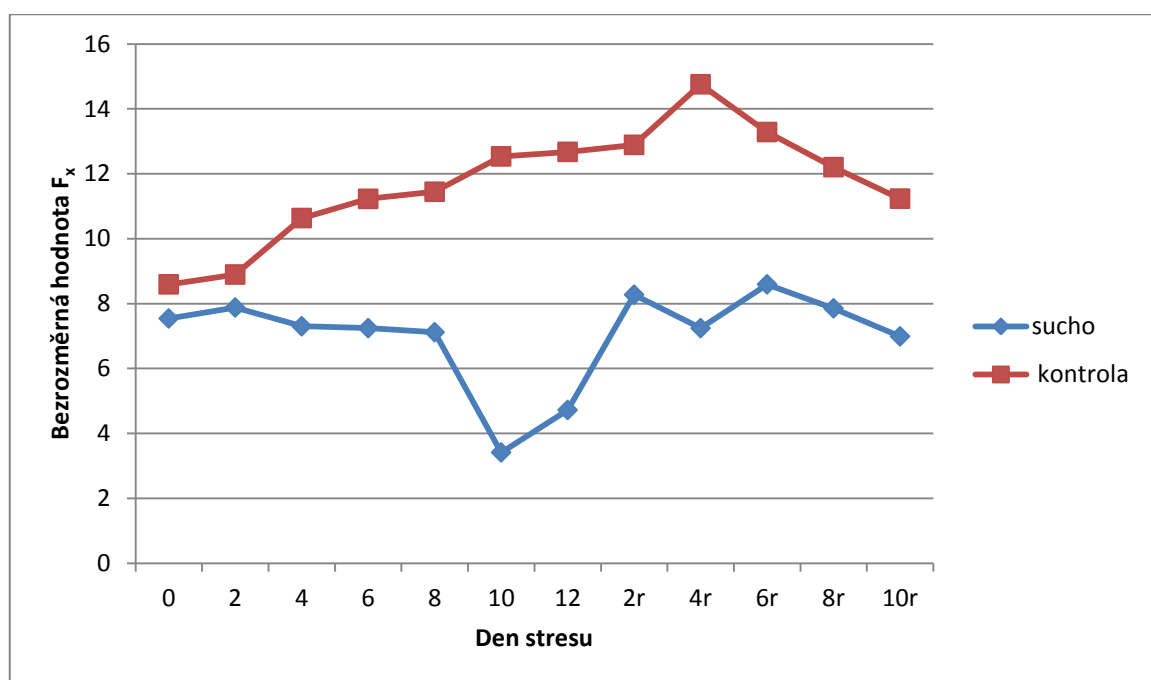
12 dnem stresu – $0,016 \text{ mg.cm}^{-2}$ z původní naměřené hodnoty $0,825 \text{ mg.cm}^{-2}$ (10. den stresu). Od rehydratace poté následoval plynulý pokles, na nejnižší hodnotu ($0,758 \text{ mg.cm}^{-2}$).

Kontrolní varianta dosahovala nejvyšší hodnoty ($0,948 \text{ mg.cm}^{-2}$) a zároveň největšího rozdílu mezi stresovanou a kontrolní variantou ($0,055 \text{ mg.cm}^{-2}$) během prvního měření. Shodně se stresovanými rostlinami bylo dosaženo nejnižší hodnoty při posledním odběru – $0,742 \text{ mg.cm}^{-2}$. Obsah chlorofylů v listech se mezi prvním a posledním termínem lineárně snižoval, výjimku tvořil pouze 2. den rehydratace, kde se hodnota oproti termínu předchozímu snížila o $0,049$.

Testované rostliny čtyřboče rozložitě, vykazovaly ve stresových podmínkách obdobný nárůst obsahu karotenoidů, jako tomu bylo u špenátu. Interval naměřených hodnot se pohyboval v rozmezí od $0,199 \text{ mg.cm}^{-2}$ (0 den stresu) do $0,365 \text{ mg.cm}^{-2}$ (2 den rehydratace). Pokles naměřených hodnot byl zaznamenán mezi 2 dnem rehydratace ($0,365 \text{ mg.cm}^{-2}$) a 8 dnem ($0,260 \text{ mg.cm}^{-2}$), jak je zřejmé z grafu 4. Z výše zmíněného grafu je také patrné, že poslední den došlo k opětovnému nárůstu obsahu karotenoidů.

