

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra botaniky a fyziologie rostlin



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

Klíčení hrachu při abiotickém stresu

Bakalářská práce

Autor práce: Kristýna Janušková

Obor studia: Zahradnictví (ABZ)

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

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Klíčení hrachu při abiotickém stresu" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14. července 2020

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala paní Ing. Heleně Hniličkové, Ph.D. za vstřícnost, profesionalitu, odborné rady a čas, který mi věnovala při vedení mé práce. Velký dík patří také mé rodině za jejich pomoc a podporu během celého mého studia.

Klíčení hrachu při abiotickém stresu

Souhrn

V této bakalářské práci byl sledován vliv abiotických stresů sucha a zasolení na klíčení semen hrachu. Hrách setý (*Pisum sativum*) patří do čeledi bobovité (*Fabaceae*). Je to jednoletá luskovina, typická svojí tvrdosemenností a hypogeickým klíčením. V teoretické části byla pospána charakteristika rostlin, semen, klíčení, dormance a stresů. Praktická část byla zaměřena na vlastní výzkum, kde byl uveden postup, materiály a pomůcky. Dále byl vysvětlen výpočet sledovaných parametrů pro testy klíčivosti. Cílem práce bylo vyhodnotit vliv stresorů na klíčení a objasnit hypotézu pozitivního působení peroxidu vodíku a omeprazolu při těchto stresujících podmínkách. Základním předpokladem bylo snížení klíčivosti a omezení růstu kořínku i nadzemní části semen v nepříznivém prostředí.

Experimentální část probíhala v laboratořích na České zemědělské univerzitě v Praze. Deficitu vody bylo dosaženo pomocí PEG 6000 (koncentrace 15; 30; 45 mM) a salinity díky NaCl (50; 100; 150 mM). Klíčení probíhalo v Petriho miskách vyložených filtračním papírem při optimálních podmínkách (konstantní teplota 25 °C a vlhkost 60 %). V první části experimentu bylo založeno 6 variant: 50 mM NaCl; 100 mM NaCl; 150 mM NaCl; 15 mM PEG; 30 mM PEG; 45 mM PEG. V druhé části experimentu se pracovalo se 7 variantami: H₂O; H₂O₂; OMP; 150 mM NaCl + H₂O₂; 30 mM PEG + H₂O₂; 150 mM NaCl + OMP; 30 mM PEG + OMP. V pokusu byla sledována klíčivost, energie klíčení, rychlost klíčení a růstové parametry klíčících semen. Z výzkumu vyplývá, že vodní deficit i salinita negativně ovlivňovaly klíčení semen a inhibovaly růst sazenic. Se zvyšující koncentrací PEG i NaCl docházelo k snižování sledovaných parametrů semen. Semena hrachu se jevila citlivější k deficitu vody než k zasolení. Nejhorších výsledků dosáhla varianta 45 mM PEG, která byla svojí koncentrací pro klíčení inhibující. Ošetření H₂O₂ či OMP ovlivnilo při stresových podmínkách některé parametry pozitivně, jiné negativně. Stresy jsou v zemědělství celosvětovým problémem, a je proto nutné se jimi zabývat a zkoumat látky, které by jejich negativní vliv na rostlinu snížily, a tak pozitivně ovlivnily jejich vývoj.

Klíčová slova: *Pisum sativum*, semena, dormance, sucho, zasolení, koncentrace NaCl, koncentrace PEG

Germination of peas with abiotic stress

Summary

In this bachelor's thesis, the effect of abiotic stresses of drought and salinization has been observed on the germination of pea seeds. Garden pea (*Pisum sativum*) belong to the legume family (*Fabaceae*). It is an annual legume, characterized by its hardness and hypogeal germination. The characteristics of plants, seeds, germination, dormancy and stress were described in the theoretical part. The practical part was focused on the research, where the procedure, materials and tools were presented. Furthermore, the calculation of the monitored parameters for germination tests was explained. The aim of the work was to evaluate the effect of stressors on germination and to clarify the hypothesis of a positive effect of hydrogen peroxide and omeprazole under these stressful conditions. The basic premise was to reduce germination and limit the growth of the root and the aboveground part of the seeds in an unfavourable environment.

The experimental part took place in laboratories at the Czech University of Life Sciences in Prague. The deficit of water was achieved with PEG 6000 (concentration 15; 30; 45 mM) and the salinity with NaCl (50; 100; 150 mM). Germination took place in Petri's dishes lined with filter paper under optimal conditions (constant temperature 25 °C and 60 % of humidity). In the first part of the experiment, 6 variants were established: 50 mM NaCl; 100 mM NaCl; 150 mM NaCl; 15 mM PEG; 30 mM PEG; 45 mM PEG. In the second part of the experiment, 7 variants were used: H₂O; H₂O₂; OMP; 150 mM NaCl + H₂O₂; 30 mM PEG + H₂O₂; 150 mM NaCl + OMP; 30 mM PEG + OMP. Germination, germination energy, germination rate and growth parameters of germinating seeds were monitored in the experiment. The research shows that water deficit and salinity negatively affected seed germination and inhibited seedling growth. With increasing concentration of PEG and NaCl, the monitored seed parameters decreased. Pea seeds appeared to be more sensitive to water deficit than to salinity. The worst results were obtained with the 45 mM PEG variant, which was inhibitory in germination concentration. H₂O₂ or OMP treatment affected some parameters positively under stress conditions, others negatively. Stress is a global problem in agriculture and it is therefore necessary to address it and study substances that would reduce their negative impact on the plant and in this way positively affect their development.

Keywords: *Pisum sativum*, seeds, dormancy, drought, salinity, NaCl concentration, PEG concentration

Obsah

1 Úvod	8
2 Cíl práce.....	10
3 Literární rešerše.....	11
3.1 Rostliny	11
3.2 Semena	12
3.2.1 Rozšiřování.....	16
3.3 Klíčení	16
3.3.1 Typy klíčení.....	18
3.3.2 Faktory ovlivňující klíčení.....	19
3.3.2.1 Voda	20
3.3.2.2 Teplota.....	21
3.3.2.3 Kyslík	21
3.3.2.4 Světlo a tma.....	22
3.4 Dormance.....	22
3.5 Stres.....	23
3.5.1 Abiotické faktory.....	25
3.5.1.1 Extrémní teploty.....	25
3.5.1.2 Vysoká a nízká ozáření.....	27
3.5.1.3 Sucho.....	27
3.5.1.4 Oxidativní stres.....	29
3.5.1.5 Zasolení.....	29
3.5.1.6 Půdní reakce.....	31
3.5.1.7 Nedostatek živin.....	32
3.5.1.8 Xenobiotika.....	32
3.5.2 Biotické faktory.....	33
3.5.2.1 Herbivorní organismy.....	34
3.5.2.2 Patogenní mikroorganismy.....	34
3.5.2.3 Alelopatie.....	35
4 Metodika.....	36
4.1 Experiment	36
4.1.1 Materiály a pomůcky.....	36
4.1.2 Postup experimentu.....	38
4.1.3 Měření, vážení a sušení.....	39
4.2 Hrách setý (<i>Pisum sativum</i>).....	41

4.3	Testy klíčivosti	42
4.3.1	Klíčivost.....	42
4.3.2	Energie klíčení	42
4.3.3	Rychlost klíčení	42
5	Výsledky.....	43
6	Diskuze	51
6.1	Stresy	51
6.1.1	Zasolení.....	52
6.1.2	Vodní deficit	52
6.2	Stimulační látky a osmoprotektanty.....	53
6.2.1	Peroxid vodíku.....	53
6.2.2	Omeprazol.....	55
6.3	Shrnutí.....	56
7	Závěr.....	57
8	Literatura.....	58
9	Samostatné přílohy.....	I
9.1	Fotografie klíčících semen	I
9.1.1	Varianta H ₂ O (kontrola).....	I
9.1.2	Varianta H ₂ O ₂ (pozitivní kontrola).....	II
9.1.3	Varianta OMP	III
9.1.4	Varianta 50 mM NaCl + H ₂ O	IV
9.1.5	Varianta 100 mM NaCl + H ₂ O	V
9.1.6	Varianta 150 mM NaCl + H ₂ O	VI
9.1.7	Varianta 15 mM PEG + H ₂ O	VII
9.1.8	Varianta 30 mM PEG + H ₂ O	VIII
9.1.9	Varianta 45 mM PEG + H ₂ O	IX
9.1.10	Varianta 150 mM NaCl + H ₂ O ₂	X
9.1.11	Varianta 30 mM PEG + H ₂ O ₂	XI
9.1.12	Varianta 150 mM NaCl + OMP.....	XII
9.1.13	Varianta 30 mM PEG + OMP.....	XIII

1 Úvod

Rostliny jsou nepostradatelnou součástí našeho prostředí. Můžeme je nalézt na všech místech, kde jim to umožňují životní podmínky, které musí být alespoň trochu teplotně, světelně a vlhkostně příznivé. Extrémní podmínky (úplný nedostatek vody, krajně vysoké teploty, příliš nízké teploty nebo tma) brání rostlinám žít. Kvetoucí rostliny se mohou rozmnožovat dvěma způsoby: nepohlavně (vegetativně) a pohlavně (generativně). Vegetativní množení se uskutečňuje dělením mateřské rostliny nebo pomocí vytvořených rozmnožovacích orgánů. Generativní množení je založené na kvetení, opylování a tvorbě semen.

Semena jsou mnohobuněčné orgány, které se tvoří nejčastěji v plodech. Podle Fennera (1985) semena slouží jako prostředek k množení, rozptylu a vyhýbání se stresu. Mohou se velmi lišit u různých druhů jak velikostí, tvarem, strukturou, barvou, anatomickou složitostí i množstvím vyprodukovaných semen. Semena nejsou podstatná pouze k zachování druhů, ale mají velký význam užitkový, především ve výživě lidí a zvířat. Využíváme je jako zdroj potravy, koření, v lékařství, kosmetice a jiných odvětvích lidské činnosti. Mezi důležité látky, která semena obsahují, patří uhlohydráty, oleje, proteiny, škroby, tuky, vitamíny, minerální a jiné látky. Zralá semena obsahují velmi málo vody, jen něco kolem 10 – 15 %. Podle Hodge (2014) se díky tomu stávají tolerantní vůči vysychání a jsou schopné překonat nepříznivé podmínky prostředí. Semena se skládají z osemení (*testa*), živného pletiva pod osemením (*perisperm*), živného pletiva vnitřního (*endosperm*) a zárodku (*embryo*), který obsahuje kořínek, hypokotyl, vzrostlý vrchol a dělohy. Pokud se semeno díky rozšiřujícím způsobům rostlin dostane do prostředí, kde nastaly vhodné podmínky, začne klíčit.

U jednoděložných a dvouděložných rostlin rozlišujeme dva typy klíčení semen: nadzemní klíčení (epigeické) a podzemní klíčení (hypogeické). Copeland a McDonald (2001) definují klíčení jako komplexní vývojový proces zahrnující mnoho individuálních reakcí a fází, začínající růstem kořínku a končící formováním prvních listů. Klíčení začíná absorpcí vody suchými semeny, zbobtnáním a následným prodlužováním buněk kořínku i hypokotylu embrya. Schopnost klíčit je základním životním projevem semen. Pro úspěšné vyklíčení musí být splněny tři základní podmínky: zárodek musí být životaschopný, musí ustát dormance a nastat vhodné podmínky prostředí. Proces klíčení je ovlivněn vnitřními faktory (fytohormony) a vnějšími činiteli (vodou, teplotou, kyslíkem, světlem či tmou a dalšími chemickými vlivy). Dostatek vody patří mezi nejdůležitější faktor ovlivňující klíčení. Hosnedl (1997) zmiňuje, že semena různých druhů rostlin potřebují pro úspěšné vyklíčení různorodé podmínky.

Rostliny mohou být při svém klíčení a růstu negativně ovlivňovány různými druhy stresových faktorů. Bláha a kol. (2003) označují stres rostliny jako stav, který je navozen nepříznivými faktory prostředí a které přesahují jeho běžnou úroveň. Většina environmentálních stresů má společné účinky na rostlinu a její reakce, která způsobí aktivaci obranných mechanismů, akumulaci stresových proteinů, hormonální změny, zpomalení i zastavení růstu, snížení vitality, změnu poměru kořenů a nadzemních částí, ovlivnění výnosu a kvality semen, snížení fotosyntézy, oxidační poškození, dehydrataci tkání, poškození jednotlivých orgánů a v krajním případě mohou zapříčinit i úhyn rostliny. Průběh a konečný výsledek stresové reakce závisí na její intenzitě, délce působení, rychlosti příchodu stresu, orgánu rostliny a genetických předpokladech. Stresové faktory se nejčastěji dělí na abiotické (vlivy neživé přírody) a biotické (působení živé přírody). Abiotické faktory můžeme členit

na fyzikální (extrémní teploty, vysoká a nízká ozáření) a chemické (sucho, oxidativní stres, zasolení, půdní reakce, nedostatek živin a xenobiotika). Biotické stresové faktory zahrnují herbivorní organismy, patogenní mikroorganismy a alelopatii. Jenks a Hasegawa (2005) uvádějí, že 51 – 82 % ročního potenciálního výnosu plodin je ztraceno v důsledku působení abiotického stresu, proto jsou stresy a jejich výzkum zásadní pro světové zemědělství.

Stresy jsou globální problém a je nutné je studovat a hledat látky, které by negativní vliv na rostlinu snížily, a tak pozitivně ovlivnily jejich vývoj. Hlavní abiotický faktor, který v poslední době významně ovlivňuje výnos plodin nejen v České republice, ale po celém světě je sucho. Mezi závažný stres považujeme také salinitu, která též limituje světovou zemědělskou produkci. Proto se těmito dvěma abiotickými stresy tato bakalářská práce zabývá. Modelovou rostlinou pro pokusy byl určen hrách setý (*Pisum sativum*). Prostřednictvím navozených nepříznivých podmínek deficitu vody (pomocí různých koncentrací PEG 6000) a salinity (díky koncentracím NaCl) se testovala klíčivost semen a měřilo se jejich negativní ovlivnění u několika parametrů. Dále se zjišťovalo možné pozitivní působení peroxidem vodíku (H_2O_2) a omeprazole (OMP) při klíčení v těchto stresových podmínkách.

2 Cíl práce

Cílem této bakalářské práce bylo sledovat působení abiotických stresů vodního deficitu a zasolení na klíčení semen hrachu setého (*Pisum sativum*) a výsledky vyhodnotit. Od stresorů se očekával negativní vliv na klíčení a fyziologický stav rostliny. Základním předpokladem bylo, že semena klíčící v prostředí stresu budou mít nižší klíčivost, pomalejší klíčení a nižší hodnoty sledovaných vlastností. Dále byla prozkoumána hypotéza pozitivního ovlivnění klíčících semen peroxidem vodíku a omeprazolem, a jejich účinky na rostlinu při navozených nepříznivých enviromentálních podmínkách.

Parametry měření byly klíčivost semen, energie klíčení, rychlost klíčení, délka kořene a nadzemní části, hmotnost čerstvé hmoty (FW) kořene a nadzemní části, hmotnost sušiny (DW) kořene a nadzemní části, poměr hmotnosti čerstvé hmoty kořene a nadzemní části, poměr hmotnosti sušiny kořene a nadzemní části.

3 Literární rešerše

Růst, rozmnožování a zeměpisné rozložení rostlin jsou hluboce ovlivňovány jejich fyziologickou ekologií: interakcí s okolním fyzikálním, chemickým a biologickým prostředím (Lambers et al. 2008).

3.1 Rostliny

Rostliny jsou naše potravina, zdroj energie i estetického pocitu, a především nezbytnou součástí našeho prostředí. Můžeme si všimnout jejich rozmanitostí ve velikostech, tvarech, barvách, vůních, délce jejich života a prostředí, ve kterém rostou. Jde o fotoautotrofní organismy, které výživu získávají z jednoduchých anorganických sloučenin jako je oxid uhličitý, voda, dusičnany, fosfáty atd. (Pazourek & Votrubová 1997). Novák (1981) upozorňuje na fakt, že na rostliny je vázán život živočichů, tedy i člověka. Jedná se o jedny z nejdůležitějších živých organismů na Zemi. Rostliny můžeme nalézt na veškerých místech zemského povrchu, kde to umožňují životní podmínky. Je nutné, aby na těchto územích panovali alespoň trochu příznivé teplotní, světelné a vlhkostní podmínky. Extrémní podmínky, jako jsou krajně vysoké teploty (krátery sopek či extrémně horké prameny) nebo naopak příliš nízké teploty (místa s věčným sněhem a nadmořské výšky nad 6500 m) brání rostlinám žít. Mezi další limitující faktory patří úplný nedostatek vody (pouště) či světla (mořské hlubiny a jeskyně). Na všech ostatních místech Země se se zástupci rostlinné říše můžeme setkat. Osídlily velmi různorodé a rozmanité biotopy. Mohou růst ve sladké vodě, na slaném mořském pobřeží, v lesích, na horách, na loukách, ale i v městském prostředí (Novák 1981). Jsou to přisedlé organismy, které nemohou uniknout z environmentálních omezení a nachází se proto v těsném spojení se svým prostředím. V důsledku toho musí reagovat na různé fyzikální, chemické a mechanické vlivy životního prostředí a přizpůsobovat se růstem a vývojem. Vyvinuly si proto četné adaptivní reakce na zvládání environmentálních stresů s tím spojených (Aroca et al. 2012).

U kvetoucích rostlin rozlišujeme dva hlavní způsoby rozmnožování: nepohlavní (asexuální) a pohlavní (sexuální). Nepohlavní (vegetativní) rozmnožování má mnoho podob. Může být uskutečněno rozdělením mateřské rostliny (odnože, listové řízky, roubování a očkování), úmrtím nejstarší části rostliny nebo pomocí vytvořených vícebuněčných rozmnožovacích orgánů (nadzemní výběžky, podzemní kořenové nebo oddenkové šlahouny a výběžky, hlízy, cibule, pacibulky a pupeny). Dojde ke vzniku nového jedince, který je ve svých vlastnostech pouhým pokračováním mateřské rostliny (geneticky totožný s rodičovskou rostlinou). To je výhoda, neboť dochází k vysoké genetické stabilitě, které by množím semen nemuselo být u některých druhů dosaženo. Vegetativní reprodukce je velmi spolehlivá (míra přežití je mnohem vyšší než u sazenic), ale kvůli malé genetické flexibilitě má problém vypořádat se se změnami prostředí. Sníženou vitalitu mohou mít noví jedinci v důsledku fyziologických nebo fytopatologických příčin (virová onemocnění). Výhradně vegetativním způsobem se rozmnožují mnohé vodní rostliny. Pohlavní (generativní) množení je založené na kvetení, opylení a tvorbě semen. K rozmnožování dochází pomocí semen, které jsou geneticky jedinečné a budoucí rostlina získává vlastnosti obou rodičů. Zděděná rozmanitost produkovaných potomků poskytuje populaci genetickou flexibilitu, která zajišťuje

při přirozeném výběru přežití alespoň některým jedincům. Semena, která jsou ve srovnání s mateřskou rostlinou velmi malá, mohou být produkována ve velkém počtu. Jejich malá velikost usnadňuje šíření na nová stanoviště. Kromě toho zpravidla přežívají nepříznivé podmínky (např.: sucho), které by vegetativně vyprodukované potomstvo nemuselo ustát. Rostliny většinou vytvářejí mnohem větší množství semen než orgánů pro vegetativní rozmnožování. Pouze generativně se až na výjimky rozmnožují jednoleté, dvouleté a víceleté rostliny. Využívání obou metod rozmnožování se nachází u většiny bylinných trvalek. V přírodě je generativní reprodukce rozšířenější (Fenner 1985; Lhotská & Kropáček 1985; Houba & Hosnedl 2002).

Vznik množícího materiálu – semen, rozlišujeme buď samosprašením, nebo cizosprašením. Samosprašnost (autogamie) je vývoj semen na základě samoopylení a k cizosprašnosti (alogamii) dochází při opylení (křížení) mateřského komponentu s pylem z jiné otcovské rostliny (opylovač) (Houba & Hosnedl 2002). U planých druhů převládá cizosprašnost, naopak u kulturních rostlin samosprašnost. Mezi cizosprašné rostliny patří: kukuřice, vojtěška, žito, řepa, jetel, chmel a jiné. Samosprašné rostliny jsou: hrách, fazol, sója, pšenice, ječmen, oves, len, tabák atd. (Chloupek 2008).

Dovršení životního cyklu rostliny, regenerace a založení populací rostlin závisí na procesu reprodukce (produkci fyziologicky nezávislých jedinců). Mezi druhy jednotlivých vyšších rostlin je značná variabilita v počtu a načasování reprodukce. Jedinci mohou soustředit veškerý svůj reprodukční výkon do jediné epizody ve svém životě v rozmezí od 3 týdnů až po několik desetiletí. Jiné druhy se rozmnožují opakovaně v pravidelných nebo přerušovaných intervalech. Tyto rozdíly v životním vývoji a strategii jsou ovlivňovány jak ekologickými, tak evolučními faktory související s fyziologickými a demografickými aspekty reprodukce (Fenner 2000). Během svého života vytvářejí vícekrát semena rostliny polykarpické (vytrvalé byliny i dřeviny). Pouze jedenkrát se generativně rozmnoží rostliny monokarpické (bylinné rostliny jednoleté, dvouleté a víceleté) (Lhotská & Kropáček 1985).

3.2 Semena

Chloupek (2008) označuje semena rostlin jako obdivuhodnou, úspornou a efektivní formu přenosu genetické informace z generace na generaci, umožňující kontinuitu rostlinného druhu a odrůdy. Novák (1981) upozorňuje na fakt, že semena, mnohobuněčné útvary, jsou pro semenné rostliny rozmnožovacími jednotkami a tvoří se většinou v plodech. Je to orgán vyšších rostlin, který je z hlediska evoluce důležitou inovací, díky níž se staly semenné rostliny (nahosemenné a krytosemenné) úspěšnější než spórami rozmnožující se rostliny (mechy a kapradiny) (Hodge 2014).

Semena se velmi liší u různých druhů. Mají rozmanitou velikost, tvar i množství vyprodukovaných semen. Nižší produkci mají především menší druhy, které mají velká semena. Naopak velmi vysokou produkci mají vzrůstné drobnosemenné druhy, které mohou vytvářet i statisíce semen na jednu rostlinu (Jursík et al. 2018). Podle Gallaghery (2014) lze obecně říci, že větší rostliny produkují větší semena a velikost osiva pak obvykle negativně souvisí s počtem semen. Některé divoké druhy produkují stovky nebo dokonce stovky tisíc semen za rok. Jde například o mák vlčí (*Papaver rhoeas*) s 80 000 semeny, turanku kanadskou (*Coryza canadensis*) s 250 000 semeny a úhorník mnohohdílný (*Descurainia sophia*) přesahující

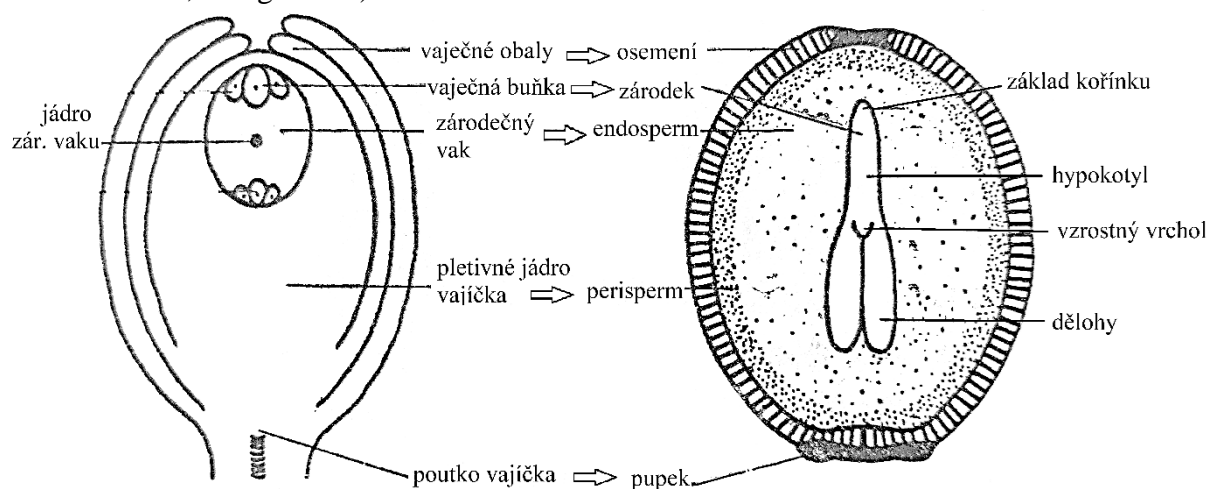
700 000 semen (Gallagher 2014). V průběhu svého života například sekvoj vždyzelená (*Sequoia sempervirens*) vyprodukuje jednu až deset miliard semen. Pro udržení populace by stačil pouze jeden jednotlivec, který by nahradil rodičovskou rostlinu (Fenner 1985). Rostliny, které vytvářející malá semena, jich produkují velké množství, zabezpečují tak, že se alespoň některé dostane na místo příznivé ke klíčení a růstu. Druhy s velkými semeny jich vytvářejí méně a do každého vynaloží více zdrojů a energie. Aby takovéto rostliny byly prosperující, musí být poměr klíčení a úspěšného uchycení rostlin relativně vysoký (Hodge 2014). Semena různých druhů se vyvinula velmi rozdílně. Odlišná je jejich velikost, strukturální i anatomická složitost. Největší semena má kokosová palma *Lodoicea maldivica*, vážící více než 20 kg. Oproti tomu mezi nejmenší patří semena vstavačů (*Orchidaceae*), u kterých se jejich hmotnost pohybuje od 0,003 mg (Gallagher 2014). Například orchidej hlístník hnízdák (*Neottia nidus – avis*) má semena jemná jako prach a nepatrná semena okrotice bílé (*Cephalanthera damasonium*) neváží více než 0,02 mg (Molisch & Biebl 1975).

