

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra botaniky a fyziologie rostlin



Vliv zasolení na fluorescenci chlorofylů u šruchy zelné
(*Portulaca oleracea* L.)

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Kateřina Stará, DiS.
Obor studia: Produkční zahradnictví

Vedoucí práce: Ing. Helena Hniličková, Ph.D.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci "Vliv zasolení na fluorescenci chlorofylů u šruchy zelné (*Portulaca oleracea* L.)" vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne: 26.3.2019

Podpis:

Poděkování

Touto cestou bych ráda poděkovala vedoucí mé diplomové práce Ing. Heleně Hniličkové, PhD. za cenné rady, obětavý, vstřícný, trpělivý a lidský přístup, který mi byl podporou po celou dobu tvorby práce. Dále bych také ráda poděkovala rodině, která mi byla nápomocna po celou dobu studia, a umožnila mi absolvovat životní zkušenost v podobě vysoké školy.

Vliv zasolení na fluorescence chlorofylů u šruchy zelné (*Portulaca oleracea* L.)

Effect of salinisation on fluorescence of chlorophylls in purslane (*Portulaca oleracea* L.)

Souhrn:

Cílem práce bylo pozorovat a zhodnotit míru fluorescence chlorofylů u modelové rostliny *Portulaca oleracea* L.. Porovnat hodnoty jednotlivých parametrů a variant v závislosti na koncentraci roztoku soli. Naposledy pak zjistit míru korelace fluorescence s vodním potenciálem.

Pokus diplomové práce „Vliv zasolení na fluorescence chlorofylů u šruchy zelné (*Portulaca oleracea* L.)“ byl založen v klimaboxu České zemědělské univerzity, FAPPZ dne 23. března 2018. Bylo použito 0,8 g osiva a pokus byl rozdělen do tří variant. Dvě varianty byly zalévány roztokem NaCl o různých koncentracích (100, 300 mmol/l). Poslední, kontrolní varianta, byla zalévána pouze destilovanou vodou.

Pro měření fluorescence byl použit fluorometr typu OS5p+. OS5p+ pracuje na principu emitace pulzního světla a vyhodnocení signálu po průchodu skrz list. Byla zjišťována minimální, maximální a variabilní fluorescence. Dále také maximální kvantový výtěžek fotosystému PSII a poměr F_v/F_o . Pro měření vodního potenciálu byl použit přístroj typu WP4C, který měří na principu teploty rosného bodu.

Pokus byl založen na předpokládaném poklesu fluorescence se zvyšující se koncentrací solného roztoku NaCl. Míra korelace fluorescence s vodním potenciálem se s rostoucí koncentrací roztoku také zvyšovala.

První den měření byla pozorována maximální fluorescence pro kontrolní variantu 716,4; pro koncentraci 100 mmol/l bylo naměřeno 643,8 a 678,4 pro poslední variantu. Poslední den měření pak všechny hodnoty klesly. Naměřeno bylo 580,1 u kontrolní varianty. U zasolených variant pak: 582,1 a 450,7. Nejvyšší hodnota minimální fluorescence byla naměřena v posledním měření u rostlin vystavených 300 mmol/l NaCl. Nejnižší variabilní fluorescence byla naměřena také u nejvyšší koncentrace solného roztoku.

Na závěr je třeba konstatovat, že rostlina se se stresem ze zasolení do určité míry vyrovná. Při vyšší míře zasolení však pozastavuje své procesy. Proto lze pozorovat pokles fluorescence chlorofylů a fotosyntézy. Po vyplavení stresových hormonů, dochází k celkové zástavě růstu. Šrucha je sice rostlina odolná vůči zasolení, ale k poklesu fluorescence dochází stejně jako u ostatních rostlin.

Klíčová slova: šrucha, fluorescence, vodní potenciál, zasolení

Summary:

The main goal of the work was to observe and evaluate the chlorophyll fluorescence rate in model plants of *Portulaca oleracea* L.. Compare the values of each parameters and variants according to the salt solution concentration. Finally, to determine the degree of correlation of fluorescence with water potential.

The experiment of the thesis „Effect of salinisation on fluorescence of chlorophylls in purslane (*Portulaca oleracea* L.)“ was founded in the climax of the Czech University of Life Sciences Prague, FAPPZ on March 23, 2017. Eight tenths grams of seeds were used and the experiment was divided into three variants. Two variants were sealed with sodium chloride solution at various concentrations (100, 300 mmol / l). The last, control variant, was watered only by pure water.

A fluorometer of the OS5p + type was used to measure fluorescence. OS5p + works on the principle of emitting pulse light and evaluating the signal after passing through the leaf. Minimum, maximum and variable fluorescence was detected. Furthermore, the maximum quantum yield of the second photo-system and the ratio F_v / F_o were measured. A WP4C device was used to measure the water potential. It measures the dew point temperature in the sample compartment.

The experiment was based on the assumed decrease in fluorescence with increasing saline NaCl concentration. The rate of correlation of fluorescence with water potential also increased with increasing concentration of solution. On the first day of measurement, maximum fluorescence was observed for control variant 716.4; for a concentration of 100 mmol / l it was 643.8 and 678.4 were measured for the last variant. On the last day of measurement, all values have fallen. 580.1 was measured in the control variant. For salted variants: 582.1 and 450.7. The highest value of minimum fluorescence was measured at the last measurement for plants exposed to 300 mmol / l NaCl. The lowest variable fluorescence was also measured at the highest saline concentration.

In conclusion, it is necessary to state that the plant adapts to the salinity stress but it suspends its processes at a higher level of salinity. Therefore, we can see a decrease in fluorescence of chlorophylls and photosynthesis. After the release of stress hormones, there is an overall growth inhibition. Although the purslane is a saline-resistant plant, fluorescence decreases same as in other plants.

Key words: shrubs, fluorescence, water potential, salinity

Obsah

1 Úvod	1
2 Cíle práce	2
2.1 Hypotézy	2
3 Literární rešerše.....	3
3.1 Charakteristika rostliny	3
3.1.1 Popis rostliny	3
3.1.2 Historie.....	3
3.1.3 Složení a účinky šruchy	3
3.2 Rostlinná buňka	6
3.2.1 Buněčné membrány	7
3.2.2 Chloroplasty	8
3.3 Fluorescence chlorofylů.....	9
3.3.1 Měřené parametry fluorescence	11
3.4 Fotosyntéza	11
3.4.1 Světelná fáze fotosyntézy	11
3.4.2 Temnostní fáze fotosyntézy	13
3.4.3 Faktory ovlivňující fotosyntézu	14
3.5 Vodní režim rostlin	15
3.5.1 Vodní potenciál.....	16
3.6 Stres ze zasolení.....	16
3.6.1 Vliv zasolení na fotosyntézu.....	16
3.6.2 Vliv zasolení na fluorescenci chlorofylu	17
4 Metodika	20
4.1 Charakteristika rostliny	20
4.2 Charakteristika stanoviště	20
4.3 Založení pokusu	20
4.3.1 Výsev	20
4.3.2 Varianty	21
4.4 Zpracování výsledků.....	21
4.4.1 Měření fluorescence chlorofylů	22
4.4.2 Měření vodního potenciálu	23

5 Výsledky	25
5.1 Fluorescence	25
5.1.1 Minimální fluorescence (Fo)	25
5.1.2 Maximální fluorescence (Fm).....	26
5.1.3 Variabilní fluorescence (Fv)	27
5.1.4 Maximální kvantový výtěžek (Fv/Fm)	28
5.1.5 Fluorescenční poměr Fv/Fo	30
5.2 Vodní potenciál (MPa)	31
5.3 Korelace fluorescence s vodním potenciálem	32
5.2.1 Parametr Fo.....	32
5.2.2 Parametr Fm.....	33
5.2.3 Parametr Fv	33
5.2.4 Parametr Fv/Fm	34
5.2.5 Parametr Fv/Fo	35
6 Diskuze	36
7 Závěr	40
8 Seznam literatury	41
9 Seznam příloh	49
9.1 Seznam použitých zkratk	49
9.2 Seznam použitých obrázků	50
9.3 Seznam použitých grafů	50
9.4 Seznam použitých tabulek	50

1 Úvod

V posledních letech je takřka nemožné nepovšimnout si narůstajícího množství informací, týkajících se globálního oteplování, a dalších problémových faktorů v zemědělství. Počet obyvatel neustále narůstá a potřeba zajištění obživy taktéž. Problém však nastává při zjištění, že zemědělské půdy ubývá a prostředí pro růst rostlin již není tak hostinné, jak bývalo. Na rostliny během jejich růstu působí mnoho vnějších činitelů, které jejich růst více či méně ovlivňují.

Rostoucí průměrná roční teplota a ubývající úhrny srážek se jeví jako pravděpodobně největší obava pěstitelů a zemědělců. Čím dál větší územní celky se potýkají s nedostatkem vody a pěstovat plodiny je nutností i na aridních a semiaridních půdách. Snaha udržet výnos se odráží jak v zemědělských dotacích, tak ve šlechtitelské činnosti. Geneticky modifikované organismy se zdají být jednou z pozitivních vizí, pro velmi suché oblasti. Další možností je pěstování odolných druhů rostlin.

Šrucha patří mezi rostliny s C4 cyklem. Většina rostlin C4 je charakteristická svým původem ve velmi teplých oblastech se silným slunečním zářením. Tyto rostliny proto přes den přivírají průduchy a zadržují oxid uhličitý, který je fixován enzymem PEP-karboxylázou za vzniku oxalacetátu. Tímto procesem se liší od rostlin C3.

Vysoká teplota a zasolení v kombinaci s nedostatkem vody působí změny v rostlinném organismu. Voda v rostlinném organismu plní funkci transportního média, přenáší jak organické, tak anorganické látky. Další neopomenutelnou funkcí vody je působení jakožto primárního substrátu při fotosyntéze. Při nedostatku vody v rostlině dochází ke zpomalování enzymatických procesů, zástavě fotosyntézy, uzavírání průduchů a ke změnám intenzity fluorescence chlorofylů. Pokud je osmotický tlak v půdě nižší než v rostlině, rostlina není schopna přijímat vodu. Tento jev často nastává u zasolených půd.

Hledání řešení, jak zajistit vhodné prostředí pro rostliny a živočichy, je společným cílem všech, kteří se chtějí podílet. S nedostatkem vody se pravděpodobně budeme potýkat i nadále, ovšem v dnešní době je známé velké množství odolných plodin a dalších způsobů, jak rostlinnou produkci obnovit nebo alespoň udržet na stávající úrovni.

2 Cíle práce

Zasolení půdy a stres způsobený nedostatkem dostupné vody pro rostliny je celosvětově vyskytující se problém. Práce na téma: Vliv zasolení na fluorescenci chlorofylů u šruchy zelné (*Portulaca oleracea* L.) reflektuje tento problém a zabývá se jeho řešením. Z toho důvodu byly vytyčeny tyto cíle:

- Sledovat fluorescenci chlorofylů u rostliny *Portulaca oleracea* L. zatížené stresem způsobeným různými koncentracemi roztoku NaCl.
- Vyhodnotit úroveň parametrů fluorescence chlorofylů v závislosti na koncentraci roztoku a jednotlivé varianty porovnat.
- Zdůvodnit rozdíly mezi jednotlivými hodnotami fluorescence.
- Zhodnotit možnou korelaci mezi fluorescencí chlorofylů a vodním potenciálem rostlin.

2.1 Hypotézy

Na základě stanovených cílů byly navrženy hypotézy:

- Solný stres ovlivní parametry fluorescence chlorofylu.
- S rostoucí dobou vystavení stresovému faktoru dojde k progresivnímu poklesu poměru F_v/F_m .
- Mezi fluorescencí chlorofylů a vodním potenciálem existuje korelace.

3 Literární rešerše

3.1 Charakteristika rostliny

3.1.1 Popis rostliny

Jako modelová rostlina byla vybrána *Portulaca oleracea* L. z čeledi *Caryophyllales* a řádu *Portulacaceae*. Jedná se o rostlinu, která je v dnešní době čím dál častěji využívána jako listová zelenina a pro svou nenáročnost může být pěstována na chudých, písčitých půdách, vystavených plnému oslunění. K tomuto řádu je přiřazována až stovka rostlin sukulentního charakteru. Mnohé z těchto rostlin se také řadí do skupiny C4-rostlin. Jsou známy svou odolností vůči suchu a zasolení, proto jsou také nejčastěji uváděny jako rostliny původní v aridních a semiaridních oblastech. Dle charakteru růstu je šrucha rostlina spíše poléhavá a její listy jsou na stonku uspořádány řídce a vstřícně. Listy jsou oválné, ploché, kožovitého charakteru a jejich zbarvení místy přechází ze sytě zelené, až na červenou barvu. Ideální doba výsevu v našich podmínkách je na jaře, kdy se teploty pohybují mezi 13–18 °C (Brickell 2008). Semena jsou červenohnědá a měří přibližně jeden milimetr. Po dozrání nabývají černé barvy (Cabi 2018).

3.1.2 Historie

Co se týká rozšíření šruchy, její původ a směr šíření je odhadován z oblastí severní Afriky a jižní Evropy přes oblast Blízkého východu (Turecko) až do oblastí dnešní Asie a Oceánie, včetně Austrálie. Obecně byla šrucha považována spíše za exotický plevel, avšak bylo prokázáno, že její semínka se v oblasti amerického jezera Ontario objevila již v době před Kryštofem Kolumbem (před rokem 1492). Pravděpodobně z Ameriky se poté osivo šířilo ve větším měřítku do Evropy (Byrne & McAndrews 1975).

Tato rostlina je široce využívána ve Středomoří jako listová zelenina. Její semena byla nalezena již v sedmém století před našim letopočtem na řeckém ostrově Samos v místě svatyně bohyně Héry. Dále také v Protogeometrické epoše v Kastanasu v období mezi 1050-900 př.n.l. (Dickie 2008).

3.1.3 Složení a účinky šruchy

Bylo zjištěno, že šrucha je velmi bohatá na obsah omega-3-mastných kyselin nejvíce pak kyseliny alfa-linolenové, které bylo zjištěno největší množství ze všech listových zelenin, jak u rostlin pěstovaných v umělé atmosféře, tak i u volně rostoucích rostlin. Šrucha v mnohých množstvích obsahových látek porazila i špenát, se kterým byla porovnávána. Obsahovala například více alfa-tokoferolu, kyseliny askorbové a antioxidantu glutathionu. Vitaminu E bylo

ve špenátu až sedmkrát méně než ve šruše. Špenát však nepatrně zvítězil v obsahu beta-karotenu. Díky obsahu nasycených mastných kyselin až 400 mg na 100 g, 12,2 mg/100 g vitamínu E a 26,6 mg/100 g vitamínu C je šrucha považována za nutričně velmi přínosnou plodinu. Kromě velkého množství vitamínů šrucha obsahuje i minerální látky, kterými jsou hořčík, vápník, draslík a železo (Simopoulos et al. 1992).

Mimo látky významné ve výživě člověka, šrucha obsahuje velké množství látek zapojujících se do nervosvalového vedení vzruchů a ovlivňujících i jiné tělesné systémy člověka. Těmito látkami jsou například noradrenalin, dopamin, vápenaté soli, kyselina jablečná a citrónová a další. Z cukrů největší zastoupení má glukóza, fruktóza a sacharóza. Z důvodu obsahu kyseliny šťavelové se tato listová zelenina nedoporučuje konzumovat ve větší míře lidem s onemocněním ledvin. Nalezeny byly také látky podporující kognitivní funkci mozku (Latif 2018).

3.1.3.1 Neuroprotektivní účinky šruchy

Po provedených pokusech na krysách bylo zjištěno, že šrucha obsahuje látky oddalující buněčnou apoptózu a rozpad dopaminu. Proto by pravděpodobně mohla být lékem na Parkinsonovu chorobu (E Abdel Moneim 2013). Její účinné látky také oddalují hypoxické poškození mozku, při nadměrném rozkladu cukrů v organismu. Například β -cyanin prokazatelně zlepšil kognitivní funkci u myši, které byly vystaveny nadměrnému (až toxickému) množství D-galaktózy (Wang & Yang 2010). Alkalický extrakt ze šruchy také inhibuje acetylcholin E. Tento fakt může být využit v prevenci a léčbě Alzheimerovy choroby (Yang et al. 2012).

3.1.3.2 Antidiabetické účinky šruchy

Šrucha má za následek snižování hmotnosti u myši postižených diabetem druhého typu, který byl injekčně indukován pomocí 25 mg/kg streptozotocinu a krměním velmi kalorickým krmivem. Také změnu metabolismu cukrů, tuků a zvýšenou reaktivitu na inzulín. Lze tedy tvrdit, že šrucha zmírňuje resistenci vůči inzulínu (Lan & Fu-er 2003).

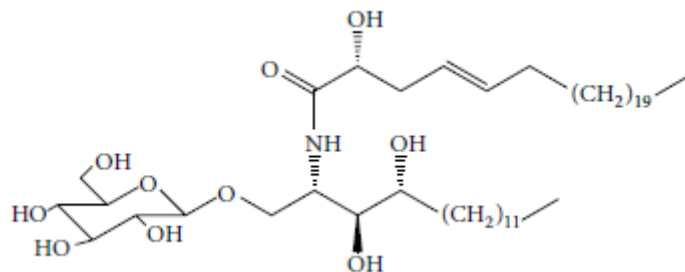
Podávání prášku ze semen šruchy u lidí prokazatelně snížilo BMI, ALT, AST, hladinu volného cukru v krvi a hladinu cholesterolu. Proto lze rostlinu použít jako aditivní nebo alternativní léčbu diabetu druhého typu (El-sayed 2011).

3.1.3.3 Protirakovinové účinky šruchy

Ze šruchy byl izolován ve vodě rozpustný polysacharid POP, který v in vitro podmínkách inhiboval růst rakovinových buněk na základě jejich vzájemné toxicity. Mimo

toxický polysacharid byla objevena látka portulacerebrosid A, která potlačuje rakovinové bujení v játrech na základě mitochondriální apoptózy (Zheng et al. 2013).

Obrázek č.1- Portulacerebrosid A



Zdroj: (Zhou et al. 2015)

3.1.3.4 Protizánětlivé a antibakteriální účinky šruchy

Šrucha působí proti bakteriálním, virovým i houbovým onemocněním. Například brání vstupu viru *Herpes simplex* typu II do buňky. Sedmdesátiprocentní metanolvý roztok šruchy působí proti gramnegativním bakteriím (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Neisseria gonorrhoea*), grampozitivním bakteriím (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* a *Streptococcus faecalis*) a kvasinkám (*Candida albicans*) (Elkhatay et al. 2008).