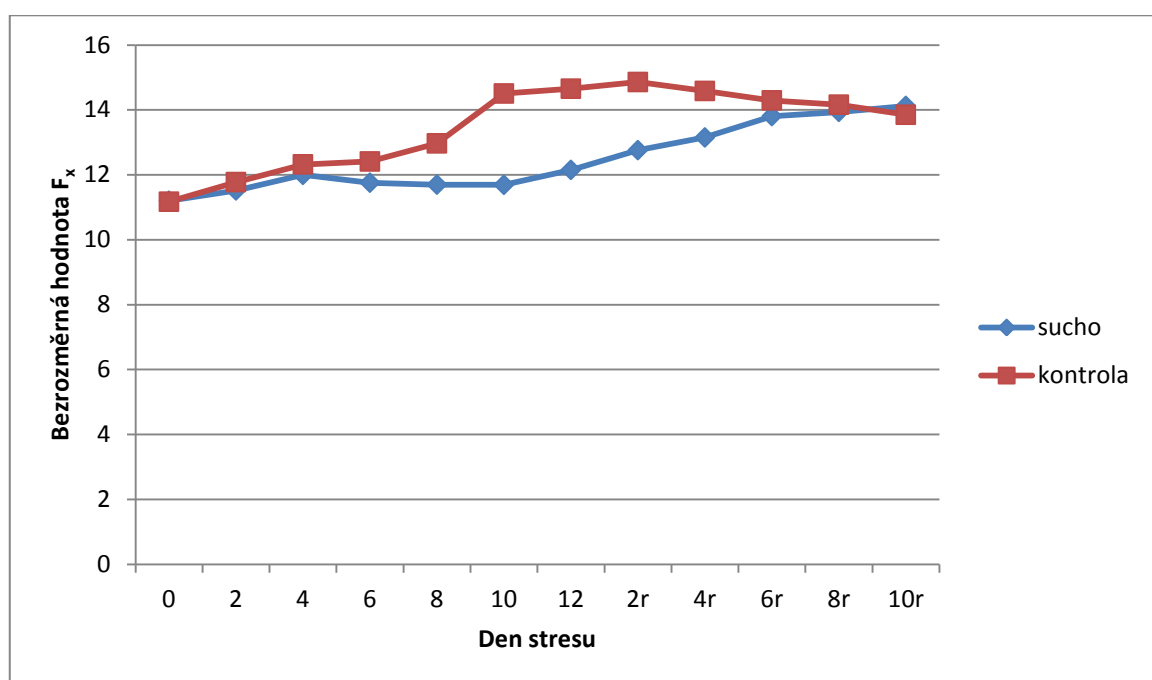
Kontrolní varianta oproti stresové vykazuje postupné narůstání obsahu karotenoidů po celou dobu trvání pokusu. Výjimku představuje pouze 12. den stresu ($0,233 \text{ mg.cm}^{-2}$) a 8 den rehydratace ($0,273 \text{ mg.cm}^{-2}$), kde byl zjištěn nepatrný pokles obsahu karotenoidů v listech pokusných rostlin.

5.2 Obsah pigmentů stanovený chlorofylmetrem



Graf 5. Celkový obsah pigmentů u špenátu setého

V grafu 5 je zobrazena stresová a kontrolní varianta celkového obsahu pigmentů špenátu setého. Z výsledků je zřejmé, že stresová varianta dosahuje podstatně nižších hodnot, než varianta kontrolní. U stresové varianty byly hodnoty po celou dobu trvání pokusu téměř vyrovnané (v průměru 7,415). Výjimku představoval 10 den (3,412) a 12 den stresu (4,72), kde byl zaznamenán citelný pokles obsahu chlorofylů, jak je patrné z grafu 5. Oproti tomu u varianty kontrolní došlo ihned po zahájení pokusu k lineárnímu nárůstu obsahu chlorofylů, z počáteční hodnoty 8,592 (0 den stresu) na nejvyšší naměřenou hodnotu 14,756 (4 den rehydratace). V závěru byla naměřena hodnota 11,232 (10 den rehydratace), která přesahuje o 4,235 hodnotu posledního měření stresovaných rostlin (6,989).