Semena nejsou podstatná pouze biologicky, k zachování druhů, ale mají velký význam užitkový, především ve výživě zvířat a lidí. Lidstvo bylo již od lovecké a sběračské minulosti úzce spjato se semeny. Pokračovalo to zjišťováním a učením se o jejich výživových vlastnostech až po počátky pěstování plodin v zemědělství, kdy manipulace se semeny tvořily samotný základ našeho sociálního a kulturního vývoje. Jejich důležitost trvá dodnes, kdy se spoléháme na semena jako potravinu a obživu pro naši populaci (Black et al. 2000). Slouží jako potrava, koření a využívají se i v lékařství, v kosmetice, ve strojírenském průmyslu a jiných odvětvích lidské činnosti od šperků po dekorace (Lhotská & Kropáček 1985). Semena jsou důležitá i při přípravě a výrobě nápojů. Mezi nejpodstatnější patří slad pro výrobu piva, pražená semena kávovníků na zrnkovou kávu a kakaové boby k výrobě čokolády nebo práškového kakaa (Černohorský 1967). Asi 70 % veškeré potravy pro lidskou spotřebu pochází ze semen (jde především o obiloviny a luštěniny) a značná část ze zbylých procent pochází ze zvířat, která jsou semeny krmená (Kigel & Galili 1995). Chemické složení semen je určeno převážně genetickými faktory, proto se velmi liší mezi druhy a jejich odrůdami či kultivary. Toho pomocí křížení a selekce využívají šlechtitelé, které úspěšně manipulují se složením mnoha semenných plodit. Kromě chemických složek běžných v rostlinných tkáních obsahují semena i další látky uložené jako zdroj rezerv pro podporu růstu sazenice. Jde především o uhlohydráty, oleje a proteiny. Kterou složku obsahují semena jako hlavní, je individuální u každého druhu rostliny. Například semena ovsa hluchého (*Avena fatua*) obsahují 70 % uhlohydrátů, 11 % olejů a 15 % proteinů, semena borovice (*Pinus spp.*) mají 6 % uhlohydrátů, 45 % olejů a 35 % proteinů a semena ostropestře mariánského (*Silybum marianum*) obsahují 38 % uhlohydrátů, 35 – 30 % olejů a 23 % proteinů. Dále semena obsahují i škroby, tuky, vitamíny, minerální a jiné látky (Bewley et al. 2013; Gallagher 2014). Nejpodstatnější skupinou pro člověka jsou ale obilniny, a to hlavně z čeledi lipnicovitých – *Poaceae* (pšenice, ječmen, žito, oves a rýže). Rostliny poskytují více než 70 % bílkovin v lidské stravě. Většinu z toho tvoří zásobní bílkoviny z obilovin a luštěnin. Obsah semenných bílkovin v hlavních luštěninách je ve většině případů výrazně nad 20 %. V sóji dosahují bílkoviny téměř 40 %. Obiloviny mají obvykle 7 – 15 % bílkovinného obsahu. Hlavním zdrojem rostlinných bílkovin jsou luštěniny z čeledi bobovitých – *Fabaceae* (hrách, sója, čočka a fazol). Z olejnin patřících k rozmanitým čeledím získáváme rostlinné tuky. Olejnatá semena a oleje z rostlin, jako je sója, palma, kokosový ořech, arašíd, slunečnice a řepka jsou jednou z hlavních součástí výživy lidí a zvířat (Lhotská & Kropáček

1985; Kigel & Galili 1995). Dozrálé semeno obsahuje přibližně 10 – 15 % vody (Hodge 2014). Díky tomu se stává tolerantní vůči vysychání (ortodoxní semena) a je schopné překonat nepříznivé podmínky prostředí. V této fázi má semeno nízkou metabolickou aktivitu, která někdy může souviset i s dormancí (Gallagher 2014). V suchých semenech, jako je pšenice, řepka a fazole, plodové pletivo a semeno uvnitř vysychají společně, což zabraňuje předčasnému klíčení během pozdějších fází vývoje. U masitých plodů, jako jsou rajčata nebo melouny, se klíčící semena nacházejí relativně dlouhou dobu po ukončení vývoje při relativně vysokém obsahu vody (Black et al. 2000). Některé druhy rostlin (asi 7 % světové flóry) produkují semena, která nepodléhají zrání a jsou při vysychání citlivá na vysoušení. Tyto semena při odstraňování vody sušením rychle ztrácí životnost, a proto je obtížné je skladovat. Mezi rostliny s takovými semeny patří například jírovec, javor a kokosovník ořechoplodý (Gallagher 2014). Semena u těchto druhů rostlin obsahují 20 – 40 % vody a jejich snížení obsahu vody může vést ke ztrátě klíčivosti (např. citrusy a ořechy) (Houba & Hosnedl 2002).

Morfologie semen se liší v různých odděleních, třídách a čeledích semenných rostlin. I v rámci stejného rodu existuje značná proměnlivost mezi druhy. Takovéto rozdíly bývají spojeny se stanovištěm a evoluční historií. Avšak všechna semena mají společnou základní strukturu a mechanismy, které řídí jejich vývoj (Bewley et al. 2013). Jejich velikost je značně různorodá (od 0,000002 g do několika desítek kg). Tvar semen je také variabilní (kulovitý, vejčitý, ledvinovitý, čočkovitý, elipsoidní, válcovitý, vřetenovitý). Rozmanitá je i struktura povrchu (hladká, dolíčková, síťnatá, ostnitá, žebertatá, rýhovaný, křídlatá, holá, či porostlá trichomy) a barva od jednobarevné (bílá, šedá, černá, hnědá, zelená) po různé barevně odlišené tečkování, mramorování a jiné kresby. Oproti plodům je výskyt chlupovitých útvarů, křídel, blanitých lemů a podobných útvarů na semenech ojedinělejší (Lhotská & Kropáček 1985; Novák & Skalický 2012).

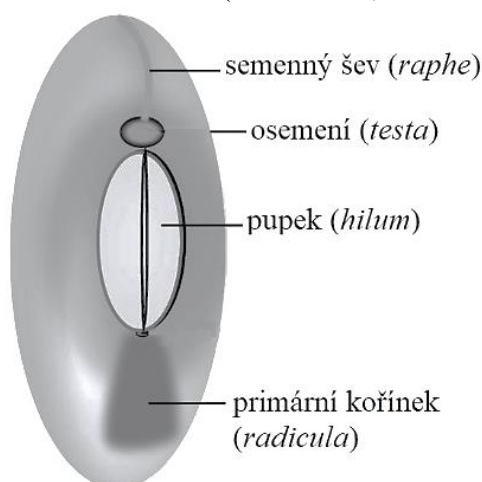
Semena jsou mnohobuněčné reprodukční orgány rostlin, které vznikají a vyvíjí se na mateřské rostlině z oplozeného vajíčka vzniklého po splynutí samičích a samčích pohlavních buněk (Obrázek 1). Pokud se vytvoří životaschopné semeno bez oplození, jedná se o proces apomixie (tvorba semen bez splynutí pohlavních buněk) (Lhotská & Kropáček 1985; Houba & Hosnedl 2002; Hodge 2014).



Obrázek 1: Schéma přeměny oplozeného vajíčka v semeno (upraveno podle Černohorský 1967).

Plně rozvinuté semeno obsahuje osemení (*testa*), živné pletivo pod osemením (*perisperm*), živné pletivo vnitřní (*endosperm*) a zárodek (embryo) (Obrázek 1). Zárodek bývá někdy nazýván klíčkem a je nejmladším vývojovým stádiem rostliny. Z Obrázku 1 je patrné, že se skládá z vzrostného vrcholu (*plumula*), primárního kořínku (*radicula*), podděložního stonkového článku (*hypokotyl*) a jedné nebo více děloh (*cotyledones*) (Černohorský 1967; Novák & Skalický 2012). Diferenciace embrya záleží na botanickém druhu a na době sklizně. Málo diferenciované je například u mrkve a vysoce u hrachu (Houba & Hosnedl 2002). Lhotská a Kropáček (1985) upozorňují na fakt, že existují i klíčící rostliny, které nemají žádnou dělohu (parazitická záraza a kokotice, bublinatka a rostliny čeledi vstavačovitéch).

Neobsahuje-li semeno zárodek, je sterilní a nikdy nevyklíčí. Semena jsou geneticky naprogramovaná tak, aby začala klíčit jen za zcela příhodných podmínek. U několika druhů se ze semene během vývoje endosperm úplně vytratí a živiny jsou přemístěny do zásobních děložních lístků. V osemení jsou uloženy zásoby výživných látek, které jsou využity během klíčení pro růst děložní rostliny. Osemení (*testa*) a především živné pletivo (*endosperm*) chrání semena (především embryo) před poškozením, má významnou funkci při příjmu vody, výměně plynů a také slouží k jejich rozšiřování (Finch-Savage & Leubner-Metzger 2006). Osemení se vytváří z obalů vajíčka (integumentů), které mají strukturu variabilní a druhově specifickou buněk (Obrázek 1). Často se skládá ze sklereidů, které mívají buněčnou stěnu impregnovanou ligninem a suberinem. Na povrchu semen se běžné nalézají vrstvy vosků (Pazourek & Votrubová 1997). Osemení může mít i několik vrstev a jeho povrch mívá zvláštní rysy. Může být hladké (bob), chlupaté díky trichomům (bavlník), kožovité (jírovec), blanité (ořešák), dužnaté (štavěl), kamenné (réva vinná, šácholan), či za vlhka na povrchu slizovitějící (len). Dále povrch může být lesklý, rýhovaný, štětinatý, s míškem (*arillus*), s háčky či výrůstky, přispívající k rozšiřování semen. Může být tenký a papírový (burské oříšky), nebo i tvrdý a tuhý (kokosový ořech) (Hodge 2014; Novák & Skalický 2012). Na semeni je často je viditelné hilum (jizva, pupek), která je pozůstatkem spojení se stěnou vaječníku. Pupek je stopa po poutku, které přímo přisedalo nebo kterým bylo semeno připevněno k semenici (placentě). Nápadné je třeba u jírovce a fazolu (Obrázek 2). Semena vzniklá z obrácených vajíček mají navíc semenný šev (*raphe*), což je otisk vaječné šňůry. Zbujením právě semenných švů či semenných obalů vznikne masíčko (*carruncula*), které obsahuje oleje a cukry (Lhotská & Kropáček 1985).



Obrázek 2: Morfologie semene fazolu obecného – *Phaseolus vulgaris* (upraveno podle Smýkal et al. 2014).

U zralých semen se plášť skládá hlavně z mrtvých a tvrdých tkání, které tvoří účinný ochranný obal semene. Zejména díky sklerenchymatickým buňkám v plášti je semeno chráněno proti mechanickým poškozením. Odolnost semene proti rozdrčení závisí především na struktuře pláště a tvaru semene. To je důležité pro umožnění průchodu semen čelistmi a žaludky zvířat, díky čemuž se mohou úspěšně rozšiřovat (Kigel & Galili 1995). Semena se hodí jako prostředek k množení, rozptylu a vyhýbání se stresu (Fenner 1985).

3.2.1 Rozšiřování

Rostlina k zajištění potomstva vytváří nespočetný počet semen, která se musí rozptýlit co nejdál od mateřské rostliny, aby měla největší pravděpodobnost, že všechna vzejdou. Zůstala-li by všechna semena na jednom místě, nastal by u vzklíčených rostlin boj o život, prostor, světlo, vzduch a živiny (Molisch & Biebl 1975).

Disperzní vektory mohou být biotické nebo abiotické. Abiotické vektory jsou vítr a voda. Mezi biotické řadíme rozšiřování pomocí zvířat, lidí nebo aktivně činností rostliny (Kigel & Galili 1995). Způsob rozšiřování semen je rozmanitý a semena jsou podle konkrétních podmínek k tomu různě přizpůsobena. Způsoby rozšiřování semen rozlišujeme podle druhu síly, kterou jsou semena šířena na: anemochorie (rozšiřování větrem, pomocí vzdušných proudů), hydrochorie (rozšiřování semen pomocí vody), autochorie (rozšiřování vlastními silami, samovolně bez cizí účasti pouze pod vlivem pohybů rostliny) a zoochorie (rozšiřování zvířaty). Zoochorii rozlišujeme na epizoochorii (rozšiřování semen na povrchu těla živočichů), s ní souvisí ornitochorii (na nohách vodních a brodivých ptáků), dále máme endozoochorii (trávicím ústrojím pomocí trusu), myrmekochorii (mravenci) a antropochorii (člověkem). Vítr (vzdušné proudy) patří mezi nejdůležitější způsob rozšiřování semen. Při mimořádných podmínkách může být větrem šířena většina semen (Lhotská & Kropáček 1985; Novák & Skalický 2012). Většina druhů rostlin má přizpůsobení pouze k jednomu způsobu rozšiřování semen, ale nacházejí se i rostliny, které mají rozšiřování semen kombinované (semena dvouzubce mají přichytné výrůstky a plavou) (Jursík et al. 2018).

3.3 Klíčení

Hodge (2014) definuje klíčení, jako růst semene od okamžiku, kdy je spuštěn růst jeho zárodku (obvykle po klidové období) až po formování prvních listů. Pro úspěšné vyklíčení musí být splněni tři základní podmínky: zárodek musí být životaschopný, musí ustát dormance a nastat vhodné podmínky prostředí (Hodge 2014). Klíčení začíná absorpcí vody suchými semeny – vstřebáváním. Dokončeno je až když se prodloužená část embrya (obvykle klíček) rozšíří, aby pronikl strukturami, které jej obklopují. Poté následuje mobilizace hlavních skladovacích rezerv a růst sazenice (Bewley 1997). Jde o obnovení růstu zárodku, součinností dalších částí semene, se současným vývojem v mladou klíčnou rostlinu. Při tomto procesu dojde v zárodku rostliny (semene) k prodloužení buněk kořínku a hypokotylu embrya (Novák & Skalický 2012). Radikula je prvotní (embryonální) kořen klíčnou rostliny, který je první viditelný růstový projev klíčení a dává základ kořenové soustavy budoucí rostliny (Houba & Hosnedl 2002).

Klíčení semen je komplexní vývojový proces zahrnující mnoho individuálních reakcí a fází (Copeland & McDonald 2001). Zahrnuje biochemické, fyzikální a biologické procesy (hydratace proteinů, dýchání, prodlužování buněk, strukturální změny a makromolekulární syntézy). Díky nim se embryo přemění z dehydratovaného klidového stavu na stádium se životaschopným metabolismem završeným růstem (Houba & Hosnedl 2002). Dle Lhotské a Kropáčka (1985) je klíčení složitý fyziologický proces, při kterém je potřeba dostatečné množství vody, tepla, kyslíku a u některých druhů i chemické vlivy, dostatek světla a jiných faktorů. Klíčení semen ovlivňuje několik přírodních růstových látek – fytohormonů. Tyto chemické sloučeniny se podílejí na regulaci růstu a vývoje, a proto se pro ně používá termín regulátory růstu rostlin. Jde o signální molekuly, které jsou produkovány v rostlině a jsou aktivní již ve velmi nízkých koncentracích (Bewley 2013). Jde o jakési posly, kteří jsou produkovány v jedné buňce nebo tkáni, a ovlivňují buněčné procesy v jiné buňce interakcí se specifickými proteinovými receptory. Rostlinný vývoj je regulován šesti hlavními typy hormonů: auxiny, gibbereliny, cytokininy, kyselinou abscisovou, etylénem a brassinosteroidy (Taiz & Zeiger 2006). Podle účinku je poté rozdělujeme na stimulatory růstu (auxiny, gibbereliny, cytokininy) a na inhibitory (kyselina abscisová). Fytohormony ovlivňují růst a vývin semen, řídí ukončení růstu semene před jeho zralostí, regulují zásobní látky, podílejí se na dormanci, řídí klíčení s první fází růstu klíčících rostlin (Houba & Hosnedl 2002).

Klíčivostí označujeme schopnost semene vyklíčit, tedy zahájit svůj růst. Je ovlivňována druhem semene a odrůdou, kvalitou semen, jejich výživou, teplotou a fotoperiodou, vlhkostí půdy, ošetřením, mechanickým poškozením, nesprávným sušením a posklizňovým uskladněním. Neschopnost semen vyklíčit může být spojení s dormancí zárodku, nepropustností povrchové vrstvy (pro vodu, výměnu plynů a růst embrya), chemickou inhibicí nebo bariérou pro příjem světla (Chloupek 2008). Rozličná je i doba po jakou jsou semena schopná vyklíčit. Některé druhy ztrácejí klíčovost během několika týdnů či měsíců. Průměrně se klíčovost pohybuje v rozmezí několika let (většinou 3 – 15 let), ale při příznivých podmínkách mohou semena rostlin v půdě přežívat desítky i stovky let. Například u hrachu setého (*Pisum sativum*) se uvádí doba klíčovosti 4 – 5 let a to díky tvrdosemennosti (Lhotská & Kropáček 1985). Tvrdosemennost se vyskytuje u luskovin a jetelovin, kde takováto anatomická stavba semene způsobuje zabránění příjmu vody a výměnu plynů. To má za následek, že tato semena bez porušení obalů nevyklíčí (Houba et Hosnedl 2002). Jen několik týdnů jsou vitální semena devětsilu, vrb a topolů (Procházka et al. 1998).

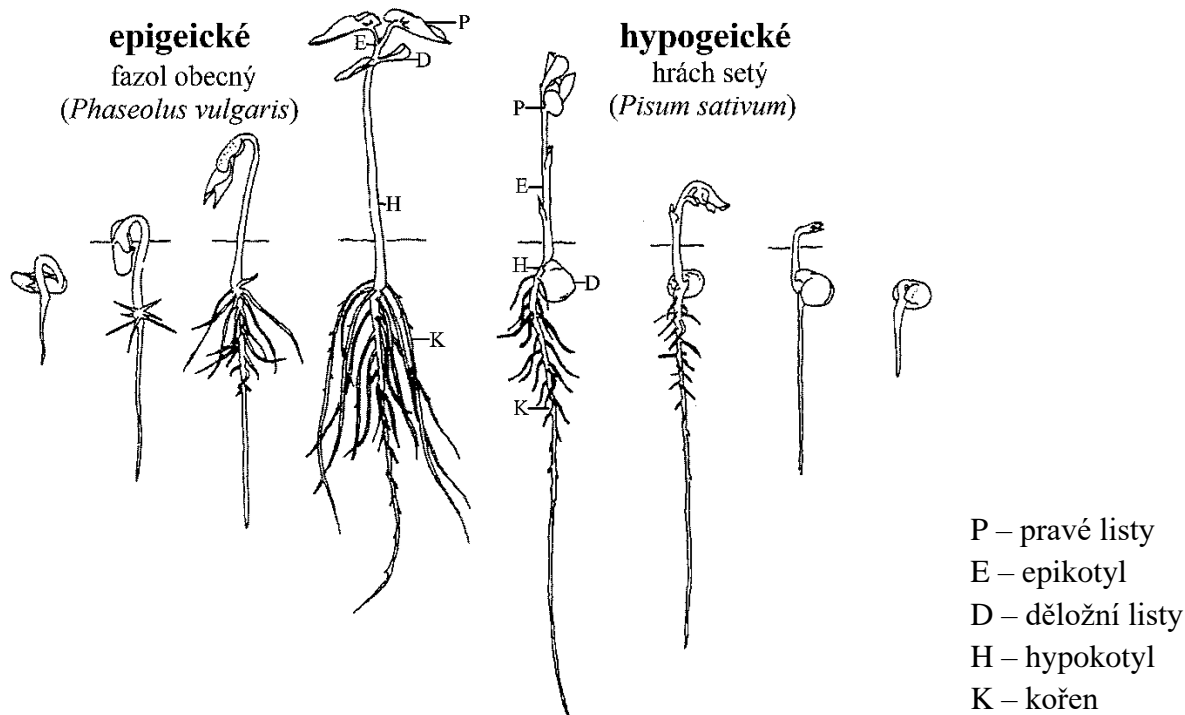
Většina semen klíčí při teplotě, která je o 5 °C vyšší, než stanovená minimální teplota pro daný druh rostliny (Brickell 2008). Údaje o fenologii klíčení semen jednotlivých druhů ukazují, že každý druh má charakteristické období klíčovosti (nebo sezóny). U mnoha druhů je období roku, kdy je možné vyklíčit, poměrně omezená, např. pouze v podzimní, jarní nebo vlhké sezoně. Naopak pro jiné druhy klíčovost trvá dlouhou dobu, např. během vegetačního období (Baskin & Baskin 2001). Načasování klíčení semen je jedním z klíčových kroků v životních cyklech rostlin. Určuje začátek růstu rostlin v přírodních nebo zemědělských ekosystémech. Ve volné přírodě je mnoho semen ve stavu dormance a klíčí až po vystavení určitým podmínkám prostředí. Naproti tomu semena plodin klíčí téměř okamžitě, když je vysejeme. Tyto změny vyvolané domestikací představují přizpůsobení ke kultivaci a sklizni (Smýkal et al. 2014).

3.3.1 Typy klíčení

Klíčení začíná růstem kořínku (*radikula*), který po určité době brzdí růst nadzemních částí klíčící rostliny (plumuly). Jakmile plumula proroste osemením, tak se z klíčícího semene stává klíčící rostlina (Procházka et al. 1998). Nahosemenné rostliny mají 2, 3 nebo větší počet děloh (3 – 8). Jednou dělohou klíčí jednoděložné rostliny, dvouděložné klíčí dvěma (Černohorský 1967; Lhotská & Kropáček 1985). U jednoděložných i dvouděložných rostlin rozeznáváme dva základní typy klíčení semen: nadzemní klíčení (epigeické) a podzemní klíčení (hypogeické) (Obrázek 3). Dělohy semen rostlin s nadzemním klíčením jsou zelené a v první fázi klíčení se podílejí na asimilaci. U podzemního klíčení dělohy zelené nejsou a obsahují zásobní látky (Lhotská & Kropáček, 1985; Procházka et al. 1998).

Při epigeickém klíčení ze semene nejdříve roste směrem dolů *radikula*, která následně proniká do půdy. Semeno se vzrostným vrcholem stonku a dělohami (děložními lístky) se dostávají na povrch půdy narovnáváním a intenzivním prodlužováním hypokotylu (podděložní článek), který vyrostl z horní části kořínku (Obrázek 3). Dělohy (*cotyledones*) jsou první listy semenáčku a někdy na nich můžeme najít i zbytky obalu semene. Po nějaké době pak scvrklé dělohy odpadávají. Vzácně setrvávají na lodyze jednoleté rostliny po celý její život v podobě zelených listových orgánů. Takto klíčí např.: fazole, slunečnice, okurka, dýně, cibule, len, skopec, buk, habr, lípa a javor (Procházka et al. 1998; Novák & Skalický 2012).

Při hypogeickém klíčení roste ze semene směrem dolů *radikula* a směrem nahoru se intenzivně prodlužuje epikotyl (nadděložní článek), na jehož vrcholu vyrostou pravé listy. U tohoto typu klíčení je hypokotyl velmi krátký a vlastní klíčící lodyžka je článek epikotylu. Semeno s dělohami setrvávají pod zemí, kde plní funkci rezervních orgánů (Obrázek 3). Dělohy postupně vadnou, usychají a rozkládají se. Toto klíčení probíhá např.: u hrachu, bobu, kukuřice, lilie, dubu, ořešáku, mandloně a datlovníku (Procházka et al. 1998; Novák & Skalický 2012).



Obrázek 3: Typy klíčení u dvouděložných rostlin (upraveno podle Houba & Hosnedl 2002).

U jednoděložných rostlin vede jedna děloha k asymetrickému vývoji embryí. Nejsložitější strukturu lze nalézt u travního embrya, které je mnohem diferencovanější než jiná embrya (Pazourek & Votrubová 1997). U *Poaceae* při klíčení vyrůstá na povrch místo dělohy pochva, z které prorůstá první asimilační list. Část zárodku – štítek je vlastně přeměněnou dělohou a těsně přiléhá k endospermu. Štítek na bázi přechází v koleorhizu a nahoře přes mezokotyl navazuje na koleoptili. Trubicovou pochvou koleorhizou je obalen prvotní kořen a druhá blanitá pochva koleoptile obklopuje plumulu (základ stébla s listy) (Lhotská & Kropáček 1985; Procházka et al. 1998; Novák & Skalický 2012).

3.3.2 Faktory ovlivňující klíčení

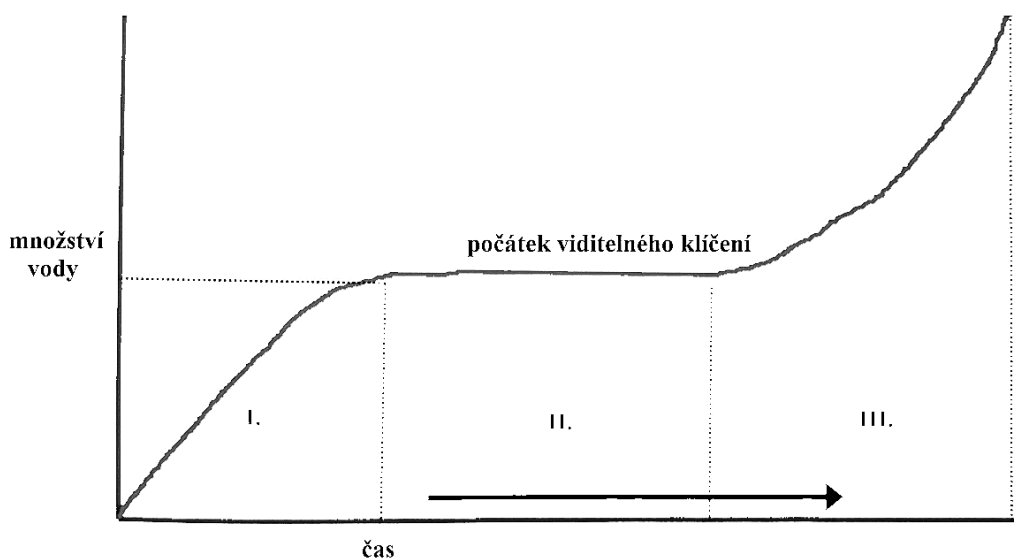
Schopnost klíčit je základním životním projevem semen. U některých druhů rostlin mohou semena vyklíčit okamžitě, aniž by musela projít obdobím klidu. To, jaký bude průběh klíčení, závisí jak na kvalitě semen (ovlivnění vzházivosti a vyrovnanosti porostu), tak na podmínkách prostředí. Semena si uchovávají klíčivost různě dlouhou dobu a jejich klíčení závisí na vnitřních a vnějších podmínkách. Mezi vnější faktory ovlivňující klíčivost patří především voda, teplota a kyslík. Doplnujícími faktory jsou pak světlo a tma. Semena různých druhů rostlin potřebují pro úspěšné vyklíčení různorodé podmínky, které často bývají odpovědí na běžné podmínky prostředí (Hosnedl 1997). Klíčivost je značně ovlivněna interakcemi mezi teplotou, vodním potenciálem, průtokem vody v půdě a změnami faktorů biologické aktivity semen (Benech-Arnold & Sánchez 2004). Semena jsou při klíčení náchylná na rychlé bobtnání, nízké teploty a nedostatek kyslíku (Houba & Hosnedl 2002). Kladně působit na klíčení může i obsah některých živin (například dusičnanů), zato zasolení (chloridy) působí spíše negativně (Jursík et al. 2018).