Nádorový nekrotický faktor (TNF) je inhibován a je zvyšován obsah volného intracelulárního kyslíku a intercelulárních adhezivních molekul, což má za následek snižování zánětlivých reakcí v organismu a také snižování rizika vzniku aterosklerózy na podkladě zánětu hladkého epitelu arteriální stěny (Lee et al. 2012).

3.1.3.5 Hepatoprotektivní a ostatní účinky šruchy

Hepatoprotektivní účinky šruchy byly potvrzeny po umělém navození poškození jater u krysy, pomocí *CCL₄*. Poškození bylo zjištěno díky zvýšeným jaterním enzymům, jako jsou ALT, AST, GGT, GMT a bilirubinu. Po podání alkoholového extraktu šruchy v 70 % koncentraci došlo k výraznému zlepšení enzymatických hodnot a potvrzení hepatoprotektivity šruchy (Elkhatay et al. 2008).

Extrakt šruchy v dávkování 100 až 400 mg/kg může působit pozitivně při léčbě hypoxie v důsledku otravy dusitanem sodným a kyanidem draselným. Dále také napomáhá snadnější glykolýze a ukládání ATP do buňky. Urychluje hojení ran a způsobuje vyšší akumulaci selenu v organismu, což působí preventivně proti nemoci z nedostatku selenu (Prabha et al. 2015).

3.2 Rostlinná buňka

Jedná se o základní stavební jednotku rostlinného těla, která se skládá z více stavebních částí. Jde o buňku eukaryotního typu a od buňky živočišné se odlišuje výskytem některých organel např. buněčné stěny.

Hlavní části rostlinné buňky:

- Buněčná stěna
- Protoplast
- Cytoplasma
- Jádro
- Jadérko
- Plastidy
- Mitochondrie
- Vakuola
- Endoplasmatické retikulum
- Golgiho komplex
- Cytoplasmatická membrána

Buněčná stěna (BS) je pevná a permeabilní membrána složená z hemicelulózy, pektinů a bílkovin. Má zejména strukturní, transportní a ochrannou funkci. Podílí se na růstu a na dělení rostlinných buněk. Lze ji rozlišit na primární BS, která je pružná a roste přidáváním nových vrstev mikrofibril, a sekundární, která je pevná a růst může pouze směrem ke středu buňky („tloušťka“). Pro kontakt s okolím se v BS vyskytují plasmodesmy neboli „kanálky“ (Simon et al. 2014).

Protoplast je tvořen prostorem pod buněčnou stěnou, který se skládá z cytoplasmy a z ostatních organel (Taiz & Zeiger 1991).

Cytoplasma tvoří výplň buňky pod plasmatickou membránou. Je složena z cytosolu a organel. Cytosol je tekutá složka cytoplasmy tvořena z velké části z vody. Slouží k hydrataci a ochraně organel, dále je také místem bohatých metabolických pochodů (Simon et al. 2014).

Jádro se skládá z jaderné membrány, karyoplazmy a z jadérka. Je to řídicí centrum eukaryotické buňky obsahující DNA, které je uloženo v chromatinu. Chromatin se podílí na dělení buňky ve formě chromozomů. Jadérko je uloženo v jádře a nemá vlastní jaderný obal. Reguluje syntézu RNA a tvorbu ribosomů. Při dělení buňky zaniká (Taiz & Zeiger 1991).

Mitochondrie jsou další semiautonomní organely zajišťující buněčné dýchání a výrobu energie ATP, která je pak použita v jiných částech buňky. Jsou tvořeny dvojitou membránou, na povrchu hladkou a uvnitř zvlňenou, tvořící „kristy“ (Pollard et al. 2008).

Vakuola je orgán ohraničený tonoplastickou membránou, který zajišťuje turgor rostlinné buňce a dále shromažďuje látky pro rostlinu toxické. V mladých rostlinách je více malých vakuol v jedné buňce a u starých rostlin se spojují v jednu velkou (Lennarz et al. 2013).

Endoplasmatické retikulum (ER) je organela těsně nasedající na jádro. Rozlišujeme ER drsné a hladké. Drsné ER odpovídá za tvorbu bílkovin a jejich reparaci a na jeho povrchu jsou ribosomy a hladké ER se zbavuje látek škodlivých pro rostlinný organismus (Pollard et al. 2008).

Golgiho komplex je membránový systém tvořený malými váčky, který upravuje složení bílkovin z endoplasmatického retikula. V rostlinné buňce je nazván diktiózóm (Lennarz et al. 2013).

Cytoplasmatická membrána je často nazývána také plasmatickou membránou. Jde o semipermeabilní membránu složenou z dvojité vrstvy fosfolipidů, na každé straně membrány s odlišným složením. Její hlavní funkce je enzymatická a transportní. Kromě toho vyrovnává osmotický tlak uvnitř buňky (Pollard et al. 2008).

Plastidy jsou semiautonomní organely se zásobní a metabolickou funkcí, tudíž hromadí zásobní látky v buňce, zejména škrob. Může zde probíhat transkripce i vlastní fotosyntéza. Je známo několik typů plastidů, a to: chloroplasty, chromoplasty, leukoplasty. Plastidy se vyskytují pouze v rostlinné buňce (Simon et al. 2014).

3.2.1 Buněčné membrány

Jedná se o dvojité vrstvy fosfolipidů, ve kterých najdeme vložené integrální proteiny na vnitřní straně. Na vnější straně se mohou vyskytovat glykoproteiny a glykolipidy, vystupující nad povrch samotné membrány a tvořící glykokalyx (Simon et al. 2014).

Procentuální zastoupení proteinů v membráně se u každé buňky liší. Tato stavba umožňuje membráně přijímání nebo držení substancí za současného vylučování substancí jiných. Membrána vymezuje prostor jednotlivých organel a reguluje tok iontů a metabolitů. Většina těchto transportů vyžaduje k jejich průběhu energii a celá struktura membrány je popsána mozaikovým modelem.

Fosfolipidy neboli základní stavební jednotky membrán, jsou molekuly složené ze dvou mastných kyselin, připojených ke glycerolu, a třetí část je tvořena molekulou fosforylovaného alkoholu. Fosfolipidy mají dvě části:

- Hydrofilní část (hlavička) - vnější část, která interaguje s vnějším prostředím a s vodou, a je tvořena fosforylovaným alkoholem.

- Hydrofobní část (ocásek) – vnitřní část, komunikující s protilehlou hydrofobní vrstvou, tvořící „spoj“ dvojvrstvy. Avšak tyto vrstvy na sebe pevně nenasedají, jsou k sobě pouze přiložené a jednotlivé molekuly fosfolipidů se v membráně mohou pohybovat. Tato část je tvořena mastnými kyselinami.

Tato stavba membráně zajišťuje její semipermeabilitu. Tato vrstva také obsahuje přenašeče, povrchové markery a receptory (Taiz & Zeiger 1991).

3.2.2 Chloroplasty

Chloroplasty řadíme do skupiny semiautonomních organel, které se vyskytují pouze v rostlinné buňce. Jsou podskupinou plastidů, která se podílí na fotosyntéze a ukládání zásobních látek v rostlině, zejména pak škrobu. Povrch chloroplastů je tvořen polopropustnou membránou a pro stroma chloroplastů je charakteristická složitá síť buněčných membrán. Základní stavební jednotkou chloroplastu jsou thylakoidy, které se konformují do podoby gran. Jednotlivá grana (neboli shluky thylakoidů) jsou mezi sebou propojena thylakoidy stromatárními. Původ mají chloroplasty pravděpodobně v prokaryotické buňce, která invaginovala do buňky eukaryotní. Právě to je také pravděpodobně důvodem výskytu dvojité membrány.

Jedna z hlavních funkcí chloroplastů je průběh fotosyntézy, jak světelné, tak temnostní fáze, přičemž průběh dvou fotosyntetických systémů je umístěn v granech. Jedná se o fotosystémy: první PSI a druhý PSII. Temnostní fáze fotosyntézy poté probíhá ve volném prostoru stromatu, kde dochází k zabudování oxidu uhličitého pomocí enzymatických reakcí.

Hlavním fotosyntetickým pigmentem je chlorofyl. Existuje více druhů chlorofylu, ovšem pro vyšší rostliny jsou charakteristické (Lichtenthaler & Schweiger 1998):

- chlorofyl *a*: který je také nazýván modrozelený a s největší účinností absorbuje světlo o vlnové délce 490-510 nm,
- chlorofyl *b*: který nejvíce absorbuje světlo o vlnové délce 510-585 nm a je nazýván chlorofylem žlutozeleným.

Výskyt chlorofylu v rostlině, především pak v listech, ovlivňuje spousta vnějších abiotických faktorů, jako jsou například množství vody, kvalita substrátu, délka a kvalita

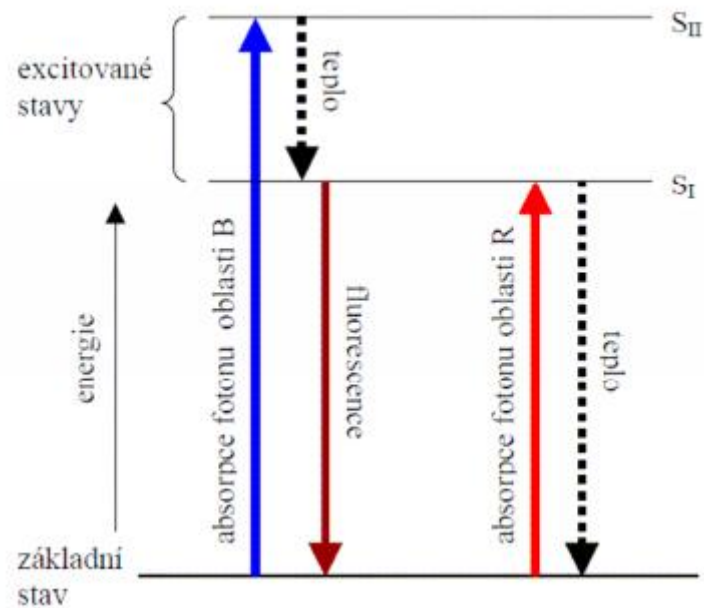
dopadajícího světla a teplotní komfort rostliny. Během života a s postupným stárnutím rostliny se množství chlorofylu v pletivech snižuje až k chlorofylovému kompenzačnímu bodu, což je množství chlorofylu, při kterém má fotosyntéza nulovou účinnost. Tyto hodnoty se pohybují okolo 100 až 250 mg.m⁻².

Základní stavební jednotky chlorofylu jsou porfyrinové struktury, které jsou složeny ze čtyř pyrolových jader (kruhů) a středním dílkem této struktury je hořčnatý kationt. Jak již bylo řečeno, pro vyšší rostliny mají stěžejní význam chlorofyly *a* a *b*, nesmíme však opomenout i další typy pigmentů jako jsou chlorofyl *c* a *d*, bakteriochlorofyl *a* a *b* a v neposlední řadě karotenoidy a fykobiliproteiny. Většina těchto pigmentů se vyskytuje u řas, sinic a některých bakteriálních buněk (Ahammed 2016).

3.3 Fluorescence chlorofylů

Energie fotonu je absorbována ve chlorofylu a je součástí fotosyntetických reakcí v PSII a PSI. Pokud však není energie využita, vrací se energie excitovaného elektronu na nižší energetickou hladinu a přebytek energie je reprodukován ve formě fluorescence nebo tepla. Fluorescenci lze tedy charakterizovat jako malé množství energie nevyužité při fotosyntéze a někdy ji také nazýváme luminiscence (Krause & Weis 1991). Tento jev byl pojmenován po nerostu fluoritu (CaF_2). U chlorofylu se nejčastěji jedná o fotoluminiscenci, způsobenou dopadem částic nebo ozářením (Kočárek et al. 2010). Fluorescence chlorofylu je charakteristická pro dva systémy. Při pokojové teplotě dochází k eliminaci fotosynteticky aktivní radiace modrého a červeného spektra, a to především z chlorofylu *a* umístěného ve fotosystému PSII (Strasserf et al. 1995). Naopak emitace z PSI probíhá při teplotách blízkých teplotám tekutého dusíku (-196 °C) (Stahl et al. 1989).

Obrázek č.2- Schéma excitace elektronu a utilizace jeho energie



Zdroj: (Pavlová 2005)

Existuje nerovnost mezi vlnovou délkou emisního záření a záření excitačního. Vlnová délka emisní nabývá vyšších hodnot a tento jev je definován Stokesovým zákonem. Fluorescenci definuje pomocí několika charakteristik. První z nich je její intenzita. Intenzita je úměrná absorpci fotonů, přesněji pak jejich množství dopadající na plochu za určitý čas vynásobené kvantovým výtěžkem fotosyntézy. Další charakteristikou je složení emisního záření. Spektra vlnových délek jsou velmi podobná vlnovým délkám FAR a jejich maxima se nacházejí v oblasti červeného krátkovlnného i dlouhovlnného záření, modrého a zeleného záření (viz. níže, obrázek č. 4) (Kočárek et al. 2010).

Emisní spektrum fluorescence je záření určité vlnové délky, které dopadá na fotosynteticky aktivní pigmenty a je přeměňováno na jiné formy energie. Excitační spektrum je naopak z chlorofylů vyzařováno a jak již bylo řečeno, má nižší hodnoty vlnových délek.

Pokud je většina energie dopadajícího záření spotřebována k fotosyntéze, nezůstává již energie potřebná pro fluorescenci a míra fluorescence klesá. Tento jev nazýváme jako fotochemické zhášení. Pokud je však energie využita pro vnik tepla v rostlině nebo vyrovnání hodnot pH, fluorescence také klesá a nazýváme ji nefotochemické zhášení fluorescence. Míra a poměr mezi fotochemickým a nefotochemickým zhášením je měřen pomocí krátkých saturačních pulzů a zaznamenáván k pozdějšímu porovnání s variabilní fluorescencí (Schreiber et al. 1986).

Porovnání křivek zhášení je možno na základě dvou faktorů. První je tzv. „Q-zhášení“, při kterém je energie převedena do PSII. Druhý je „E-zhášení“, při kterém dochází k budování pH gradientů u thylakoidních membrán (Krause et al. 1982).

3.3.1 Měřené parametry fluorescence

Záření produkované chlorofyly ihned po zastínění listů nazýváme minimální fluorescencí (F_0). Toto záření je emitováno tzv. „antenálními“ chlorofyly a trvá pouze během prvního saturačního pulzu měření. Poté dochází k intenzivnímu ozáření a všechny elektronové pasti se uzavřou, což je doprovázeno maximální fluorescencí (F_m). Maximální fluorescence může být také dosaženo při nedostatku látek blokujících přenos elektronu mezi dvěma fotosystémy (Krause & Weis 1991). Dalším parametrem je fluorescence variabilní (F_v), která je výsledkem rozdílu maximální a minimální fluorescence. Čtvrtým pozorovaným parametrem je poměr mezi variabilní a maximální fluorescencí, který vyjadřuje efektivitu přenosu energie a míru chloroplastové aktivity (Van Kooten & Snel 1990). Hormann et al. (1994) tvrdí, že tento poměr je roven maximálnímu potenciálnímu výtěžku druhého fotosystému. Poměr mezi variabilní a minimální fluorescencí je velmi citlivý na podmínky vnějšího prostředí, kterým je rostlina vystavena. Tyto podmínky ovlivňují účinnost zachycení excitované energie PSII, který je otevřený (Babani & Lichtenthaler 1996).

3.4 Fotosyntéza

Fotosyntéza je proces, při kterém dochází k přeměně energie slunečního záření na energii chemických vazeb. Je výhradou fotoautotrofních organismů jako jsou rostliny, řasy a některé druhy bakterií. Základní rovnice charakterizující fotosyntézu je rovnice vyjadřující přeměnu oxidu uhličitého a vody na kyslík, vodu a zdroj energie za současné utilizace slunečního záření jako katalyzátoru reakce (Foyer 1984):



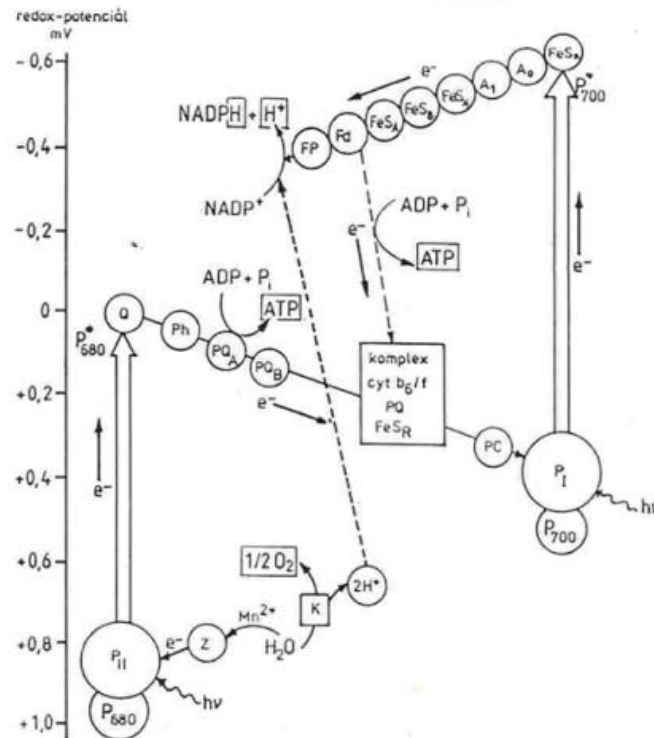
3.4.1 Světelná fáze fotosyntézy

Fotosyntéza má několik základních fází a systémů. První fáze, nazývaná jako světelná fáze, probíhá za účasti dvou fotosystémů (PSI, PSII). Základem je absorpce emitovaného fotonu pigmentovou buňkou, která je umístěna ve stěně fosfolipidové membrány. Absorpce světelného kvanta probíhá především ve PSII, kde se vyskytuje v majoritním zastoupení chlorofyl *b*, avšak k emitování elektronu je využíván pouze chlorofyl *a*. Značení chlorofylu *a* je nejčastěji P680 dle jeho absorpčního maxima udávaného v nanometrech. Po excitaci elektronu z reakčního centra chlorofylu (PSII) je třeba excitovaný elektron doplnit a zásobním substrátem bývá nejčastěji voda (Nash et al. 1985).