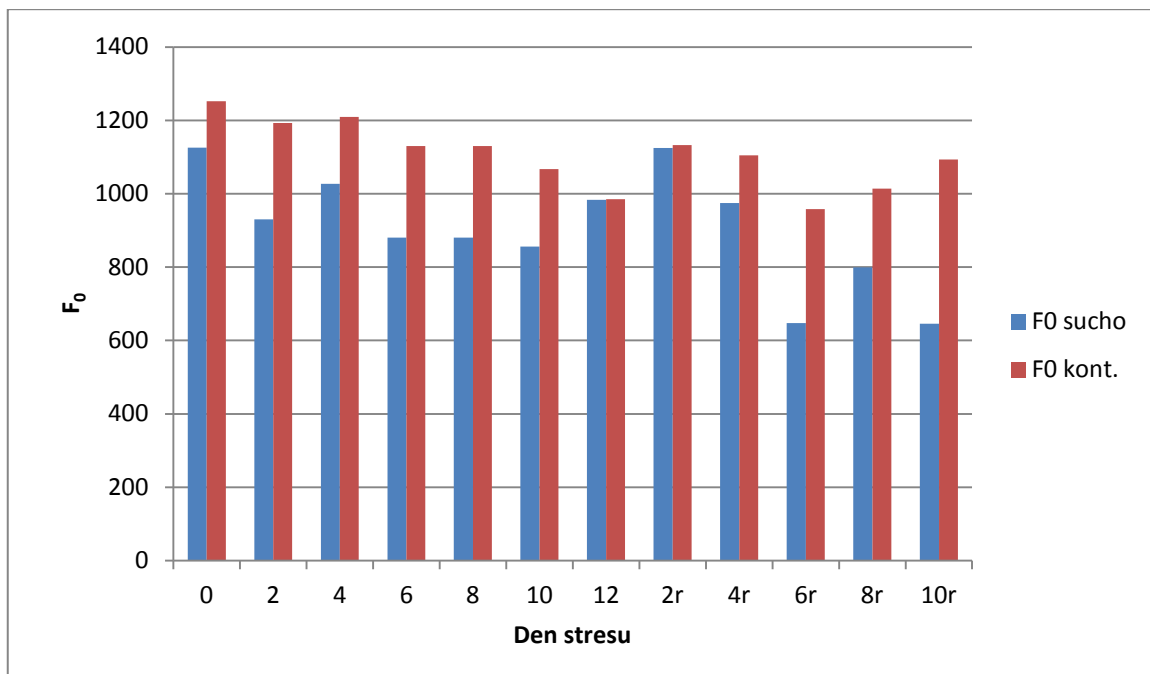


Graf 6. Celkový obsah pigmentů u čtyřboče rozložitě

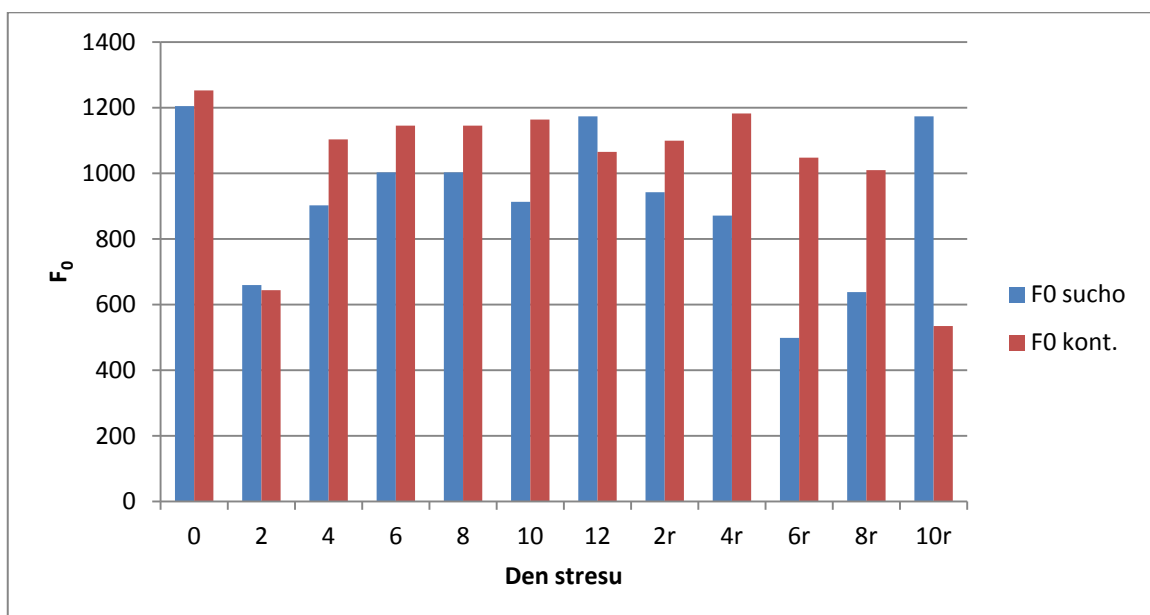
Graf 6 znázorňuje výsledky měření celkového obsahu pigmentů u čtyřboče rozložitě. Na první pohled je zřejmé, že čtyřboč dosahuje vyšších hodnot u stresové varianty, než špenát setý, viz graf 5 a 6. Po zahájení měření se první tři termíny zvyšuje obsah pigmentů, který mírně poklesne mezi 4 (11,996) a 10 (11,69) dnem stresu. Rozdíl mezi těmito termíny činí v průměru 0,306. Od 10 dne stresu (11,69) se obsah chlorofylů začne opět lineárně zvyšovat až do závěrečného měření, kde výsledná naměřená hodnota činí 13,85. U kontrolní varianty dojde obdobně ke zvýšení obsahu pigmentů, ihned po zahájení pokusu, z nejnižší naměřené hodnoty 11,17 (0 den stresu) na hodnotu 14,858 (2 den rehydratace). Od 4 dne rehydratace dochází u kontrolní varianty k plynulému poklesu, až na hodnotu 13,85 které je dosaženo

během posledního měření. Rozdíly mezi kontrolními a stresovanými rostlinami jsou více znatelné pouze mezi 8 dnem stresu a 4 dnem rehydratace, kde průměrný rozdíl činí 2,02.