Morfologické změny spjaté se stárnutím semen, bývají specifické pro určitý druh a mohou se vyskytnout jak ve fázi semen, tak ve fázi semenáčků (Black et al. 2000). Proces stárnutí končí ztrátou životaschopnosti a jeho průvodní znak je postupné snižování kvality semen (deteriorace). Rychlost deteriorace se liší u odlišných druhů, odrůd ale i v různých částech semene. Ovlivněná je i podmínkami prostředí, ve kterých jsou semena uskladněná a na vitalitě semen. Čím je delší doba uskladnění, tím se snižuje klíčivost. Stárnutí a vitalita (životnost) semen jsou navzájem podmiňované, neboť projevem stárnutí je pokles vitality a zároveň snížená vitalita má za následek rychlejší stárnutí (Houba & Hosnedl 2002). Aniszewski et al. (2012) upozorňují na fakt, že se od 60. let v literatuře uvádí obecná závislost míry stárnutí semen na třech faktorech: teplotě, vlhkosti a tlaku kyslíku. Životaschopnost semen, vitalita a dormance závisí na mnoha faktorech. Zahrnuty jsou faktory genetické, technologické, vývojové a podmínky životního prostředí. Při ztrátě vitality dochází k významnému poklesu klíčivosti. Snížená vitalita silně koreluje se ztrátou hmotnosti semen v průběhu let. Věk semen je jedním z nejdůležitějších vývojových faktorů ovlivňující kolísání vitality semen a jejich dormanci. Starší semena ukazují částečnou metabolickou a enzymatickou aktivitu, která dokazuje, že jsou semena živá, ale nečinná. To naznačuje, že se nachází v hluboké dormanci, ze které by mohly po delší době vyklíčit. Vzhled, příjem vody a vstřebávání semen zůstávají konstantní (Aniszewski et al. 2012).

3.3.2.1 Voda

Vztah mezi semenem a vodou patří k nejdůležitějším faktorům klíčení. U semen je základem pro přechod od klidové fáze k aktivní biochemické a fyziologické činnosti. Nutný je především dostatečný přísun vody pro obnovu hydratace. Vlhkost půdy je nezbytná pro vyklíčení zbobtnalých semen. Významnou roli v citlivosti osiva hraje napětí z nedostatku vody a vodního nadbytku (Hosnedl & Honsová 2002). Při styku s vodou suchá semena začnou zvětšovat svůj objem i hmotnost na základě gradientu vodního potenciálu. Pronikání vody z půdy do osiva je dáno rozdíly v potenciálu vody mezi osivem a půdou a je řízeno vodivostí půdy. Celkový vodní potenciál suchého semene je ve srovnání s půdou velmi nízký, a proto může rychle odebírat vodu z půdy, se kterou přichází do styku (Benech-Arnold & Sánchez 2004). Pro vodu je nejvíce prostupná oblast kolem pupku semene. Absorpce vody semen vede ke zvětšování objemu – bobtnání, roztrhává se slupka (praská osemení) a umožňuje se klíčení (Procházka et al. 1998).

Zralá semena většinou neobsahují moc vody (cca 5 – 15 %), jsou suchá, a musí proto přijmout značné množství vody před zahájením klíčení a růstu. Kilogram suchých semen hrachu (*Pisum sativum*) pro nabobtnání do sebe spotřebuje až 2 850 ml vody (Procházka et al. 1998). Zárodek pro probuzení k životu a správný růst potřebuje vlhkost. Množství vody může interagovat s teplotou, světlem a strukturou substrátu (Baskin & Baskin 2001). Příjem vody semeny má tři fáze, což je patrné z Grafu 1. Jejich délka závisí na propustnosti semenných obalů, velikosti semen, obsahu hydratovaných látek, příjmu kyslíku a na podmínkách prostředí (vlhkosti a složení substrátu, teplotě). První fází je bobtnání, které je nezávislé na metabolické aktivitě semen. Bobtnání může nastat u dormantních, nedormantních, životaschopných i neživotných semen. Druhá fáze, kterou procházejí jen klíčivá semena, je fáze aktivace biochemických pochodů. Ta nenastává u dormantních a neživých semen. Třetí a poslední fáze, je růst klíčku, která se nachází jen u živých semen. Je spojená s viditelným klíčením a následným růstem klíčící rostliny. Jaké celkové množství vody bude přijato semeny, závisí na velikosti semene, jeho chemickém složení a hydratační schopnosti (vodní potenciál) jednotlivých složek. Rychlost bobtnání bude záviset na rozdílu vodního potenciálu prostředí a na vodním potenciálu semena i propustnosti jeho obalů (Houba & Hosnedl 2002).



Graf 1: Příjem vody semeny při klíčení (upraveno podle Houba & Hosnedl 2002).

Semena namočená před setím ve vodě vyklíčí rychleji (př. fazole, hrách a kukuřice). Máčí se přibližně jeden až dva dny. Po celou dobu by měla být zcela ponořená pod vodou, aby nasála vodu a nastartovalo se u nich klíčení. Plovoucí semena bývají mrtvá. Mrtvá semena bobtnají, ale neklíčí. Po určité době ve vlhku začnou zahrňovat a zapáchat (Kvapil 2016).

3.3.2.2 Teplota

Teplota ovlivňuje jak vlastnosti půdy s ohledem na vodu, tak biologickou aktivitu semen. Půdní teplota se mění denně i sezónně, je závislá na vlhkosti půdy, struktuře, vrstvení a barvě půdy (Benech-Arnold & Sánchez 2004). Teplota není důležitá jen při růstu rostliny a buněčném metabolismu, ale uplatňuje se i při klíčení semen. Zde rozlišujeme kardinální teplotu (teplotní minimum, optimum a maximum). Hodnoty jsou ovlivňovány odrůdou, místem původu rostliny a stářím osiva. Například kardinální teploty hrachu setého (*Pisum sativum*) jsou: 1 – 2 °C jako minimum, 30 °C jako optimum a 35 °C jako maximum. Určitá minimální teplota má základní vliv pro vyklíčení všech druhů rostlinných semen (Procházka et al. 1998; Houba & Hosnedl 2002). Při teplotním minimu semena konkrétního druhu obvykle začínají klíčit. Teplotní maximum je nejvyšší teplota, při které jsou semena ještě schopná klíčit. Teplota, při které semena klíčí nejlépe, se nazývá teplotní optimum. Jednotlivé hodnoty jsou ovlivněny původem i stářím semene, a proto mohou kolísat. Pozitivně se uplatňuje i střídání teplot během klíčení, které je v přírodních podmínkách běžné (den / noc). Klíčivost některých druhů při konstantní teplotě bude výrazně snížena, nebo dokonce nebudou klíčit (Jursík et al. 2018). U rozličných druhů semen obvykle existuje charakteristické teplotní rozpětí, mimo které nebudou klíčit. Teplotou je ovlivněná jak aktivita enzymů, tak rychlost látkové výměny buněk v semeni (Hodge 2014). Klíčení má kardinální teplotu, ale i každá fáze klíčení má také svou vlastní kardinální teplotu, a proto se rozmezí může v průběhu klíčení měnit. U různých druhů rostlin probíhá klíčení semen v širokém rozsahu teplot. Některá semena začínají klíčit při několika stupních nad 0 °C, jiná až při teplotě mírně nad pokojovou teplotou (16 – 25 °C). Tropické druhy rostlin optimálně klíčí při teplotách 15 – 30 °C, rostliny mírného pásma při 8 – 25 °C a vysokohorské rostliny v rozmezí 5 – 30 °C. Optimální teplota pro většinu semen je v rozmezí 15 a 30 °C. Vyšší teplotu k vyklíčení potřebují zejména semena teplomilných rostlin. Maximální teplota klíčení pro většinu druhů se pohybuje mezi 30 a 40 °C. Klíčivost pozbývají semena většinou při delších teplotách kolem 40 °C. Specifické druhy rostlin jsou schopné klíčit i při teplotách blížících se bodu mrazu (druhy květin alpských a skalních zahrad) (Larcher 1988; Copeland & McDonald 2001). Dle Lhotské a Kropáčka (1985) mohou nějaké druhy klíčit v širokém rozmezí teplot (bolehlav), jiné druhy mají požadavek na teplotu poměrně vyhraněný (durman). Některá semena vyžadují velmi nízké teploty k překonání období klidu (jarovizace). Další zase začnou klíčit až po překonání extrémně vysokých teplot, třeba během lesních požárů (Kvapil 2016).

3.3.2.3 Kyslík

Kyslík (O₂) v půdě je nezbytnou podmínkou pro metabolismus klíčení semen, ale může být omezen nadměrným množstvím vody, zhutněním a tvrdými povrchy. Snížené koncentrace O₂ může ovlivnit podíl klíčivých semen a rychlost klíčení. Klíčení a dormanci může v prostředí půdy kromě kyslíku (O₂) ovlivnit i oxid uhličitý (CO₂) a etylén (C₂H₄). Obvyklý obsah kyslíku v půdním vzduchu je více jak 19 %. Nízká dostupnost kyslíku u většiny botanických druhů

rostlin snižuje procento klíčivosti nebo dokonce zabraňuje klíčení. Několik druhů (především vodní a bažinné rostliny), jsou schopny klíčit za sníženého obsahu kyslíku. Pod vodou, v anaerobním prostředí, dokáže klíčit například rýže setá (*Oryza sativa*) (Houba & Hosnedl 2002). Množství kyslíku se pro podporu metabolické aktivity stává rozhodující již ve velmi časném stádiu klíčení. Zásobování kyslíkem je silně ovlivněno tloušťkou vodní vrstvy pokrývající klíčící semeno (Benech-Arnold & Sánchez 2004).

3.3.2.4 Světlo a tma

Světlo nepatří mezi nezbytné podmínky pro klíčení u většinu druhů, ale mohou je značně ovlivňovat (zpomalit nebo urychlit klíčení). Dochází k tomu díky intenzitě nebo spektrálnímu složení světla. K projevu citlivosti na světlo nebo tmu dochází již při nabobtnání semen. Semena některých rostlinných druhů mohou klíčit rychleji na světle než ve tmě. Rostliny proto rozdělujeme na pozitivně a negativně fotoblastické (Houba & Hosnedl 2002). Mezi pozitivně fotoblastické druhy (světlo klíčení stimuluje), které potřebují ke klíčení dostatek světla, patří: pupalka, vrbovka, lipnice, tabák a salát. Při absenci světla klíčí negativně fotoblastické druhy (světlo klíčení inhibuje), mezi které řadíme: tykev, laskavec, svazenku, černuchu a břečťan (Procházka et al. 1998).

Při klíčení může hrát roli i kvalita světla. Obecně platí, že velká semena mají větší množství zásobních látek, a proto nevyžadují ke klíčení světlo. U malých semen mnoha bylinných a travních druhů je světlo naopak vyžadováno. Některá semena rostlin nebudou klíčit (zůstanou ve stavu spánku), dokud nebude dostatek světla pro růst budoucí mladé rostliny (Taiz & Zeiger 2006). Třeba jemná semena náprstníku (*Digitalis purpurea*) musí být na povrchu půdy, neboť potřebují ke klíčení světlo (Hodge 2014). Pro semena některých rostlinných druhů je světlo signálem blízkého povrchu, nebo že jsou na povrchu (důležité především pro semena s malou zásobou živin). Kromě detekce, jak hluboko se nachází v půdě, může semeno pomocí světelných a teplotních senzorů také poznat, kde je ve vztahu k jiným rostlinám a jaké je roční období (Black et al. 2000).

3.4 Dormance

Dormance, je vnitřně zafixovaný dočasný útlum vývojových procesů rostlinných orgánů (semen, pupenů, hlíz a cibulí), který může trvat několik dní, měsíců i let (Procházka et al. 1998). Období, kdy živé zralé semeno neklíčí ani v podmínkách běžně vhodných pro klíčení, se nazývá klíčící klid (dormance, odpočinek). Je způsobováno fyziologickými nebo fyzikálními podmínkami inhibující klíčení. Jakmile nastanou příznivé podmínky pro vývoj, semeno začne klíčit a postupně se z něj vytvoří celá rostlina (Houba & Hosnedl 2002). Jde o jakousi etapu nutnou k dokončení klíčení, která se vyvinula rozdílně mezi druhy přes adaptaci na panující prostředí. V této době osivo bezpečně překonává periodicky nepříznivé roční období, aniž by bylo poškozeno. Je to výsledek přizpůsobení (adaptace) k nepříznivým podmínkám prostředí (extrémní teploty, sucha). Zabraňuje vyklíčení semene v nevhodnou dobu, což umožňuje jejich přežití. Proto se vyvinula rozmanitá škála bloků (mechanizmů dormance), které odpovídají různorodosti klimatu a stanovišť, v nichž působí (Finch-Savage & Leubner-Metzger 2006). Toto klidové období semene je způsobeno podmínkami uvnitř zárodku (embrya), nebo

podmínkami vně zárodku. Rozeznáváme fyziologickou, morfologickou, fyzikální, mechanickou a chemickou dormanci. Mnohdy se u semen setkáváme s kombinací těchto faktorů (Hodge 2014). Příčinou fyziologické dormance semen jsou vnitřní fyziologické nebo chemické podmínky bránící klíčení (Houba & Hosnedl 2002). Klíčící odpočinek bývá způsobována třemi hlavními příčinami: nepropustností semenných obalů pro vodu (tvrdosemnenost) nebo plyny (pro O₂ a CO₂), přítomností látek inhibičního charakteru a morfologickým stavem embrya (nedovyvinutý zárodek). Tyto příčiny mohou vyvolat dormanci samostatně, ale většinou působí v kombinaci (Lhotská & Kropáček 1985).

Rozlišujeme primární a sekundární dormanci. Primární (vrozená dormance) je geneticky určená vlastnost semen. Jejimi základními funkcemi je zprvce zabránění semenům předčasně vyklíčit na mateřské rostlině, za druhé umožnění disperze semen v čase zabráněním jejich bezprostřednímu hromadnému klíčení před nástupem nepříznivých přírodních podmínek (Taiz & Zeiger 2006; Jursík et al. 2018) U primární dormance rozlišujeme příčiny exogenní (vnější) a endogenní (vnitřní). Příčinnou exogenní dormance bývají semenné obaly, což má za následek nedostupnost vody, zabránění výměny plynů (kyslíku a odvodu inhibičních látek z embrya). K jejímu odstranění může dojít přirozeně (činností mikroorganismů, fyzikálními změnami půdy, kyselostí půdy) nebo úpravou semen mechanicky (skarifikací), chemicky (slabým roztokem kyseliny sírové, chloridu sodného, peroxidu vodíku) nebo selektivními enzymy (celulóza, pektináza). Postupně se oslabují semenné obaly a semeno vystupuje z dormance. Častější je ale primární dormance endogenní, která je způsobená vrozenými vlastnostmi semen (především inhibitory klíčení). Mezi tyto inhibitory patří kyselina abscisová, kumarin, kyselina ferulová a další fenolové kyseliny. K ukončení endogenní dormance slouží vyluhování látek způsobující dormanci, ošetření fytohormony (gibereliny), odstranění osemení nebo skarifikace, teplotní ošetření, mezi které patří i stratifikace semen (vystavení nabobtnalých semen nízkým teplotám). U sekundární dormance jde o reakci semene na podmínky vnějšího prostředí. Bývá často spojená s nepříznivými podmínkami fyzikálními (anoxie, vodní stres, vysoké nebo nízké teploty), chemickými nebo světelnými (nevhodné světelné spektrum) (Procházka et al. 1998; Houba & Hosnedl 2002). Nízká teplota a střídavá teplota jsou spolu se světlem hlavními faktory prostředí, které jsou odpovědné za porušení dormance (Black et al. 2000). U semen s tvrdým obalem můžeme přerušit dormanci skarifikací nebo namáčením. Podle druhu se namáčí do vody na dobu od 10 minut do 72 hodin. Životaschopná semena poté nabobtnají (Brickell 2008).

3.5 Stres

Stres je nepříznivý stav, odchylka od optimálních podmínek, vyvolaný jedním nebo několika mimořádně neblahými vnějšími vlivy, či proměnlivými podmínkami prostředí, při kterém je organismus fyziologicky zatížen. Negativně působí na celou rostlinu, od kořenů, nadzemní části až po vyvíjející se semena. Při změně prostředí na takové úrovni, na kterou není rostlina geneticky přizpůsobena, dojde ke vzniku stresu (Procházka et al. 1998). Klíčení semen v polních podmínkách při méně příznivých až stresových podmínkách dosahuje relativní vzcházivosti 40 – 50 % (za vhodných podmínek je relativní vzcházivost 80 – 85 %). Pokud zahrneme extrémní případy, může se rozpětí vzcházivosti pohybovat od 0 – 100 %. Platí, že lepší kvalitu má semenářský materiál z oblastí s menší frekvencí stresových podmínek. Kvalitu semen ovlivňují stresory (stresové faktory) především v době reprodukčního období.

Ve vegetačním období teplotní a vláhové stresory ovlivní budoucí rozmnožovací materiál (semena) jen minimálně. Náchylnost a dispozice semen ke stresorům je v různých obdobích svého vývoje odlišná. Liší se dle druhů rostlin, odrůdy, fáze vývinu semen a délky působení stresových podmínek (Houba & Hosnedl 2002).

Bláha a kol. (2003) označují stres rostliny jako stav, který je navozen nepříznivými faktory prostředí a které přesahují její běžnou úroveň, jež vyvolají u rostlin tzv. "poplachovou" odpověď jako reakci na dané podmínky. Většina environmentálních stresů má společné účinky na rostlinu a její reakce, která způsobí aktivaci obranných mechanismů. Mezi ně patří zpomalení i zastavení růstu, snížení fotosyntézy, dehydratace tkání, oxidační poškození, hormonální změny a akumulace četných proteinů souvisejících se stresem. Může způsobit i zpomalení životních funkcí, snížení vitality, poškození jednotlivých orgánů a v krajním případě zapříčinit i úhyn rostliny (Aroca et al. 2012). Dále dochází ke změnám poměrů mezi kořeny a nadzemní částí rostlin, ke změnám jednotlivých znaků kořenů nebo vlastností semen. Ve výsledku může dojít k ovlivnění výnosu (menší množství semen) a kvality zrna (jiné chemické složení, jiná anatomická a morfologická stavba, horší klíčivost a snížená) ještě před tvorbou semen, nepřímo oslabením rostliny nebo přímo v době kvetení, oplodnění a tvorby semen. V semenech stresovaných rostlin může dojít ke změnám anatomické stavby a ke snížení jejich vitality. Tím pádem, dojde k nepřímému projevu stresorů ve fyziologických funkcích a životních pochodech i u následující generace rostlin. V krajním případě mohou vzniknout semena neschopná klíčit. Tolerance rozpětí jednotlivých negativních faktorů je individuální u každého rostlinného druhu. Ekologickou valencí faktoru pak nazýváme interval mezi minimální a maximální tolerovanou hodnotou. Optimum je hodnota faktoru, při které se bude rostlina nejlépe vyvíjet. Ta může být značně rozdílná u rozličných rostlinných druhů. Pro příklad: vyschlá a vysluněná skála je přirozeným prostředím pro rozchodník, ale pro sítinu by bylo toto prostředí smrtící (Bláha et al. 2003).

Z Obrázku 4 je evidentní, že se stresové faktory rostlin dělí na dvě hlavní skupiny: na abiotické faktory (vlivy neživé přírody) a na biotické faktory (působení živé přírody) (Novák 1981). Interakce biotických a abiotických stresorů způsobují navzájem umocnění působení obou činitelů (Bláha et al. 2003).

abiotické faktory

fyzikální - extrémní teploty (nízká a vysoká teplota)
- vysoká a nízká ozáření

chemické - sucho
- oxidativní stres
- zasolení
- půdní reakce (pH půdy)
- nedostatek živin
- xenobiotika (oxid siřičitý, ozon, toxické kovy)

biotické faktory

- herbivorní organizmy
- patogenní organizmy
- alelopatie

Obrázek 4: Rozdělení stresových faktorů rostlin (upraveno podle Procházka et al. 1998).

Průběh a konečný výsledek stresové reakce závisí na její intenzitě, délce působení, rychlosti příchodu stresu, orgánu rostliny, ale i geneticky vázaných předpokladech (adaptačních

schopnostech) (Procházka et al. 1998). Čtyřmi stresovými reakcemi (poplachovou fází, restituční fází, fází rezistence a fází vyčerpání) nazýváme etapy, které se spustí při vlivu stresoru. Mezi obranné reakce rostliny, které se aktivují působením abiotických i biotických stresorů, patří tvorba stresových proteinů, stresových fytohormonů a osmoregulačních sloučenin s ochrannou funkcí (Bláha et al. 2003). Koncentrace řady molekulárních signálů, jako jsou rostlinné hormony, se zvyšuje v kořenových buňkách po vystavení environmentálním stresům. Mohou být indukovány specificky (jen příslušným druhem stresu) nebo nespecificky (různými druhy stresorů). Mezi hlavní patří kyselina abscisová (ABA), etylén (ET) a kyselina salicylová (SA) (Aroca et al. 2012).

3.5.1 Abiotické faktory

Bláha a kol. (2003) definují abiotický stres jako stav rostliny vyvolaný nepříznivým působením fyzikálních a chemických faktorů. Rostliny během svého životního cyklu v přírodním prostředí často procházejí obdobím abiotického stresu, který nepříznivě ovlivňuje jejich růst a produktivitu. Stresor může být jak nedostatek, tak i nadbytek faktoru pro rostlinu životně důležitého (kyslík, voda, světlo) (Procházka et al. 1998). Na Obrázku 4 je patrné, že abiotické faktory můžeme rozdělit na fyzikální (extrémní teploty, vysoká a nízká ozáření) a chemické (sucho, oxidativní stres, zasolení, půdní reakce, nedostatek živin a xenobiotika). Jednotlivé druhy stresu se spolu mnohdy kombinují (sucho často souvisí s vysokými teplotami a silným zářením) (Houba & Hosnedl 2002; Bláha et al. 2003).

Abiotické faktory jsou zásadní pro světové zemědělství, neboť představují hlavní omezení celosvětové produkce plodin. Odhaduje se, že 51 – 82 % ročního potenciálního výnosu plodin je ztraceno v důsledku působení abiotického stresu (Jenks & Hasegawa 2005).

3.5.1.1 Extrémní teploty

Larcher (1988) ve své knize uvádí, že rostliny jsou poikilotermní organismy, což znamená, že jejich vlastní teplota má tendenci se přibližovat teplotě jejich okolí. Sluneční záření nepůsobí na rostlinu pouze jako zdroj světelné energie, ale ovlivňuje teplotu vzduchu kolem rostliny a ohřívá její povrch. Rostliny nepoškozuje pouze vysoké teploty, ale i ty nízké teploty. K extrémním teplotám jsou náchylnější generativní orgány (především poupata a květy), které jsou i více poškozovány než vegetativní orgány (Bláha et al. 2003). V období zrání semen může působení extrémních teplot ovlivňovat syntézu inhibičních látek nebo látek stimulující klíčení (Houba & Hosnedl 2002).

Nízká teplota

U rostlin rozlišuje 2 typy citlivostí na sníženou teplotu. Jde o citlivost na chlad a citlivost na mraz. Za chlad je považována teplota od 0 do 15 °C (teploty nad bodem mrazu). Pokud teplota klesne pod 0 °C (teploty pod bodem mrazu) jedná se už o poškozování rostlin mrazem. Na chlad reagují rostliny různě. Pro rostliny chladnějších klimatických zón jde o teplotu, na kterou jsou přizpůsobeny a nejsou jí moc ovlivňovány. K druhům citlivým na chlad patří rostliny tropického, subtropického a teplejších oblastí mírného pásu. Mezi takové rostliny patří kulturní zemědělské plodiny (okurky, papriky, rajčata a kukuřice) a většina tropických bylin. Doba, po kterou chlad působí, může být různě dlouhá. Proto je délka působení velmi důležitá,

neboť se reakce na stres nemusí projevit okamžitě, i když se teplota snížila pod určitou kritickou hranici (Bláha et al. 2003).

Nízká teplota negativně ovlivňuje biomembránové struktury, funkci membrán a změnu struktur cytoskeletu (depolymerace mikrotubulů) (Bláha et al. 2003). Teploty mezi 0 a 15 °C způsobují u citlivých rostlin dehydrataci listů, která je způsobena nerovnováhou mezi vodou ztracenou transpirací listů a absorpcí vody kořeny. Prvním příznakem je proto vadnutí listů, v důsledku snížení vodivosti membrán pro vodu, snížené viskozity vody nebo sníženou či zastavenou schopností uzavírat průduchy (Aroca et al. 2012). Důsledek působení nízkých teplot je i zrychlené dýchání rostliny, kterým se rostlina snaží přizpůsobit novým podmínkám a kompenzovat poškození. Čím byla teplota nižší a doba expozice delší, tím obtížněji a zdlouhavěji se rostlina navrácí do původního stavu (Bláha et al. 2003). Při teplotách pod 0 °C dochází k poškození rostlin mrazem, a to nepřímo, mechanicky tvorbou ledu v buňkách nebo mrazovou dehydratací buněk. Přímo dojde k utlumení metabolismu a veškerých fyziologických procesů. K tvorbě ledu může docházet ve všech strukturách bohatých na vodu (Procházka et al. 1998; Bláha et al. 2003; Taiz & Zeiger 2006).