Ve PSI je chlorofyl *b* v minoritě. Převládá chlorofyl P700, který absorbuje světlo větších vlnových délek než P680 ve druhém fotosystému. Elektron působí jako redukční činidlo.

Při jeho přenosu přes ferredoxin redukuje $NADP^+$ na $NADPH + H^+$. A přenosem elektronu z PSII na PSI vzniká protonový gradient, který je původcem energie ukládané ve formě ATP do membrán thylakoidů (Lambers et al. 2008).

Obrázek č.3 - Světelná fáze fotosyntézy



Zdroj: (Zbořil 2014)

Světelnou fází lze rozlišovat dle průběhu reakce na cyklickou a necyklickou fotofosforylaci, přičemž necyklická fotofosforylace probíhá v obou fotosystémech a je doprovázena rozkladem vody, která slouží jako zásobní substrát pro pigmenty z PSII, kterým chybí emitovaný elektron. Emitovaný elektron byl využit k redukcí $NADP^+$ na $NADPH + H^+$ a opětovně doplněn z fotolýzy vody. Tento kruh byl uzavřen a náraz světelného kvanta mohl emitovat další elektron z druhého fotosystému. Při transportu elektronu mezi fotosystémem PSII a PSI a jeho přechodem do nižší energetické hladiny dochází k uvolnění energie a její uložení ve formě ATP. Terciálním produktem této fáze fotosyntézy je O_2 , který též vzniká při rozkladu vody (Dulai et al. 2011).

Cyklická fotofosforylace je výhradou PSI, kdy není nutná fotolýza vody pro doplnění chybějícího elektronu v pigmentech, ale elektron se navrátí sám do P700. Po excitaci elektronu a jeho průchodu přes cytochromový komplex je jeho energie uložena také ve formě ATP (Schürmann et al. 1972).

3.4.2 Temnostní fáze fotosyntézy

Temnostní fáze fotosyntézy je fáze, při které dochází k využití produktů, které byly uvolněny v průběhu světelné fáze. Jedná se o adenosintrifosfát a $NADPH + H^+$. Karboxylace CO_2 , za vzniku sacharidů může probíhat třemi způsoby. Tyto způsoby rozlišujeme dle způsobu karboxylace a dle typu rostliny na tzv. Calvinův cyklus, Hatch-Sclackův cyklus a CAM cyklus (Blankenship 2014).

3.4.2.1 Calvinův cyklus (C3-rostliny)

Calvinův cyklus je proces, kdy za pomoci enzymu Rubisco se naváže oxid uhličitý na pětiuhlíkatý cukr (RuBP) za vzniku velmi nestabilní šestiuhlíkaté molekuly. Tato molekula je poté hydrolyzována a za spotřebování primárních produktů ($ATP, NADPH + H^+$) vznikají dvě tříuhlíkaté molekuly sacharidů. Tyto sacharidy se ve formě škrobu ukládají v zásobních orgánech rostliny nebo jsou transportovány ve formě sacharózy na místo pozdějšího využití. Calvinův cyklus pro fixaci oxidu uhličitého mohou využívat všechny vyšší rostliny. Kvůli vzniku tříuhlíkatých produktů se tento cyklus často také nazývá C3-cyklus. Během C3-cyklu, často vzniká velké množství meziproductů a vedlejších produktů jako jsou například tuky a bílkoviny, vznik těchto produktů je charakteristický především pro mladší rostliny (Pavlová 2005).

3.4.2.2 Hatch-Sclackův cyklus (C4-rostliny)

Jedná se o systém zadržování CO_2 rostlinou, kdy za vysokých teplot a silného slunečního záření dochází k přivírání průduchů a k zadržování oxidu uhličitého z důvodu poklesu transpirace. Oxid uhličitý reaguje s PEP a je v tomto případě fixován pomocí enzymu PEP-karboxyláza za vzniku oxalacetátu. Tato enzymatická reakce probíhá s vyšší citlivostí než u rostlin C3. Oxalacetát se redukuje na malát a po přenesení malátu do chloroplastů se uvolňuje oxid uhličitý a pyruát. Uvolněný CO_2 se sekundárně zapojuje do Calvinova cyklu a vzniká vazba na RuBP a pyruát slouží k regeneraci PEP a zakončení cyklu (Hopkins & Hüner 2004).

3.4.2.3 CAM-rostliny

Jedná se o rostliny tropických a subtropických pásem, které jsou svou stavbou a fyziologií adaptovány na suchá, slunná stanoviště. Význačné pro ně je uzavírání průduchů během dne a fixace oxidu uhličitého probíhá kombinací obou výše zmíněných cyklů.

Fixace oxidu uhličitého je oddělena časově, přičemž v noci, když jsou průduchy otevřeny se CO_2 fixuje na PEP, vzniklý oxalacetát je po redukcii na malát transportován do vakuol, kde čeká na své využití během denní fáze. Ve dne je uložený malát z vakuol přenesen

do cytoplazmy, kde je degradován na CO_2 a pyruát. V této fázi je využití obou produktů shodné s využitím totožných produktů v Hatch-Sclackově cyklu (Shameer et al. 2018).

3.4.3 Faktory ovlivňující fotosyntézu

Mezi faktory ovlivňující rychlost a průběh fotosyntézy řadíme mnoho vnitřních i vnějších vlivů. Vnitřní faktory jsou ty, které se týkají přímo fyziologie rostliny, jejího morfologického uspořádání, stáří a typu rostliny. Naopak faktory vnější jsou většinou abiotičtí činitelé vnějšího prostředí, ve kterém rostlina žije a neustále se mu přizpůsobuje.

Jedním z hlavních a pravděpodobně taky nejzásadnější z vlivů je světlo, dopadající na fotosynteticky aktivní plochu rostliny. Hodnotíme jeho intenzitu a složení. Požadavky na množství světla se liší dle typu rostliny, kdy heliofytní rostliny vyžadují více světla pro dosažení kompenzačního bodu ozáření než sciofyty. Kompenzační ozáření je stav, při kterém je fotosyntézou zpracováno stejné množství CO_2 jako je při dýchání uvolněno. Světlo milné rostliny mají tedy vyšší kompenzační ozáření než stín milné (Taiz & Zeiger 2006). Fotosyntéza jako taková však neprobíhá při vystavení rostliny jakémukoli elektromagnetickému záření, avšak rostlina vyžaduje pouze určité spektrum vlnových délek, při kterém je schopna aktivně fotosyntetizovat. Toto spektrum se nazývá fotosynteticky aktivní radiace (FAR) a škála jejích hodnot se pohybuje v rozmezí mezi 400-700 nm. Což jsou hodnoty velmi blízké těm, které je lidské oko schopno rozlišit. Co se týče intenzity ozáření, je nejčastěji udávána v jednotkách $W \cdot m^{-2}$. U rostlin halofytních dosahuje intenzita ozáření až $75 W \cdot m^{-2}$, u stín milných rostlin pouhých $20 W \cdot m^{-2}$ (Hladký 2010).

Další faktor ovlivňující rychlost fotosyntézy je obsah CO_2 ve vzduchu. Jeho koncentrace ve vzduchu je vyčíslena přibližně na 0,038 %. Ovšem mnohé predikce tvrdí, že do druhé poloviny jedenadvacátého století se jeho obsah až dvojnásobně zvýší. Rostliny jsou však schopné velké adaptace a za předpokladu součinnosti ostatních vnějších faktorů jako je například teplota a půdní zásobenost, jsou schopny vyšší obsah CO_2 akceptovat. Reakčním mechanismem na vyšší obsah oxidu uhličitého poté může být například vyšší intenzita fotosyntézy, snížení transpirace nebo také nadměrná tvorba biomasy (Šesták 2000).

Teplota ovlivňuje celou řadu biochemických i enzymatických reakcí zodpovědných za průběh fotosyntézy. Ovšem teplotní optima pro průběh fotosyntézy se liší s druhem a typem rostliny. U C_3 rostlin se teplotní optima pohybují okolo 15-25 °C. Jedná se o rostliny mírného pásma. C_4 rostliny mají své teplotní optimum poněkud vyšší a to od 25 do 40 °C. A rostliny z aridních oblastí fotosyntetizují i při teplotách mírně nad 40 °C. Pro většinu rostlin je však platné, že se fotosyntéza zastavuje při teplotách nad 40 °C a pod 0 °C (Blankenship 2014).

Voda je hlavním zásobním substrátem při fotosyntéze a její přítomnost je esenciální pro samotný průběh fotosyntézy. Proto její nedostatek ve spojení s rostoucí průměrnou roční teplotou a zvyšující se koncentrací oxidu uhličitého může být pro rostliny fatální. S přechodným nedostatkem vody v průběhu dne se rostliny vyrovnají snadno, často během noci. Ovšem při dlouhodobém nedostatku vody dochází ke snižování fyziologických procesů, rychlejší senescenci rostliny nebo její smrti (Fitter & Hay 2002).

Závěrem do značné míry fotosyntézu ovlivňuje také výživa rostliny a půdní zásobenost jednotlivými prvky. Dusík je nezbytný pro tvorbu aminokyselin a enzymů, hořčík je samotnou součástí chlorofylu, fosfor zajišťuje průběh fotofosforylace a vznik ATP. Síra je společně s dusíkem součástí proteinů a každý z prvků má neodmyslitelnou funkci, jak v transportu, tak ve stavbě rostlin (Heldt & Heldt 2005).

3.5 Vodní režim rostlin

Voda tvoří u vyšších rostlin až 95 % rostlinného těla. Její obsah se však liší s každou částí těla rostliny. Semena jsou charakteristická svým nízkým obsahem vody (do 15 %), z důvodu nutné delší trvanlivosti. Většina běžně známých druhů vyšších rostlin patří mezi rostliny homoiohydričné, tudíž mají vakuolu umístěnou v buňce. Rostliny z této skupiny nejsou odolné vůči vysychání, na rozdíl od rostlin poikilohydričných (Raven et al. 2013).

Rozdíly mezi příjmem a výdejem vody se nazývají vodní bilance a jsou ovlivňovány mnoha faktory vnitřními i vnějšími. Rostlina sama je do značné míry schopna regulovat výdej i příjem. Reguluje velikost listové plochy vůči kořenovému systému, dále je schopna například svinovat listy nebo uzavírat průduchy. Co se týče morfologických znaků, jsou rostliny proti nadměrnému výparu vybaveny trichomy, voskovou vrstvou na povrchu pokožky (kutikulou) a listy jsou často tenké, stříbrné nebo kožovité ((Fitter & Hay 2002).

Příjem vody rostlinou probíhá dvěma cestami. První, apoplastická cesta, které vede mimo buňky. Druhá, symplastická, vede skrze buněčné stěny. Vedení vody symplastem je pro rostlinu energeticky náročnější, avšak apoplastická cesta má zábranu ve formě Caspariho proužků. Jedná se o zdřevnatělé buňky, skrz které voda neprojde. Celkový transport vody rostlinou je zajišťován dvěma procesy. Pomocí transpiračního proudu je voda transportována až do korun stromů. Síla transpiračního proudu pak přímo závisí na síle výparu z listové plochy. Druhým mechanismem zásobující rostlinu vodou je kořenový vztlak. Při dlouhém období sucha nebo při silných mrazech však může především u stromů dojít k tzv. „vzduchové embolii“, kdy dojde k přerušení kohezních sil vodního sloupce a místo nad přerušeným vodním sloupcem

zůstává bez zásobení vodou. Kromě sil kohezních můžeme v rostlině pozorovat i adhezi vody ke stěnám kapilár (Fosket 1994).

Rostlina se za specifických podmínek může vody zbavovat pomocí kapek, které se tvoří na okrajích listů. Tento jev se nazývá gutace. Dalším způsobem odchodu vody z rostlinného organismu je transpirace neboli odpařování. Odpařování probíhá z celého povrchu rostliny, nejvíce pak z listů. Rychlost transpirace je závislá na mnoha faktorech a lze charakterizovat objemem odpařené vody za časový úsek na jednotku plochy. Vnějšími faktory ovlivňujícími transpiraci jsou například průběh počasí, vlhkost vzduchu, koncentrace oxidu uhličitého, rychlost proudění vzduchu, intenzita slunečního záření a teplota (Pavlová 2005).

3.5.1 Vodní potenciál

Vodní potenciál je veličina charakterizující aktuální stav vody v rostlinném organismu. Jedná se o porovnání potenciálu čisté vody, který je považován za nulový, a potenciálu vody v rostlině. Vodní potenciál vyjadřuje velikost energie volně vázané vody v rostlině vůči energii čisté vody. Pokud je v rostlinách nízký vodní potenciál, rostliny obsahují malé množství vody, kterou je třeba doplnit. Vodní potenciál značíme řeckým písmenem „psi“ (ψ) a udáváme jej v jednotkách Pascal (Pa). Téměř vždy dosahuje záporných hodnot (Fosket 1994).

3.6 Stres ze zasolení

Stres, který je zapříčiněn vysokým obsahem soli v půdě, způsobuje degradaci růstu a snižuje relativní obsah vody (RWC) a proteinů v substrátu. Naopak zvyšuje obsah prolinu (Haddadi 2016). Sůl se postupně hromadí ve spodních vodách a v zemině a brzy může způsobovat vážné hyperosmolární a hyperiontové problémy, způsobené nedostatkem srážek nebo nadměrným výparem a neustále se opakujícími cykly zavlažování (Mahajan & Tuteja 2005). Osmotický stres, často nazývaný stresem ze zasolení, je způsoben nadměrnou akumulací iontů Na^+ a Cl^- . Z druhého úhlu pohledu Munns (2002) tvrdí, že osmotický stres je způsoben nedostatkem vody v rostlinné buňce. Osmotický stres způsobuje změny v permeabilitě a stabilitě membrán (Sayed 2003).

3.6.1 Vliv zasolení na fotosyntézu

Fotosyntéza je základní a jeden z nejsložitějších procesů v rostlině. Při vystavení rostliny stresu dochází k ovlivnění všech mechanismů souvisejících s fotosyntézou a fotosyntézy samotné. Jsou ovlivněny enzymatické reakce, pigmenty, transport elektronů i zabudování či emise plynů. Celkově dochází ke snížení fotosyntetické aktivity. Dochází ke

šlechtění C3 rostlin vykazujících enzymatické pochody obdobné jako u rostlin C4 kvůli vyšší odolnosti a lepší fotosyntetické účinnosti za nepříznivých podmínek (Ashraf & Harris 2013).

Na zasolení jsou především velmi citlivé chloroplasty, které se účastní světelné i temnostní fáze. Je známo, že stres ze zasolení má větší vliv na transpiraci než na fotosyntetické procesy, přesto však může fotosyntézu i zcela zastavit (Sikuku et al. 2010). Na základě nedostatečné hydratace mezofylních buněk se také stává oxid uhličitý nevyužitelný pro rostlinu při procesu fotosyntézy. Ovlivněna je i stromatární vodivost, jejíž pokles zapříčiňuje pokles turgoru, přístupnosti CO_2 a brzdí průběh fotosyntézy (Chaves et al. 2009).

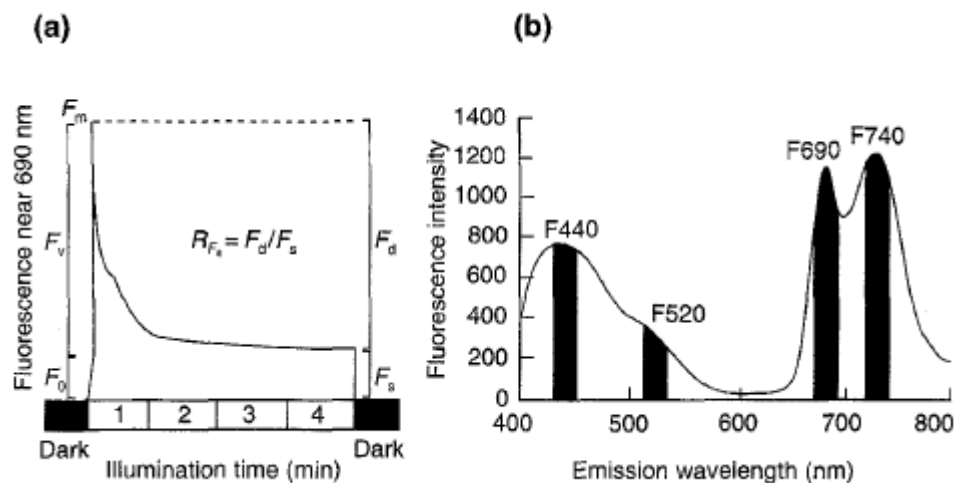
Hlavním stresovým hormonem, který brzdí fotosyntézu, je kyselina abscisová (ABA). Její nadprodukce je typická pro nadměrné zasolení. Vysoké koncentrace iontů Na^{2+} a Cl^{-} ničí membrány thylakoidů, a tím znemožňují průběh fotofosforylace a transport elektronů (Mittal et al. 2012). Nadměrné koncentrace těchto iontů také způsobuje rozklad chlorofylu *a* i *b*, který byl popsán již na velkém množství polních plodin jako jsou: kukuřice, vojtěška a pšenice. Pokud není narušen rozklad chlorofylu, je porušena jeho syntéza a nový chlorofyl potřebný k fotosyntéze již nevzniká. Tato varianta nastává při zasolení častěji (Akram et al. 2011). Je však známo, že halofytní druhy snášejí zasolení bez problému, a dokonce při zasolení obsah chlorofylu zvyšují. Proto by se dal chlorofyl považovat za indikátor odolnosti rostliny vůči zasolení. Tento jev však neplatí pro všechny skupiny plodin, ale spíše pro jednotlivce. Výsledek tedy nemůžeme generalizovat (Juan et al. 2005). Dalším pigmentem ovlivňujícím fotosyntézu je karoten. Působí fotoprotektivně a společně s RWC je jeho nadprodukce u některých rostlin z čeledi *Solanaceae* považována za indikátor tolerance vůči soli. Tento jev byl pozorován u rostliny *Capsicum annuum* L. při koncentraci 60 mM a sdruženě byla také zjištěna vyšší pevnost a odolnost buněčných membrán (Ziaf et al. 2009).