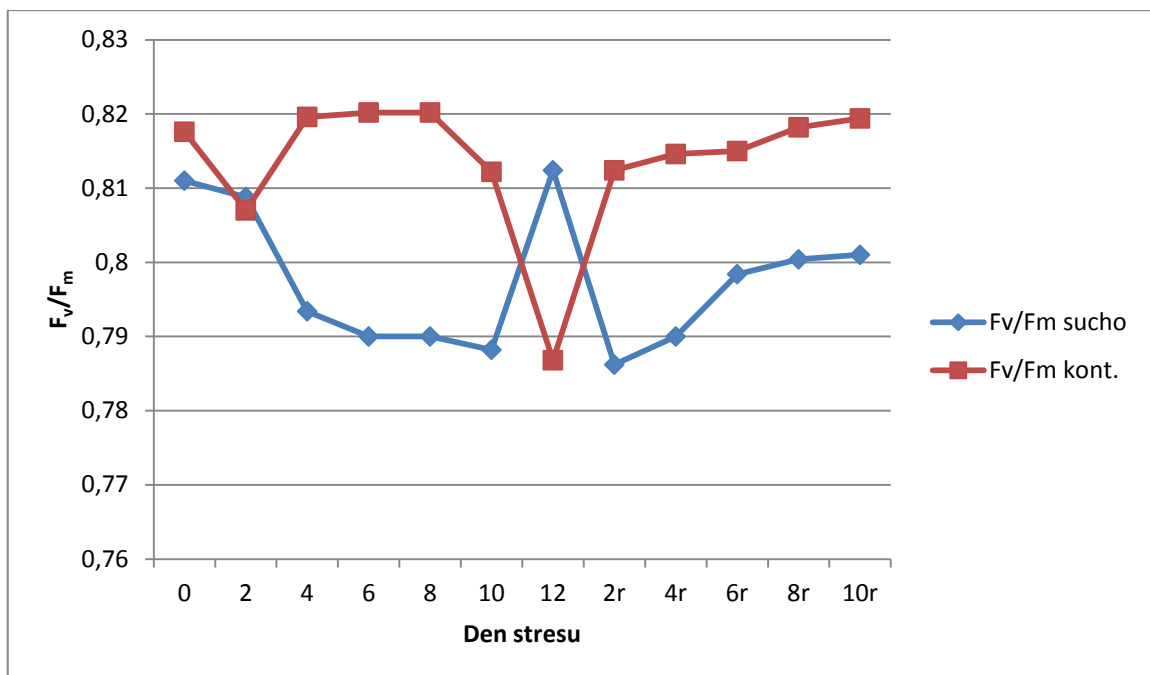
5.3 Fluorescence pigmentů



Graf 7. Hodnota naměřené fluorescence F_0 u špenátu setého



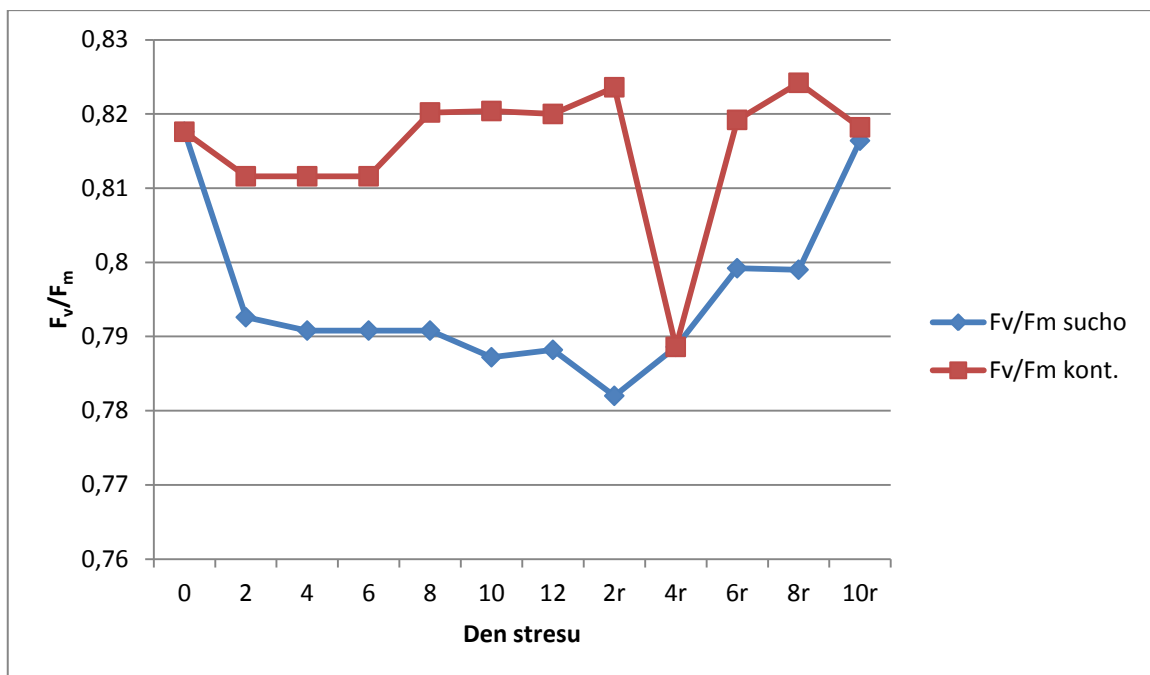
Graf 8. Hodnota naměřené fluorescence F_0 u čtyřboče rozložité



Graf 9. Fluorescence chlorofylů listů špenátu setého, (Fv/Fm), v závislosti na variantě pokusu

Z grafu 9 vyplývá, že nejnižší hodnota poměru Fv/Fm byla u rostlin špenátu pěstovaných v podmínkách vodního deficitu zjištěna na začátku období rehydratace (2. den – 2r). V tomto termínu měření byla hodnota Fv/Fm ve výši 0,786. Naopak nejnižší hodnota fluorescence byla zjištěna v závěru působení vodního deficitu – 12. den (0,787). V průběhu působení vodního deficitu na rostliny špenátu byl zaznamenán postupný pokles hodnot poměru Fv/Fm, neboť na počátku působení vodního deficitu byl tento poměr ve výši 0,811 až do 10. dne vodního deficitu (0,788), jak dokládá graf 9. Po obnovení závlivky u stresovaných rostlin byl nejprve zaznamenán pokles hodnoty fluorescence ve srovnání s předcházejícím termínem měření o 0,026 na hodnotu 0,786. Poté se však až do konce sledovaného období hodnota poměru Fv/Fm zvyšovala až na hodnotu 0,801 (10r – 10. den rehydratace).

Oproti tomu u rostlin kontrolních byly hodnoty fluorescence chlorofylů v průběhu pokusu víceméně vyrovnané. Interval naměřených hodnot poměru Fv/Fm se pohyboval od 0,807 (2. den) až 0,820 (6. a 8. den stresu). Výjimku z uvedeného trendu tvoří 2. termín, u něhož byl zaznamenán pokles hodnot fluorescence o 0,020 v porovnání s předcházejícím termínem na hodnotu 0,807. Pokles hodnot fluorescence byl zaznamenán mezi 8. dnem stresu (0,820) a 10. dnem (0,812), viz graf 9. Z uvedeného grafu dále vyplývá, že poté se fluorescence kontrolních rostlin zvyšuje od 12 dne (0,787) do konce sledovaného období.