Při aklimatizaci na nízké teploty dochází k hromadění osmoticky aktivních látek, k tvorbě stresových chladových proteinů (cold-induced proteins) a ke změně chemického složení lipidové vrstvy membrán. Zesílená odolnost se pojí i s některými fytohormony, především zvýšeným obsahem kyseliny abscisové (ABA) (Procházka et al. 1998). Proces, při kterém dochází k postupné zvyšování odolnosti vůči chladu a mrazu je otužování (Bláha et al. 2003). Mrazuvzdornost (odolnost rostlin vůči mrazu) pak nazýváme, když rostlina umí zabraňovat tvorbě ledových krystalů v symplastu a zároveň tolerovat dehydrataci způsobenou zmrznutím vody v apoplastu (Procházka et al. 1998).

Podle letální teploty LT50 (teploty, při které zahyne 50 % sledovaných rostlin) dělíme rostliny do 3 skupin. První skupina obsahuje rostliny citlivé na chlad, které jsou poškozovány i teplotami nad bodem mrazu (řasy teplých oceánů a některé druhy tropických bylin a dřevin). V druhé skupině jsou rostliny citlivé na mráz, u kterých se projevu snášenlivost nízkých teplot pouze do doby, dokud se nezačne v buňkách tvořit led (bentické řasy a některé sladkovodní řasy, tropické a subtropické dřeviny a rozličné druhy rostlin teplejších oblastí mírného pásu). Do poslední skupiny řadíme rostliny, které snášejí mráz a přežijí extracelulární zamrzání, spojené s odčerpáním vody z buněk (řasy, lišejníky, vytrvalé suchozemské rostliny oblastí s chladnými zimami) (Larcher 1988; Bláha et al. 2003).

Vysoká teplota

Dle Bláhy a kol. (2003) má vysoká teplota jako stresor vliv na aktivitu enzymů, obsah a složení proteinů, stavbu a aktivitu thylakoidních membrán v protoplastech i na celou řadu dalších životně důležitých funkcí. Když teplota vystoupá nad 40 °C dochází u rostlin k zásadním změnám ve fyzikálních a chemických vlastnostech jejich buněčných membrán i bílkovin. V teplotním intervalu 50 – 55 °C nastávají již při krátkodobém působení u většiny druhů nevratná poškození postihnutého orgánu a jeho následnému odumření (Procházka et al. 1998). Výjimkou jsou akorát některé vytrvalé druhy z teplých pouští a polopouští, a to zejména sukulenty. K přehřátí projevují vyšší odolnost rostliny ve stavu dormance (např. semena). Ta jsou někdy odolná až tak, že při krátkodobém působení přežijí bez poškození i teploty 120

°C. Některé druhy rostlin potřebují ke stimulaci klíčení svých semen vysoké teploty v podobě požárů (Procházka et al. 1998; Bláha et al. 2003).

Již do hodiny od začátku působení stresoru se na něj u rostliny projeví aklimatizace. Nejvýrazněji se projeví tvorba bílkovin teplotního stresu, které jsou zásadní pro termostabilitu buněk. Jde o stresové proteiny – HSP (heat-shock proteins), které jsou z cytosolu transportovány do mitochondrií a chloroplastů (Procházka et al. 1998; Bláha et al. 2003). Vysoké teplota ústí k uzavírání průduchů, kterými rostlina usměrňuje výdej vody v podobě vodních par (transpiraci). Před přehřátím se rostlina brání redukcí tepla odrazem záření nebo ochlazováním v průběhu transpirace. Některé rostliny skládají listové čepele k sobě, jiné ohýbají listy a některé jsou schopné stáčet listy tak, aby na ně dopadalo co nejméně slunečního záření (Bláha et al. 2003).

3.5.1.2 Vysoká a nízká ozáření

Pro rostliny je sluneční záření a jeho spektrální složení zdrojem tepelné energie a energie potřebné k fotosyntéze. Stres, který vyvolává sluneční záření lze rozdělit do dvou skupin. První skupina zahrnuje extrémní hodnoty intenzity slunečního záření pro určitou rostlinu. Druhá skupina je pak ultrafialové záření (UV), které má vlnovou délku od 280 do 320 nm. Dle snášenlivosti rostlin k intenzitě světla je lze rozdělit na dvě skupiny. První skupina jsou stínomilné rostliny (sciofyta), které jsou adaptované na nižší hodnotu intenzity světla. K tomu jsou uzpůsobeny větším množstvím chlorofylu, horizontálním rozmístěním chloroplastů, vyšším obsahem vody a větším povrchem listů. Druhá skupina zahrnuje světlomilné rostliny (heliophyta), kterým vyhovuje vyšší intenzivní osvětlení. U takovýchto rostlin se nachází vertikální umístění chloroplastů, které mají více škrobových zrn. Listy mají silnější epidermis, vyšší palisádové buňky, silnější vrstvu mezofilních buněk, silnější buněčnou stěnu a nalézá se na nich více trichomů (Larcher 1988; Bláha et al. 2003).

Rostliny se před devastujícími účinky přebytečné zářivé energie chrání biochemickými a biologickými způsoby ochrany. Mezi biochemické způsoby patří k tomuto účelu specializované enzymy a enzymové systémy. Biologické způsoby ochrany zahrnují stáčení celých listů rovnoběžně se směrem světelných paprsků, povrch s vysokou odrazivostí (lesklost listů), pokrytí listů hustou vrstvou stříbřitých chloupků a povrch málo propustný k záření nebo umístění chloroplastů hranou k záření (Bláha et al. 2003).

3.5.1.3 Sucho

Voda ovlivňuje semena ve všech fázích života. Je podstatná při formování a zrání semen, při bobtnání, klíčení a ovlivňuje je i při skladování a ve stavu dormance. Za sucha neumožňuje nedostatek vody semenu vyklíčit, naopak při nadměrné vlhkosti půdy dochází k poškození klíčících semen vodou související i s nedostatkem kyslíku (anoxie) (Houba & Hosnedl 2002). Příčinou vodního stresu, který je nejvíce limitující stresor pro rostlinu, jsou nejčastěji klimatické poměry a průběh počasí. Příjem vody je závislý i na obsahu živin v půdě, na zasolení a na půdní reakci (Bláha et al. 2003). K deficitu vody v rostlinných tkáních dochází za sucha, při nízkých teplotách, při vysokých teplotách, zasolení nebo při povodních. Při některých podmínkách prostředí je dehydratace první reakcí rostliny (Aroca et al. 2012). Stres z nedostatku vody je nejdůležitější abiotický faktor, který omezuje růst rostliny, její produktivitu

a snižuje aktivitu všech jejích enzymů. Způsobuje změnu metabolických procesů, zavírání průduchů, zpomalení dlouhivého růstu buněk, zastavení růstu, vadnutí. Silný a dlouho trvající deficit vody způsobuje vážné poškození membrán, organel a může mít za následek i úhyn rostliny (Procházka et al. 1998). Nežádoucí účinky tohoto stresoru na klíčící semena se zvyšují s rostoucí teplotou (Benech-Arnold & Sánchez 2004).

V důsledku sucha dochází ke snížení transpirace a poklesu příjmu kořenové vody. Příjem vody z kořenové zóny je ovlivněn půdou, vzduchovými mezerami mezi kořeny a kořenovým systémem. Rostliny, které mají hlubší kořenový systém, jsou obvykle k suchu snášenlivější než ty s mělkými kořeny. Důležitým indikátorem změn vodního potenciálu buňky je turgor. Turgor je podstatný při růstu a prodlužování buněk, otevírání průduchů, pohybu listů a květních obalů. Při klesající turgiditě dochází nejdříve k inhibici prodlužování listů a poté k poklesu fotosyntézy (Bláha et al. 2003). Rozlišujeme nedostatek vody (sucho) a závažný nedostatek vody (vysoušení). Při krátkodobějším a méně intenzivním suchu může po doplnění chybějící vody dojít k v navrácení buněčných funkcí do původního stavu. Rostliny vyvinuly řadu anatomických, vývojových, biochemických, fyziologických a molekulárních adaptací k omezení vysychání vegetativních tkání (Jenks & Hasegawa 2005). Při vysychání se v rostlině udržuje minimální metabolická aktivita, minimalizují se vakuoly a obsah škrobu, zvyšuje se množství mitochondrií a tvoří se pochvy kolem organel (Procházka et al. 1998).

Vodní deficit má za následek redukci listové plochy, inhibici tvorby kořenového systému, redukci počtu květenství a může dojít i k zvýšenému opadu plodů. Semena mají menší velikost, sníženou hmotnost, méně zásobních látek a nižší klíčivost. Nastává zvýšená degradace chlorofylu a snižuje se i jeho koncentrace. Omezen je transport látek, dochází k akumulaci sušiny, hromadění energeticky bohatých látek a látek toxických (Bláha et al. 2003). Ovlivněna je funkce enzymů, snižená rychlost fotosyntézy, zvýšená respirace, zvýšená koncentrace osmoticky účinných metabolitů a zpomaleny jsou transportní procesy v buňkách. Nedostatek vody má za následek i snížení syntézy proteinů, cytokininů a zpomalení buněčného dělení (Procházka et al. 1998). Mnoho rostlin produkuje specializované struktury schopné odolávat silnému stresu (např. pyl, semena a spóry) (Jenks & Hasegawa 2005).

Suchovzdorné rostliny (xerofyty) mají obvykle vyšší toleranci ke ztrátám vody než mezofyty. Tato tolerance je způsobená sníženou ztrátou vody, čehož je dosahováno sukulentním charakterem, sinou kutikulou, trichomy a zapuštěnými průduchy pod úroveň listového povrchu. Další účinnou adaptací k omezení ztrát vody jsou fixační cesty typu C₄ a CAM (Procházka et al. 1998). To je patrné třeba u čeledi tlusticovitých (*Crassulaceae*), která se hojně vyskytuje v aridních oblastech. Tyto rostliny pro účinné snížení transpirace mají v období sucha po celý den zavřené průduchy a otevírají je jen v noci. Existují i druhy rostlin, které nepříznivé období sucha překonávají pomocí orgánů chráněných proti vysušení nebo díky semenům odolných vůči vysušení. Vodou zásobené podzemní orgány, které jsou proti suchu chráněné půdou, mají geofyty. Patří mezi ně například ocún jesenní, rdesno hadí kořen, přeslička, sasanka hajní a suchopýr úzkolistý. Období sucha ve formě vysušení odolných semen přečkávají pluvioterofyty. Jde například o rozrazil rolní, rozrazil břechťanolistý, osívku jarní a peníze prorostlý (Bláha et al. 2003).

Organismy citlivé k vysušení se nazývají homoiohydrikové. Jde například o planktonní řasy, makrofytní mořské řasy, některé mechorosty. Téměř úplné vyschnutí snášejí poikilohydrikové organismy, jako jsou bakterie, sinice, nižší rostliny (lišejníky, některé mechy a

kaprad'orosty), mycelia některých hub a semena vyšších rostlin. Toleranci k vysušení mají i některé druhy krytosemenných rostlin. Patří mezi ně pár zástupců z čeledí lipnicovitých (*Poaceae*), šachorovitých (*Cyperaceae*) a krtičníkovitých (*Scrophulariaceae*) (Bláha et al. 2003). Důležité bývá, zda vodní stres nastal v průběhu vegetace, nebo zda rostlina již v relativním suchu vyrůstala. Pokus nedostatek vody nastal až v průběhu vegetace, jeho vliv na metabolismus bude větší. Rostliny, které rostou v suchu už od počátku své vegetace, se na něj zvládli adaptovat. Mají hlouběji zakořeněný kořenový systém, menší listovou plochu, silnější kutikulu a méně průduchů (Bláha et al. 2003).

3.5.1.4 Oxidativní stres

Koncentrace kyslíku obsažená ve vzdušném prostředí obklopující nadzemní části rostliny se mění jen nepatrně. Jinak je tomu ale u rizosféry podzemních orgánů, kde je kyslík nepřetržitě odebírán respiračními procesy kořenů a respirační půdní mikroflóry. Koncentrace kyslíku je v plynné fázi půdního systému proto trvale nižší než ve volné atmosféře. Nedostatkem kyslíku (anoxií) trpí především kořeny v půdách nadměrně zvlhčených až zaplavených vodou nebo v utužených těžkých jílových půdách (Procházka et al. 1998). Anoxie znamená omezený nebo nedostatečný přístup kyslíku, ke kterému nejčastěji dochází u semen při klíčení nebo u rostlin během vegetace. Nedostatek kyslíku může nastávat při laboratorních pokusech, pokud dojde k přemokření lůžka, nebo v přírodě u zamokřeného pozemku a za půdního škraloupu. Podle reakce na případný snížený kyslík rozlišujeme semena citlivá a méně citlivá k anoxii. U méně citlivých semen nastává inhibice klíčení, pokud kyslík v půdní atmosféře poklesne pod 1 – 3 %. K ovlivnění citlivých semen stačí snížení kyslíku na 9 – 10 % (Houba & Hosnedl 2002). K anoxii dochází nejčastěji vytěsněním kyslíku z půdních kapilár vodou. Dochází k tomu nejen při dlouhodobém působení vody (období záplav), ale i při krátkodobém podmáčení (oblevy, dlouhotrvající deště) (Bláha et al. 2003). Povodeň způsobuje inhibice aerobního dýchání rostliny, sníženou transpiraci listů a někdy může mít za následek dehydrataci listů a následné způsobení vážného stresu (Aroca et al. 2012). Požadavky rostliny na kyslík se zvyšují s rostoucí teplotou půdy, nebo pokud je současně pod světelným či vodním stresem (Benech-Arnold & Sánchez 2004). Nedostatek kyslíku přímo negativně působí na fyziologické procesy rostlin, ale má za následek i celou řadu změn v chemismu půdy, které opět, ale již nepřímou, působí na rostlinu (Procházka et al. 1998).

Aklimatizační reakce na sníženou koncentraci kyslíku jsou komplexního charakteru a dochází při nich ke změnám koncentrace fytohormonů i k syntéze stresových proteinů (Procházka et al. 1998). Přežije-li rostlina stres, tak dojde k výrazným změnám v habitu kořene (nové kořeny jsou ztloustlé a málo větvené) z důsledku obranných reakcí. Vyskytují se rostliny, které díky svým adaptačním schopnostem nevádí růst v hypoxickém prostředí. Jde především o mokřadní rostliny a rostliny z lužních lesů: puškvorec obecný, sítiny, tisovec dvouřadý a dřeviny mangrovových porostů, které si vytvořily dýchací kořeny (Bláha et al. 2003). Na trvale zamokřených, či zaplavených půdách se velmi daří rýži a rákosu (Procházka et al. 1998).

3.5.1.5 Zasolení

Salinita půdy je jedním z nejdůležitějších faktorů omezující světovou zemědělskou produkci. Negativní účinek slanosti je nejintenzivnější v suchých a polosuchých klimatických

oblastech a v půdách používaných pro intenzivní zemědělství. Množství soli se zvyšuje v důsledku zavlažování, neboť se využívá voda, která sama již obsahuje vysoké množství solí (Aroca et al. 2012). Stresor zasolení půd je v přirozených podmínkách ojedinělý. Koncentrace solí v půdě se v průběhu roku mění v závislosti na srážkách a teplotě. Slané půdy (půdy s vysokým obsahem solí) vznikají v důsledku klimatických nebo půdních podmínek. U nás se můžeme s přirozeně slanými půdami setkat v oblastech s minerálními prameny (Bláha et al. 2003). Jinak se zasolené půdy vyskytují především v blízkosti moří, přímořských močálech (marších), ale mohou se nacházet i ve vnitrozemí. Týká se to především vnitrozemních oblastí pouští a polopouští na všech kontinentech, kde potenciální výpar převažuje nad srážkami. Může jít o slané půdy jak ve vlhkých (humidních), tak suchých (aridních) klimatických podmínkách. K zasolení dochází buď záplavami mořskou vodou a jejím prosakováním do půdy, nebo při kontaktu půdy s tekoucí vodou, která se dostala do styku s ložisky solí. Zvýšený obsah solí může nastat i dlouhodobými závlahami, posypem silnic solí v zimním období nebo přehnojováním (Larcher 1988).

Pokud rostlina roste na zasolených půdách, musí čelit problémům komplexní povahy. Vysoký obsah solí v půdě (ionty Na^+ , Cl^- , SO_4^{2-} , Mg^{2+}) zhoršuje fyzikální vlastnosti půdy, na rostlinu působí toxicky a vyvolává u ní vodní stres (nízký vodní potenciál). To nepříznivě ovlivňuje vývoj a růst rostliny. Rostliny, které nejsou k tomuto stresoru adaptované, začnou tyto ionty hromadit. Jejich vysoká koncentrace zhoršuje funkci enzymů, dochází k poruchám asimilace dusíku, zastavuje se růst, snižuje se biomasu a vede nakonec i k zahynutí rostliny (Procházka et al. 1998). Reakcí a základní obranou na tento stresor je zvýšení osmotického tlaku v buňkách kořenů (osmoregulace) a tvorba stresových proteinů (Bláha et al. 2003). Příjem kořenové vody obvykle po působení zasolení klesá. Toto snížení může být způsobeno osmotickými i toxickými účinky v závislosti na přítomné koncentraci solí (Aroca et al. 2012).

U rostlin ovlivněných zasolenou půdou dochází k narušování nadzemních částí rostlin a k poškozování méně vyvinutého kořenového systému. Při tom nastává nekróza, která může způsobit zhynutí dané části kořene. Zasaženým dřevinám zasolením raší opožděně pupeny a tvoří se jim zakrnělé letorosty. Listy jsou malé, žloutnou a nakonec usychají. Na okraji listů, ve vzrostlých vrcholech a v pupenech dochází k odumírání skupin buněk a ke vzniku nekroz. Odolnost rostliny k zasolení půdy souvisí i s její růstovou fází. Semenáčky a mladé rostliny jsou citlivější než dospělí vzrostlí jedinci (Bláha et al. 2003).

Vysokou koncentraci solí v půdě snášejí halofytní rostliny bez poškození. Ty jsou k zasolení adaptovány kontrolováním příjmu solí vysokou selektivitou plasmalemy pro transport iontů do buněk kořenů. Jinou možností adaptace je hromadění solí v listech, kde se ukládá do vakuol a apoplastu. Na povrch listů je pak vylučována pouze část solí (Procházka et al. 1998). Obligátně halofytní rostliny vysokou koncentraci solí dokonce pro svůj růst a vývoj vyžadují. Jde například o dřeviny mangrovových porostů nebo zblochanec oddálený. Opakem jsou halofóbní rostliny, které vyšší koncentrace solí v půdě nesnášejí. Do této rozsáhlé skupiny zařazujeme listnaté dřeviny mírného pásu i rostliny z čeledi bobovitých (*Fabaceae*) a vřesovcovitých (*Ericaceae*). Ze zemědělských plodin sem pak patří například mrkev a květák (Bláha et al. 2003).

3.5.1.6 Půdní reakce

Půdní reakce (kyselost půdy) jsou podmíněny složením půdy v závislosti na matečné hornině, dále jsou ovlivňovány vnějšími přirozenými faktory a činností člověka. K vyjádření kyselosti či zásaditosti půdního prostředí se používá symbol pH, vyjadřující koncentraci vodíkových iontů záporným exponentem. Podle pH pak rozdělujeme půdy na kyselé ($\text{pH} < 7$), neutrální ($\text{pH} = 7$) a zásadité ($\text{pH} > 7$). Hodnota pH je dynamicky měnící a je ovlivňována střídáním ročních období, množstvím srážek a teplotou dané oblasti (Bláha et al. 2003). Výrazně kyselé půdní reakce (pH kolem 3) najdeme u půd vrchovištních rašelin. Mírně kyselé až neutrální pH se nachází u půd v humidních oblastech. Zásadité jsou pak u slaných a alkalických půd aridních oblastí (Larcher 1988). Nadměrná kyselost půd je způsobena vstupem vodíkových iontů z kyselých dešťů nebo nevhodným způsobem obhospodařování (nadbytečným používáním dusíkatých hnojiv, nedostatečné vápnění, víceleté pěstování monokultur stejných plodin, nepoužívání strniskových meziplodin, sklizeň a odvoz veškeré biomasy) (Procházka et al. 1998; Bláha et al. 2003).

Pokud je pH menší než 3 a větší než 9, dochází k vážnému poškození protoplazmy v kořenových buňkách u většiny cévnatých rostlin (Larcher 1988). Při pH 3 a méně dochází k přímému poškození rostliny vysokou koncentrací vodíkových iontů. Významnější a více škodlivé může být nepřímé působení některých sloučenin, kterým se s nižším pH zvyšuje rozpustnost. Do půdního roztoku se pak začnou uvolňovat ionty hliníku (Al^{3+}), které jsou při vyšší koncentraci vysoce toxické. Uvolňují se i ionty dvojmocného železa (Fe^{2+}) a dvojmocného manganu (Mn^{2+}), které v nadbytku působí nepříznivě až toxicky. Vodíkové ionty, které jsou ve vysoké koncentraci, ze sorpčních vazeb půdních koloidů vytěsňují biogenní kationty (K^+ , Ca^{2+} a Mg^{2+}). Ve výsledku může dojít k jejich vyplavení z půdy, po kterém rostlina začne trpět jejich nedostatkem. Nedostatečná je i dostupnost fosforu kvůli vazbám na volné ionty hliníku a železa tvořící nerozpustné sloučeniny. Citlivé na pokles pH jsou i nitrifikační bakterie, které mají za následek snížení dostupného nitrátového dusíku (Procházka et al. 1998). Při poklesu pH dojde k omezení základních metabolických procesů rostliny. Dojde ke snížení tvorby chloroplastů a k uzavírání průduchů s následným snížením rychlosti fotosyntézy a transpirace. Kvůli omezené fotosyntéze dochází k omezení růstu nadzemní biomasy a snížení výše i kvality výnosu. Semena z takto stresovaných rostlin mají zhoršenou životaschopnost, jsou menší, obsahují méně energeticky bohatých látek a v zásobních látkách mají jiný poměr bílkovin a cukrů. U kořeny rostlin, na které působilo nízké pH , dochází k morfologickým změnám v podobě omezené kořenové délky a tvorby kořenového vlášení (Bláha et al. 2003).

Rostliny rostoucí na kyselých půdách nejsou adaptovány na samostatnou kyselost, ale zejména na nepříznivé vlivy nízkého pH . Hlavní je tolerance k vysokým koncentracím hliníku, manganu a železa (Procházka et al. 1998). Zemědělsky využívané rostliny jsou k pH půdy různě snášenlivé. K nízkému pH je hrách rezistentní, ale kukuřice velmi citlivá. Podle stupně tolerance k půdní reakci proto rostliny rozdělujeme do 3 základních skupin. První skupina, acidofyty (acidofilní rostliny), nejlépe roste při pH do 6,7. Patří sem rašeliník, rosnatka okrouhlostá, bika hajní a košťava ovčí. Druhá skupina je v našich podmínkách nejrozšířenější. Jde o neutrofyty (neutrofilní rostliny), kterým vyhovuje pH kolem 7,0. Prostředí s pH od 7,2 nejvíce vyhovuje rostlinám poslední skupiny, takzvaným alkalofytům čili bazifytům

(alkalofilním nebo bazifilním rostlinám). Mezi ně řadíme ostřici nízkou, třemdavu bílou, bělozářku liliovitou a podběl lékařský (Bláha et al. 2003).

3.5.1.7 Nedostatek živin

Živiny dostupné pro rostliny jsou obsažené v půdě buď v roztoku, nebo vázané na půdní koloidy. Pro rostlinu a její minerální výživu je podstatných 16 biogenních (esenciálních) prvků. Ty dělíme na makrobiogenní (makroelementy), mikrobiogenní (mikroelementy) a ultramikroelementy. Mezi makroelementy patří N, K, P, Ca, Mg a S. Do mikroelementů řadíme Cl, B, Fe, Mn, Zn, Cu a Mo. Pro některé druhy rostlin jsou nezbytné i další prvky (ultramikroelementy) jako jsou například Na, Si a Ni. Nadměrný přísun živin způsobuje podobné důsledky jako zasolení (Larcher 1988; Bláha et al. 2003). Nepříznivě působí jak nedostatečná výživa, tak v některých případech i nadbytek určitých živin (dusík). Živiny ovlivňují délku období a vyrovnanost zrání, tvorbu výnosu, množství semen na rostlině a jejich vitalitu, předsklizňové porůstání semen, kvalitu semen, velikost semen a jejich chemické složení (Houba & Hosnedl 2002).

Nepřítomnost prvků v půdě a v okolní atmosféře má za následek jejich nepřítomnost v rostlině. Při nedostatku minerálních živin v půdě se u rostliny projeví snížená rychlost růstu a někdy i porucha vývoje. Chudé půdy způsobují účinné využití živin v produkci sušiny a horší kvalitu biomasy, která se i pomalu rozkládá. Omezený příjem živin bývá způsoben nedostatkem vody v půdě. Některé prvky mohou být přijímány i listy (mimokořenově). Kvantitativně se ale zastoupení jednotlivých prvků v půdě a v rostlině může lišit. Platí však, že když zvýšíme obsah živin v půdě, tak se zvýšení projeví i v obsahu rostliny (podstata hnojení). I geneticky je ovlivněn u některých druhů rostlin obsah některých prvků (luskoviny obsahují více vápníku než trávy) (Procházka et al. 1998).