3.6.2 Vliv zasolení na fluorescenci chlorofylu

Za normálních podmínek je většina energie v rostlině využita k fotosyntéze, ovšem při vystavení rostliny stresu, míra fotosyntézy klesá za současného zvyšování fluorescence chlorofylu, především v červené části světelného spektra. Ke změnách dochází i v modré a zelené části spektra. Nedávno byl vyvinut velmi citlivý systém pro detekci i malých světelných kvant všech spekter, a to ultrafialová laserová fluorescence. Mezi nejčastěji hodnocená spektra patří poměr modrého vlnění a červeného krátkovlnného vlnění. Poměr modrého vlnění a červeného dlouhovlnného je typický pro hodnocení míry stresu (Gibson 2012). Tento objev byl velkým přínosem pro pochopení celé fluorescence a zejména pak proto, že se jedná o metodu neinvazivní a nedestruktivní. Fluorescence má dvě fáze. První

je velmi rychlá, trvá přibližně 100 ms a jedná se o rychlý nárůst z minimální k maximální fluorescence. Druhá fáze je pouze pozvolné klesání fluorescence, za současně probíhající fotosyntézy, až ke střední hodnotě fluorescence. Tyto výše popsané fáze fluorescence také nazýváme „Kautského efektem“ (Stirbet et al. 2018). V případě vystavení rostliny stresoru nedochází k pozvolnému poklesu fluorescence. Naopak fluorescence zůstává u svých maximálních hodnot nebo klesá velmi nepatrně (Harb et al. 2018). Všechny tyto stresové reakce mimo jiné indukují změny v obou fotosystémech v transportu elektronů, v metabolismu bílkovin i ve fixaci oxidu uhličitého (Krause & Weis 1991).

Obrázek č.4 - (a) Kinetika fluorescence chlorofylu, (b) Fluorescenční emisní spektra indukované UV zářením



Zdroj: (Lichtenthaler & Miché 1997)

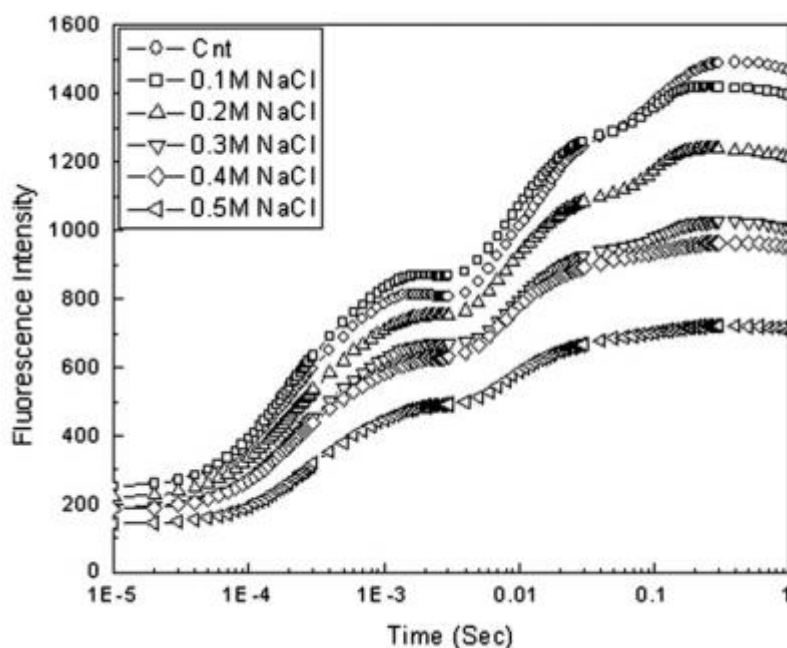
Na obrázku (a) můžeme pozorovat kinetiku fluorescence chlorofylu po nakrytí listu po dobu 20 minut, měřeno pro spektrum o vlnové délce 690 nm. Porovnáván byl poměr maximální a minimální fluorescence, který vyjadřuje potenciální fotosyntetickou aktivitu a lineárně koreluje s asimilací oxidu uhličitého. Na obrázku (b) pozorujeme zastoupení emitovaných vlnových délek po ozáření listu ultrafialovým zářením, kdy platí: F440- modré spektrum, F520- zelené spektrum, F690- červené krátkovlnné spektrum, F740- červené dlouhovlnné spektrum.

Bylo zjištěno, že zasolení a vodní stres mají velmi podobné mechanismy působení na rostlinu, proto fluorescenci chlorofylů můžeme používat pro jejich detekci, nikoli však pro rozlišení, zda se jedná o stres ze zasolení nebo ze sucha (Kalaji et al. 2018). Rychlý posun k fluorescenčnímu maximu ($300\mu s$) je u stresovaných rostlin přisuzován omezeným proudem elektronů do reakčního centra chlorofylu (Brestic & Zivcak 2013). Stres pozorovaný na rostlinách vystavených zasolení se projevuje velmi pozvolně a bylo zjištěno, že u stromů se

stres ze zasolení projevilo až po jedenadvaceti denní expozici stresoru (Kalaji et al. 2018). Zasolení silně ovlivňuje parametr F_v/F_m . Způsobuje jeho pokles s rostoucím zasolením i s rostoucí dobou vystavení zasolení o stejné koncentraci. Doba vystavení stresoru má však za následek nižší pokles poměru než koncentrace soli. Můžeme také pozorovat trend prvotního zvýšení parametru F_v/F_m , až následně pak jeho pokles (Liang et al. 2014).

Stres způsobený zasolením také snižuje množství chlorofylu a je známo, že zasahuje ve větší míře PSII než PSI. Způsobuje ztráty chlorofylových proteinů a membránových jaderných proteinů, což má za následek změny ve složení thylakoidních membrán a následně poruchy přenosu záření z antenálních chlorofylů na druhý fotosystém. Pokles aktivity PSII je doprovázen zvýšením aktivity PSI. Reakce rostliny na zasolení je v jednotlivých vývojových fázích různá, proto se předpokládá, že by mohla být evolučně významným regulátorem (Mehta et al. 2010).

Obrázek č.5 - Chlorofylová fluorescenční časová křivka, pro různé koncentrace NaCl (OJIP)



Zdroj: (Mehta et al. 2010).

Charakter vzestupu fluorescence se dělí na několik fází. Fáze O-J-P-I. Každá fáze je časově vymezena. *O* charakterizuje první fázi při počátku osvětlení, *J* trvá 2 ms, *I* trvá 30 ms a *P* 500 ms. Z těchto fází byl vyvinut „JIP test“, sloužící k biofyzikálnímu rozboru fluorescence, změn absorbcí, zachycování a transportu elektronů (Strasser et al. 2000). Zasolení také snižuje akumulaci chlorofylů na bázi nedostatečné tvorby porfirynu (Abdelkader et al. 2007).

4 Metodika

4.1 Charakteristika rostliny

Pro měření byl vybrán jediný druh listové zeleniny a to šrucha zelná – *Portulaca oleracea* L.. Jedná se o rostlinu z řádu *Caryophyllales* a z čeledi *Portulacaceae*. Do Evropy se rozšířila pravděpodobně ze subtropických a tropických oblastí jižní Asie. Rostlina má tuhé kožovité listy a velmi dobře přežívá na suchých, slunných stanovištích. Roste většinou poléhavě a její lodyhy jsou zbarveny do červena. Květy jsou nenápadné, menší a okvětní lístky se zbarvují do žluta v období květu od července do října. Plodem je tobolka.

4.2 Charakteristika stanoviště

Pokus byl založen v klimaboxu nacházejícím se na Katedře botaniky a fyziologie rostlin České zemědělské univerzity v Praze (dále jen ČZU), Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů (dále jen FAPPZ). Klimabox byl po celou dobu pokusu temperován na teplotu 22 °C a rostliny byly vystaveny světelným periodám, střídajícím se s periodami tmy po dvanácti hodinách. Místnost byla větrána ventilátorem. Rostliny byly vystaveny umělému osvětlení a relativní vzdušné vlhkosti mezi 60–70 %.

4.3 Založení pokusu

Pokus byl založen v druhé polovině března roku 2018, v umělých podmínkách klimaboxu, kde byly rostliny pěstovány po dobu dvou měsíců a průběžně využívány k měření fluorescence a vodního potenciálu.

4.3.1 Výsev

Výsev proběhl 23.3.2018 v klimaboxu FAPPZ, ČZU. Bylo použito osivo společnosti Semo v množství dvakrát 0,4 gramu osiva. Rostliny byly pěstovány v květináčích o velikosti 13x13x13 cm o objemu 1,5 l. Pro výsev byl použit pěstební substrát značky Hawita o velikosti frakcí 0-10 mm. Obsahuje bílou a černou rašelinu, jíl a PG mix. Před vyklíčením rostlin byl pokus zaléván každý den. Po vyklíčení se rostliny zalévaly každý třetí den, tak aby pěstební substrát nikdy zcela nevyschl. Rostliny byly v klimaboxu po dobu přibližně jednoho měsíce, než jejich listy dosáhly velikosti vhodné k měření fluorescence, poté ještě další měsíc, kdy probíhalo samotné měření.

Obrázek č.6. -Výsev šruchy



Zdroj: (foto autor)

4.3.2 Varianty

Po jednom měsíci, kdy rostliny dosáhly dostatečné velikosti, jsme rostliny rozdělili do tří skupin. První neboli kontrolní skupina čítala 17 květináčů. Tato skupina byla zalévána 100 ml destilované vody po každém měření. Druhou skupinu tvořily rostliny, které byly po dobu měření zalévány sto mililitry solného roztoku o koncentraci NaCl 100 mmol/l. Tato skupina obsahovala šestnáct květináčů. Poslední skupina byla skupina zalévána 100 ml solného roztoku o nejvyšší koncentraci, a to 300 mmol/l NaCl. Tato skupina také čítala šestnáct květináčů. Všechny varianty byly zalévány každý třetí den. V každém květináči ze všech variant bylo ponecháno mezi pěti až sedmi rostlinami z důvodu prostorové konkurence.

Obrázek č.7 – Jednotlivé varianty pod umělým osvětlením



Zdroj: (foto autor)

4.4 Zpracování výsledků

Výstupy přístrojů byly zaneseny do tabulek a grafů a rozděleny dle jednotlivých dnů a měřených charakteristik. Jednotlivé charakteristiky byly následně vyhodnocovány

v programu Excel, ve formě sloupcových grafů. Zaznamenán byl aritmetický průměr, směrodatná odchylka a pro porovnání závislostí fluorescence na vodním potenciálu byl použit koeficient determinace.

4.4.1 Měření fluorescence chlorofylů

K měření fluorescence a jejích konkrétních hodnot byl použit modulovaný fluorometr typu OS5p+, který je běžně používán k měření míry zatížení a stresu na široké škále rostlin. Přístroj pracuje na principu zpracování signálů rychlého pulzujícího světla procházejícího přes list a měřícího světelné emise indukované při průchodu listem. Chlorofylová fluorescenční metoda může být použita pro měření většiny typů stresu na rostlinách. OS5p+ váží 1,6 kg, je plně mobilní a je opatřen popruhem na rameno pro lepší manipulaci. Baterie je uzpůsobena pro dvanáct hodin kontinuálního užívání. Balení OS5p+ obsahuje vlastní fluorometr s optickým kabelem zakončeným spínačem na manuální ovládání. Získaná data se ukládají na SD kartu nebo se pomocí USB kabelu přenáší přímo do počítače. Součástí balení jsou také zatemňovací klipy a klipy pro měření fotosynteticky aktivní radiace.

Obrázek č.8 – Přístroj pro měření fluorescence chlorofylu (OS5p+)



Zdroj: (Vsinstruments 2015)

4.4.1.1 Postup

Vlastní měření probíhalo od 17.4.2018 do 23.5.2018 přibližně každé tři dny v ranních hodinách. U každé varianty byly měřeny hodnoty:

- F_0 – minimální fluorescence měřená po temnostní adaptaci pomocí minimální intenzity světla, která je schopna vyprovokovat pre-fotosyntetickou fluorescenci,
- F_m – maximální fluorescence měřená během prvního saturačního pulsu dodaného po temnostní adaptaci,
- F_v – variabilní fluorescence rovna rozdílu F_m a F_0 ,

- Fv/Fm – maximální kvantový výtěžek fotosystému II (PS II), za předpokladu maximální účinnosti systému,
- Fv/Fo – citlivější detekce stresu než Fv/Fm, která je náchylnější na dokonalost provedení testu.

Bylo umístěno patnáct zatemňovacích klipů na náhodné rostliny od každé varianty. Tyto klipy byly ponechány po dobu 15 minut a poté probíhalo vlastní měření fluorescence pomocí OS5+. Data se zapisovala na SD kartu a následně byly přeneseny výstupy přístroje ve formě aritmetického průměru, směrodatné odchylky do tabulek a grafů. Dále byly vytvořeny grafy korelace fluorescence s vodním potenciálem.

4.4.2 Měření vodního potenciálu

K měření vodního potenciálu byl použit přístroj WP4C Dew Point PotentialMeter (Decagon Devices, Inc.), který pracuje na principu měření rosného bodu. Vzorek je umístěn do vzduchotěsné komory, která je opatřena zrcadlem temperovaným peltierovým chladičem na přesnou teplotu. Na tomto zrcadle dochází ke kondenzaci vodních par, která je měřena pomocí fotodetektoru, kdy dojde ke změně směru paprsku, který je vysílám směrem k zrcadlu, ihned po prvotní kondenzaci par na zrcadle. V tuto chvíli je zaznamenána teplota v komoře, při které dochází ke kondenzaci. Pro rychlejší vytvoření homogenního prostředí v komoře je používán ventilátor, který napomáhá k cirkulaci vzduchu. Hodnoty vodního potenciálu se udávají v MPa. Obrázek č.9 – Přístroj pro měření vodního potenciálu (WP4C)



Zdroj: (Ictinternational 2006)

4.4.2.1 Postup

Pro měření vodního potenciálu byly použity listy rostliny, jimiž byly naplněny inzulinové stříkačky o objemu 5 ml. Stříkačky byly uzavřeny parafinovým filmem a následně

zmrazeny při teplotě $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vzorke rostlinného pletiva byly sbírány ve stejných dnech, kdy probíhalo měření fluorescence chlorofylů. Vlastní měření vodního potenciálu poté probíhalo po vynětí vzorků z chladicího zařízení a temperování vzorku při pokojové teplotě do úplného rozmražení. Po rozmražení byl vzorek přenesen ve formě kapek na terčíky filtračního papíru typu „Whatmen 1“, o velikosti 1,5 cm. Každý vzorek byl měřen s pětičetným opakováním pomocí WP4C Dew Point PotentialMeter (Decagon Devices, Inc.).

5 Výsledky

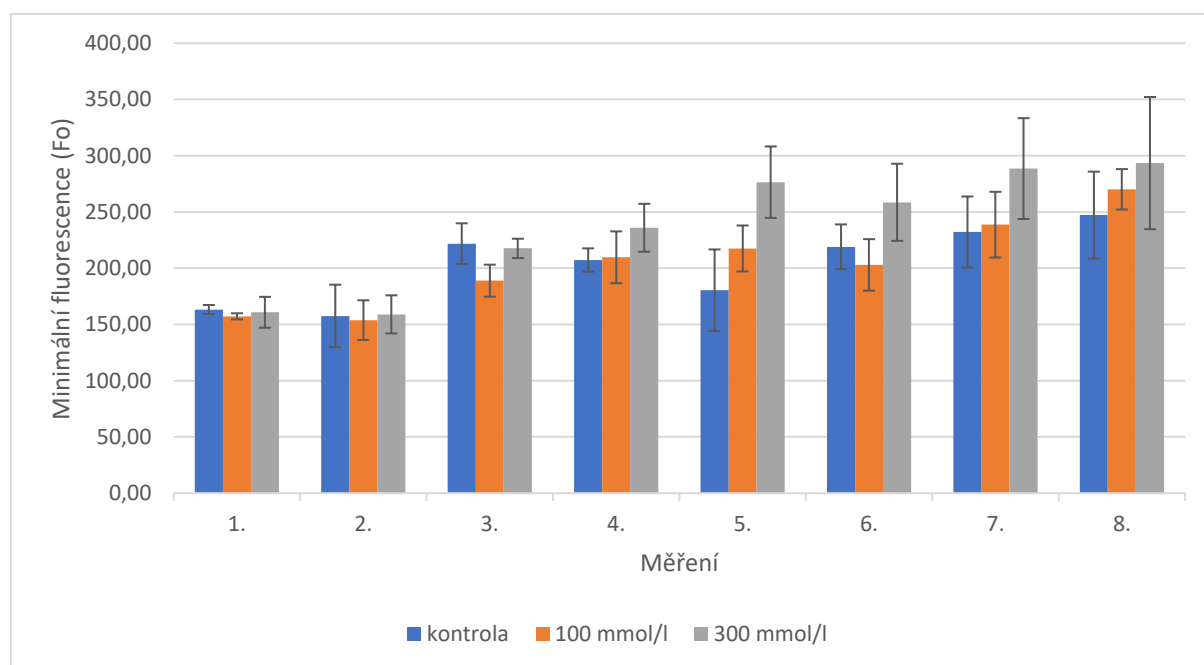
5.1 Fluorescence

Byla měřena fluorescence chlorofylu u třech variant stresovaných rostlin, hodnocení proběhlo dle pěti měřených parametrů.

5.1.1 Minimální fluorescence (Fo)

První graf znázorňuje sloupcové zobrazení hodnot aritmetického průměru minimální fluorescence společně se směrodatnými odchylkami pro daná data. První až osmé měření probíhalo v pravidelných intervalech. Datováno od 17.4. 2018 do 23.5. 2018.

Graf č. 1 – Minimální fluorescence



Minimální fluorescence měla v celkovém měřítku stoupající tendenci. Zpravidla pak byla nejvyšší u nejvíce zasolené varianty a nejnižší u kontrolní varianty při každém opakování. Kontrolní varianta při prvním měření, které proběhlo 17. dubna 2018, dosahovala hodnot 163,2. Při posledním měření došlo k nárůstu minimální fluorescence až k hodnotě 247,2. Hodnoty kontrolní varianty pozvolně stoupaly s výjimkou třetího měření, kdy došlo k většímu nárůstu než u čtvrté hodnoty, až k hodnotě 221,8. Naopak u pátého měření minimální fluorescence poklesla na 180,4.