Graf 10. Fluorescence chlorofylů čtyřboče rozložitě, (F_v/F_m), v závislosti na variantě pokusu

Z výsledků uvedených v grafu 10 je patrné, že u rostlin vystavených nedostatku vody dochází k výraznému poklesu hodnot fluorescence bezprostředně po navození stresu. Na počátku pokusu byla hodnota poměru F_v/F_m (0,818) a v termínu druhého měření (0,793). V následujících dvou měřeních byla fluorescence vyrovnaná. Od 8. dne stresu se fluorescence zvyšovala až do druhého dne rehydratace. V tomto období byla fluorescence v rozpětí hodnot 0,820 až 0,824. Výrazné snížení fluorescence kontrolních rostlin bylo naměřeno 4 den rehydratace, kdy se hodnota fluorescence kontrolních a stresovaných rostlin vyrovnala a dosáhla hodnoty 0,789. Od tohoto termínu až do předposledního dne pokusu se hodnoty fluorescence zvyšovaly. Na konci pokusu bylo zaznamenáno snížení fluorescence na úroveň 0,818.

V případě rostlin stresovaných se hodnoty fluorescence pigmentů vlivem působení vodního deficitu postupně snižovaly. Na počátku působení vodního deficitu byla hodnota poměru F_v/F_m ve výši 0,793 a na konci vodního deficitu 0,788. Po obnovení zálivky se nejprve fluorescence snížila na hodnotu 0,782. Od 4. dne rehydratace se až do konce pokusu hodnoty fluorescence zvyšovaly. V tomto časovém úseku byly naměřené hodnoty fluorescence v intervalu hodnot od 0,789 (4. den rehydratace) do 0,816 (10. den rehydratace), jak vyplývá z grafu 10.

6 Diskuze

Rostliny během svého života odolávají různým stresorům, které ovlivňují život rostlin a mohou navodit stresovou reakci. Během stresu dochází v rostlinách ke změnám metabolických procesů, dochází k poklesu energetických látek a rostlina ztrácí vitalitu.

Z abiotických stresorů je na prvním místě sucho, které je jedním z nejvíce limitujících faktorů v zemědělství.

6.1 Obsah pigmentů

U testovaných rostlin byl sledován obsah chlorofylů během vystavení krátkodobému vodnímu deficitu.

Z výsledků je patrné, že rostliny negativně reagují na sucho sníženým obsahem chlorofylů. Naopak obsah karotenoidů se v listech vybraných rostlin s narůstajícím vodním deficitem zvyšoval. Uvedené výsledky potvrzují ve své práci např. Spyropoulos and Mavrommatis (1978), kteří sledovali obsah pigmentů v listech dubu.

Podle Liu and Changcheng (2011) dochází u vybraných druhů dřevin a keřů po vystavení déle trvajícím suchu k výraznému snížení obsahu chlorofylů, ale zároveň se zvyšuje obsah karotenoidů. Uvedené výsledky byly potvrzeny také u rostlin špenátu a čtyřboče pěstovaných v podmínkách krátkodobého vodního deficitu. Z výše uvedených poznatků se lze domnívat, že vodní deficit má vliv na pokles obsahu chlorofylů a na zvýšení obsahu karotenoidů. Tento závěr potvrzují také JingKuan (2009) a v případě čiroků Younis et al. (2000).

Z dosažených výsledků je zřejmé, že čtyřboč je vůči vodnímu deficitu méně citlivý než špenát, který se jeví i vůči krátkodobému vodnímu deficitu citlivější. Mezidruhové rozdíly v reakci na vodní deficit potvrzují v případě dubů také Spyropoulos and Mavrommatis (1978). Rozdíly mezi rostlinami potvrzují také Liu and Changcheng (2011). Autoři JingKuan et al. (2009) konstatují rozdílnou reakci na vodní deficit a obsah pigmentů v listech rostlin *Elaeagnus angustifolia* L. a *Grewia biloba* var. *parviflora*. Závěry Baquedano and Castillo (2006) poukazují na mezidruhové rozdíly v obsahu pigmentů v závislosti na působení vodního deficitu u borovice halepské (*Pinus halepensis*), dubu kermesového (*Quercus coccifera*) a dubu cesmínovitého (*Quercus ilex*). Tyto výsledky jsou v souladu se závěry u sledovaných druhů špenátové zeleniny.

Během sledování změn celkového obsahu chlorofylů bylo zjištěno, že u rostlin čtyřboče dochází během působení stresu, k postupnému zvyšování obsahu chlorofylů. Stejných výsledků dosáhl autor Pirzad (2011), při zkoumání heřmánku pravého (*Matricaria*

chamomilla). Naopak rozdílné výsledky publikuje autor Vapaavuori (1982) u vrby (*Salix*), kde konstatuje, že s narůstajícím stresem nedochází k výrazným změnám v celkovém obsahu chlorofylů. Jeho závěry jsou v souladu s výsledky naměřených hodnot špenátu setého.

6.2 Fluorescence chlorofylů

Během experimentu byla u testovaných rostlin měřena hodnota fluorescence chlorofylu. U obou rostlinných druhů rostoucích ve vodním deficitu docházelo vlivem jeho působení k postupnému poklesu hodnoty F_v / F_m , který přetrvával až do obnovení záливky. Je tedy zřejmé, že sucho vede k poklesu hodnot fluorescence.

Uvedené výsledky jsou v souladu se závěry Liu a Changcheng (2011), kteří sledovali vliv vodního deficitu na fluorescenci vybraných druhů dřevin.

Podle výsledků Souzy (2004) dochází k poklesu hodnot fluorescence viny čínské při délce působení vodního deficitu 4 až 8 dnů. Uvedené výsledky byly potvrzeny u špenátu a čtyřboče, kde docházelo k citelnějším poklesu hodnot druhý den (čtyřboč) a třetí den stresu (špenát).

Uvedený autor (Souza, 2004) dále konstatuje, že po obnovení záливky se u stresovaných rostlin postupně zvyšují hodnoty fluorescence listů viny. Uvedený trend byl také zaznamenán u rostlin špenátu a čtyřboče.