3.5.1.8 Xenobiotika

Rostliny rostou v plynných, kapalných a pevných složkách prostředí, které jsou pestrou směsí desítek chemických sloučenin, z nichž některé mají výrazně inhibiční až toxické účinky. Nazýváme je xenobiotiky (látky organismu cizí). Mezi nejškodlivější plynná xenobiotika patří oxid siřičitý (SO_2) a ozon. Nejproblémovější látky zamořující půdu jsou ionty toxických kovů a různé aromatické organické látky. Jde o sloučeniny, které se v přírodě nikdy dříve nevyskytovaly a pro rostlinu bývají nepříznivé. S těmito látkami se rostlina dostává do kontaktu půdou nebo vzduchem průmyslovou a zemědělskou činností člověka (spalováním fosilních hnojiv, používáním umělých hnojiv a pesticidů) (Procházka et al. 1998). Do ovzduší se mohou dostávat i z přirozených zdrojů, jako jsou přirozené požáry lesů, savan, vulkanická činnost sopek a samotný únik plynů z rašelinišť (Bláha et al. 2003).

Oxid siřičitý

Koncentrace oxidu siřičitého (SO_2) v atmosféře je značná kvůli spalování uhlí s vysokým obsahem síry. Do rostliny se dostává přes otevřené průduchy listů. Po proniknutí buněčnou stěnou se mění na siřičitanové anionty, které vnikají do chloroplastů. Zde při vyšší koncentraci způsobí inhibování průběhu sekundárních procesů fotosyntézy. Odolnost k SO_2 je mezi různými druhy rostlin rozdílná. Nejvíce poškozovány bývají druhy s dlouhotrvajícími listy, a

to zejména jehličnaté stromy. Náchylné jsou i některé stélkaté rostliny s růstovou aktivitou v zimním období, neboť v zimě bývá koncentrace SO₂ nejvyšší (Procházka et al. 1998).

Ozon

Vznik ozonu je způsoben fotolýzou oxidů dusíku (NO a NO₂) a některých plynných organických sloučenin (uhlovodíků), které jsou rozkládány účinkem ultrafialového záření. Vyšší koncentrace, která má denní a sezonní výkyvy, se nachází v horních vrstvách znečištěného ovzduší. Ozon je nebezpečný především pro rostliny horských oblastí. U listů stresovaných rostlin se objevují drobné světlé skvrny, poté listy žloutnou a nakonec odumírají. Ozon vstupuje přes průduchy do listů, kde se v kontaktu s vlhkými buněčnými stěnami v intercelulárách rozkládá. Přes plazmatickou membránu proniká obtížně. Při rozkladu ozonu dochází ke vzniku kyslíku a tvoří se i vysoce reaktivní meziprodukty. Částečně je zneškodní buněčná stěna přeměnou na peroxid vodíku, některé ale proniknou do buňky, kde budou inaktivovány. Ozon indukuje tvorbu látek, které jsou součástí obranných mechanismů rostliny. Podporuje syntézu stresových proteinů a enzymů. Pokud je ozon ve vyšší koncentraci, tak způsobuje poškození různých buněčných součástí (plazmalem, vnitřních membránových systémů buněk a organel) (Procházka et al. 1998).

Toxické kovy

Půdy mohou být kontaminované toxickými nebiogenními kovovými prvky. Jedná se především o olovo (Pb), kadmium (Cd) a zinek (Zn) (Procházka et al. 1998). Další ionty těžkých kovů, které jsou problémové a objevují se v půdách na matečních horninách nebo rudných výsypkách jsou nikl (Ni), kobalt (Co), chrom (Cr), měď (Cu), mangan (Mn), hořčík (Mg) a selen (Se) (Larcher 1988). Jedovaté látky se mohou přirozenou cestou do půdy dostat pouze vulkanickou činností, jinak jde většinou o lidskou činnost (Bláha et al. 2003). Toxické kovy se do půdy dostávají usazováním prachu z průmyslových procesů, z výfukových plynů, z kontaminovaných odpadních vod a z hnojiv. Rostliny ionty těchto kovů přijímají kořeny. V rostlině pak dojde k inaktivaci některých enzymů a redoxních systémů, ke zpomalení dělení a dlouhivému růstu buněk, a to především u primárního kořene. Větší množství toxických iontů těžkých kovů se hromadí v kořenech, menší část pak i v nadzemních částech, kde negativně ovlivňují fyziologické procesy v listech (Procházka et al. 1998). Přítomnost těchto látek zapříčiňuje narušení otevírání průduchů, zhoršení dýchání, oslabení růstu a snížení fotosyntézy v důsledku poškození chloroplastů (Bláha et al. 2003).

3.5.2 Biotické faktory

Bláha a kol. (2003) definují biotický stres jako stav rostliny vyvolaný nepříznivým působením jiných živých organismů včetně člověka. Biogenní stresové faktory zahrnují relevantní negativní vlivy jiných rostlin, živočichů a mikroorganismů na danou rostlinu. Rozdělujeme je do tří skupin: na herbivorní organismy, patogenní mikroorganismy (viry, bakterie, mikroby, houby) a na vzájemné ovlivňování, takzvanou alelopatii (Obrázek 4). Za největšího biotického stresora lze označit člověka (Procházka et al. 1998).

3.5.2.1 Herbivorní organismy

Herbivorní organismy poškozují rostlinné orgány, a proto patří mezi zásadní biotické stresory rostlin. Herbivory rozdělujeme na selektivní a neselektivní. Selektivní herbivoři si vybírají rostlinné druhy, pouze nějaké části rostliny nebo určitou její vývojovou etapu. Neselektivní herbivoři si rostliny nevybírají a poškozují je celé. Většina herbivorů při žíru upřednostňuje růstově aktivní části, jako je meristém a semena (Bláha et al. 2003). Rostlinné orgány může poškozovat mnoho druhů živočichů. Mezi ně patří především fytofágní hmyz a býložravci. Proti spásání a okusu mohou být rostliny chráněny morfologickými nebo morfogenetickými adaptacemi. Účinné jsou obrany mechanické i chemické. K omezení herbivorie slouží rostlinám ostré trny, výrůstky, trichomy, kutikula nebo vysoký obsah tuhých sklerenchymatických pletiv. Výhodná je i rychlá regenerace poškozených orgánů a biochemické adaptace (Procházka et al. 1998). Obranné struktury a přizpůsobené orgány můžeme najít například u cesmíny, mučenky a máku (Bláha et al. 2003). Látky sekundárních metabolitů mohou proti herbivorům působit odpudivě až toxicky. Dělíme je na chemicky jednoduché (kyselina štavelová, kyanid) a látky chemicky složitější (glykosidy, alkaloidy). Takovéto látky se v rostlinách nevytvářejí ve stejném množství, a proto je dělíme na látky kvalitativně významné (vyskytují se jen v malých koncentracích) a kvantitativně významné (vyskytují se ve větším množství). Mezi kvalitativně významné metabolity, které jsou pro živočichy velmi toxické, řadíme alkaloidy, glykosidy a glukosinoláty. Kvantitativně významné látky způsobují špatnou stravitelnost, nechutnost až nízkou toxicitu. Patří mezi ně taniny, lignin a fenolické látky (Procházka et al. 1998; Bláha et al. 2003).

3.5.2.2 Patogenní mikroorganismy

Stres a onemocnění u rostlin může vyvolat řada patogenních mikroorganismů, jako jsou viry, bakterie, prvoci a houby, či jiné parazitické organismy. Rostlina se snaží zabraňovat napadnutí buněčnou stěnou zpevněnou ligninem, silnějším epidermisem nebo pokožkou s korkovou vrstvou. Napadání, infikování a osídlení hostitelských rostlin je způsobováno řadou různorodých mechanismů. Může jít o napadání pasivní i aktivní taktikou. Viry na rostlinách způsobují nekrózy a morfózy hyperplastického a hypoplastického charakteru. Bakterie škodí enzymatickou činností a toxiny. Houby pomocí svých haustorií zase zapříčiňují vznik nekrot, hypertrofie a hyperplazie (Bláha et al. 2003). K napadení a infekci těmito patogenními organismy může dojít prostřednictvím přirozených nebo umělých otvorů v rostlinném těle (stromaty, lenticelami, ránami). Nemoc se mnohdy z místa infekce šíří do celého orgánu a nakonec zasáhne celou rostlinu. Proti onemocnění se rostlina může bránit fyzikálními bariérami nebo chemickými obrannými látkami, jako jsou specifické stresové proteiny a sloučeniny s antibiotickým účinkem. Mezi ně patří lignin, flavonoidy, terpenoidy, fenologické látky a alkalidy. Starterem všech obranných reakcí v rostlině bývá specifický metabolit (elicitor), po kterém následuje rychle se zvyšující tvorba etylenu. Elicitor se uvolňuje při počáteční interakci buňky s patogenem. Další možnou obrannou reakcí je tvorba nekrot, které způsobí rychlý zánik jak vlastních buněk, tak buněk patogena. Tato hypersenzitivní reakce pomocí lokalizované nekrot účinně zastaví pronikání a další šíření infekce (Procházka et al. 1998).

3.5.2.3 Alelopatie

Alelopatie, též amenzalismus nebo antibióza je antagonistický vztah dvou rostlinných druhů, při kterém dojde k omezení růstu nebo rozmnožování jedné z rostlin vylučovanými látkami (inhibitory, antibiotiky nebo fytocidy) té druhé. Omezení růstu má za následek snížený přístup k zářivé energii, k vodě a živinám, což může končit vytěsněním a smrtí (Bláha et al. 2003). Toto vzájemné působení rostlin je v přírodních podmínkách významnou příčinou biotického stresoru rostliny. Jedná se o inhibiční nebo toxické ovlivňování rostliny sekundárními metabolity jiné rostliny. Metabolické látky jsou přeneseny v dostatečné koncentraci ze zdrojové rostliny (producent účinné látky), která je vyloučila na rostlinu cílovou (příjemce účinné látky). Důsledky tohoto stresoru jsou inhibice membránových funkcí, omezení příjmu iontů minerálních živin, inhibice dělivého a dlouživého růstu buněk, narušení klíčení. Primární i sekundární látky mohou být vylučovány rostlinnými orgány (listy, kořeny) nebo mohou být uvolňovány z rozkládajících se zbytků rostliny. Jedná se například o látky těkavé (terpeny), látky fenologicky vylučované kořeny nebo smývané z povrchu listů, které následně působí v půdě (Procházka et al. 1998). Významnými látkami působícími při alelopatii jsou kyselina fenylactová, kyselina benzoová, juglon, flavonoidy, taniny, etylén, alkaloidy, glykosidy a deriváty kumarinu. Mezi rostliny s alelopatickými vlastnostmi patří ořešák královský, trnovník akát, česnek medvědí, kopřiva dvoudomá, pelyněk černobýl a bažanka vytrvalá (Procházka et al. 1998; Bláha et al. 2003).

4 Metodika

Experimentální část bakalářské práce probíhala na katedře botaniky a fyziologie rostlin Fakulty agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů České zemědělské univerzity v Praze. Cílem experimentu bylo sledovat a vyhodnotit působení abiotických stresů vodního deficitu a zasolení na klíčení semen hrachu setého. Dále bylo cílem zjistit, zda omeprazol pozitivně ovlivní klíčení semen, která byla vystavená abiotickému stresu. Hrách setý (*Pisum sativum*) klíčí hypogeickým typem klíčení, a proto se u klíčících semen popisovala nadzemní část (hypokotyl) a kořen (*radikula*). Za klíčivého jedince bylo považováno semeno s primárním kořenem o minimální délce 2 mm. Průběh klíčení semen byl hodnocen v jednodenních intervalech. První měření proběhlo 24 hodin od založení pokusu a další měření a případná vážnění následovaly vždy s 24hodinovým rozestupem.

První část experimentu se prováděla u semen namáčeným přes noc pouze v destilované vodě a klíčících pod vlivem abiotických stresů. Pracovalo se se 6 variantami (50 mM NaCl; 100 mM NaCl; 150 mM NaCl; 15 mM PEG; 30 mM PEG; 45 mM PEG). Z této části jsme mohli očekávat zjištění, jak koncentrace stresující látky ovlivní klíčení. Zda bude mít nějaký vliv, nastane změna rychlosti klíčení, délka kořínku nebo nadzemní části, či zda některá koncentrace stresoru bude fatální. Tato část trvala dohromady 6 dní (5 dní měření a vážení živých částí klíčícího semene + 1 den vážení sušiny).

V druhé části experimentu se pracovalo se semeny přes noc namočenými v omeprazolu nebo peroxidu vodíku. Součástí této části byla i varianta se semeny namáčenými přes noc v destilované vodě (H₂O) neovlivněnými žádným stresorem, sloužící ke kontrole a k porovnání hodnot. Semena namočená v peroxidu vodíku (H₂O₂) a neovlivněná stresory fungovala jako pozitivní kontrola. Dohromady se zde pracovalo se 6 variantami (H₂O; H₂O₂; OMP; 150 mM NaCl + H₂O₂; 30 mM PEG + H₂O₂; 150 mM NaCl + OMP; 30 mM PEG + OMP). Předpokládalo se, že by omeprazol a peroxid vodíku měli mít pozitivní vliv na klíčení semen vystaveným abiotickým stresům. Tato část trvala dohromady 7 dní (5 dní měření a vážení živých částí klíčícího semene + 2 den vážení sušiny).

4.1 Experiment

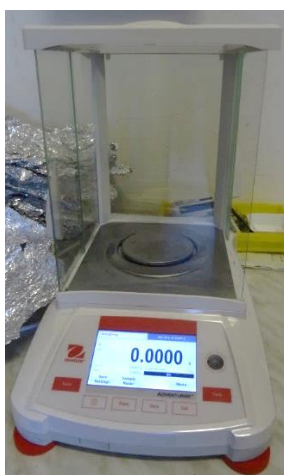
4.1.1 Materiály a pomůcky

Materiální rostlinou byl pro pokus zvolen hrách setý (*Pisum sativum*) v množství 20 semen na jednu Petriho misku. Klíčení probíhalo v optimálních podmínkách v klimatizovaném boxu za tmy, při konstantní teplotě 25 °C a vlhkosti 60 %.

Mezi pomůcky potřebné k tomuto experimentu patřily Petriho misky (o průměru 10 mm), filtrační papíry, parafilm velikosti M, rukavice, pinzeta, pipeta, kádinky, skalpel, metr, papírové pytlíčky a hliníkové misky k sušení. Za přístroje se používaly laboratorní váhy (váha Kern EW 150 – 3M a váha OHAUS AX 124), klimatizované komory Memmert a sušárna Venticell 707.



Obrázek 5: Laboratorní váhy Kern EW 150 – 3M (zdroj: autor práce).



Obrázek 6: Laboratorní váhy OHAUS AX 124 (zdroj: autor práce).



Obrázek 7 a Obrázek 8: Klimatizované komory Memmert (zdroj: autor práce).



Obrázek 9: Klíčící semena v Petriho miskách v klimatizované komoře (zdroj: autor práce).



Obrázek 10 a Obrázek 11: Sušárna Venticell 707 (zdroj: autor práce).

Roztok k variantě zasolení jsme používali chlorid sodný (NaCl) v koncentracích 50 mM, 100 mM a 150 mM. Pro stres z nedostatku vody byl zvolen polyethylenglykol (PEG 6000) v koncentracích 15 mM, 30 mM a 45 mM. V první části experimentu se pracovalo se všemi koncentracemi obou stresorů. V druhé části se využily jen koncentrace 150 mM NaCl a 30 mM PEG. Dále byla využita destilovaná voda (H₂O), omeprazol (OMP) a peroxid vodíku (H₂O₂).



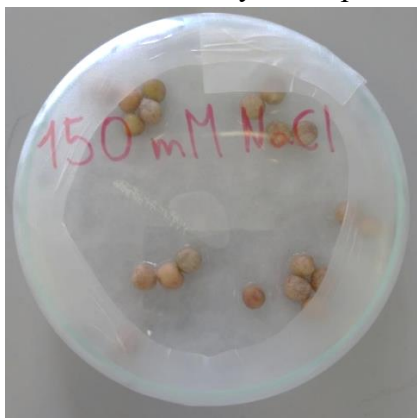
Obrázek 12: Přes noc naložená semena hrachu v omeprazolu, destilované vodě nebo v peroxidu vodíku (zdroj: autor práce).

4.1.2 Postup experimentu

Přes noc byla semena vystavená destilované vodě (H₂O), omeprazolu (OMP) nebo peroxidu vodíku (H₂O₂). Naložení v tekutině urychlilo klíčení, a tedy i celý experiment, neboť došlo k osmotickému přijmutí tekutiny do vakuol a následnému zvětšení objemu bobtnáním. Takto ošetřená semena se další den pinzetou vkládala vždy po 20 do Petriho misek, nejlépe tak aby se nedotýkala. Důvodem rozdělení 100 semen jedné varianty do 5 misek bylo předejití případného ohrožení celého experimentu plesnivěním nějaké misky. Semena klíčila v klimatizované komoře Memmert.

V první části experimentu, kde se pracovalo se semeny namáčenými v destilované vodě (H₂O), se semena vkládala do 30 misek (5 misek na každou variantu) vyložených filtračním papírem. Pro založení pokusu bylo potřeba 600 semen hrachu. Varianty byly 50 mM NaCl; 100 mM NaCl; 150 mM NaCl; 15 mM PEG; 30 mM PEG; 45 mM PEG. Podle varianty se do Petriho misek přidalo 10 ml příslušné látky a miska se pečlivě popsala. Poté se uzavřela a

přetáhla parafilmem pro omezení případného výparu a pro snazší manipulování. První den došlo k založení celého pokusu. Další dny se prováděla měření a vážení. Naměřené a navážené hodnoty se zapisovaly pro porovnání a následné výpočty. Kvůli nedostatečnému množství tekutin došlo čtvrtý den k přidání 5 ml daných roztoků.



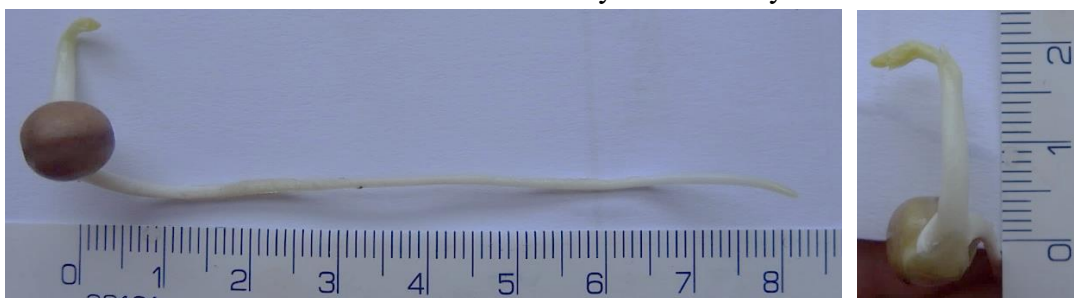
Obrázek 13: Výsledný vzhled Petriho misky (zdroj: autor práce).

V druhé části experimentu se každý den pracovalo s jinými Petriho miskami (v první části se po celou dobu pracovalo se stejnými). Proto se semena vkládala do 140 misek (pro 4 dny a vždy 5 misek na každou variantu) vyložených filtračním papírem. Pro založení pokusu bylo potřeba 2800 semen hrachu. Varianty byly H_2O ; H_2O_2 ; OMP; 150 mM NaCl + H_2O_2 ; 30 mM PEG + H_2O_2 ; 150 mM NaCl + OMP; 30 mM PEG + OMP. Podle varianty se do Petriho misek přidalo 10 ml příslušné látky a důkladně se popsala. Následný postup byl shodný jako v první části experimentu.

4.1.3 Měření, vážení a sušení

U první části experimentu se každý den pracovalo se stejnou Petriho miskou dané varianty. Změřily se vždy všechny části klíčících semen ze všech 6 variant. Měřil se zcela natažený kořen a nadzemní část s děložními listy. Výjimkou byl akorát první den, kdy se měřil jen kořen, neboť nadzemní část nebyla ještě viditelná. Poslední den se po naměření délky kořen a nadzemní části obě tyto části skalpelem odřízly, samostatně se zvážily (FW – hmotnost čerstvá) laboratorní váhou Kern EW 150 – 3M a vložily se do popsanych pytlíčku k sušení.

V druhé části experimentu se každý den pracovalo s různými variantami určenými pro daný den. Změřily se vždy všechny části klíčících semen a ty se následně skalpelem odřezaly. Odřezané části (kořen a nadzemní část) se zvážily (FW – hmotnost čerstvá) laboratorní váhou Kern EW 150 – 3M a uložily do hliníkových mističek k následnému sušení.



Obrázek 14 a Obrázek 15: Měření délky kořínku a nadzemní části (zdroj: autor práce).



Varianty:

A: H₂O

B: H₂O₂

C: OMP

D: 30 mM PEG
+ OMP

E: 150 mM NaCl
+ OMP

F: 30 mM PEG
+ H₂O₂

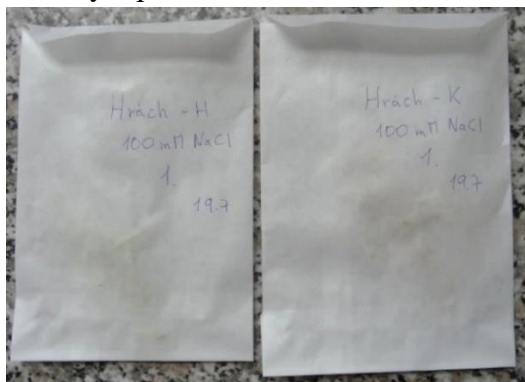
G: 150 mM NaCl
+ H₂O₂

Obrázek 16: Varianty klíčících semen po dnech ke srovnání (zdroj: autor práce).

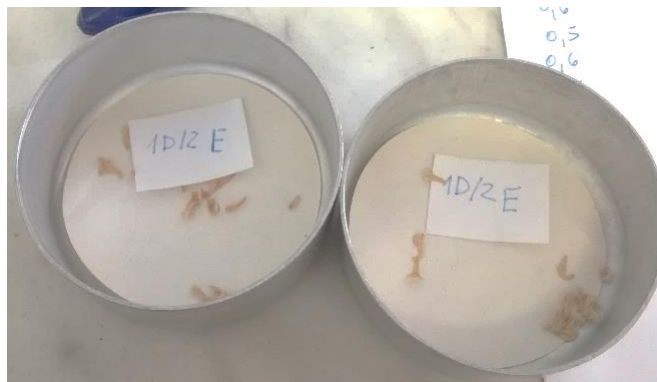


Obrázek 17: Odřezané části semene (zdroj: autor práce).

Nasušený kořen i nadzemní část se pak opět zváží (DW – sušina) pro možnost porovnání s hodnotami naváženými v živém stavu. Kvůli nutnosti vyšší citlivosti váhy se pro nasušené části byla použita laboratorní váha OHAUS AX 124.



Obrázek 18: Popsané pytlíčky k sušení (zdroj: autor práce).



Obrázek 19: Hliníková miska k sušení (zdroj: autor práce).

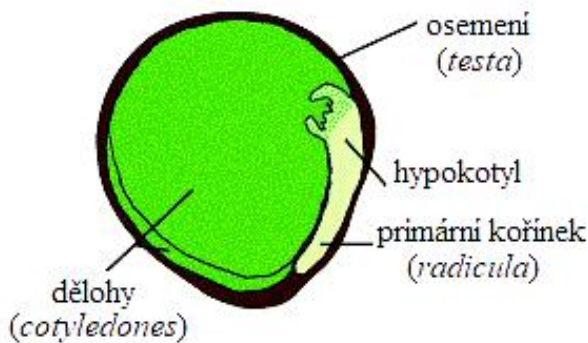


Obrázek 20 a Obrázek 21: Nasušený kořen a nadzemní část (zdroj: autor práce).

4.2 Hrách setý (*Pisum sativum*)

Hrách setý (*Pisum sativum*) je jednoletá luskovina patřící do čeledi bobovité (*Fabaceae*). Je to samosprašný druh s hypogeickým (podzemním) klíčením. Vhodný je pro oblasti řepářské, obilnářské a bramborářské. Vysévá se přibližně 220 – 300 kg/ha. Vyhovují mu rovnoměrné srážky a nižší teploty v době vegetace. Minimální teplota pro klíčení je +3 °C a po vzejití snáší i -5 °C. Kardinální teploty hrachu setého pro klíčení semne jsou: 1 – 2 °C jako minimum, 30 °C jako optimum a 35 °C jako maximum (Houba & Hosnedl 2002). U hrachu setého se uvádí doba klíčivosti 4 – 5 let, a to díky tvrdosemennosti (Lhotská & Kropáček 1985). Jeho tvrdosemennost se pro klíčení úspěšně přerušuje máčením ve vodě (Kvapil 2016). Kilogram suchých semen hrachu pro nabobtnání do sebe spotřebují až 2 850 ml vody (Procházka et al. 1998). K nízkému pH půdy je hrách rezistentní (Bláha et al. 2003).

Z Obrázku 22 je patrné, že zralé semeno hrachu obsahuje osemení (*testa*), dělohy (*cotyledones*), primární kořen (*radicula*) a podděložní stonkový článek (*hypokotyl*) (Černohorský 1967).



Obrázek 22: Morfologie semene hrachu setého – *Pisum Sativum* (upraveno podle Finch-Savage & Leubner-Metzger 2006).

4.3 Testy klíčivosti

4.3.1 Klíčivost

Klíčivost semen (seed germination) je procentický podíl klíčivých semen v testovaném vzorku osiva, stanovených za optimálních podmínek pro daný botanický druh a v čase vymezeném pro klíčení (období kdy je klíčení ukončeno) (Houba & Hosnedl 2002; Šerá 2014).

$$\text{Klíčivost semen (\%): } SG = \frac{G_f}{S} * 100$$

Kdy G_f je počet vyklíčených semen na konci kultivace; S je celkový počet testovaných semen.

4.3.2 Energie klíčení

Energie klíčení (germination energy) objasňuje intenzitu a vyrovnanost klíčení. Vyjadřuje procentuální množství vyklíčených semen vzorku osiva v daném čase (v období před ukončením procesu klíčení) (Šerá 2014).

$$\text{Energie klíčení (\%): } GE = \frac{G_t}{S} * 100$$

Kdy G_t je počet vyklíčených ve dne t ; S je celkový počet testovaných semen.