Varianta zalévaná solí o koncentraci 100 mmol/l vykazovala podobný charakter vzrůstu jako kontrolní varianta. Při prvním měření byla zaznamenána hodnota 157,2. Při posledním měření, které proběhlo 23. května 2018, byla naměřena minimální fluorescence 270,13. První

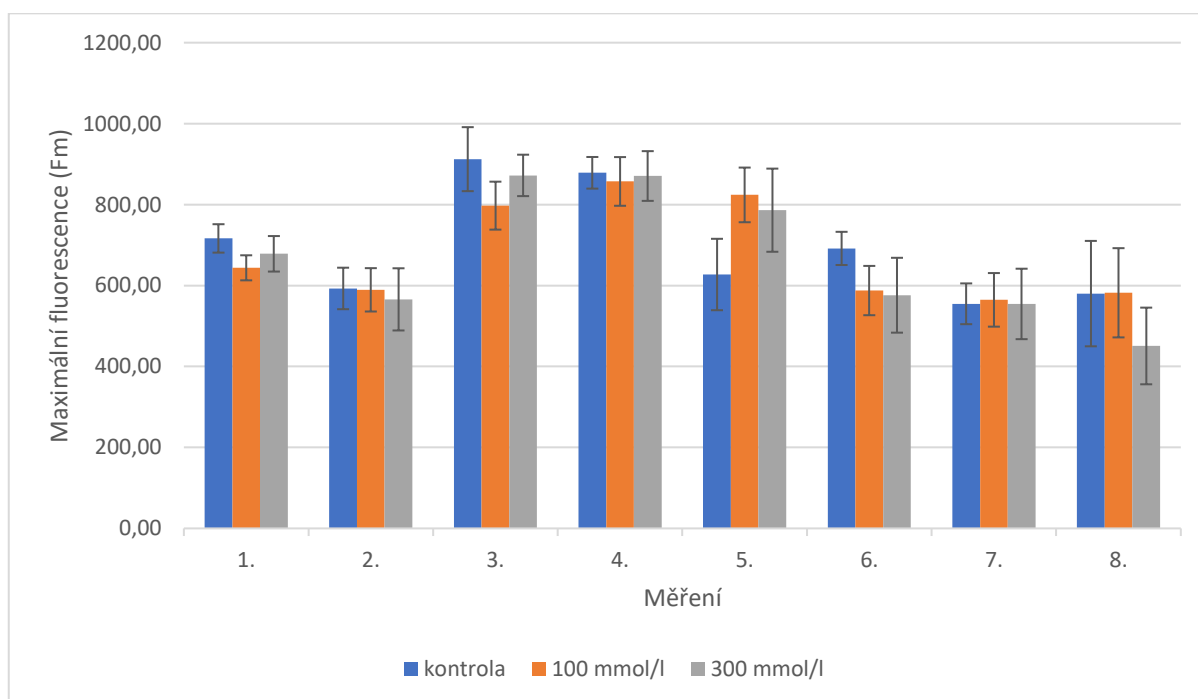
tři měření vykazovala tato zasolená varianta nižší fluorescence než kontrolní varianta. Při čtvrtém a pátém měření došlo k nárůstu nad hodnoty kontrolní varianty, a to na hodnoty: 209,7 a 217,53. Při šestém měření hodnota opět poklesla níže než u kontroly.

Varianta zalévaná 300 mmol/l NaCl v prvním dni měření dosahovala nižších hodnot než kontrolní varianta, a to 160,8. V posledním měřicím dni pak vystoupala hodnota minimální fluorescence až na 293,4, což bylo nejvíce ze všech měření i variant. Ve druhém měřicím dni byla kontrolní hodnota o necelý bod nižší než poslední varianta. Třetí měření (23.4 2018) byla hodnota minimální fluorescence 217,6 a byla opět nižší než u kontrolní varianty. Od čtvrtého měření však varianta zalévaná nejvyšší koncentrací dosahovala vždy nejvyšších hodnot ze všech variant.

5.1.2 Maximální fluorescence (Fm)

Druhý graf znázorňuje sloupcové zobrazení hodnot aritmetického průměru maximální fluorescence společně se směrodatnými odchylkami pro daná data. První až osmé měření probíhalo v pravidelných intervalech. Datováno od 17.4. 2018 do 23.5. 2018.

Graf č.2 – Maximální fluorescence



Maximální fluorescence měla spíše klesající charakter s výjimkou třetího a čtvrtého měření, kdy došlo k nárůstu maximální fluorescence u všech variant. Velmi často nejvyšších hodnot dosahovala kontrolní varianta. Varianty zalévané 100 mmol/l a 300 mmol/l vykazovaly velmi podobné hodnoty u většiny měření. První měření u kontrolní varianty dosáhlo hodnoty 716,4. Zbylá měření měla klesající charakter až na výkyvy u třetího a čtvrtého měření. Třetí

měření, datováno na 23. dubna, a čtvrté měření datováno na 26. dubna dosahovaly hodnot 912,25 a 878,5. Páté měření zachytilo hluboký pokles k hodnotě 627,23. Nejnižší hodnota maximální fluorescence byla pak zaznamenána u předposledního měření ze dne 17. května 2018, a to 554,91.

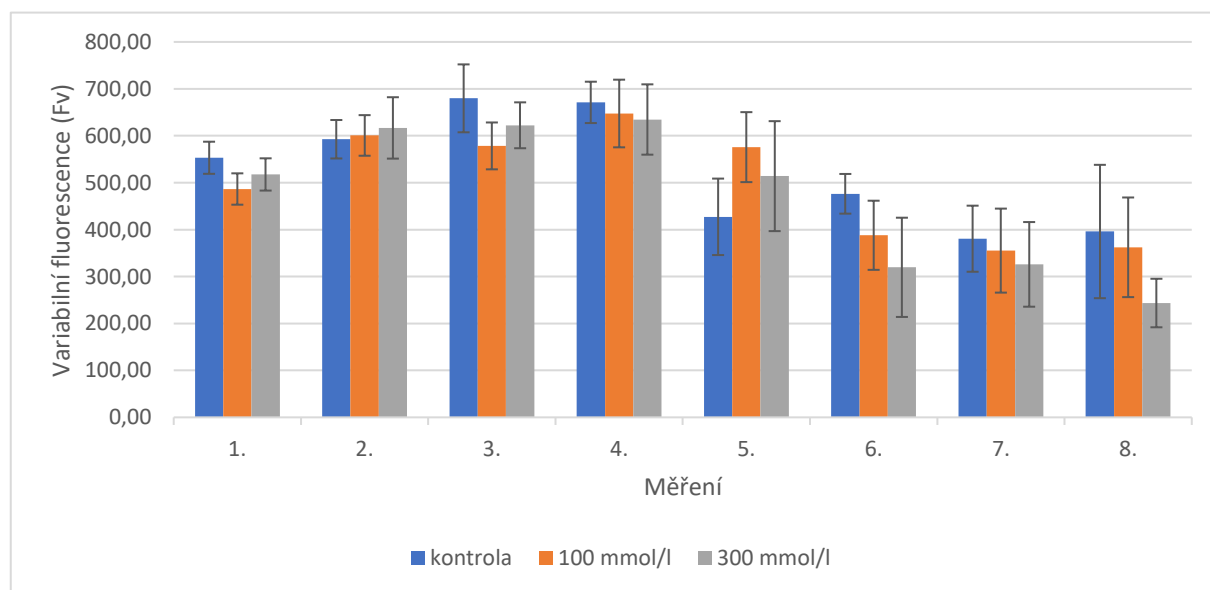
Pohyby hodnot u druhé varianty zalévané 100 mmol/l NaCl zaznamenaly podobný charakter jako kontrolní varianta. V prvním měření byla maximální fluorescence 643,8. Druhé měření proběhlo 20. dubna 21018 a hodnota fluorescence poklesla na 589,4. Nejvyšší hodnoty byly zachyceny při čtvrtém a pátém měření, a to 857,2 a 823,92. Poté hodnoty pozvolně klesaly, až k sedmému měření, kdy byla maximální fluorescence 564,64 a u posledního měření ze dne 23. května 2018 byla průměrná maximální fluorescence 582,09.

Varianta s nejkonzentrovanejší zálivkou měla ve druhém měření velmi podobné výsledky jako kontrolní a druhá varianta, a to 565,8. Nejvyšší nárůst, stejně jako u kontrolní varianty, nastal během třetího a čtvrtého měření až k hodnotám 872,1 a 870,6. Hodnota z pátého měření (30. dubna 2018) vykazovala také poměrně vysokou hodnotu fluorescence, a to 786,15. Hodnoty maximální fluorescence během šestého a sedmého měření byly téměř totožné. A poslední měření zachytilo maximální fluorescenci na hodnotě 450,7, což je nejnižší maximální fluorescence ze všech proběhlých měření i variant.

5.1.3 Variabilní fluorescence (Fv)

Třetí graf znázorňuje sloupcové zobrazení hodnot aritmetického průměru variabilní fluorescence společně se směrodatnými odchylkami pro daná data. Měření byla datována od 17.4. 2018 do 23.5. 2018.

Graf č. 3 – Variabilní fluorescence



Variabilní fluorescence pro všechny varianty zaznamenala nejvyšší hodnoty během třetího a čtvrtého měření. Po pátém měření byl zaznamenán pokles až k hodnotám nižším než hodnoty minimální fluorescence. Kontrolní varianta první den dosahovala variabilní fluorescence 553,2. Až ke třetímu měření pak sloupala po hodnotách 592,67 a 679,83. Od čtvrtého měření, dne 26. dubna 2018, byl zaznamenán pokles variabilní fluorescence na hodnotu 671,2. Mezi čtvrtým a pátým měřením pak nastal pokles o téměř 244. Při šestém měření se hladina průměrné variabilní fluorescence ustálila na hodnotě 476,39. Hodnota sedmé kontroly byla nejnižší ze všech měření u kontrolní varianty a to 380,67.

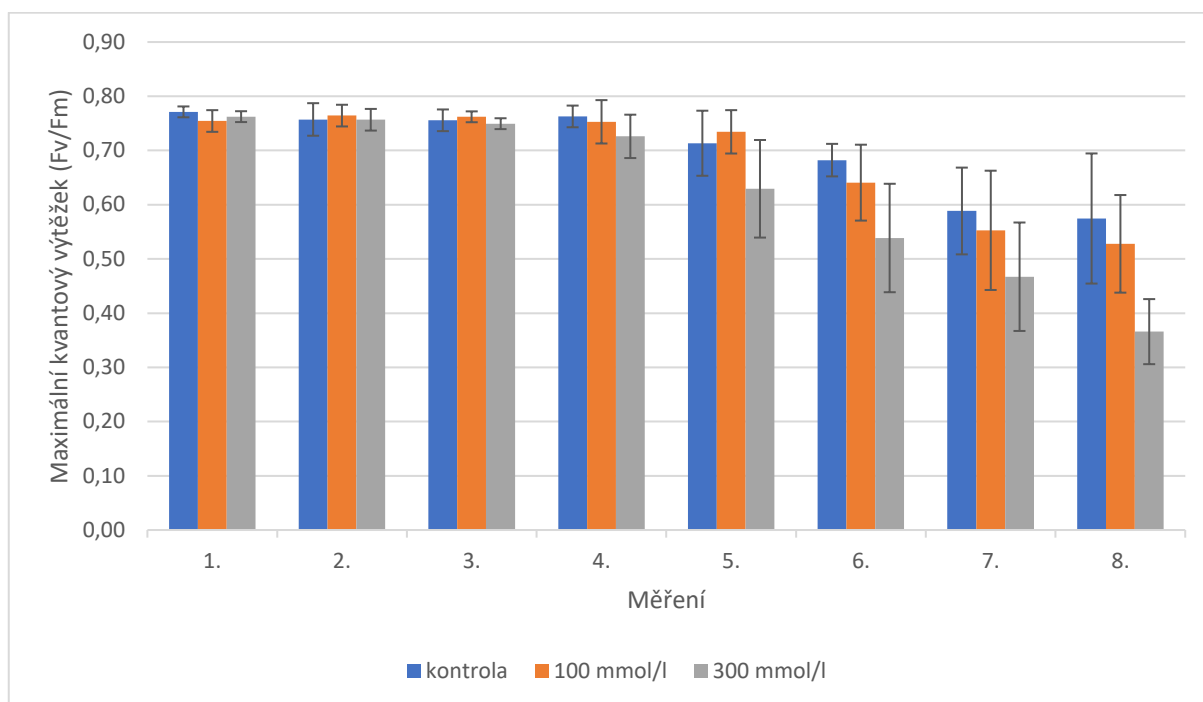
Druhá varianta zaznamenala nejvyšší nárůst až u čtvrtého měření, na rozdíl od kontrolní varianty, která měla maximum u třetího měření. První dvě měření variabilní fluorescence u varianty zalévané 100mmol/l NaCl pozvolně stoupaly po hodnotách 486,6 a 600,77. Třetí měření ze dne 23. dubna 2018 pokleslo k hodnotě 578,47 a při čtvrtém měření dosáhla variabilní fluorescence pro tuto variantu svého maxima. Od čtvrtého k sedmému měření hodnoty pozvolně klesaly až na variabilní fluorescenci 355,32 naměřenou 17. května 2018. Poslední měření zaznamenalo mírný nárůst fluorescence na hodnotu 362,37.

Varianta nejvíce zasolená vykazovala v prvních třech měřeních hodnoty variabilní fluorescence vyšší než druhá varianta. Po třetím měření byly pak hodnoty vždy nižší než u varianty zalévané 100 mmo/l NaCl. Hodnoty kontroly byly nižší pouze ve druhém a pátém měření. První čtyři měření pozvolně stoupaly s hodnotami: 517,60; 616,76; 622,36 a 634,70. Páté měření, datované na 30. dubna 2018, vykazovalo pokles hodnot variabilní fluorescence na 514,02. Poslední tři měření byla porovnatelná s hodnotami minimální fluorescence, zvláště pak osmé měření, kde fluorescence poklesla až na 243,59.

5.1.4 Maximální kvantový výtěžek (Fv/Fm)

Čtvrtý graf znázorňuje sloupcové zobrazení hodnot aritmetického průměru maximálního kvantového výtěžku společně se směrodatnými odchylkami pro daná data. První až osmé měření probíhalo v pravidelných intervalech. Datováno od 17.4. 2018 do 23.5. 2018.

Graf č. 4 – Maximální kvantový výtěžek



Maximální kvantový výtěžek se v prvních čtyřech měřeních ve všech variantách pohyboval konstantně mezi hodnotami 0,7 a 0,8. Po čtvrtém měření můžeme pozorovat pokles hodnot téměř k hodnotě 0,3. Hodnoty kontrolní varianty maximálního kvantového výtěžku začínaly na hodnotě 0,77. Další tři měření vykazovaly totožné hodnoty, a to 0,76. Pátým měřením byl započat pokles hodnot naměřeným poměrem 0,71. Tento klesající trend trval, až k poslednímu dni měření (23.5 2018), kdy hodnota maximálního výtěžku fluorescence dosahovala 0,57.

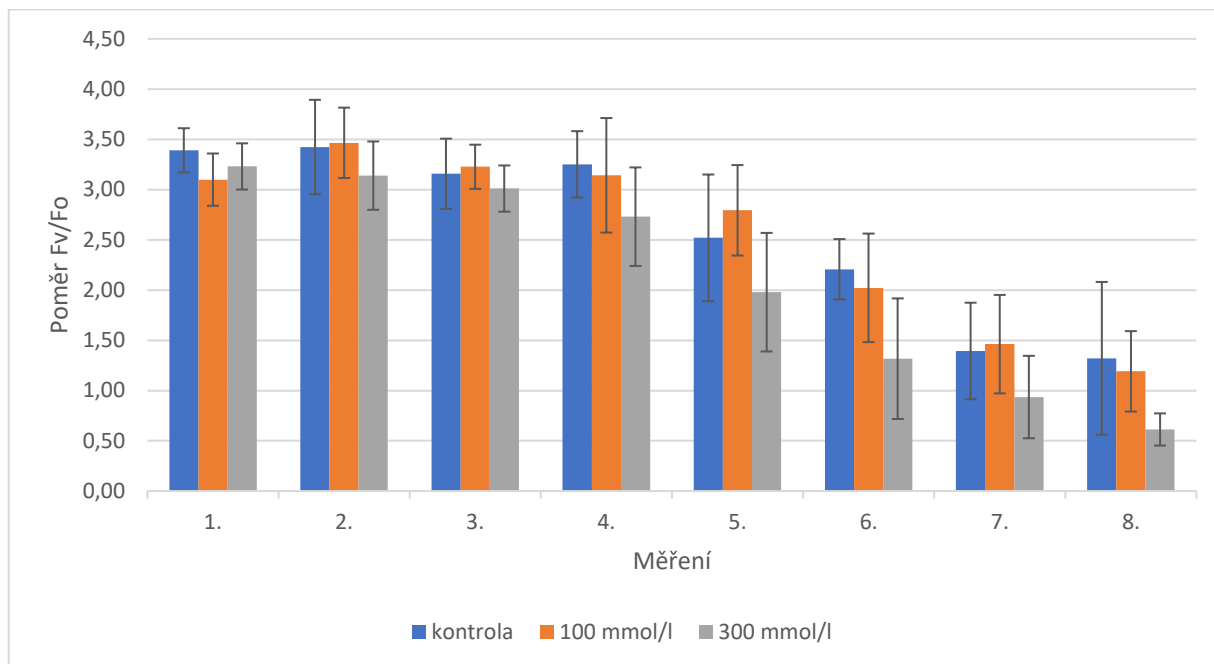
První měření u druhé varianty vykazovalo hodnotu 0,75. Druhé a třetí měření vykazovalo totožný maximální kvantový výtěžek jako u kontrolní varianty a čtvrtá hodnota se opět vrátila na hladinu prvního měření. Páté měření, které proběhlo 30. dubna 2018, svou hodnotou pokleslo na 0,73. Maximální kvantový výtěžek pak nadále klesal až poslednímu měření, stejně jako kontrolní varianta, kde byla zaznamenána hodnota 0,53.

Varianta zalévaná nejkonzentrovanejším roztokem vykazovala první dvě hodnoty stejné, a to 0,76. Třetí hodnota, z 23. dubna 2018, byla 0,75. Od třetího měření již všechny hodnoty pozvolně klesaly. Čtvrté, páté a šesté měření vykazovalo hodnoty: 0,73; 0,63 a 0,54. Osmé měření třetí varianty vykazovalo nejnižší hodnotu maximálního kvantového výtěžku, a to 0,37.

5.1.5 Fluorescenční poměr Fv/Fo

Pátý graf znázorňuje sloupcové zobrazení hodnot aritmetického průměru fluorescenčního poměru Fv/Fo společně se směrodatnými odchylkami pro daná data. První až osmé měření probíhalo v pravidelných intervalech. Datováno od 17.4. 2018 do 23.5. 2018.