Nebyl potvrzen závěr Zulini et al. (2005), kteří sledovali vliv dlouhodobého vodního deficitu na fluorescenci listů révy vinné. Uvedení autoři konstatují, že se hodnoty fluorescence snižují až po 20 dnu působení sucha. Rozdíl je patrně dán tím, že rostliny špenátu a čtyřboče mají v porovnání s révou méně mohutný kořenový systém, obsahují ve svých pletivech více vody a jsou to rostliny jednoleté.

Ze získaných výsledků dále vyplývá, že na vodní deficit citlivěji reagují rostliny špenátu ve srovnání s rostlinami čtyřboče. Byl tedy potvrzen vliv genotypu a rostlinného druhu. Uvedený závěr ve své práci uvádí také Liu a Changcheng (2011). Zmíněný autor vyzoroval, že oba keře (*Pyracantha fortuneana* a *Rosa cymosa*) zvládají sucho mnohem lépe, než stromy. Z jeho poznatků je zřejmé, že keře během vystavení stresu produkují více prolinu, který zvyšuje jejich odolnost vůči nepříznivým vlivům.

7 Závěr

Cílem této práce bylo zjistit, jaký má vliv nedostatek vody (krátkodobý vodní deficit) na obsah pigmentů v listech špenátu setého a čtyřboče rozložitě. Z výsledků, které byly získány během měření, vyplývají následující závěry:

- Vodní deficit ovlivnil tvorbu fotosynteticky aktivních pigmentů, především chlorofylů.
- U rostlin špenátu bylo mezi variantami zaznamenáno snížení obsahu pigmentů u rostlin stresovaných v průměru o $0,063 \text{ mg.cm}^{-2}$ v porovnání s kontrolní variantou. U rostlin čtyřboče bylo toto snížení v průměru $0,00074 \text{ mg.cm}^{-2}$.
- Obsah karotenoidů se vlivem působení vodního deficitu zvyšoval v porovnání s rostlinami zavlažovanými.
- Vyšší nárůst obsahu karotenoidů byl zaznamenán u rostlin čtyřboče oproti rostlinám špenátu.
- Při měření celkového obsahu pigmentů bylo zjištěno, že rostliny čtyřboče rozložitě vystavené stresu obsahují v průměru o 5,47 více pigmentů, než špenát setý.
- Fluorescence pigmentů byla ovlivněna variantou pokusu. Vyšší hodnoty byly zaznamenány u rostlin stresovaných v porovnání s kontrolou.
- Vyšší hodnoty poměru F_v/F_m vykazují rostliny čtyřboče v porovnání s rostlinami špenátu.
- Na vodní stres citlivěji reagují rostliny špenátu setého.

- Na základě výsledků lze konstatovat, že spektrofotometrické stanovení obsahu pigmentů je přesnější, neboť se stanovují všechny pigmenty samostatně.
- Stanovení obsahu pomocí chlorofylmetru stanovuje celkový obsah pigmentů. Jedná se o rychlou, orientační metodu.

8 Použitá literatura

- Shakeel A. A., et al. 2011. "Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress." *African Journal of Agricultural Research* 6.9 2026-2032.
- Arnon, D. J. 1956. Chlorophyll absorption spectrum and quantitative determination. *Biochimical and Biophysical Acta*, 20, 449-461.
- Ashraf, M, Münir A Öztürk a H Athar. 2008. *Salinity and water stress*. New York: Springer, ISBN 9781402090646.
- Assman S.M. 1993. Signal transduction in guard cells. *Annu. Rev. Cell Biol.* 9: 345 - 375
- Baquedano, F. J., and F. J. Castillo. 2006. "Comparative ecophysiological effects of drought on seedlings of the Mediterranean water-saver *Pinus halepensis* and water-spenders *Quercus coccifera* and *Quercus ilex*." *Trees* 20.6: 689-700.
- Bláha, L., Bocková, R. Hnilička, F., Hniličková, H., Holubec, V., Möllerová, J., Štolcová, J., Zieglerová, J. 2003. *Rostlina a stres*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, s. 156. ISBN: 80-86555-32-1.
- Bray E. *Molecular responses to water deficit*. *Plant physiology* 103. 1993. 1035-1040.
- Brestič, M., Olšovská, K. 2001. *Vodný stres rastlín: príčiny, dôsledky, perspektívy*. SPU, Nitra, s. 149. ISBN: 80-7137-902-6
- Caroline G. Spyropoulos and Mavrommatis, M. 1978. Effect of Water Stress on Pigment Formation in *Quercus* Species *J. Exp. Bot.* 29 (2): 473-477 doi: 10.1093/jxb/29.2.473