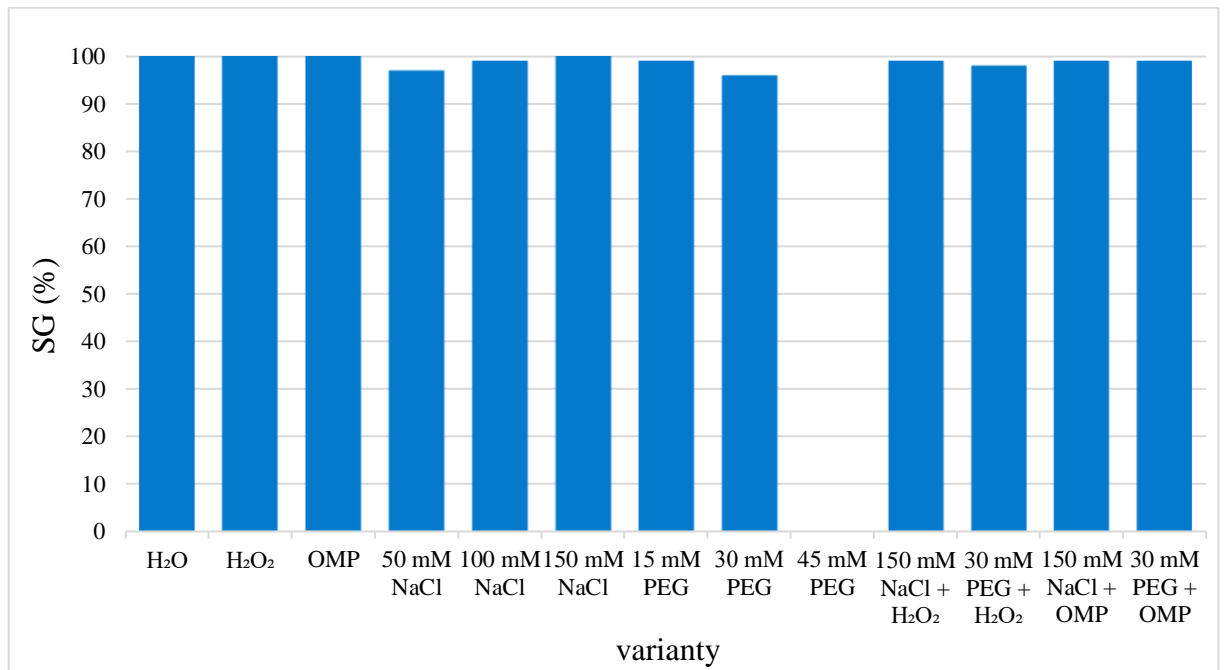
4.3.3 Rychlost klíčení

Rychlost klíčení (speed of germination) vypovídá o celkové vitalitě testovaných semen. Jde o procentuální poměr počtu vyklíčených semen na začátku a na konci stanovené doby (Šerá 2014).

$$\text{Rychlost klíčení (\%): } SG = \frac{G_t}{G_f} * 100$$

Kdy G_t je počet vyklíčených ve dne t ; G_f je počet vyklíčených semen na konci kultivace.

5 Výsledky



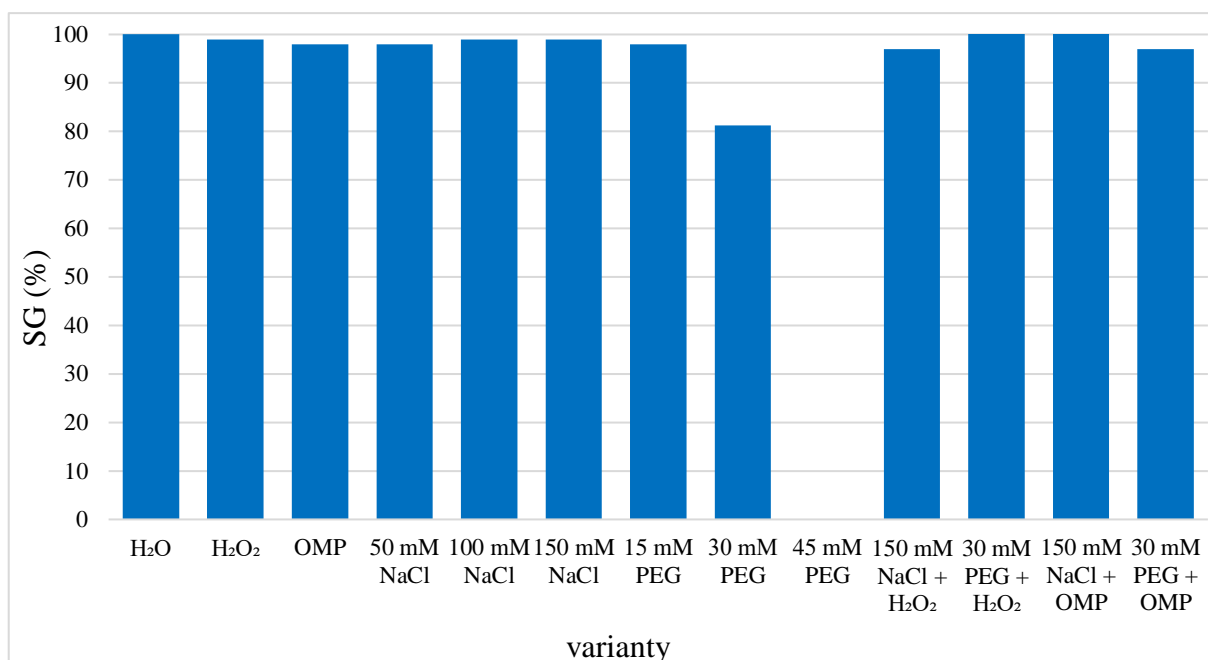
Graf 2: Klíčivost semen hrachu

Z grafu 2 je na první pohled patrné, že klíčivost hrachu setého byla u variant téměř identická až na výjimku 45 mM PEG. U této varianty byla klíčivost semen hrachu nulová, neboť nevyklíčilo žádné semeno. Stoprocentní klíčivost byla u variant s H₂O; H₂O₂; OMP a 150 mM NaCl. 99 % klíčivost měly varianty 100 mM NaCl; 15 mM PEG; 150 mM NaCl + H₂O₂; 150 mM NaCl + OMP; 30 mM PEG + OMP. O něco menší klíčivost se pak vyskytovala u variant 30 mM PEG + H₂O₂ (98 %), 50 mM NaCl (97 %) a 30 mM PEG (96 %).

Tabulka 1: Energie klíčení semen hrachu

varianta	den klíčení	GE (%)
H ₂ O	1.	100
	2.	100
	3.	100
H ₂ O ₂	1.	99
	2.	100
	3.	100
OMP	1.	98
	2.	99
	3.	100
50 mM NaCl	1.	95
	2.	97
	3.	97
100 mM NaCl	1.	98
	2.	99
	3.	99
150 mM NaCl	1.	99
	2.	100
	3.	100
15 mM PEG	1.	97
	2.	99
	3.	99
30 mM PEG	1.	78
	2.	96
	3.	96
45 mM PEG	1.	0
	2.	0
	3.	0
150 mM NaCl + H ₂ O ₂	1.	96
	2.	99
	3.	99
30 mM PEG + H ₂ O ₂	1.	98
	2.	98
	3.	98
150 mM NaCl + OMP	1.	99
	2.	99
	3.	99
30 mM PEG + OMP	1.	96
	2.	98
	3.	99

Z tabulky 1 lze vyčíst, že energie klíčení semen hrachu byla u některých variant v průběhu dnů klíčení konstantní. Neměnnou energii klíčení měly varianty H₂O (100 %), 150 mM NaCl + OMP (99 %), 30 mM PEG + H₂O₂ (99 %) a 45 mM PEG (0 %). U zbylých variant se v průběhu dnů energie klíčení zvyšovala, a mnohdy nakonec dosahovala sta procent (varianty: H₂O₂; OMP; 150 mM NaCl; 30 mM PEG + OMP).



Graf 3: Rychlost klíčení semen hrachu

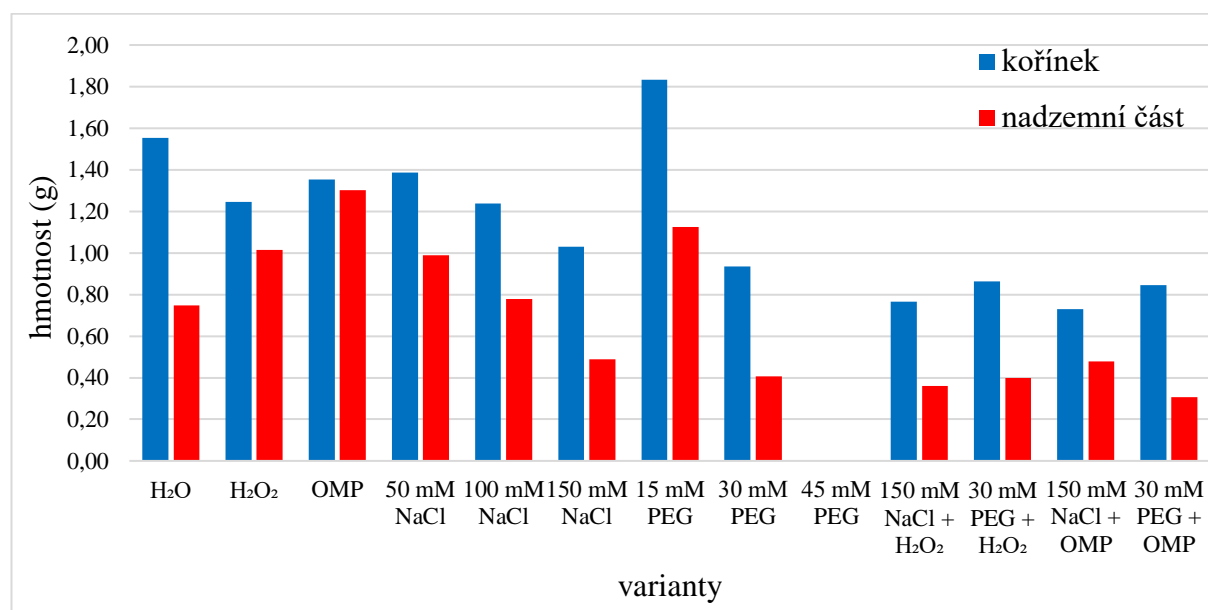
Z grafu 3 je zřejmé, že rychlost klíčení byla u většiny variant téměř totožná. Nejvyšší rychlost klíčení (100 %) se vyskytovala u variant H₂O; 30 mM PEG + H₂O₂; 150 mM NaCl + OMP. 99 % rychlost klíčení měly varianty H₂O₂ a 150 mM NaCl, 98,99 % byla u 100 mM NaCl, 98 % u OMP, 97,98 u 15 mM PEG a 97,94 % u varianty 50 mM NaCl. Menší 96,97 % rychlost klíčení měly varianty 150 mM NaCl + H₂O₂ a 30 mM PEG + OMP. Výrazněji nižší procento rychlosti klíčení semen hrachu bylo pak u varianty 30 mM PEG, která měla 81,25 %. Rychlost klíčení u varianty 45 mM PEG byla 0 %, neboť nevyklíčilo žádné semeno.

Tabulka 2: Průměrné délky kořene a nadzemní části klíčících semen hrachu (mm)

varianta	1. den		2. den		3. den		4. den	
	koř.	nadz. část	koř.	nadz. část	koř.	nadz. část	koř.	nadz. část
H ₂ O	9,31	0	29,76	3,83	50,53	12,10	59,14	13,92
H ₂ O ₂	13,18	0	34,35	5,05	59,95	14,88	61,04	16,53
OMP	8,63	0	26,72	3,81	46,96	13,01	64,82	16,84
50 mM NaCl	9,13	0	23,47	3,86	35,75	10,86	45,06	15,56
100 mM NaCl	8,50	0	20,76	2,10	27,85	7,82	31,08	12,15
150 mM NaCl	9,34	0	17,40	1,56	21,43	4,00	22,82	7,24
15 mM PEG	10,08	0	29,65	4,27	52,56	13,52	74,51	20,52
30 mM PEG	4,65	0	17,93	1,01	31,71	4,04	45,67	7,80
45 mM PEG	0	0	0	0	0	0	0	0
150 mM NaCl + H ₂ O ₂	7,97	0	18,64	0,66	29,56	6,05	29,15	6,36
30 mM PEG + H ₂ O ₂	6,53	0	16,19	1,09	23,50	2,75	26,16	5,30
150 mM NaCl + OMP	12,31	0	29,07	2,98	31,71	4,36	54,42	5,49
30 mM PEG + OMP	8,72	0	17,80	0,22	24,83	3,97	29,88	5,31

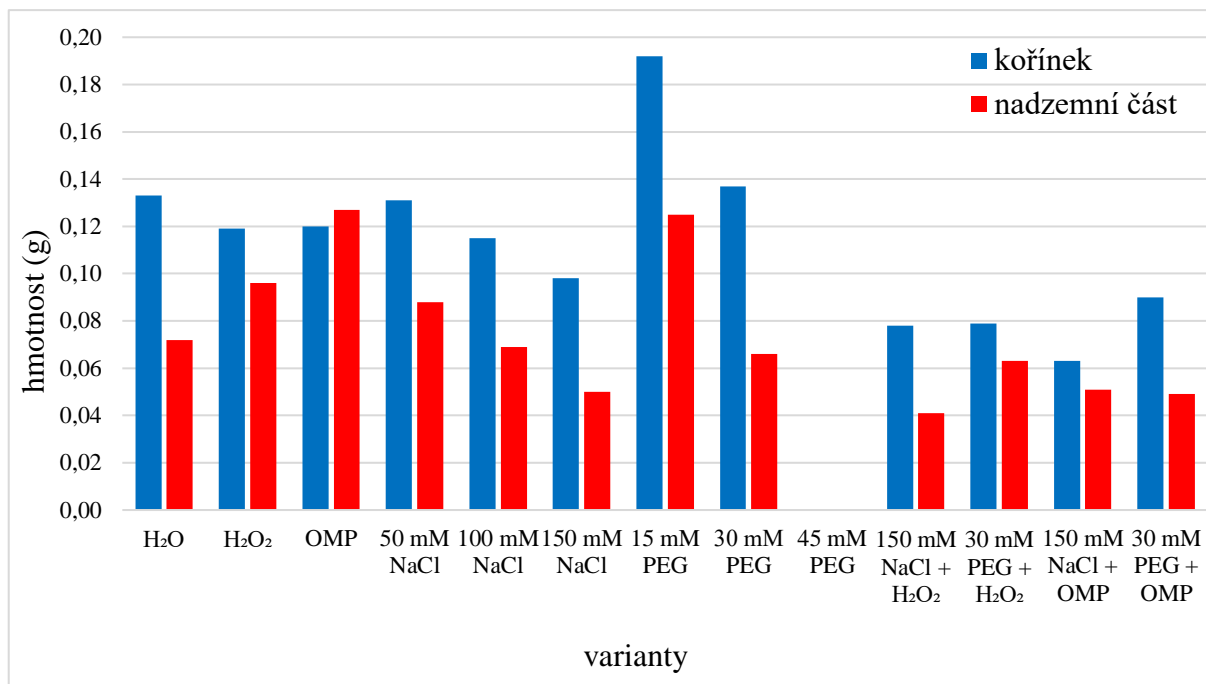
Jak vyplývá z tabulky 2, nejdelší kořen měla až do třetího dne varianta H₂O₂, u které se to předpokládalo, neboť šlo o pozitivní kontrolu. Čtvrtý den byla varianta OMP o 3,78 mm delší (měřila 64,82 mm) a varianta 15 mM PEG delší dokonce o 13,47 mm (měřila 74,51 mm). Kořen

varianty H₂O₂ měřil čtvrtý den průměrně 61,04 mm. Nízkou délku kořene měly neměnně všechny dny varianty 100 mM NaCl; 150 mM NaCl; 150 mM NaCl + H₂O₂; 30 mM PEG + H₂O₂ a 30 mM PEG + OMP. Z důvodu nevyklíčení žádných semen byla délka kořene i nadzemní části u varianty 45 mM PEG nulová. První den byla naměřená hodnota nadzemní části nulová u všech variant. Většinu dnů měla nejdelší nadzemní část varianta H₂O₂, ale jako u délky kořene i čtvrtý den měly nadzemní část delší varianty OMP o 0,31 mm (měřila 16,84 mm) a 15 mM PEG dokonce o 3,99 mm (měřila 20,52 mm). Nadzemní část varianty H₂O₂ měřila čtvrtý den průměrně 16,53 mm. Nejnížší délku nadzemní části měly všechny dny konstantně varianty 150 mM NaCl; 30 mM PEG; 150 mM NaCl + H₂O₂; 30 mM PEG + H₂O₂; 150 mM NaCl + OMP a 30 mM PEG + OMP.



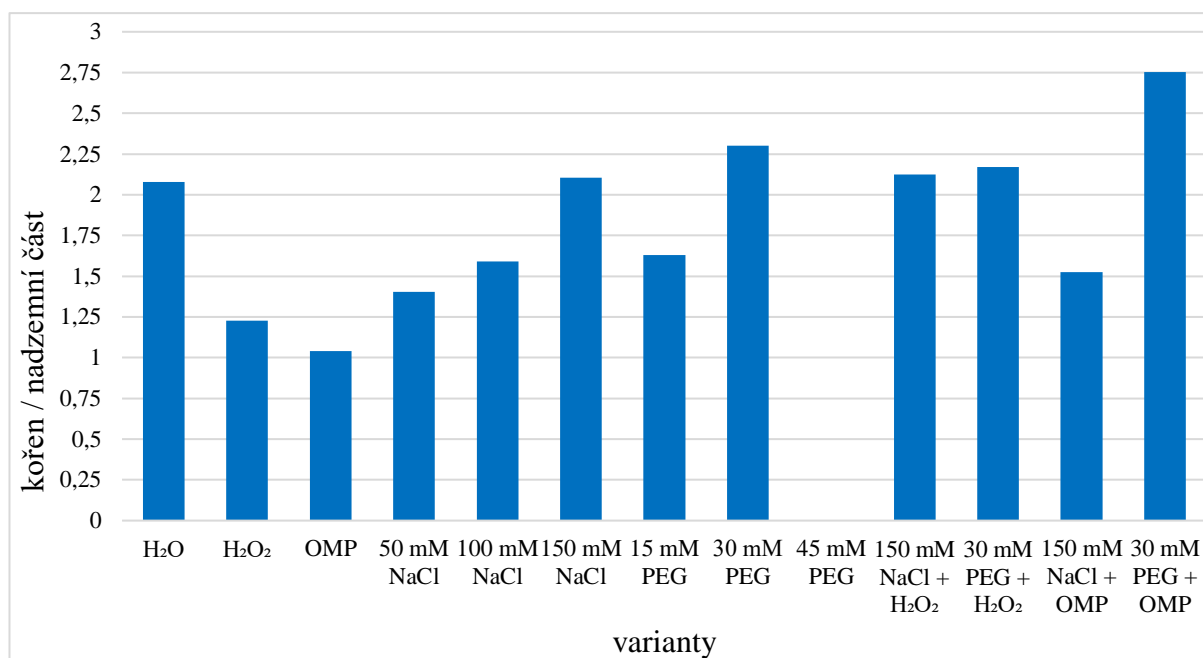
Graf 4: Průměrná hmotnost čerstvé hmoty kořene a nadzemní části klíčících semen hrachu ve 4. den

Z grafu 4 je evidentní, že čtvrtý den byla navážena nejvyšší hmotnost kořene u varianty 15 mM PEG (1,834 g), což se dalo očekávat, neboť ho měla daný den ze všech variant nejdelší. Druhá nejvyšší hmotnost byla navážena u H₂O (1,554 g). Třetí pak měla varianta 50 mM NaCl (1,386 g). Nižší hmotnost čerstvé hmoty kořene měly varianty OMP (1,352 g), H₂O₂ (1,245 g), 100 mM NaCl (1,238 g) a varianta 150 mM NaCl (1,030 g). Pod 1 g vážily varianty 30 mM PEG (0,934 g), 30 mM PEG + H₂O₂ (0,864 g), 30 mM PEG + OMP (0,845 g) a 150 mM NaCl + H₂O₂ (0,765 g). Nejnížší hmotnost kořene byla u variant 150 mM NaCl + OMP (0,730 g). Nulovou hmotnost čerstvé hmoty kořene i nadzemní části měla varianta 45 mM PEG, neboť u ní nic nevyklíčilo a nebylo co vážit. Nejvyšší hmotnost čerstvé nadzemní části měla varianta OMP (1,301g), která měla hmotnost čerstvé hmoty kořene a nadzemní části nejvyrovnanější, lišila se jen o 0,051 g. Druhou nejvyšší hmotnost měla varianta 15 mM PEG (1,126 g) a třetí H₂O₂ (1,014 g). Pod 1 g měly sestupně varianty 50 mM NaCl (0,988 g), 100 mM NaCl (0,779 g), H₂O (0,748 g), 150 mM NaCl (0,489 g), 150 mM NaCl + OMP (0,479 g), 30 mM PEG (0,406 g) 30 mM PEG + H₂O₂ (0,398 g) a 150 mM NaCl + H₂O₂ (0,360 g). Nejnížší hmotnost byla u varianty 30 mM PEG + OMP (0,307 g).



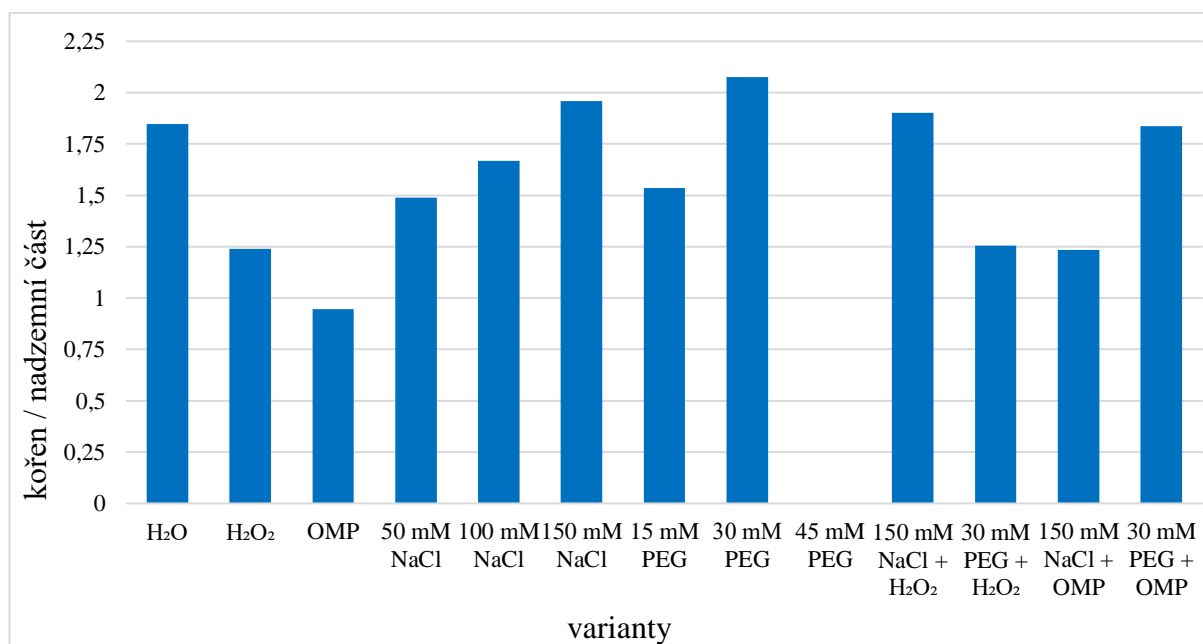
Graf 5: Průměrná hmotnost sušiny kořene a nadzemní části klíčících semen hrachu ve 4. den

Z grafu 5 je viditelné, že výrazně nejvyšší hmotnost sušiny kořene byla u varianty 15 mM PEG (0,192 g), jak tomu bylo i u čerstvé hmoty. Jako druhou nejvyšší hmotnost měla varianta 30 mM PEG (0,137 g) a třetí H₂O (0,133 g). Nižší hmotnost sušiny kořene měly sestupně varianty 50 mM NaCl (0,131 g), OMP (0,120 g), H₂O₂ (0,119 g) a varianta 100 mM NaCl (0,115 g). Pod 0,1 g měly varianty 150 mM NaCl (0,098 g), 30 mM PEG + H₂O₂ (0,079 g) a 150 mM NaCl + H₂O₂ (0,078 g). Nejnižší hmotnost sušiny kořene byla, jako u čerstvé hmoty, u varianty 150 mM NaCl + OMP (0,063 g). Nulovou hmotnost sušiny kořene i nadzemní části měla varianta 45 mM PEG, neboť nic nevyklíčilo, a tedy nebylo co sušit a následně vážit. Jako u jediné varianty OMP byla hmotnost sušiny nadzemní části (0,127 g) vyšší než hmotnost kořene (0,120 g), rozdíl byl o 0,007 g. Tato hmotnost nadzemní části byla ze všech variant nejvyšší, jak tomu bylo i při vážení čerstvé hmoty. O 0,002 g měla pak nižší hmotnost varianta 15 mM PEG (0,125 g). Třetí nejvyšší hodnotu sušiny nadzemní části měla varianta H₂O₂ (0,096 g), která byla oproti variantě OMP nižší o 0,031 g. Nižší hmotnosti sušiny nadzemních částí byly u variant 50 mM NaCl (0,088 g), H₂O (0,072 g), 100 mM NaCl (0,069 g), 30 mM PEG (0,066 g), 30 mM PEG + H₂O₂ (0,063 g), 150 mM NaCl + OMP (0,051 g), 150 mM NaCl (0,050 g) a 30 mM PEG + OMP (0,049 g). Nejnižší hodnotu měla varianta 150 mM NaCl + H₂O₂ (0,041 g), která měla čerstvou hmotu druhou nejnižší (pokud nepočítáme nulovou hmotnost varianty 45 mM PEG).