Graf č. 5 – Poměr Fv/Fo



Hodnoty poměru Fv/Fo mají sestupnou tendenci. Třetí varianta dosahovala nejnižších hodnot. Naopak první dvě varianty byly střídavě na prvním místě. Kontrolní varianta nabyла nejvyšší hodnoty poměru u druhého měření, a to 3,42. V prvním měření byly zaznamenány hodnoty nepatrně nižší: 3,39. U třetí hodnoty je viditelný pokles k 3,16 a 26. dubna 2018 při čtvrtém měření hodnota stoupla na 3,25. Páté a šesté měření vykazovalo hodnoty velmi blízké: 2,52 a 2,21. Stejně tak velmi blízké hodnoty byly naměřeny v posledních dvou měřeních ve dnech 17. května a 23. května 2018, a to 1,39 a 1,32.

U druhé varianty zalévané roztokem o koncentraci 100 mmol/l byl pozorován podobný trend jako u kontroly. S rozdílem, že první hodnota 3,1 byla nižší než další tři následující. Tento nárůst oproti první hodnotě byl ukončen čtvrtým měřením, kde byla naměřena hodnota 3,14. Poté hodnoty pozvolně klesaly až k hodnotě osmého měření 1,19. Šesté měření z 9. května vykazovalo hodnotu 2,02, která byla velmi podobná jako u kontrolní varianty. A sedmé měření bylo u této varianty nejvyšší ze všech a vykazovalo hodnotu 1,46.

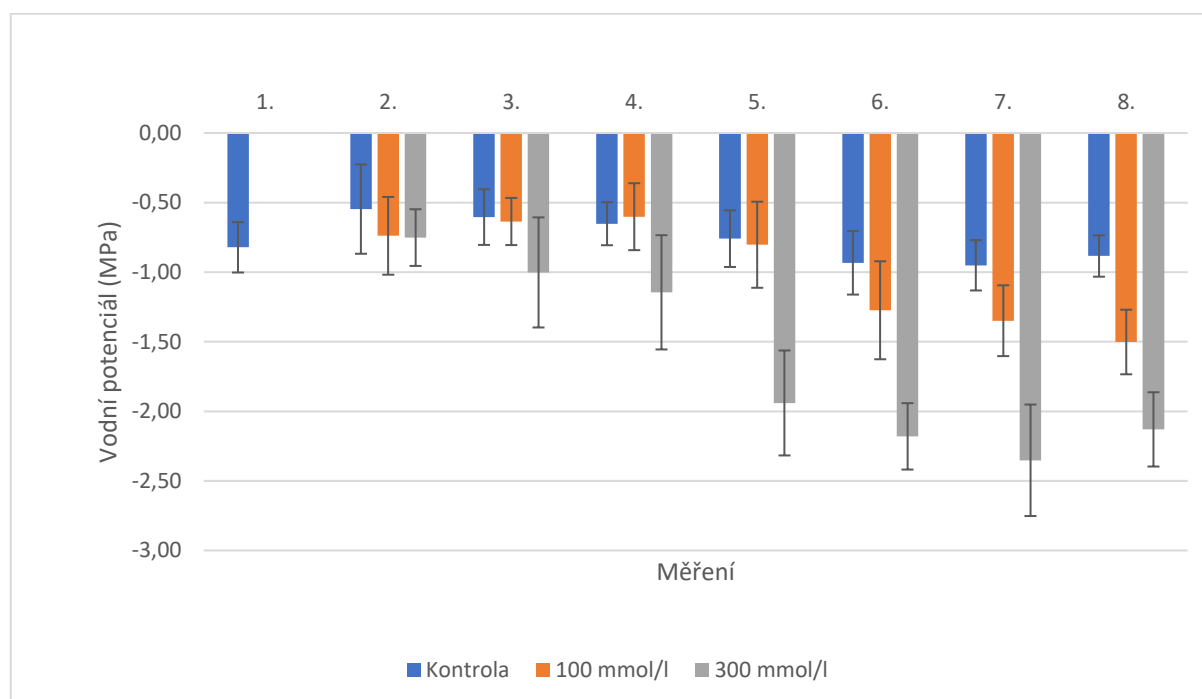
Třetí varianta, vykazovala ve všech měřeních nejnižší hodnoty, kromě prvního měření, kde svou hodnotou 3,23 předčila druhou variantu. Hodnoty třetí varianty postupně klesají bez výjimky. Druhé a třetí měření poměru Fv/Fo se stejně jako první hodnota pohybovaly nad

hranicí 3. Čtvrtá hodnota byla 2,73. Výsledek pátého měření byl blíž kontrolní variantě, než variantě zalévané roztokem o koncentraci 100 mmol/l NaCl. Jeho hodnota byla 1,98. U sedmého měření byla rovněž hodnota blíže ke kontrolní variantě a osmé měření vykazovalo hodnotu parametru 0,61. Poslední měření vykazovalo nejnižší hodnoty ve všech třech variantách.

5.2 Vodní potenciál (MPa)

Šestý graf reprezentuje hodnoty vodního potenciálu u šruchy měřeného v MPa. Použité hodnoty aritmetického průměru, zanesené do sloupcového grafu, jsou graficky upřesněny směrodatnými odchylkami.

Graf č. 6 - Vodní potenciál



V grafu č.6 můžeme pozorovat záporné hodnoty vodního potenciálu u šruchy. Při prvním měření byla naměřena kontrolní hodnota $-0,82$. Hodnoty vodního potenciálu u variant zalévaných solným roztokem nebyly měřeny. U druhého měření kontrolní hodnota poklesla na $-0,55$ a hodnoty klesaly s mírou zasolení na $-0,74$ a $-0,75$. Od druhého měření můžeme pozorovat klesající tendenci vodního potenciálu až k sedmé hodnotě. Osmé měření vykazovalo nárůst vodního potenciálu. Pro kontrolu byl pozorován vzrůst na hodnotu $-0,88$. Pro variantu zalévanou roztokem NaCl o koncentraci 100 mmol/l byla hodnota vodního potenciálu $-1,5$ a pro variantu zalévanou nejkonzentrovanejším roztokem bylo naměřeno $-2,13$. Kompletní tabulka hodnot vodního potenciálu viz. níže (tabulka č.1).

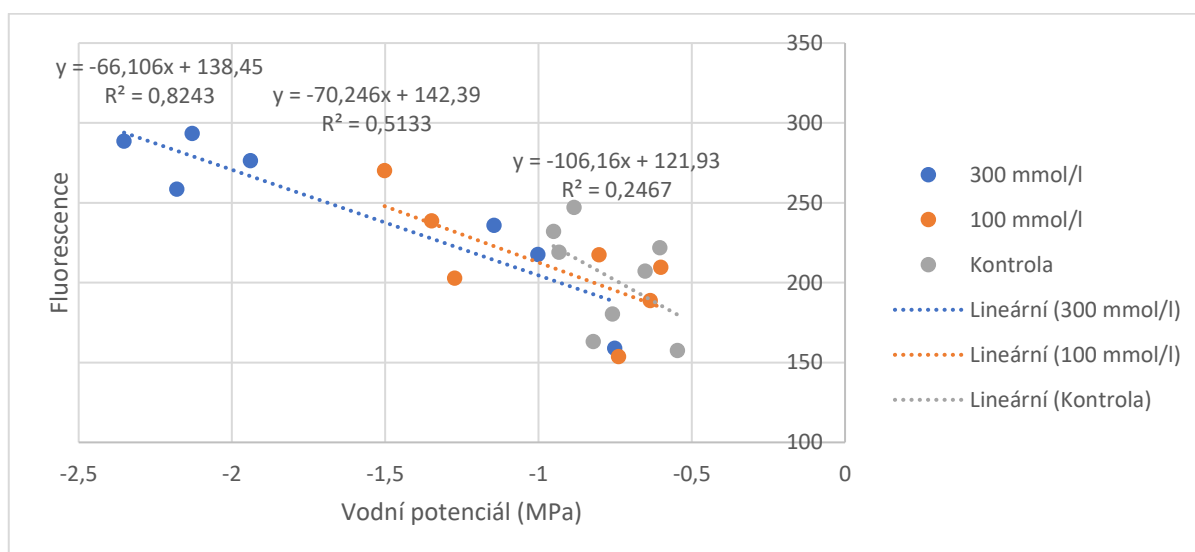
Tabulka č.1 – Hodnoty vodního potenciálu (MPa)

Měření	Kontrola	100 mmol/l	300 mmol/l
1.	-0,82	neměřeno	neměřeno
2.	-0,55	-0,74	-0,75
3.	-0,60	-0,64	-1,00
4.	-0,65	-0,60	-1,15
5.	-0,76	-0,80	-1,94
6.	-0,93	-1,27	-2,18
7.	-0,95	-1,35	-2,35
8.	-0,88	-1,50	- 2,13

5.3 Korelace fluorescence s vodním potenciálem

5.2.1 Parametr Fo

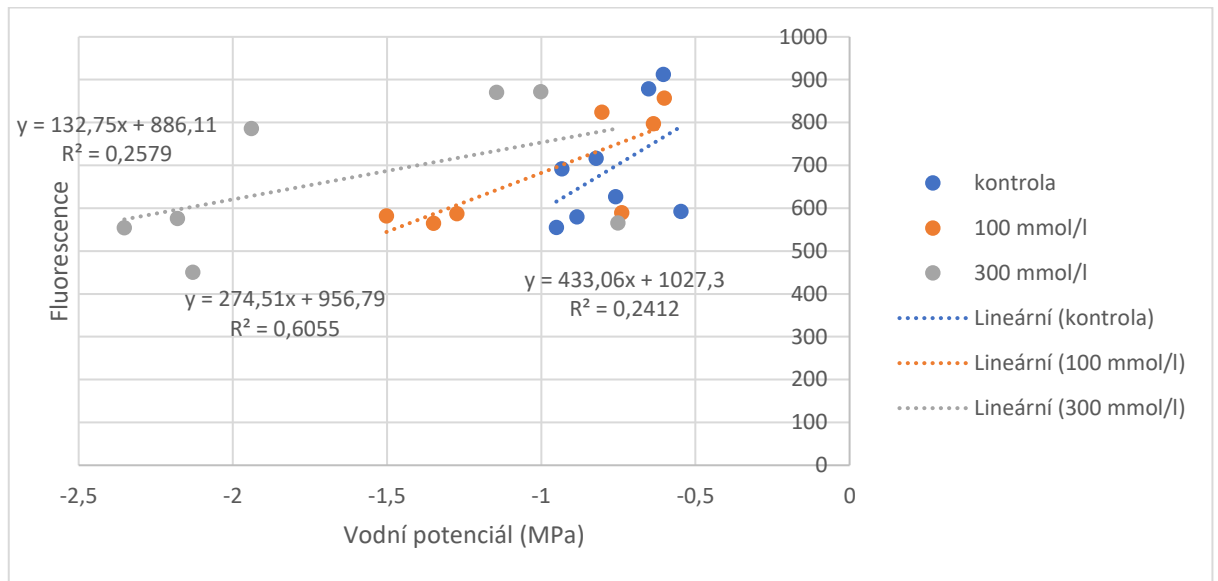
Graf č.7 - Závislost fluorescence na vodním potenciálu pro parametr Fo



Závislost minimální fluorescence na vodním potenciálu je vyjádřena pomocí koeficientu determinace, který pro kontrolní variantu dosahoval hodnot 0,25, což svědčí o nízké závislosti mezi proměnnými. Druhá varianta zalévaná roztokem o koncentraci 100 mmol/l vykazovala hodnotu závislosti parametrů vyšší než 51 %, hodnota korelačního koeficientu tedy byla 0,72. Varianta zalévaná nejkonzentrovanejším roztokem vykazovala nejvyšší míru závislosti ze všech variant. Závislost minimální fluorescence u třetí varianty vystoupala téměř na 83 % s hodnotou korelačního koeficientu 0,91.

5.2.2 Parametr Fm

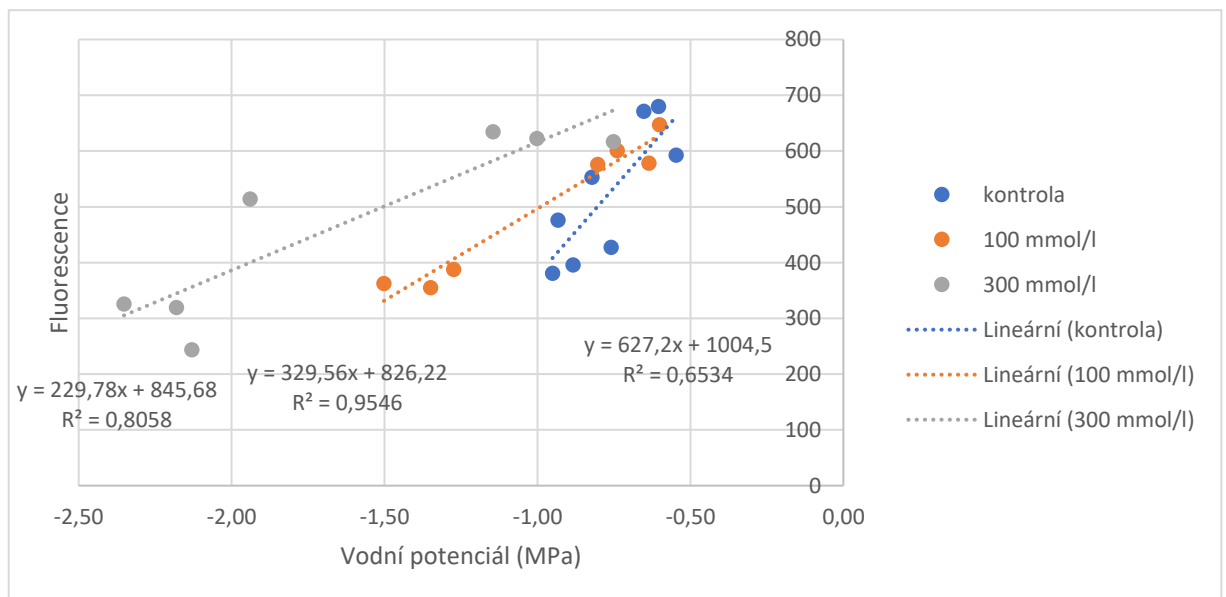
Graf č. 8 - Závislost fluorescence na vodním potenciálu pro parametr Fm



Velikost koeficientu determinace pro kontrolní variantu je téměř 25 % závislost maximální fluorescence na vodním deficitu, proto se korelační koeficient blíží k hodnotě 0,5. Pro druhou variantu můžeme pozorovat nárůst koeficientu determinace až k hodnotě 0,61, což je zároveň nejvyšší závislost spojená s maximální fluorescencí. A hodnota pro variantu zalévanou roztokem o koncentraci 300 mmol/l NaCl opět klesla pod šestadvaceti procentní závislost.

5.2.3 Parametr Fv

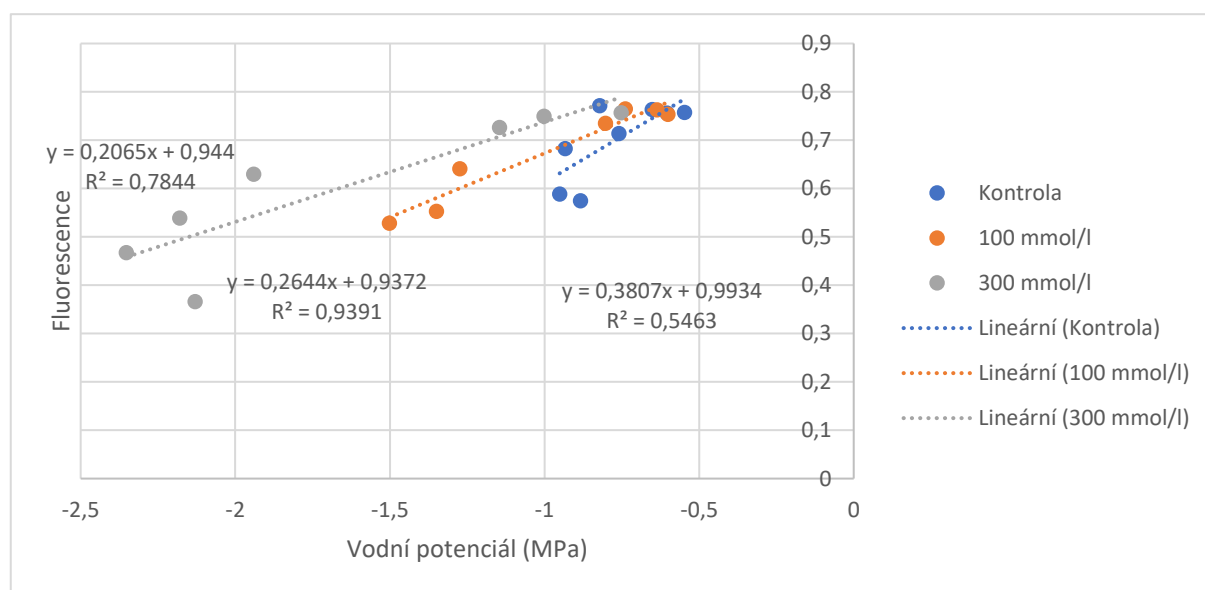
Graf č. 9 - Závislost fluorescence na vodním potenciálu pro parametr Fv



Variabilní fluorescence kontrolní varianty závisí na vodním potenciálu z více než 65 % a korelační koeficient odpovídá hodnotě 0,81. Druhá varianta vykazuje nejvyšší závislost ze všech variant, a to více než 95 % závislost. Korelační koeficient pro druhou variantu je pak 0,98 a svědčí o velmi silné závislosti parametrů. U poslední varianty, zalévané nejvyšší koncentrací soli, byl pozorován mírný pokles v závislosti na vodním potenciálu, a to na hodnotu 0,81, kdy byl korelační koeficient téměř 0,9.