- Cellier F, Conéjéro G, Breitler J-C, Casse F.1998. Molecular and physiological responses to water deficit in drought-tolerant and drought-sensitive sunflower lines (*Helianthus annuus* L.): accumulation of dehydrin transcripts correlates with tolerance. *Plant Physiology* 116, 319–328
- Dobrá, J., et al. 2010. "Comparison of hormonal responses to heat, drought and combined stress in tobacco plants with elevated proline content." *Journal of plant physiology* 167.16 1360-1370.
- Epron D. 1993. Effect des déficits hydriques et des forts éclaircissements sur la photosynthèse de jeunes semis de chênes en conditions contrôlées et de chênes adultes en conditions naturelles. Thèse du doctorat, Nancy, 76 pp.
- Farooq, M., Wahid, A., Fujita, K. D., Basra, S. M. A. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for sustainable development*, Springer Verlag. 29 (1). 185-212.
- Haberle, J., Trčková, M., Růžek, P. 2008. Příčiny nepříznivého působení vlivu sucha a dalších abiotických faktorů na příjem a využití živin obilninami a možnosti jeho omezení. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha. ISBN 978-80-87011-45-4.
- Hanson. *Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. Annu Rev Plant Physiol.* 1982. 163 - 203. DOI: 10.1146/annurev.pp.33.060182.001115.
- Hayashi H, Murata N 1998. Genetically engineered enhancement of salt tolerance in higher plants. In *Stress Responses of Photosynthetic Organisms*. Eds Satoh K, Murata N (Elsevier Press, Amsterdam), pp 133-148.
- Hejný, S. a Slavík, B. 2003. (eds.). *Květena České republiky*. 2., nezm. vyd. Praha: Academia, ISBN 80-200-1089-0.
- Hlúbik, P. Opltová, L. 2004. *Vitaminy*. Vyd. 1. Praha: Grada, ISBN 80-247-0373-4.

- Hoekstra, Folkert A., Elena A. Golovina, and Buitink, J. 2001. "Mechanisms of plant desiccation tolerance." *Trends in plant science* 6.9 431-438.
- JingKuan, S. et al. 2009. "Chlorophyll fluorescence characteristics of *Elaeagnus angustifolia* L. and *Grewia biloba* G. Don var. *parviflora* (Bge.) Hand.-Mazz. seedlings under drought stress." *Bulletin of Botanical Research* 29.2 216-223.
- Jones, Hamlyn G., Timothy J. Flowers, and Michael B. Jones. 1989. *Plants under stress: biochemistry, physiology and ecology and their application to plant improvement*. Vol. 39. Cambridge University Press.
- Kirk GJD, Solivas JL, Alberto MC. 2003. Effect of flooding and redox conditions on solute diffusion in soil. *European Journal of Soil Science* 54: 617-624
- Kostrej, A. a kol. 1998. *Ekofyziológia produkčného procesu porastu a plodín*. SPÚ, Nitra, 187 s
- Larcher, W. 1988. *Fyziologická ekologie rostlin*. Translated by Václav Bauer. 1. vyd. Praha: Academia, 361 s
- Larcher, W. 2003. *Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups*. Springer. Berlin. p. 513. ISBN: 3-540-43516-6.
- LeNoble ME, Spollen WG, Sharp RE. 2004. Maintenance of shoot growth by endogenous ABA: genetic assessment of the involvement of ethylene suppression. *Journal of Experimental Botany* 55, 237 - 245
- Levitt, J. 1980. *Responses of plants to environmental stresses*. 2d ed. New York: Academic Press, ISBN 0124455026.
- Liu, Changcheng, et al. 2011. "Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in karst habitats of southwestern China." *Environmental and Experimental Botany* 71.2 174-183.

- Masák, J., Pelechová J., a Plachý, J. 1992. *Speciální mikrobiotechnologie*. 1. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, ISBN 80-7080-142-5.
- Mooney, H.A, Drake, B.G Luxmore, R.J Coechel W. and Pitelka. L.F. 1991. Predicting ecosystem responses to elevated CO₂ concentrations. *BioScience* 41:96-104.
- Moosner, H. 1990. Die Carotenoide in den Früchten des Korallenstöckchens. *PdN-B*. 39, 4: 21-26,
- Narayana, I., Lalonde, S., Hargurdeep S. S. 1991. Water-stress-induced ethylene production in wheat. *Plant Physiology*. 96. 406-410.
- Nilsen, E. T., Orcutt D. M. 1996. *The physiology of plants under stress: Abiotic Factors*. John Wiley & Sons, Inc. New York. p. 689. ISBN: 0-471-003512-6
- Novák, J. 2013. *Co rostlo u babičky na zahradě: tradiční odrůdy*. Vyd. 1. Praha: Knižní klub, ISBN 978-80-242-4018-3.
- Olszewski N, Sun T-p, Gubler F 2002. Gibberellin signaling: biosynthesis, catabolism, and response pathways. *Plant Cell* 14 (Suppl.): S61–S80
- Pekárková, E. 2014. *Zelenina: její pěstování a význam v ilustracích Zdenky Krejčové*. Vyd. 1. Ilustrace Krejčová, Z. Praha: Aventinum, Artia (Aventinum). ISBN 978-80-7442-037-5.
- Pekárková, E. 2002. *Pěstujeme salát, špenát a další listové zeleniny*. 1. vyd. Praha: Grada, Česká zahrada. ISBN 80-247-0283-5.
- Pevná, V. a kol. 1985. *Listové zeleniny*, Příroda, Bratislava, 81 s. ISBN 640-55-85
- Pěňčík A., Rolčík J., Novák O., Magnus V., Barták P., Buchtík R., Salopek-Sondi B., Strnad M. 2009. *Talanta* 80, 651