Graf 6: Poměr hmotnosti čerstvé hmoty kořene a nadzemní části klíčících semen hrachu ke 4. dni

Z grafu 6 je zřetelné, že největší poměr hmotnosti čerstvé hmoty kořene a nadzemní části klíčících semen hrachu ve čtvrtý den byla u varianty 30 mM PEG + OMP (2,75). O 0,45 byl menší poměr u varianty 30 mM PEG (2,30) a o 0,58 u varianty 30 mM PEG + H₂O₂ (2,17). Menší poměr hmotnosti čerstvé hmoty kořene a nadzemní části měly sestupně varianty 150 mM NaCl + H₂O₂ (2,13) 150 mM NaCl (2,11) a H₂O (2,08). Poměr pod 2 měly varianty 15 mM PEG (1,63), 100 mM NaCl (1,59), 150 mM NaCl + OMP (1,52), 50 mM NaCl (1,40) a H₂O₂ (1,23). Druhý nejmenší poměr měla varianta OMP (1,04). Poměr u této varianty byl blízký 1, neboť měla hmotnost čerstvé hmoty kořene a nadzemní části nejvyrovnanější. Nulový, a tedy i nejmenší poměr byl u varianty 45 mM PEG.



Graf 7: Poměr hmotnosti sušiny kořene a nadzemní části klíčících semen hrachu ke 4. dni

Z grafu 7 je očividné, že největší poměr hmotnosti sušiny kořene a nadzemní části klíčících semen hrachu ve čtvrtý den byl u varianty 30 mM PEG (2,08). O 0,12 byl menší poměr u varianty 150 mM NaCl (1,96) a o 0,18 u varianty 150 mM NaCl + H₂O₂ (1,90). Menší poměr hmotnosti sušiny kořene a nadzemní části měly sestupně varianty H₂O (1,85), 30 mM PEG + OMP (1,84), 100 mM NaCl (1,67) a 15 mM PEG (1,54). Poměr pod 1,5 pak měly varianty 50 mM NaCl (1,49), 30 mM PEG + H₂O₂ (1,25), H₂O₂ (1,24) a 150 mM NaCl + OMP (1,23). Druhý nejmenší měla varianta OMP (0,95), jak tomu bylo i v případě poměru hmotnosti čerstvé hmoty kořene a nadzemní části. Poměr byl menší než 1, protože jediné u této varianty byla hmotnost sušiny nadzemní části vyšší než hmotnost kořene. Nulový, a tedy i nejmenší poměr měla varianta 45 mM PEG.

Tabulka 3: Průměrné hmotnosti kořene a nadzemní části klíčících semen hrachu podle dnů (g)

varianta	den	čerstvá hmota		sušina	
		kořen	nadz. část	kořen	nadz. část
H ₂ O	1.	0,4250	0	0,05458	0
	2.	0,9972	0,2034	0,08088	0,0222
	3.	1,4348	0,7132	0,11328	0,0600
	4.	1,5544	0,7478	0,13284	0,0715
H ₂ O ₂	1.	0,5058	0	0,05922	0
	2.	0,8328	0,5660	0,06984	0,04632
	3.	1,5210	0,8210	0,13270	0,07472
	4.	1,2446	1,0142	0,11914	0,09584
OMP	1.	0,4094	0	0,06122	0
	2.	0,8810	0,2238	0,07130	0,02300
	3.	1,2732	0,9464	0,10282	0,07986
	4.	1,3524	1,3012	0,12000	0,12662
150 mM NaCl + H ₂ O ₂	1.	0,3536	0	0,05402	0
	2.	0,5788	0,0300	0,05376	0,00454
	3.	0,8682	0,3500	0,07454	0,03044
	4.	0,7654	0,3604	0,07824	0,04064
30 mM PEG + H ₂ O ₂	1.	0,4578	0	0,06260	0
	2.	0,6896	0,2738	0,08282	0,03582
	3.	0,7466	0,3516	0,09400	0,04630
	4.	0,8642	0,3984	0,07884	0,06314
150 mM NaCl + OMP	1.	0,2550	0	0,04852	0
	2.	0,6512	0,1092	0,06546	0,01352
	3.	0,7040	0,4664	0,05452	0,05142
	4.	0,7298	0,4792	0,06262	0,05056
30 mM PEG + OMP	1.	0,3514	0	0,05852	0
	2.	0,6014	0,0500	0,07216	0,00698
	3.	0,7766	0,4110	0,07930	0,05570
	4.	0,8448	0,3074	0,08958	0,04866

Jak vyplývá z tabulky 3, největší přírůstek hmotnosti kořene, jak čerstvé hmoty, tak sušiny byl u varianty H₂O. U čerstvé hmoty kořene se hmotnost zvýšila z prvního dne na čtvrtý

o 1,1294 g (z 0,4250 g na 1,5544 g) a u sušiny o 0,07826 g (z 0,05458 g na 0,13284 g). Tato varianta měla pro čtvrtý den i nejvyšší hodnoty u kořene, a to jak čerstvé hmoty, tak následně i sušiny. Nejmenší přírůstek hmotnosti čerstvé hmoty kořene byl 0,4064 g (z 0,4578 g na 0,8642 g) u varianty 30 mM PEG + H₂O₂, u které byl i nejmenší přírůstek 0,01624 g (z 0,06260 g na 0,07884 g) sušiny kořene. Nejmenší váhu čerstvé hmoty kořene (0,7298 g) a sušiny kořene (0,06262 g) měla varianta 150 mM NaCl + OMP. U všech variant první den ještě nebyla viditelná nadzemní část, a tedy nebylo co odřezávat a následně vážit. Největší přírůstek hmotnosti čerstvé hmoty nadzemní části byl u varianty OMP (1,3012 g), a stejná varianta měla i nejvyšší hodnotu sušiny (0,12662 g). Čtvrtý den měla nejmenší váhu čerstvá hmota nadzemní části varianty 30 mM PEG + OMP (0,3074 g). U této varianty v důsledku odlišných Petriho misek nastalo, že třetí den měla čerstvá hmota nadzemní část větší váhu než v den čtvrtý. To se následně projevilo i u sušiny nadzemní hmoty. Nejmenší váhu sušiny kořene ve čtvrtý den měla varianta 150 mM NaCl + H₂O₂ (0,04064 g).

6 Diskuze

Graham a Vance (2003) uvádějí, že luštěniny představují ekonomicky druhou nejdůležitější skupinou rostlin po *Poacea*, což představuje přibližně 27 % světové rostlinné produkce. Jde přibližně o 18 000 – 19 000 druhů z 670 – 750 rodů luštěnin. Hrách setý (*Pisum sativum*), je chutná sezonní luštěnina, která má široké využití a pěstuje se především jako levný zdroj bílkovin. Je zvláště citlivý na stres z nedostatku vody, a to především v době klíčení semen. Stres ze sucha je jedním z nejdůležitějších environmentálních faktorů, který způsobuje snižování růstu, zpomalení vývoje a pokles produkce rostlin. Dostupnost vody je jeden z rozhodujících vlivů, které ovlivňují bobtnání semen, aktivaci hormonů a nastartování klíčení. Při nízkém množství vody dochází ke zpomalení nebo k úplnému zastavení klíčení. Další faktory negativně ovlivňující klíčení zahrnují i salinitu, která ale způsobuje menší inhibiční účinek (Okçu & Kaya & Atak 2005). Delgado, Ligeró a Lluch (1994) zjistili, že hrách patří mezi luštěninami mezi ty citlivější k zasolení, což podpořili i Tsegay a Gebreslassie (2014). Vysoká hladina soli může vyvolat snížení, zpoždění, a dokonce i úplnou inhibici klíčení v důsledku ovlivnění osmotického potenciálu zabraňujícím absorpci vody nebo kvůli toxickým účinkům Na^+ a Cl^- iontů na životaschopnost embryí (Tsegay & Gebreslassie 2014). Solný stres může způsobit významné snížení rychlosti a procenta klíčivosti semen, což může vést k nerovnoměrnému postavení porostu, snížení rostlinné biomasy a následně menšímu výnosu. Rané fáze rostliny (klíčení a časný růst sazenic) jsou k abiotickým stresům mnohdy mnohem citlivější než dospělé rostliny. Klíčení semen je složitý komplexní vývojový proces (zahrnuje biochemické, fyzikální a biologické procesy), při kterém je potřeba dostatečné množství vody, tepla, kyslíku, světla. Za nepříznivých podmínek může být navíc ovlivňováno mnoha stresovými faktory (Lhotské & Kropáčka 1985; Copeland & McDonald 2001; Houba & Hosnedl 2002). Problematické klíčení semen při stresových podmínkách popisuje mnoho studií a experimentů (Kent & Läuchli 1985; Bonilla & El-Hamdaoui & Bolaños 2004; Nichols et al. 2008; Khodarahmpour 2011).

6.1 Stresy

Vodní stres a zasolení jsou v současné době velmi aktuální témata. První část této bakalářské práce byla zaměřena na pozorování a vyhodnocení vlivu nedostatku vody a salinity na klíčení semen hrachu setého (*Pisum sativum*) oproti kontrolní variantě (destilovaná voda) a pozitivní kontrole (peroxid vodíku). Vodní deficit byl navozen polyethylenglykolem (PEG 6000) v koncentracích 15; 30 a 45 mM/l. Zasolení se pak dosáhlo pomocí chloridu sodného (NaCl) v koncentracích 50; 100 a 150 mM/l. Sledovanými parametry klíčících rostlin hrachu byla: klíčivost semen, energie klíčení, rychlost klíčení, délka i hmotnost čerstvé hmoty (FW - fresh weight) kořene a nadzemní části, či hmotnost sušiny (DW - dry weight) u kořene a nadzemní části, poměr hmotnosti čerstvé hmoty kořene a nadzemní části, poměr hmotnosti sušiny kořene a nadzemní části. Výsledky práce dokumentují vliv navozených abiotických stresů na klíčení semen a objasnily se i účinky stimulačních látek a osmoprotektantů (peroxid vodíku a omeprazol) na klíčící semena a snížení negativních dopadů stresorů při klíčení.

Z výsledků klíčení semen hrachu setého je patrné, že až na absolutní inhibici klíčení semen u varianty 45 mM PEG, kde nevyklíčilo žádné semeno, neovlivňuje abiotický stres

zasolení či sucho klíčení semen, tak jak jsme očekávali. Lze předpokládat, že je hrách ke stresovým podmínkám snášenlivější, jako třeba čirok. Menší náchylnost čiroku (cv. speedfeed) k salinitě a suchu, než má proso (cv. nutriifeed) popisují Khalesrou a Agha Alikhani (2008), kteří zkoumali účinek slaných stresových hladin pomocí různých koncentrací NaCl a hladiny vodního deficitu díky koncentracím PEG-6000 na rychlost klíčení, vitalitu semen, délky kořene i stonku a hmotnost sušiny.

6.1.1 Zasolení

Zpožděné a snížené klíčení bavlňy za účinku roztoku NaCl, s čímž souvisel i menší růst kořenů, které se navíc při vysoké obsah solí zdály infikované mikroby, pozorovali Kent a Läubli (1985). U hlávkového salátu bylo zjištěno, že salinita (100 mM NaCl) ovlivňuje procento a rychlost klíčení, délku a hmotnost čerstvé hmoty kořenů i nadzemních částí (Nasri et al. 2015). Cílem experimentu s mungo fazolemi bylo prozkoumat změny růstu a enzymatické aktivity klíčících semenech během působení NaCl. Bylo vyhodnoceno, že s rostoucí koncentrací NaCl nastalo snížení procenta klíčení, délky kořenů, délky výhonku a FW (Dash & Panda 2001). Studie zaměřená na klíčení semen a růst sazenic sladkého čiroku v zasolení pomocí čtyř různých koncentrací solí (0, 100, 200, 300 mM NaCl) ukázala, že se se zvyšující koncentrací soli výrazně snížilo klíčení semen (Almodares & Hadi & Dosti 2007). Dle získaných výsledků v mé práci lze toto tvrzení potvrdit. Dále lze předpokládat, že zvýšená koncentrace NaCl (třeba na 250 mM) by v mém pokusu s hrachem setým vedla ke snížení klíčivosti, ale nedošlo by k úplné inhibici. U různých druhů lotusů, tato hodnota salinity vedla ke 55,7 – 80% klíčivosti a inhibiční byla až koncentrace 600 mM NaCl (Hajri et al. 2018). Tuto teorii lze podpořit díky experimentu s jednoletými luštěninami středomořského původu, kde se vyhodnotilo, že maximální koncentrace NaCl, u kterých nedošlo ke snížení procenta klíčivosti, byly 300 mM pro *Melilotus siculus*, 240 mM pro *Medicago polymorpha* a 120 mM pro *Trifolium michelianum*, *Trifolium subterraneum* a *Trifolium tomentosum* (Nichols et al. 2008). Bonilla, El-Hamdaoui a Bolaños (2004) prováděli studii s hrachem (*Pisum sativum* L. cv. Argona) pěstovaným pod abiotickým stresem zasolení v rozmezí 0 – 150 mM NaCl. V této studii k inhibici klíčení semen a růstu semenáčků došlo až u koncentrací 75 – 150 mM. V mém experimentu při těchto koncentracích došlo pouze ke snížení klíčení, a ne k úplnému zastavení, což může být důsledkem jiné odrůdy hrachu. Ve variantách 50; 100 a 150 mM NaCl byla oproti kontrolám nižší délka kořene a nadzemní části, ale FW i DW byla alespoň u nižších koncentrací (50 a 100 mM NaCl) vyšší či srovnatelná. S přihlédnutím k tomu, že nejsou zaznamenány předpokládané výraznější rozdíly mezi semeny klíčovými v optimálních podmínkách (H₂O) a podmínkách vystaveným stresu, lze přisuzovat nižší variabilitu výsledků a neprůkaznost rozdílů nezkušenosti s počítáním a měřením stanovených parametrů vyklíčených semen. Z výše uvedených výsledků a studií ale vyplývá, že solný stres snižuje klíčení semen.

6.1.2 Vodní deficit

Polyetylen glykol (PEG) slouží v mnoha výzkumech jako regulátor vodního potenciálu, ale může omezit dostupnost kyslíku u klíčících semen. Proto se provádělo několik studií s travními druhy, kde bylo cílem zjistit, zda PEG negativně ovlivňuje klíčivost a rychlost klíčení semen. Závěrem pokusů bylo, že kontakt roztoku PEG nesnižuje klíčivost semen (Emmerich &

Hardegree 1907) nebo jeho role ve snížení celkového procenta klíčení není markantní (Hardegree & Emmerich 1994), což se potvrdilo i v mém pokusu u variant s nižší koncentrací, než bylo 45 mM PEG. U 15 mM PEG byla klíčivost i rychlost klíčení téměř totožná s kontrolou (H_2O) i s pozitivní kontrolou (H_2O_2). To v menší míře platilo i pro variantu 30 mM PEG, kde došlo k mírnému snížení klíčivosti a zpomalení rychlosti klíčení. De a Kar (1995) zkoumali vliv různých úrovní vodního stresu vyvolaného PEG-6000 v experimentu s *Vigna radiata*, kde zjistili, že s rostoucím vodním stresem klíčivost, růst sazenic (délka kořenů a nadzemních částí) i nárůst čerstvé hmoty rapidně klesá. S těmito závěry souhlasí i experiment s hybridy kukuřice, kde vodní deficit vyvolaný též PEG 6000 snížil procento klíčení, rychlost klíčení, délku kořene, délku nadzemní části i vitalitu semen, a zároveň se s rostoucí koncentrací zvyšoval i poměr délky kořene ku nadzemní části (Khodarahmpour 2011). Tyto závěry doplňuje studie s klíčením semen čtyř druhů *Festuca* při různých koncentracích roztoku polyethylenglykolu, kde vyšší koncentrace PEG (10% – 15%) významně inhibovala rychlost klíčení semen, energii klíčení, růst kořene, nadzemní části, index klíčení a index vitality. Všechna sledovaná kritéria se více zpomalovala se zvyšující se koncentrací PEG. Ošetření polyethylenglykolem mělo větší inhibiční účinek na růst nadzemní části než na růst kořene. Naopak při použití nižší koncentrace (5%), se PEG projevil podpořením růstu kořene (Liang & Zhou & Yan 2007). To zcela potvrdili i výsledky zkoumání mé práce, kde varianta 15 mM PEG dosahovala čtvrtý den pokusu lepších výsledků než obě kontroly (H_2O i H_2O_2), to jak v průměrné délce kořene a nadzemní části, tak v FW i DW kořene a nadzemní části. Pokud dosáhnutí pozitivnějších výsledků této varianty nenastalo díky podpoření růstů nižší koncentrací PEG, lze s přihlédnutím k předpokladům, že klíčení při stresových podmínkách mělo dosahovat horších výsledků, tak se zde jeví určitá chyba během měření. Vezmeme-li zřetel na výše popsané, lze konstatovat účinek sucha na zpomalení klíčení semen, navíc se při pozorování pokusu potvrdil efekt snižování klíčivosti, energie klíčení a rychlosti klíčení semen se stoupajícím deficitem vody.

6.2 Stimulační látky a osmoprotektanty

Druhou částí této bakalářské práce bylo vyhodnotit účinky peroxidu vodíku (H_2O_2) a omeprazolu (OMP) na klíčení semen hrachu vystaveným stresu sucha či zasolení. Jednalo se o varianty 150 mM NaCl + H_2O_2 ; 30 mM PEG + H_2O_2 ; 150 mM NaCl + OMP a 30 mM PEG + OMP. Předpokládalo se, že by měl mít peroxid vodíku i omeprazol pozitivní vliv na klíčení semen vystaveným abiotickým stresorům.

6.2.1 Peroxid vodíku

Peroxid vodíku (H_2O_2), molekula stresového signálu, aktivuje několik obranných reakcí, které posilují odolnost vůči různým abiotickým a biotickým stresům v rostlinách (Hossain & Fujita 2013). Je vytvářen v pletivech za stresujících podmínek UV záření, intenzivního světla, nízké teploty, sucha či biotických zranění, a proto je rostlina neustále vystavena jeho toxicitě (Ogawa & Iwabuchi 2001). Přirozeně je produkován v období bobtnání, například u semen kukuřice, slunečnice, pšenice, sóji, ředkviček a rajčat. Exogenně aplikovaný peroxid vodíku podporuje klíčení semen v mnoha rostlinách (Ishibashi et al. 2008). První stimulační účinek

peroxidu vodíku na klíčení a následný růst sazenic byl zaznamenán v roce 1959 na semenech *Pseudotsuga menziesii* namočených v 1% H₂O₂ (Gondim et al. 2010). H₂O₂ hraje dvojí roli ve fyziologických a vývojových procesech rostlin a při odolávání stresu. Vzájemný vztah mezi pozitivními a negativními funkcemi H₂O₂ v biologických systémech závisí na jeho koncentraci, na fyziologických podmínkách a na specifikách procesů jím ovlivněných (Wojtyla et al. 2016). H₂O₂ byl vyhodnocen jako vhodné ošetření semen k vyvolání metabolických změn, které při správné koncentraci vedou ke zlepšení snášenlivosti stresů zasolení, sucha, nízkých a vysokých teplot (Wahid et al. 2007; Gondim et al. 2010). V pokusu Li a kol. (2017) zjistili pozitivní vliv H₂O₂ na zkrácení doby klíčení semen, zlepšení klíčení, vitality semen a růst sazenic kukuřice při stresu z nízké teploty. S kukuřicí byla prováděn i experiment k prozkoumání účinků namočení semen v H₂O₂ (20 - 140 mM) klíčících při vodním deficitu. Vyšší klíčivost byla zaregistrovaná při namočení semen ve 140 mM H₂O₂, kde nastalo nejvyšší navýšení tolerance k suchu. Ošetření peroxidem vodíku stimulovalo antioxidační systém, který vedl k vyvolání tolerance kukuřičných rostlin vůči suchu, a to z hlediska vyšších výhonků a větší FW a DW kořenů (Ashraf et al. 2014). Cílem studie Gondim a kol (2010) bylo zhodnotit účinky H₂O₂ na klíčení a aklimatizaci rostlin trojitého hybridu kukuřice vystaveným působení solí. H₂O₂ zvýšil procento klíčivosti a urychlil klíčení semen při 100 mM, ale ne při 500 mM, kde výsledky byly podobné kontrole (destilované vodě). Pokud byla semena ošetřena 36 hodin namočením ve 100 mM H₂O₂ roztoku a následně vystavena zasolení (80 mM NaCl) došlo ke snížení škodlivých účinků solného stresu na růst kukuřice (vyšší DW kořenů a nadzemní části, plochy listů) a její zvýšenou toleranci vůči tomuto stresu (Gondim et al. 2010). Zajímavých výsledků došli v experimentu zkoumající účinky semen pšenice předběžně ošetřených H₂O₂ a jejich následnou snášenlivost k suchu vyvolaného PEG. Semena ošetřená H₂O₂ vykazovala o 56 % vyšší klíčivost než semena ošetřená vodou (kontrola) v podmínkách sucha. Sazenice z těchto semen vykazovaly zvýšené růstové charakteristiky včetně vyšší rychlosti fotosyntézy, plochy listů a DW (He & Gao & Li 2009). S pšenicí, jako pokusnou rostlinou, byla i studie, kde se zjišťoval vliv namáčení semen v H₂O₂ (1, 40, 80 a 120 μM) a jejich naklíčování ve slaném médiu (150 mM NaCl). Takováto semena zkrátila střední dobu klíčení, která byla dokonce menší než u kontrolních vzorků ve vodě (Wahid et al. 2007). Předúpravy semen pomocí H₂O₂ byla studována i na snášenlivost sucha u fazolových rostlin, kde zvýšila růstové parametry, fotosyntetické pigmenty a fytohormony oproti variantě, kde byla semena ošetřena vodou (kontrola) při nedostatku vody (Abass & Mohamed 2011). V jiné studii se zkoumal vliv různých koncentrací peroxidu vodíku na semena hrachu. Zjistilo se, že H₂O₂ má pozitivní účinek na klíčení semen nebo růst sazenic, ale je závislý na jeho koncentraci. 20 mM H₂O₂ je koncentrace, která poskytovala nejlepší odpověď z hlediska růstu a pozitivně stimulovala rychlost klíčení. Rychlejší klíčení pozitivně ovlivnily i koncentrace 40 a 100 mM H₂O₂, ty ale vyvolaly výrazné zakřivení a abnormální růst kořene. Koncentrace vyšší než 100 mM H₂O₂ naopak snížily rychlost klíčení semen hrachu (Barba – Espín & Hernández & Diaz-Vivancos 2012). Nejvhodnější koncentraci 20 mM H₂O₂ pro povzbuzení klíčení hrachu setého (cv. Alaska) se potvrdila i v další studii, kde semena byla vystavená 24hodinovému nasycení v destilované vodě nebo H₂O₂ (5, 10 nebo 20 mM). Zjistilo se, že pro stimulaci klíčení a prodloužení délky sazenic je nutné před-inkubovat 20 mM H₂O₂, a ne použít stejnou koncentraci k ošetření již nabobtnalých semen, neboť dojde k opačnému efektu (postupnému poklesu růstu a délky sazenic) (Barba-Espín et al. 2010). Z výsledků výše uvedených studií lze

vyčíst, že H_2O_2 signalizuje aktivaci antioxidantů v semenech, které přetrvávají v rostlinách, což vede k expresi stresových proteinů a zlepšení fyziologických vlastností při růstu za sucha či salinity (Wahid et al. 2007; Abass & Mohamed 2011). V mém pokusu se při optimálních podmínkách potvrdily očekávané účinky H_2O_2 jako pozitivní kontroly. Díky peroxidu vodíku došlo ke stimulaci klíčení (nejrychlejší klíčení) a výraznému růstu kořene i nadzemní části (do 4 dne dosahovala obou kritérií jako nejlepší). FW a DW kořene i nadzemní části docílila nadprůměrných výsledků. Při použití H_2O_2 ve stresovaných variantách (150 mM NaCl a 30 mM PEG) se očekávalo výrazné zlepšení oproti variantám neošetřeným. U varianty 150 mM NaCl došlo k mírnému prodloužení kořene, délka nadzemní části byla velmi podobná, FW i DW kořene a nadzemní části se výrazně snížila. Varianta 30 mM PEG měla značně nižší délku kořene i nadzemní části (kromě prvního dne, kde H_2O_2 urychlilo klíčení), podstatně shodnou FW kořene a nadzemní části i DW nadzemní části, ale u DW kořene došlo k rapidnímu snížení. Tato práce potvrdila, že předúprava H_2O_2 za standartních podmínek výrazně urychluje klíčení semen hrachu a podporuje i další sledované parametry. Při stresovaných podmínkách došlo spíše ke zhoršení výsledků, čehož může být důvodem nevhodná koncentrace H_2O_2 .