5.2.4 Parametr Fv/Fm

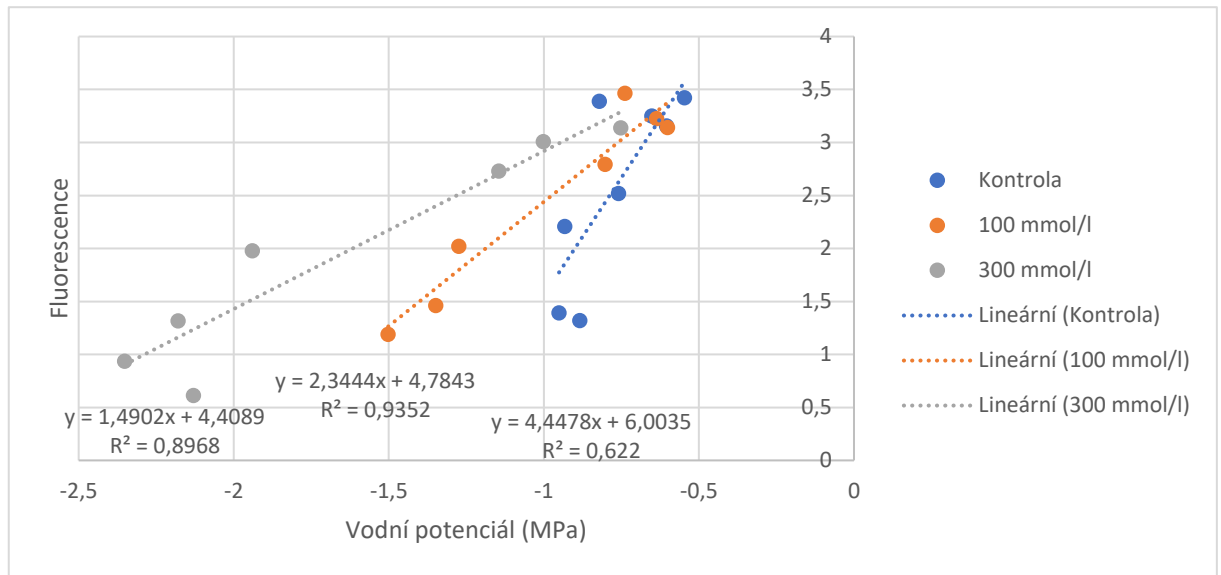
Graf č. 10 - Závislost fluorescence na vodním potenciálu pro parametr Fv/Fm



Maximální výtěžek fotosystému PSII je u kontrolní varianty na vodním deficitu závislý z 55 %. Jedná se o nejnižší hodnotu ze všech variant. Druhá varianta vykazuje jako obvykle závislost nejvyšší, hodnota koeficientu determinace se blíží k 0,94. Korelační koeficient pro druhou variantu je 0,97 a vypovídá o silné závislosti. Poslední varianta vykazuje závislost maximálního kvantového výtěžku na vodním deficitu blíží se 80 %.

5.2.5 Parametr Fv/Fo

Graf č. 11 - Závislost fluorescence na vodním potenciálu pro parametr Fv/Fo



U posledního měřeného parametru můžeme u kontrolní varianty pozorovat poměrně silnou korelaci s vodním potenciálem a to 62 %, přičemž hodnota korelačního koeficientu vystoupala na téměř 0,8. U druhého měřené varianty, zalévané roztokem o koncentraci 100 mmol/l NaCl, vzrostla hodnota koeficientu determinace téměř k hodnotě 0,94. Poslední varianta vykazovala druhou nejvyšší závislost hodnocenou na téměř 90 %.

6 Diskuze

Zasolení půd je jev, který byl na Zemi přítomen již dávno před osídlením člověkem. Avšak s počátkem užívání půdy jako zemědělského nástroje se problém se zasolením půd začal prohlubovat. Dnes je více než 20 % zemědělsky využívané půdy zasoleno. U zavlažovaných a intenzivně využívaných půd se vyšší zasolení vyskytuje až s poloviční četností. U rostlin vyvolává nadměrné zasolení různé druhy oxidativního a hyperosmolárního stresu a následně jejich poškození (Zhu 2001).

I přes všechny tyto vnější faktory jsou neustále hledány genetické markery a mechanismy, jak se se zasolením vypořádat. Není ohroženo jen životní prostředí, rostliny a půda, ale i zemědělské výnosy a zdroj obživy. Proto je neustálá snaha hledat odolné druhy a odrůdy a pomocí moderních technologií definovat míru stresu a vliv stresu na rostliny (Yokoi 2002). Reakce na stres je u rostlin různá. Především je narušena integrita buněčných membrán, pozměněna aktivita enzymů, transport živin a narušen proces fluorescence a fotosyntézy (Zhu 2001).

Ekofyziologické studie používají fluorescenci chlorofylu jako neinvazivní nástroj pro zhodnocení fyziologického stavu rostlin, za využití jejich listů (Lang et al. 1996). Tato metoda je hojně využívána ke zjišťování míry stresu a toleranci rostlin vůči zasolení (Boureima et al. 2012). Fluorometrem je většinou zaznamenávána fluorescence o vlnové délce mezi 680 a 690 nm. Z těchto údajů můžeme později vypočítat parametry vypovídající o energetické účinnosti fotosyntézy. Oproti fotosyntetickým analýzám je tato metoda přesnější a dokáže od sebe odlišit jednotlivé vnější vlivy působícího stresu (Baker & Rosenqvist 2004). Kromě červeného krátkovlnného a červeného dlouhovlnného záření chlorofyly emitují i záření zeleného a modrého spektra. Modré a zelené záření je emitováno při kontaktu buněčné stěny s fenolickými látkami nebo při vyšším obsahu kyseliny ferulové a skořicové v rostlině. Proto můžeme při rozlišení emitovaného spektra rozlišit i typ stresu působícího na rostlinu (Cerovic et al. 2008). Berger et al. (2006) stejně jako West et al. (2005) tvrdí, že fluorescenční metodou lze zjistit například stárnutí buněk, napadení patogenem, příliš vysoké či nízké teploty a stav vodního potenciálu rostliny.

Mezi nejčastěji hodnocené parametry patří fluorescence minimální, maximální, variabilní a maximální kvantový výtěžek (F_v/F_m). Stejně tak Kalaji et al. (2018) využili pro hodnocení poškození rostliny *Tilia cordata* L. variabilní fluorescenci. Rostlina byla pěstována v podmínkách skleníku v substrátu hnojeném směsí makroprvků, podobně jako u nás byla rostlina zalévána každé dva dny roztokem NaCl o koncentraci 120 mmol/l. Na rozdíl od našeho

měření byla na listy použita dvacetiminutová perioda zastínění listů, před měřením fluorescence. Bylo zjištěno, že zasolení má větší vliv na variabilní fluorescenci až po dvacátém dni měření, což odpovídá rozmezí pátého a šestého měření v naší práci, kdy shodně s Kalaji et al. (2018) variabilní fluorescence začala klesat. Rozdíl mezi stresem ze zasolení a stresem ze sucha pomocí fluorescence nelze rozlišit, tvrdí Kalaji et al. (2018) stejně jako Chaves et al. (2009). Avšak charakter chování minimální fluorescence, která je v sedmém měření u nejvyšších hodnot a maximální fluorescence, která je u totožného měření v třicátém dni pokusu téměř nejnižší, se shoduje.

Bylo zjištěno, že nadměrná koncentrace iontů Na^+ a Cl^- v listech působí na většinu rostlin toxicky. Avšak Na^+ se u halofytních rostlin kumuluje ve vakuolách, a tím jsou schopny nerovnováhu iontů vyrovnat (Moseki & Buru 2010). Eckardt (2009) tvrdí, že nadměrné množství Cl^- iontů v listech indukuje přeměnu chlorofylu *b* na chlorofyl *a*. Dle Akrama & Ashrafa (2011) je tento jev specifický pouze pro rostliny tolerantní k zasolení a tento fakt lze například u *Helianthus annuus* L. využít jako bioindikátor tolerance k zasolení.

Zasolení je pro většinu rostlin fatální, jak z pohledu iontového rozvratu a následné neschopnosti přijímat jiné živiny, tak z pohledu dehydratace buňky. Stresem jsou zasaženy oba dva fotosystémy i přenos elektronů z důvodu nedostatku manganu, který je spouštěčem značného množství enzymatických reakcí (Stirbet et al. 2018).

Rýže má vyšší odolnost vůči zasolení, pouze pokud je napadena endofytními houbami, kmenem typu EF0801. Odolnost byla měřena pomocí fluorescence a byla zjištěna vyšší fotosyntetická aktivita u rostlin naočkovaných kmenem houby. Rostliny byly na rozdíl od našeho pokusu vystaveny 10 a 20 mmol/l roztoku soli $NaCO_3$. Bylo zjištěno, že nejnižší kvantový výtěžek fotosyntézy byl u varianty vystavené nejvyšší koncentraci $NaCO_3$. Stejně tak byla u této varianty nejnižší i hodnota F_v/F_o (Li et al. 2014). Stejných výsledků bylo dosaženo u šruchy vystavené nejvyšším koncentracím soli. Li et al. (2014) také tvrdí, že minimální fluorescence u rýže nenačkované houbou je nejvyšší u nejkonzentrovanejší varianty, tento jev je opět shodný s fluorescencí u šruchy. Můžeme tedy tvrdit, že šrucha je druh odolný vůči zasolení.

Dle Lianga et al. (2014) byl proveden pokus na řasách *Phaeodactylum tricornutum* a *Chaetoceros gracilis*. Řasy byly vystaveny působení soli o různých koncentracích. Maximálně pak 90 ppt $NaCl$. Měření fluorescence proběhlo za shodných podmínek jako náš pokus, tedy za pokojové teploty a po patnáctiminutové adaptaci na tmu. Bylo zjištěno, že na minimální, maximální fluorescenci a na maximální kvantový výtěžek mělo zasolení velký vliv,

stejně jako u šruchy. Hodnoty maximálního kvantového výtěžku u šruchy se v prvních čtyřech měření pohybovaly okolo hodnoty 0,7. Stejně hodnoty fluorescence vykazovaly řasy dle Lianga et al. (2014). S rostoucí salinitou klesaly hodnoty fluorescence řas až k 0,2 pro variantu 90 ppt. Poslední varianta u šruchy poklesla pouze k hodnotě 0,37. Obecně lze tvrdit, že v obou pokusech klesá maximální kvantový výtěžek a zastavuje se přenos elektronů s rostoucí salinitou. Stejně tak tvrdí i Rijstenbil (2005), Krell et al. (2007) a Yu et al. (2011).

Mehta et al. (2010) provedli měření fluorescence u listů pšenice, vystavených různým koncentracím NaCl (0,1 mM; 0,2 mM; 0,3 mM; 0,4 mM; 0,5 mM). Stejně jako Stirbet et al. (2018) konstatovali, že s rostoucím zasolením klesá variabilní a maximální fluorescence. Na rozdíl od našeho pokusu tvrdí také, že s rostoucí koncentrací soli klesá i fluorescence minimální. Mehta et al. (2010) naměřili hodnotu maximálního kvantového výtěžku pro kontrolní variantu 0,86 (měřeno po hodinové expozici listu ve tmě). Hodnota maximálního kvantového výtěžku u šruchy byla pro kontrolní variantu 0,77. Pro 0,1 mM koncentraci vycházela hodnota o dvě setiny méně, tedy 0,75. Poslední varianta zasolená 300 mM vykazovala střední hodnotu maximálního kvantového výtěžku, a to 0,76. Všechny výsledky dle Mehty et al. (2010) byly zhruba o desetinu vyšší. Ve stejném pořadí variant dosahovaly hodnot 0,86; 0,85 a 0,84.

Pokles fotosyntézy je taktéž přičítán inhibici přenosu elektronů mezi fotosystémy a jejich akumulace v P680. U varianty zasolené 0,5 mM NaCl došlo k poklesu přenosu elektronů až o 78 %, variabilní fluorescence u též varianty poklesla o necelých 25 %. Dále bylo zjištěno, že po uvedení rostliny do kontrolního stavu se hodnoty fluorescence vrátily na tři čtvrtiny svého původního výkonu. Změny způsobené zasolením jsou tedy považovány za reverzibilní (Mehta et al. 2010).

Silná korelace mezi vodním potenciálem a fluorescencí byla u šruchy potvrzena. Taktéž byla dle Brona et al. (2004) potvrzena korelace mezi fluorescencí a zráním plodu u rostliny *Carica papaya* L. 'Golden'. Zrání plodu a jeho senescence je doprovázena stejnými procesy jako při působení stresu a mechanismus poklesu maximálního kvantového výtěžku druhého fotosystému je totožný. Bylo prokázáno, že při stárnutí rostliny stejně jako při vystavení rostliny stresu klesá množství a funkce chlorofylu (Song et al. 1997). Hodnoty maximální fluorescence se u nezralé papáji pohybovaly v rozmezí mezi 600 a 700, tyto hodnoty jsou shledány totožnými s kontrolní variantou u šruchy. Avšak u přezralé papáji maximální fluorescence poklesla hluboko pod hodnoty maximální fluorescence u šruchy, která byla vystavena stresu. Lze tedy soudit, že šruha je druh velmi odolný vůči zasolení a ani měsíční expozice koncentraci 300

mmol/l soli NaCl nedecimuje rostlinu natolik, aby její fluorescence byla srovnatelná se starým plodem papáji (Bron et al. 2004).

Snižující se hodnoty maximální fluorescence s rostoucím zatížením rostliny mohou být vysvětlovány zvyšující se teplotou v reakčních centrech a v antenálních komplexech PSII (Schreiber et al. 1998). Naopak změny v minimální fluorescenci reprezentují strukturální změny v thylakoidních membránách (Kitao et al. 2000).

Jak již bylo řečeno, zasolení a stres způsobený suchem se v oblasti fluorescence a fotosyntézy projevuje velmi podobně. Nedostatečná závlivka společně se zasolením může způsobovat téměř 50 % nárůst nefotochemického zhášení na úkor fotochemického. Tento jev má ochranné účinky na rostlinu, jelikož chrání reakční centrum PSII před přebytkem energie. Na rozdíl od pokusu se šruchou se účinky stresu z nedostatku vody začaly na maximálním kvantovém výtěžku u hybridů rostlin *Festuca pratensis*, *Lolium multiflorum*, *Lolium perenne*, *Festulolium* projevovat již devátý den měření (Filek et al. 2006).

Dle Kautze et al. (2014) má na vodní potenciál v rostlině větší vliv zasolení než nedostatek vody. Nejvyšší efekt na vodní potenciál rostlin je potvrzen u rostliny stresovaných oběma způsoby. Vyplývá z toho fakt, že vyšší akumulace sodného iontu v listech lze pozorovat u rostlin nedostatečně hydratovaných přesto, že jsou vystavovány stejné koncentraci soli jako rostliny dobře hydratované.

Zasolení nemá na růst rostlin vliv přímo, nýbrž existuje více mechanismů působení. Zasolení ovlivňuje turgor, fotosyntézu a enzymatické procesy rostlin. Rostlina je ohrožena poklesem vodního půdního potenciálu a zároveň vyčerpanou kapacitou vakuol pro sodné ionty. Obecně lze tedy tvrdit, že ve stresových podmínkách rostliny pozastavují fotosyntézu, fluorescenci a v návaznosti na tyto procesy dochází k vyplavování stresových hormonů a pozastavení růstu samotného (Acosta-Motos et al. 2017; Azza et al. 2007).

Rostliny tolerantní k zasolení, mezi které šrucha patří, bojují se zasolením pomocí snížení transpirace a stromatární vodivosti. Tyto procesy snižují ztráty vody a společně s chloridovým iontem, pomáhají k jejímu efektivnějšímu využití (Franco-Navarro et al. 2015).

7 Závěr

V pokusu byla pěstována šrucha v podmínkách evokujících různé koncentrace zasolení v substrátu. Růst šruchy byl pozorován a jednotlivé parametry fluorescence byly vyhodnoceny a porovnány dle jejich charakteru chování v zasoleném prostředí. Přesto, že byla šrucha vyhodnocena jako druh odolný vůči zasolení, byl u rostliny pozorován trend zpomalení růstu a životních procesů, stejně jako u ostatních rostlin. Důvodem stejného vzorce chování je pravděpodobně fakt, že šrucha patří mezi C4 rostliny a svou životní energii si uchovává na období příznivější pro její růst. Dále byla také pozorována korelace mezi fluorescencí a vodním potenciálem.

- Po vystavení rostlin solnému stresu se parametry fluorescence změnilo v závislosti na míře zasolení a době vystavení solnému stresu.
- Hodnoty minimální fluorescence s rostoucí salinitou stouply. Naopak maximální a variabilní fluorescence započala klesat po týdenní expozici soli.
- Maximální kvantový výtěžek, tedy poměr F_v/F_m , klesá s rostoucí salinitou. Důležitá je zde však podmínka, že fluorescence začne významně klesat, až po třináctém dni expozici soli.
- Předpoklad, že fluorescence koreluje s vodním potenciálem byl potvrzen a zároveň umocněn faktem, že fluorescence koreluje i s jinými faktory, jako je například stárnutí plodů. Obecně bylo potvrzeno, že vodní bilance rostliny je s fluorescencí silně spjata.

Z důvodů klesajícího množství vody dostupné pro rostliny, je velmi důležité věnovat pozornost výzkumu týkajícímu se pěstování odolných druhů rostlin. Šrucha prokázala, že je života schopná při vystavení koncentraci 300 mmol/l NaCl. I přesto, že při vysokých koncentracích zpomaluje fotosyntézu a fluorescenci, je schopna tento deficit aktivně kompenzovat svým růstem.

8 Seznam literatury

- Abdelkader AF, Aronsson H, Sundqvist C. 2007. High salt stress in wheat leaves causes retardation of chlorophyll accumulation due to a limited rate of protochlorophyllide formation. *Physiologia plantarum* **130**:157-166.
- Acosta-Motos J, Ortuño M, Bernal-Vicente A, Diaz-Vivancos P, Sanchez-Blanco M, Hernandez J. 2017. Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms. *Agronomy* **7**:18.
- Ahammed GJ, Yu JQ. 2016. Plant hormones under challenging environmental factors. Heidelberg Springer, Germany.
- Akram NA, Ashraf M, Al-Qurainy F. 2011. Aminolevulinic acid-induced changes in yield and seed-oil characteristics of sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants under salt stress. *Pak J Bot* **43**:2845-2852.
- Ashraf M, Harris PJC. 2013. Photosynthesis under stressful environments: an overview. *Photosynthetica* **51**:163-190.
- Azza M, Fatma AM, EL-Quensi EM, Farahat MM. 2007. Responses of ornamental plants and woody trees to salinity. *World Journal of Agricultural Sciences* **3**:386-395.
- Babani F, Lichtenthaler HK. 1996. Light-induced and Age-dependent Development of Chloroplasts in Etiolated Barley Leaves as Visualized by Determination of Photosynthetic Pigments, CO₂ Assimilation Rates and Different Kinds of Chlorophyll Fluorescence Ratios. *Journal of Plant Physiology* **148**:555-566.
- Baker NR, Rosenqvist E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of experimental botany* **55**:1607-1621.
- Berger S, Benediktyová Z, Matouš K, Bonfig K, Mueller MJ, Nedbal L, Roitsch T. 2006. Visualization of dynamics of plant–pathogen interaction by novel combination of chlorophyll fluorescence imaging and statistical analysis: differential effects of virulent and avirulent strains of *P. syringae* and of oxylipins on *A. thaliana*. *Journal of Experimental Botany* **58**:797-806.
- Blankenship RE. 2014. Molecular mechanisms of photosynthesis. John Wiley & Sons, Chichester.