- Pirzad, A. et al. 2011. "Effect of water stress on leaf relative water content, chlorophyll, proline and soluble carbohydrates in *Matricaria chamomilla* L." *Journal of Medicinal Plants Research* 5.12: 2483-2488.
- Pokluda, R. 2009. *Pěstujeme zeleninu: kapesní příručka pro zahrádkáře*. Vyd. 1. Velké Bílovice: TeMi CZ, ISBN 978-80-87156-36-0.
- Ponnampereuma FN. 1984. Effects of flooding on soils. In: Kozłowski TT, ed. *Flooding and plant growth*, pp 9–45. Academic press, New York, USA.
- Rožnovský, J., Litschmann, T. 2004. (ed): Seminář „Extrémny počasí a podnebí“, Brno, 11. března ISBN 80-86690-12-1
- Selye H. 1936. A syndrome produced by diverse nocous agents. *Nature*, 138, p.32
- Tausz, M., De Kok, L.J. 2001. The role of glutathione in plant reaction and adaptation to air pollutants. D. Grill et al., *Significance of Glutathione to Plant Adaptation to the Environment*, 185-205. Kluwer Academic Publishers.
- Trewavas AJ, Jones HG 1991. An assessment of the role of the ABA in plant development. In WJ Davies, HG Jones, eds, *Abscisic Acid: Physiology and Biochemistry*. Bios scientific, Oxford, UK, pp 169-188.
- Souza, R. P., et al. 2004. "Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and some associated metabolic changes in cowpea (*Vigna unguiculata*) during water stress and recovery." *Environmental and experimental botany* 51.145-56.
- Šesták Z., Čatský J. 1966. *Metody studia fotosynthetické produkce rostlin*. Academia, Praha, s. 394
- Urbanová T., Tarkovská D. Strnad M., Hedden P. 2011. *Collect. Czech. Chem. Commun.* 76, 1669

- Vapaavuori, E, and Nurmi.,A. 1982. "Chlorophyll-protein complexes in *Salix* sp. 'aquatica gigantea' under strong and weak light II. Effect of water stress on the chlorophyll-protein complexes and chloroplast ultrastructure." *Plant and cell physiology* 23.5 791-801
- Vodrážka, Z. 1996. *Biochemie*. 2.,opr. vyd. Praha: Academia, c1996. ISBN 978-80-200-0600-4.
- *Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2008. (kniha příspěvků)*. Vyd. 1. Praha: Česká zemědělská univerzita, 2007. ISBN: 978-80-87011-18-8
- Von Wettstein, Diter, Gough, S. and C. Gamini Kannangara. 1995. "Chlorophyll biosynthesis." *The Plant Cell* 7.7 1039.
- Wang, Y.N., Wang, T., Li, K.X., and Li, X. 2008. Genetic analysis of involvement of ETR1 in plant response to salt and osmotic stress. *Plant Growth Regulation* 54, 261-269.
- Younis, M. E., El-Shahaby, O. A., Abo-Hamed, S. A. and Ibrahim, A. H. 2000. Effects of Water Stress on Growth, Pigments and ¹⁴CO₂ Assimilation in Three Sorghum Cultivars. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 185: 73–82. doi: 10.1046/j.1439-037x.2000.00400.x
- Sheng, Z. W. Li Yu Fen Zi Sheng Wu XueXueBao. 2004. *Relationship between ethylene and polygalacturonase in tomato fruits*. 675-80
- Zulini, L. U. C. A. et al. 2005. "Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence and photosynthetic pigments in grapevine leaves (*Vitis vinifera* cv. 'White Riesling')." *International Workshop on Advances in Grapevine and Wine Research* 754.

Internetové zdroje

Gebauerová, B., [online]. Březen 2013. [cit. 2016-01-15]. Dostupné z <http://slideplayer.cz/slide/3790365/>

Čtyřboč rozložitá, [online]. [cit. 2016-01-15]. Dostupné z <http://www.katalpa.cz/atlas/detail/rostliny/ctyrboc-rozlozita>

Autorský kolektiv eMS, [online]. [cit. 2016-02-03]. Dostupné z <http://slovník.cmes.cz>

Ing. Eva Hrudová, Ph.D. Ekologické nároky rostlin ve vztahu k abionózám. [online]. [cit. 2016-01-28]. Dostupné z http://web2.mendelu.cz/af_291_sklad/frvs/hrudova/index_soubory/Page2275.htm

Laboratoř hormonálních regulací u rostlin. [online]. [cit. 2016-01-16]. Dostupné z <http://lhr.ueb.cas.cz/index.php?clanek=9>

MATADOR - BIO osivo. [online]. [cit. 2016-01-28]. Dostupné z <http://www.semo.cz/homegardencz/index.php?druh=43&odruid=39022>

Špenát novozélandský. [online]. [cit. 2016-01-22]. Dostupné z <http://www.semo.cz/homegardencz/index.php?s=&druh=526&Spenat-novozelandsky>

Situační výhledová zpráva Zelenina 12/2015 [online]. [cit. 2016-01-12]. Dostupné z [http://eagri.cz/public/web/mze/vyhledavani/index\\$41111.html?query=situa%C4%8Dn%C3%AD+a+v%C3%BDhledov%C3%A1+zpr%C3%A1va+zelenina&segments=eagri](http://eagri.cz/public/web/mze/vyhledavani/index$41111.html?query=situa%C4%8Dn%C3%AD+a+v%C3%BDhledov%C3%A1+zpr%C3%A1va+zelenina&segments=eagri).

Růžička, O., Nový evropský patent pro C. R. Haná. [online]. [cit. 2016-02-08]. Dostupné z <http://www.cr-hana.eu/1815/novy-evropsky-patent-pro-c-r-hana/>

Biotechnologický portál - Vše o biotechnologiích na jednom místě. [online]. [cit. 2016-02-18]. Dostupné z <http://www.gate2biotech.cz/dictionary.php?word=57>

Buněčné organely. [online]. [cit. 2016-01-019] Dostupné z <https://eluc.kr-olomoucky.cz/verejne/lekce/7>

<http://www.firebrno.cz/pracoviste-laborator/pristrojove-vybaveni> [online]. [cit. 2016-02-012]

Katedra experimentální biologie rostlin, FLUORESCENCE, [online]. [cit. 2016-02-05].

Dostupné z

http://kfrserver.natur.cuni.cz/lide/edmunz/praktika_fr/mb130c14/navody/3_fluorescence.pdf