- Boureima S, Oukarroum A, Diouf M, Cisse N, Van Damme P. 2012. Screening for drought tolerance in mutant germplasm of sesame (*Sesamum indicum*) probing by chlorophyll *a* fluorescence. *Environmental and Experimental Botany* **81**:37-43.
- Brestic M, Zivcak M. 2013. In *Molecular stress physiology of plants*. Pages 87-131. PSII fluorescence techniques for measurement of drought and high temperature stress signal in crop plants: protocols and applications. Springer, India.
- Brickell CH. 2008. *A-Z encyklopedie zahradních rostlin*. Knižní klub, Praha.
- Bron IU, Ribeiro RV, Azzolini M, Jacomino AP, Machado EC. 2004. Chlorophyll fluorescence as a tool to evaluate the ripening of 'Golden'papaya fruit. *Postharvest Biology and Technology* **33**:163-173.
- Byrne R, McAndrews JH. 1975. Pre-Columbian purslane (*Portulaca oleracea* L) in the New World. *Nature* **253**:726.
- Cabi. 2018. *Portulaca oleracea* (Purselane) Datasheet. Available from <http://www.cabi.org/isc/datasheet/43609> (accessed January 2019).
- Cerovic ZG, Moise N, Agati G, Latouche G, Ghazlen NB, Meyer S. 2008. New portable optical sensors for the assessment of winegrape phenolic maturity based on berry fluorescence. *Journal of Food Composition and Analysis* **21**:650-654.
- Dickie J. 2008. *Delizia! The epic history of the Italians and their food*. Simon & Schuster, New York.
- Dulai S, Molnár I, Molnár-Láng M. 2011. Changes of photosynthetic parameters in wheat/barley introgression lines during salt stress. *Acta Biologica Szegediensis* **55**:73-75.
- E Abdel Moneim A. 2013. The neuroprotective effects of purslane (*Portulaca oleracea*) on rotenone-induced biochemical changes and apoptosis in brain of rat. *Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders* **12**:830-841.
- Eckardt NA. 2009. A new chlorophyll degradation pathway. *Plant Cell* **21**:700.
- Elkhayat ES, Ibrahim SR, Aziz MA. 2008. Portulene, a new diterpene from *Portulaca oleracea* L. *Journal of Asian natural products research* **10**:1039-1043.

- El-Sayed MIK. 2011. Effects of *Portulaca oleracea* L. seeds in treatment of type-2 diabetes mellitus patients as adjunctive and alternative therapy. *Journal of ethnopharmacology* **137**:643-651.
- Filek W. 2006. The effect of drought stress on chlorophyll fluorescence in *Lolium-Festuca* hybrids. *Acta Physiologiae Plantarum* **28**:149-158.
- Fitter A. Hay R. 2002. Environmental physiology of plants. Academic Press Diego, California.
- Fosket DE. 1994. Plant growth and development: a molecular approach. Academic Press, San Diego.
- Foyer CH. 1984. Photosynthesis. Cell biology. New York Wiley, New York.
- Franco-Navarro JD, Brumós J, Rosales MA, Cubero-Font P, Talón M, Colmenero-Flores JM. 2015. Chloride regulates leaf cell size and water relations in tobacco plants. *Journal of experimental botany* **67**:873-891.
- Gibson AC. 2012. Structure-function relations of warm desert plants. Springer Science & Business Media, Berlin.
- Haddadi BS, Hassanpour H, Niknam V. 2016. Effect of salinity and waterlogging on growth, anatomical and antioxidative responses in *Mentha aquatica* L.. *Acta physiologiae plantarum* **38**:119.
- Harb TB, Nardelli A, Chow F. 2018. Physiological responses of *Pterocliadiella capillacea* (Rhodophyta, Gelidiales) under two light intensities. *Photosynthetica* **56**:1093-1106.
- Heldt HW, Heldt F. 2005. Plant biochemistry. Academic Press, Elsevier.
- Hladký L. 2010. Osvětlení z pohledu rostlin. *Lighting OEM. Philips* **4**:42-44.
- Hopkins WG, Hüner NPA. 2004. Introduction to plant physiology. John Wiley & Sons. Hoboken, New Jersey.
- Hormann H, Neubauer C, Schreiber U. 1994. On the relationship between chlorophyll fluorescence quenching and the quantum yield of electron transport in isolated thylakoids. *Photosynthesis research* **40**:93-106.
- Chaves MM, Flexas J, Pinheiro C. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of botany* **103**:551-560.

- Ictinternational. 2006. Enabling better global research outcomes in soil, plant & environmental monitoring. Available from <http://www.ictinternational.com/products/wp4c/wp4c-water-potential-meter/> (accessed February 2019).
- Juan M, Rivero RM, Romero L, Ruiz JM. 2005. Evaluation of some nutritional and biochemical indicators in selecting salt-resistant tomato cultivars. *Environmental and Experimental Botany* **54**:193-201.
- Kalaji HM, Račková L, Paganová V, Swoczyna T, Rusinowski S, Sitko K. 2018. Can chlorophyll-a fluorescence parameters be used as bio-indicators to distinguish between drought and salinity stress in *Tilia cordata* Mill?. *Environmental and Experimental Botany* **152**:149-157.
- Kautz B, Noga G, Hunsche M. 2014. Sensing drought-and salinity-imposed stresses on tomato leaves by means of fluorescence techniques. *Plant growth regulation* **73**:279-288.
- Kitao M, Lei TT, Koike T, Tobita H, Maruyama Y, Matsumoto Y, Ang LH. 2000. Temperature response and photoinhibition investigated by chlorophyll fluorescence measurements for four distinct species of dipterocarp trees. *Physiologia Plantarum* **109**:284-290.
- Kočárek E, Pánek M, Novotná D. 2010. *Klinická cytogenetika I.: úvod do klinické cytogenetiky: vyšetřovací metody v klinické cytogenetice*. Karolinum, Praha.
- Krause GH, Verrotte C, Briantais JM. 1982. Photoinduced quenching of chlorophyll fluorescence in intact chloroplasts and algae. Resolution into two components. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* **679**:116-124.
- Krause GH, Weis E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual review of plant biology* **42**:313-349.
- Krell A, Funck D, Plettner I, John U, Dieckmann G. 2007. Regulation of Proline Metabolism under Salt Stress in the Psychrophilic Diatom *Fragilariopsis cylindrus* (Bacillariophyceae) 1. *Journal of Phycology* **43**:753-762.
- Lambers H, Chapin III FS, Pons TL. 2008. *Plant physiological ecology*. Springer Science & Business Media, New York.
- Lan S, Fu-er LU. 2003. Effects of *Portulaca oleracea* on insulin resistance in rats with type 2 diabetes mellitus. *Chinese Journal of Integrative Medicine* **9**:289-292.

- Lang M, Lichtenthaler HK, Sowinska M, Heisel F, Miehe JA. 1996. Fluorescence imaging of water and temperature stress in plant leaves. *Journal of plant physiology* **148**:613-621.
- Latif W. 2018. Kidney stones, A.D.A.M. Editorial team, Newark. Available from <http://trihealth.adam.com/content.aspx?productId=10&pid=10&gid=000081> (accessed January 2019).
- Lee AS, Kim JS, Lee YJ, Kang DG, Lee HS. 2012. Anti-TNF- α activity of *Portulaca oleracea* in vascular endothelial cells. *International journal of molecular sciences* **13**:5628-5644.
- Lennarz WJ, Lane MD. 2013. *Encyclopedia of biological chemistry* (2nd ed). Elsevier, Amsterdam.
- Li XM, Chen MJ, Li J, Ma LJ, Bu N, Li YY, Zhang LH. 2014. Effect of endophyte infection on chlorophyll a fluorescence in salinity stressed rice. *Biologia plantarum* **58**:589-594.
- Liang Y, Sun M, Tian C, Cao C, Li Z. 2014. Effects of salinity stress on the growth and chlorophyll fluorescence of *Phaeodactylum tricornutum* and *Chaetoceros gracilis* (Bacillariophyceae). *Botanica Marina* **57**:469-476.
- Lichtenthaler HK, Miehe JA. 1997. Fluorescence imaging as a diagnostic tool for plant stress. *Trends in plant science* **2**:316-320.
- Lichtenthaler HK, Schweiger J. 1998. Cell wall bound ferulic acid, the major substance of the blue-green fluorescence emission of plants. *Journal of Plant Physiology* **152**:272-282.
- Lisenbee WF. 1988. Luminiscence measurement arrangement, U.S. Patent No. 4,772,453.: U.S. Patent and Trademark Office. Washington, DC.
- Mahajan S, Tuteja N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of biochemistry and biophysics* **444**:139-158.
- Mehta P, Jajoo A, Mathur S, Bharti S. 2010. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on Photosystem II in wheat leaves. *Plant Physiology and biochemistry* **48**:16-20.
- Mittal S, Kumari N, Sharma V. 2012. Differential response of salt stress on *Brassica juncea*: photosynthetic performance, pigment, proline, D1 and antioxidant enzymes. *Plant Physiology and Biochemistry* **54**:17-26.
- Moseki B, Buru JC. 2010. Ionic and water relations of *Sesuvium portulacastrum* (L.). *Scientific Research and Essay* **5**:035-040.

- Munns R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, cell & environment* **25**:239-250.
- Nash D, Miyao M, Murata N. 1985. Heat inactivation of oxygen evolution in photosystem II particles and its acceleration by chloride depletion and exogenous manganese. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* **807**:127-133.
- Pavová L. 2005. *Fyziologie rostlin*. Karolinum, Praha.
- Pollard TD, Earnshaw WC. 2008. *Cell biology* (2nd ed). Saunders Elsevier, Philadelphia.
- Prabha D, Sivakumar S, Subbhuraam CV, Son HK. 2015. Responses of *Portulaca oleracea* Linn. to selenium exposure. *Toxicology and industrial health* **31**:412-421.
- Raven PH, Evert RF, Eichhorn SE. 2013. *Biology of plants*. WH Freeman and Company Publishers, Eighth edition, New York.
- Rijstenbil JW. 2005. UV-and salinity-induced oxidative effects in the marine diatom *Cylindrotheca closterium* during simulated emersion. *Marine biology* **147**:1063-1073.
- Sayed OH. 2003. Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research. *Photosynthetica* **41**:321-330.
- Shameer S, Baghalian K, Cheung CM, Ratcliffe RG, Sweetlove LJ. 2018. Computational analysis of the productivity potential of CAM. *Nature plants* **4**:165.
- Schreiber U, Bilger W, Hormann H, Neubauer C. 1998. Chlorophyll fluorescence as a diagnostic tool: basics and some aspects of practical relevance. *Photosynthesis: a comprehensive treatise*, 320-336.
- Schreiber U, Schliwa U, Bilger W. 1986. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosynthesis research* **10**:51-62.
- Schürmann P, Buchanan BB, Arnon DI. 1972. Role of cyclic photophosphorylation in photosynthetic carbon dioxide assimilation by isolated chloroplasts. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* **267**:111-124.
- Sikuku PA, Netondo GW, Onyango JC, Musyimi DM. 2010. Chlorophyll fluorescence, protein and chlorophyll content of three nerica rainfed rice varieties under varying irrigation regimes. *Journal of Agricultural and Biological Science* **5**:19-25.

- Simon E, Dickey J, Reece JB. 2014. Campbell essential biology with physiology (4th ed). Pearson Education, Harlow.
- Simopoulos AP, Norman HA, Gillaspay JE, Duke JA. 1992. Common purslane: a source of omega-3 fatty acids and antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition* **11**:374-382.
- Song J, Deng W, Beaudry RM, Armstrong PR. 1997. Changes in chlorophyll fluorescence of apple fruit during maturation, ripening and senescence. *HortScience* **32**:891-896.
- Stahl U, Tusov VB, Paschenko VZ, Voigta J. 1989. Spectroscopic investigations of fluorescence behaviour, role and function of the long-wavelength pigments of photosystem I. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* **973**:198-204.
- Stirbet A, Lazár D, Kromdijk J. 2018. Chlorophyll a fluorescence induction: Can just a one-second measurement be used to quantify abiotic stress responses?. *Photosynthetica* **56**:86-104.
- Strasser RJ, Srivastava A, Tsimilli-Michael M. 2000. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. *Probing photosynthesis: mechanisms, regulation and adaptation*, 445-483.
- Strasserf RJ, Srivastava A, Govindjee. 1995. Polyphasic chlorophyll a fluorescence transient in plants and cyanobacteria. *Photochemistry and photobiology* **61**:32-42.
- Šesták Z. 2000. Rostoucí koncentrace CO₂ v ovzduší. *Vesmír* **79**:7-10.
- Taiz L, Zeiger E. 1991. *Plant Physiology*. The Benjamin, Redwood City.
- Taiz L, Zeiger E. 2006. *Plant physiology* (4th ed). Mass.: Sinauer Associates, Sunderland.
- Van Kooten O, Snel JF. 1990. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynthesis research* **25**:147-150.

- Vsinstruments. 2015. Instrumentation for agricultural research. Available from <http://vsinstruments.com/fluorescence-system-os5p.html> (accessed February 2019).
- Wang CQ, Yang GQ. 2010. Betacyanins from *Portulaca oleracea* L. ameliorate cognition deficits and attenuate oxidative damage induced by D-galactose in the brains of senescent mice. *Phytomedicine* **17**:527-532.
- West JD, Peak D, Peterson JQ, Mott KA. 2005. Dynamics of stomatal patches for a single surface of *Xanthium strumarium* L. leaves observed with fluorescence and thermal images. *Plant, Cell & Environment* **28**:633-641.
- Yang Z, Zhang D, Ren J, Yang M, Li S. 2012. Acetylcholinesterase inhibitory activity of the total alkaloid from traditional Chinese herbal medicine for treating Alzheimer's disease. *Medicinal Chemistry Research* **21**:734-738.
- Yokoi S, Bressan RA, Hasegawa PM. 2002. Salt stress tolerance of plants. JIRCAS working report **23**:25-33.
- Yu J, Xia J, Zou Y. 2011. Response of carbonic anhydrase activity and photosynthesis to high salinity stress in *Nitzschia closterium* f. *Minutissima*. *J. Fish. China* **35**:515-523.
- Zbořil P. 2014. Fotosyntéza 1. Fond rozvoje vysokých škol. Available from <https://is.muni.cz/el/1431/podzim2014/C3181/um/C3181-12-1-Fotosynteza1.pdf> (accessed March 2019).
- Zheng GY, Qu, LP, Yue XQ, Gu W, Zhang H, Xin HL. 2014. Portulacerebroside A induces apoptosis via activation of the mitochondrial death pathway in human liver cancer HCCLM3 cells. *Phytochemistry Letters* **7**:77-84.
- Zhou YX, Xin HL, Rahman K, Wang SJ, Peng C, Zhang H. 2015. *Portulaca oleracea* L.: a review of phytochemistry and pharmacological effects. *BioMed research international*, 2015.
- Zhu JK. 2001. Plant salt tolerance. *Trends in plant science* **6**:66-71.
- Ziaf K, Amjad M, Pervez MA, Iqbal Q, Rajwana IA, Ayyub M. 2009. Evaluation of different growth and physiological traits as indices of salt tolerance in hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Pak. J. Bot* **41**:1797-1809.

9 Seznam příloh

9.1 Seznam použitých zkratk

ABA – kyselina abscisová

ALT – Alaninaminotransferáza

AST – Aspartátaminotransferáza

ATP – Adenosintrifosfát

BMI – body mass index

BS – buněčná stěna

C3, C4, CAM – skupiny rostlin dělené dle typu fotosyntézy

CO₂ - oxid uhličitý

ČZU – Česká zemědělská univerzita

DNA – deoxyribonukleová kyselina

ER – endoplazmatické retikulum

FAPPZ – Fakulta agronomie, potravinových a přírodních zdrojů

GGT, GMT – Gamaglutamyltransferáza

NaCl – chlorid sodný

NaCO₃ - uhličitan sodný

OS5p₊ – zařízení na měření fluorescence chlorofylů

PEP – fosfoenolpyruát

PG mix – práškové hnojivo s obsahem dusíku, fosforu a draslíku

PSI – první fotosystém

PSII – druhý fotosystém

RWC – relativní obsah vody

SD kartu – paměťový nosič

TNF – Tumor necrosis factor (Nádorový nekrotický faktor)

USB – paměťový nosič

UV – ultrafialové záření

9.2 Seznam použitých obrázků

Obrázek č.1 - Portulacerebrosid A

Obrázek č.2 - Schéma excitace elektronu a utilizace jeho energie

Obrázek č.3 - Světelná fáze fotosyntézy

Obrázek č.4 - (a) Kinetika fluorescence chlorofylu, (b) Fluorescenční emisní spektra indukované UV zářením

Obrázek č.5 - Chlorofylová fluorescenční časová křivka, pro různé koncentrace NaCl (OJIP)

Obrázek č.6. -Výsev šruchy

Obrázek č.7 – Jednotlivé varianty pod umělým osvětlením

Obrázek č.8 – Příklad pro měření fluorescence chlorofylů (OS5p₊)

Obrázek č.9 – Příklad pro měření vodního potenciálu (WP4C)

9.3 Seznam použitých grafů

Graf č. 1 – Minimální fluorescence

Graf č.2 – Maximální fluorescence

Graf č. 3 – Variabilní fluorescence

Graf č. 4 – Maximální kvantový výtěžek

Graf č. 5 – Poměr F_v/F_o

Graf č. 6- Vodní potenciál

Graf č.7 - Závislost fluorescence na vodním potenciálu pro parametr F_o

Graf č. 8 - Závislost fluorescence na vodním potenciálu pro parametr F_m

Graf č. 9 - Závislost fluorescence na vodním potenciálu pro parametr F_v

Graf č. 10 - Závislost fluorescence na vodním potenciálu pro parametr F_v/F_m

Graf č. 11 - Závislost fluorescence na vodním potenciálu pro parametr F_v/F_o

9.4 Seznam použitých tabulek

Tabulka č.1 – Vodní potenciál