6.2.2 Omeprazol

Omeprazol (OMP), známý jako benzimidazolový inhibitor zvířecích protonových pump, je malá bioaktivní molekula (345,4 Da), která je při mikromolárních (μM) koncentracích účinná ve stimulaci růstu rostlin a zvyšování tolerance vůči slanosti (Rouphael et al. 2018; Van Oosten et al. 2017). Prováděl se pokus s hlávkovým salátem ošetřeným OMP v pěti dávkách (0, 10, 50, 100 nebo 200 μM) za podmínek nesoľného nebo soľného stavu (1 nebo 30 mM NaCl). Se zvyšující se koncentrací NaCl se snižovala FW i DW biomasy salátu. Následná aplikace omeprazolu (10 nebo 50 μM) na stresované rostliny zmírnila snížení výtěžku, a měla tedy pozitivní vliv. Pokud salát nebyl vystaven salinitě a aplikovalo se OMP, došlo ke zvýšení biomasy kořenů a zlepšení absorpce živin a vody (Carillo et al. 2019). Podobná studie s obdobnými výsledky se prováděla i na skleníkovém rajčeti (cv. Seny), na které se aplikoval OMP ve třech dávkách (0, 10 nebo 100 μM) v podmínkách bez zasolení (kontrola) nebo při salinitě (1 nebo 75 mM NaCl). Vyšší koncentrace NaCl snížila DW výhonků rajčat skoro o polovinu. Po ošetření nižší dávky OMP došlo k nevýznamnému snížení negativních vlivů zasolení, za to při aplikaci 100 μM OMP již nastali výraznější změny. OMP zvýšila DW kořene, morfologické vlastnosti kořene, transpiraci a rychlost fotosyntézy, a to nezávisle na slanosti. Výsledky pokusů naznačovaly, že v konečném důsledku OMP vyvolává zlepšenou toleranci vůči slanému stresu NaCl. V nepřítomnosti soľného stresu nebyly prokázány pozitivní účinky OMP na růstové parametry rostlin. DW kořene, délka a povrch kořenů, R / S, transpirační a fotosyntetická rychlost byla aplikací OMP pozitivně ovlivněna, a to nezávisle na salinitě (Rouphael et al. 2018). Z další studie též na rajčeti (cv M82) se zjistilo, že OMP zlepšuje růst rostlin pod soľnými stresovými podmínkami (200 mM NaCl) a to z hlediska FW i DW výhonků a kořenů. Podstatné bylo zjištění, že OMP funguje různě v závislosti na dávce. Při nízkém množství (1 μM) OMP významně stimuloval zvýšení růstu, v případě vyšší dávky (10 μM) neměl žádný stimulační účinek, naopak při nejvyšší dávce (45 μM) nastala inhibice růstu. Aplikace 1 μM měla za následek zvýšení FW a DW nadzemní části i kořenů a stimulaci růstu kořenů. Dávka 45 μM inhibovala růst výhonků a snížila FW i DW, růst kořenů ale nijak

významně neovlivnila. V podmínkách kontroly nízké koncentrace OMP došlo k navýšení kořenové plochy a nevýznamnému zvýšení délky kořene. Ve stejných podmínkách pak koncentrace 45 μM PEG kořenovou délku i plochu silně inhibovala. Závěrem je, že OMP může výrazně zlepšit růst rostlin a schopnost tolerovat stres ze solného roztoku, důležitá je ale jeho dávka, neboť při malých množstvích (1 a 10 μM) působí na růst stimulačně, ale při vyšších má naopak inhibiční účinky (Van Oosten et al. 2017). Díky těmto výsledkům lze objasnit pozorování v mé práci, kde při aplikaci OMP došlo ke snížení délek i hmotnosti oproti kontrolám. Varianta OMP měla obdobnou FW kořene a nadzemní části, a dokonce větší DW nadzemní části než kořene, což se projevilo i u poměru sušin, který byl jako u jediné varianty menší než 1 (0,95). Varianty vystavené stresu sucha nebo zasolení, OMP podpořil jen v několika parametrech. OMP u stresu 150 mM NaCl pozitivně ovlivnil délku kořene (skoro dvojnásobně), přesto měl kořen menší FW i DW než neošetřená varianta. Negativně pak byla ovlivněna délka nadzemní části, beze změn byla FW a DW nadzemní části. OMP použitý při nedostatku vody (30 mM PEG) působil kromě zvýšené rychlosti klíčení a delšího kořene první den klíčení pouze negativně u všech sledovaných kritérií. Díky těmto poznatkům a z výše uvedených studií lze předpokládat, že v mé práci byla použita moc velká dávka OMP, anebo se vliv OMP výrazněji projevuje až u semenáčků. Z informací lze vyhodnotit pozitivní vliv OMP jen u některých abiotických stresorů, mezi které můžeme zařadit salinitu, ale vodní deficit již ne.

6.3 Shrnutí

Nelze říci, ke kterému stresoru jsou semena hrachu setého při klíčení náchylnější. Z výsledků pokusu ale můžeme vyčíst, že stres z deficitu vody se u energie a rychlosti klíčení projevil výrazněji. To nejlépe dokládá nulové klíčení nejvyšší koncentrace PEG 6000 (45 mM) i u zbytku měření. Semena ke klíčení potřebují absorbovat určité množství vody, jinak může dojít k jejímu zpomalení, či úplnému zastavení. Pokud není dostatek vody k prolomení dormance a následnému bobtnání, semena nevyklíčí (Procházka a kol., 1998). To nastalo i v tomto případě. Dle mnoha experimentů a studií by klíčivost semen měla být při stresových podmínkách nižší a pomalejší než v optimálních podmínkách, což se u vyšších koncentrací potvrdilo. Klíčivost semen hrachu byla u všech variant velmi podobná. Minimální rozdíly lze přikládat spíše některým nevitálním semenům, která se vyskytovala v pokusu, než že by šlo přímo o reakce semen na různé podmínky variant při klíčení. To lze doložit na maximální klíčivosti u varianty 150 mM NaCl, která byla vystavena vyššímu stresu než varianta 50 mM NaCl, kde došlo jen k 97 % klíčivosti. Kvůli tomu jsou výsledné hodnoty neprůkazné. Stoprocentní klíčivost se předpokládala u variant nevystaveným žádným stresorům (varianty H_2O , H_2O_2 a OMP), kde se tato domněnka potvrdila, a proto jde o průkazná data.

Celkově můžeme konstatovat významný vliv stresu, sucha i zasolení, na klíčení semen hrachu a důležitost pokusů k objevení látek, které by měly pozitivní účinky a snižovaly negativní dopady nepříznivého prostředí. V případě salinity můžeme za účinné látky považovat jak peroxid vodíku (H_2O_2), tak omeprazol (OMP). U deficitu vody lze doporučit spíše H_2O_2 .

7 Závěr

Laboratorním pokusem, při němž byl sledován vliv abiotických stresů sucha a zasolení na klíčení semen hrachu setého (*Pisum sativum*), bylo dosaženo následujících závěrů:

- Potvrdilo se, že vodní deficit i salinita negativně ovlivňovaly klíčení semen a inhibovaly růst sazenic. U většiny zjišťovaných parametrů bylo dosaženo nižších hodnot, než měly varianty v optimálních podmínkách.
- Bylo prokázáno, že se zvyšující koncentrací soli (NaCl) výrazně snižuje délka kořene a nadzemní části, hmotnost FW i DW kořene a nadzemní části. K ovlivnění klíčivosti, energie klíčení a rychlosti klíčení ale nedocházelo.
- Se zvyšujícím deficitem vody pomocí vyšších koncentrací PEG 6000 se ratifikoval efekt snižování klíčivosti, energie klíčení a rychlosti klíčení semen.
- Z pokusu vyplynulo, že větší vliv na klíčení semen hrachu setého má nedostatek vody.
- Jako nejhorší variantu lze s jistotou označit 45 mM PEG. V těchto podmínkách nevyklíčilo žádné semeno, proto všechna sledovaná kritéria dosahovala nulových hodnot.
- Pokud nepočítáme nulové procento varianty 45 mM PEG, tak nejnižší klíčivosti dosahovala varianta 30 mM PEG (96 %), u ní nastala i nejnižší energie klíčení a rychlost klíčení (81,25 %).
- Pokud nepočítáme nulové hodnoty varianty 45 mM PEG, tak měla nejmenší délku kořene a nadzemní části varianta 150 mM NaCl, nejmenší délka nadzemní části se zaznamenala u varianty 30 mM PEG + H₂O₂. Nejnižší hmotnost čerstvé hmoty i sušiny kořene byla u 150 mM NaCl + OMP. Nejnižší hmotnost čerstvé hmoty nadzemní části u 30 mM PEG + OMP. Nejnižší hmotnost sušiny nadzemní části byla u 150 mM NaCl + H₂O₂. Nejvyšší poměr hmotnosti čerstvé hmoty kořene a nadzemní části se nacházel u 30 mM PEG + OMP a nejnižší poměr čerstvé hmoty měla varianta OMP, u které se zaznamenal i nejnižší poměr sušiny. Nejvyšší poměr hmotnosti sušiny kořene a nadzemní části byl u 30 mM PEG.
- Z pokusu s peroxidem vodíku a omeprazolem vyplývá, že měly pozitivní vliv jen na některé parametry u klíčících semen při nepříznivých podmínkách. Z hlediska ošetření semen při zasolení lze konstatovat vhodnost jak H₂O₂, tak OMP. Při nedostatku vody se jevil přijatelnější H₂O₂.
- Ošetření H₂O₂ či OMP při obou stresových podmínkách vedlo ke zhoršení hodnot některých měřených kritérií.
- V pokusu se za optimálních podmínek potvrdily očekávané stimulační účinky H₂O₂ jako pozitivní kontroly.

8 Literatura

- Abass SM, Mohamed HI. 2001. Alleviation of adverse effects of drought stress on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by exogenous application of hydrogen peroxide. *Bangladesh Journal of Botany* **40**:75-83.
- Almodares A, Hadi MR, Dosti B. 2007. Effects of Salt Stress on Germination Percentage and Seedling Growth in Sweet Sorghum Cultivars. *Journal of Biological Sciences* **7**:1492-1495.
- Aniszewski T, Haikonen J, Helwig B, Konert G, Oleksińska Z, Stenman A, Ylinampa T. 2012. Vigor, vitality and seed dormancy of *Avena sativa* cultivars in a long-term experiment. *Journal of Applied Botany and Food Quality* **85**:150-158.
- Aroca R, Porcel R, Ruiz-Lozano JM. 2012. Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions. *Journal of Experimental Botany* **63**:43-57.
- Ashraf MA, Rasheed R, Hussain I, Iqbal M, Haider MZ, Parveen S, Sajid MA. 2014. Hydrogen peroxide modulates antioxidant system and nutrient relation in maize (*Zea mays* L.) under water-deficit conditions. *Archives of Agronomy and Soil Science* **61**:507-523.
- Barba-Espin G, Hernández JA, Diaz-Vivancos P. 2012. Role of H₂O₂ in pea seed germination. *Plant Signaling & Behavior* **7**:193-195.
- Barba-Espin G, Diaz-Vivancos P, Clemente-Moreno MJ, Albacete A, Faize L, Faize M, Pérez-Alfocea F, Hernández JA. 2010. Interaction between hydrogen peroxide and plant hormones during germination and the early growth of pea seedlings. *Plant, Cell & Environment* **33**:981-994.
- Baskin CC, Baskin JM. 2001. *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic press, San Diego.
- Benech-Arnold R, Sánche R. 2004. *Handbook of Seed Physiology: Applications to Agriculture*. CRC Press, USA.
- Bewley JD. 1997. Seed Germination and Dormancy. *The Plant Cell* **9**:1055-1066.
- Bewley JD, Bradford KJ, Hilhorst HWM, Nonogaki H. 2013. *Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy*. Springer, New York.
- Black M, Bradford KJ, Vázquez-Ramos J. 2000. *Seed Biology: Advances and Applications*. CABI Publishing.
- Bláha L, Bocková R, Hnilička F, Hniličková H, Holubec V, Möllerová J, Štolcová J, Zieglerová J. 2003. *Rostlina a stres*. VÚRV, Praha.
- Bonilla I, El-Hamdaoui A, Bolaños L. 2004. Boron and calcium increase *Pisum sativum* seed germination and seedling development under salt stress. *Plant Soil* **267**:97-107.
- Brickell Ch. 2008. *A-Z encyklopedie zahradních rostlin*. Euromedia Group, k.s. – Knižní klub, Praha.

- Carillo P, Raimondi G, Kyriacou MC, Pannico A, El-Nakhel Ch, Cirillo V, Colla G, De Pascale S, Roupael Y. 2019. Morpho-physiological and homeostatic adaptive responses triggered by omeprazole enhance lettuce tolerance to salt stress. *Scientia Horticulturae* **249**:22-30.
- Copeland LO, McDonald MB. 2001. *Principles of Seed Science and Technology*. Springer Science + Business Media, LLC, New York.
- Černohorský Z. 1967. *Základy rostlinné morfologie*. Státní pedagogické nakladatelství, Praha.
- Dash M, Panda SK. 2001. Salt Stress Induced Changes in Growth and Enzyme Activities in Germinating *Phaseolus Mungo* Seeds. *Biologia Plantarum* **44**:587-589.
- De R, Kar RK. 1995. Seed germination and seedling growth of mung bean (*Vigna radiata*) under water stress induced by PEG-6000. *Seed Science and Technology* **23**:301-308.
- Delgado MJ, Ligeró F, Lluch C. 1994. Effects of salt stress on growth and nitrogen fixation by pea, faba-bean, common bean and soybean plants. *Soil Biology and Biochemistry* **26**:371-376.
- Emmerich WE, Hardegree SP. 1997. Polyethylene Glycol Solution Contact Effects on Seed Germination. *Agronomy Journal* **82**:1103-1107.
- Fenner M. 1985. *Seeds Ecology*. Chapman and Hall Ltd, USA.
- Fenner M. 2000. *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*. CABI Publishing, UK Wallingford.
- Finch-Savage W, Leubner-Metzger G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. *New phytologist* **171**:501-523.
- Gallagher RS. 2014. *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*. CABI Publishing, Wallingford.
- Gondim FA, Gomes-Filho E, Lacerda CF, Prisco JT, Azevedo Neto AD, Marques EC. 2010. Pretreatment with H₂O₂ in maize seeds: effects on germination and seedling acclimation to salt stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology* **22**:103-112.
- Graham PH, Vance CP. 2003. Legumes: Importance and Constraints to Greater Use. *Plant Physiology* **131**:872-877.
- Hardegree SP, Emmerich WE. 1994. Seed germination response to polyethylene glycol solution depth. *Seed science and technology* **22**:1-7.
- He L, Gao Z, Li R. 2009. Pretreatment of seed with H₂O₂ enhances drought tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *African Journal of Biotechnology* **8**:6151-6157.
- Hodge G. 2014. *Praktická botanika pro milovníky rostlin*. Grada Publishing, a.s., Praha.
- Hosnedl V. 1997. *Osivo a sadba – sborník referátů ČZU: Význam podmínek množení a deteriorace semen pro kvalitu osiva*. ČZU, Praha.
- Hosnedl V, Honsová H. 2002. Barley seed sensitivity to water stress at germination stage. *Rostlinná výroba* **48**:293-297.

- Hossain MA, Fujita M. 2013. Hydrogen Peroxide Priming Stimulates Drought Tolerance in Mustard (*Brassica juncea* L.) Seedlings. *Plant Gene and Trait* **4**:109-123.
- Houba M, Hosnedl V. 2002. Osivo a sadba: praktické semenářství. Nakladatelství Ing. Martin Sedláček. Praha.
- Chloupek O. 2008. Genetická diverzita, šlechtění a semenářství. Academia, Praha.
- Ishibashi Y, Yamamoto K, Tawaratsumida T, Yuasa T, Iwaya-Inoue M. 2008. Hydrogen peroxide scavenging regulates germination ability during wheat (*Triticum aestivum* L.) seed maturation. *Plant Signaling & Behavior* **3**:183-188.
- Jenks MA, Hasegawa PM. 2005. *Plant Abiotic Stress*. Blackwell Publishing, Oxford.
- Jursík M, Holec J, Hamouz P, Soukup J. 2018. *Biologie a regulace plevelů*. Kurent s.r.o., České Budějovice.
- Kent LM, Läuchli A. 1985. Germination and seedling growth of cotton: salinity-calcium interactions. *Plant, Cell & Environment* **8**:155-159.
- Khalesrou SH, Agra Alikhani M. 2008. Effect of salinity and water deficit stress on seed germination. *Agronomy and horticulture* **20**:153-163.
- Khodarahmpour Z. 2011. Effect of drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) on germination indices in corn (*Zea mays* L.) hybrids. *African Journal of Biotechnology* **10**:18222-18227.
- Kigel J, Galili G. 1995. *Seed Development and Germination*. Taylor & Francis Inc, USA.
- Kvapil M. 2016. Tři předpoklady úspěšného pěstování rostlin ze semínek. *Bio* **1**:10.
- Lambers H, Chapin III FS, Pons TL. 2008. *Plant Physiological Ecology*. Springer, New York.
- Larcher W. 1988. *Fyziologická ekologie rostlin*. Academia, Praha.
- Lhotská M, Kropáč Z. 1985. *Kapesní atlas: Semen / plodů a klíčnicích rostlin*. Státní pedagogické nakladatelství, Praha.
- Li Z, Xu J, Gao Y, Wang Ch, Guo G, Luo Y, Huang Y, Hu W, Sheteiwiy MS, Guan Y, Hu J. 2017. The Synergistic Priming Effect of Exogenous Salicylic Acid and H₂O₂ on Chilling Tolerance Enhancement during Maize (*Zea mays* L.) Seed Germination. *Frontiers in Plant Science* **8**:1153.
- Liang G, Zhou Q, Yan H. 2007. Effect of polyethylene glycol (PEG) on seed germination characteristics of four species of *Festuca*. *Pratacultural Science* **6**.
- Molisch H, Biebl R. 1975. *Botanická pozorování a pokusy s rostlinami bez přístrojů*. Státní pedagogické nakladatelství, Praha.
- Nasri N, Saïdi I, Kaddour R, Lachaâl M. 2015. Effect of Salinity on Germination, Seedling Growth and Acid Phosphatase Activity in Lettuce. *American Journal of Plant Sciences* **6**:57-63.

- Nichols PGH, Malik AI, Stockdale M, Colmer TD. 2008. Salt tolerance and avoidance mechanisms at germination of annual pasture legumes: importance for adaptation to saline environments. *Plant and Soil* **315**:241-255.
- Novák FA. 1981. Velký obrazový atlas rostlin. Artia, Praha.
- Novák J, Skalický M. 2012. Botanika: Cytologie, histologie, organologie a systematika. Powerprint, Praha.
- Ogawa K, Iwabuchi M. 2001. A Mechanism for Promoting the Germination of *Zinnia elegans* Seeds by Hydrogen Peroxide. *Plant and Cell Physiology* **42**:286-291.
- Okçu G, Kaya MD, Atak M. 2005. Effects of Salt and Drought Stresses on Germination and Seedling Growth of Pea (*Pisum sativum* L.). *Turk J Agric For* **29**:237-242.
- Pazourek J, Votrubová O. 1997. Atlas of plant anatomy: Series in Natural History, 3. PERES Publishers, Prague.
- Procházka S, Macháčková I, Krekule J, Šebánek J, a kol. 1998. Fyziologie rostlin. Academia, Praha.
- Rouphael Y, Raimondi G, Lucini L, Carillo P, Kyriacou MC, Colla G, Cirillo V, Pannico A, El-Nakhel C, De Pascale S. 2018. Physiological and Metabolic Responses Triggered by Omeprazole Improve Tomato Plant Tolerance to NaCl Stress. *Frontiers in Plant Science* **9**:249.
- Smýkal P, Vernoud V, Blair MW, Soukup A, Thompson RD. 2014. The role of the testa during development and in establishment of dormancy of the legume seed. *Frontiers in Plant Science* **5**:351.
- Šerá B. 2014. Klíčivost jako běžný test v botanickém pozorování, šlechtění a experimentech. Pages 9-17 in Bláha L, Šerá B, editors. Příspěvky v problematice zemědělského pokusnictví. Publisher: Powerprint, Praha.
- Taiz L, Zeiger E. 2006. *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
- Tsegay BA, Gebreegziabher, B. 2014. The effect of salinity (NaCl) on germination and early seedling growth of *Lathyrus sativus* and *Pisum sativum* var. *abyssinicum*. *African Journal of Plant Science* **85**:225-231.
- Van Oosten MJ, Silletti S, Guida G, Cirillo V, Di Stasio E, Carillo P, Woodrow P, Maggio A, Raimondi G. 2017. A Benzimidazole Proton Pump Inhibitor Increases Growth and Tolerance to Salt Stress in Tomato. *Front Plant Sci.* **8**:1220.
- Wahid A, Perveen M, Gelani S, Basra SMA. 2007. Pretreatment of seed with H₂O₂ improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins. *Journal of Plant Physiology* **164**:283-294.
- Wojtyła Ł, Lechowska K, Kubala S, Garnczarska M. 2016. Different Modes of Hydrogen Peroxide Action During Seed Germination. *Frontiers in Plant Science* **7**:66.

9 Samostatné přílohy

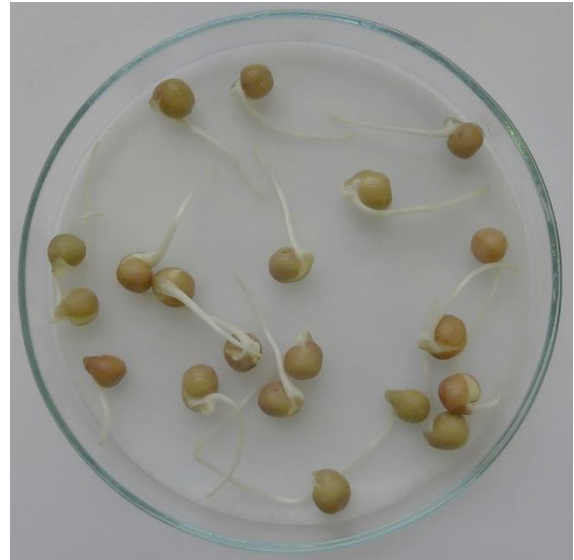
9.1 Fotografie klíčících semen

9.1.1 Varianta H₂O (kontrola)

1. den



2. den



3. den



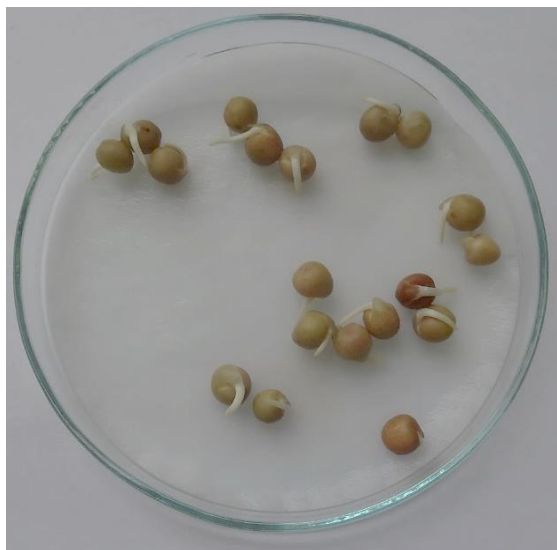
4. den



(zdroj: autor práce).

9.1.2 Varianta H₂O₂ (pozitivní kontrola)

1. den



2. den



3. den



4. den



(zdroj: autor práce).

9.1.3 Varianta OMP

1. den



2. den



3. den



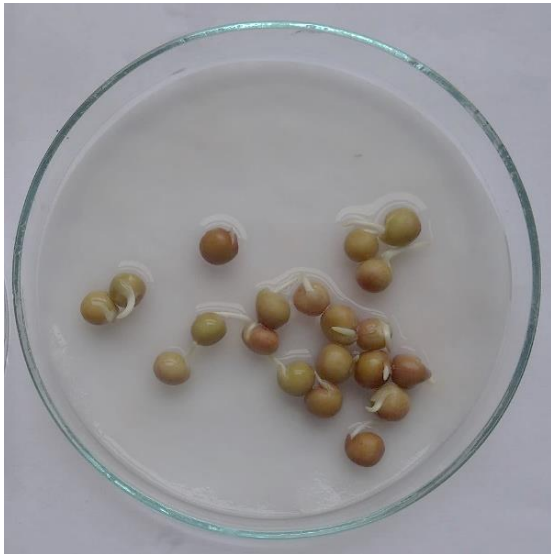
4. den



(zdroj: autor práce).

9.1.4 Varianta 50 mM NaCl + H₂O

1. den



2. den



3. den



4. den



(zdroj: autor práce).

9.1.5 Varianta 100 mM NaCl + H₂O

1. den



2. den



3. den



4. den



(zdroj: autor práce).

9.1.6 Varianta 150 mM NaCl + H₂O

1. den



2. den



3. den



4. den



(zdroj: autor práce).

9.1.7 Varianta 15 mM PEG + H₂O

1. den



2. den



3. den



4. den



(zdroj: autor práce).

9.1.8 Varianta 30 mM PEG + H₂O

1. den



2. den



3. den



4. den



(zdroj: autor práce).

9.1.9 Varianta 45 mM PEG + H₂O

1. den



2. den



3. den



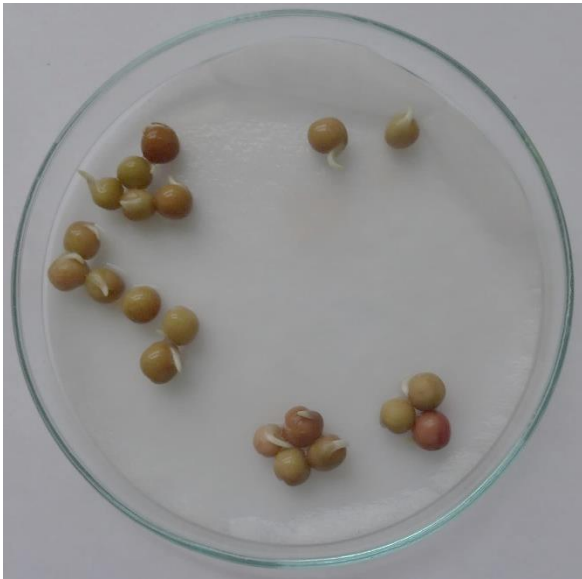
4. den



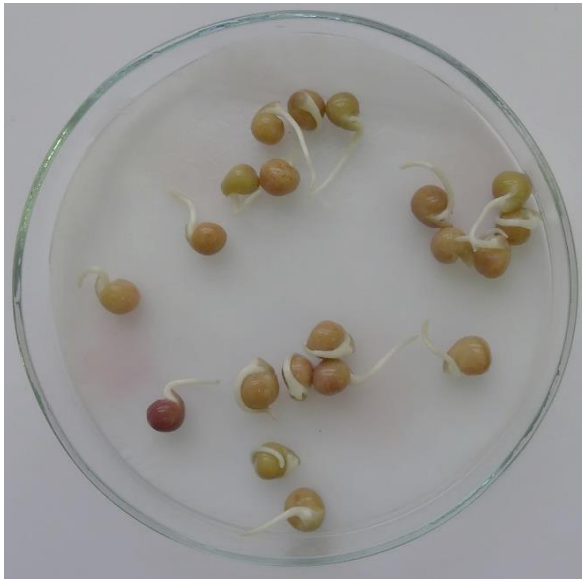
(zdroj: autor práce).

9.1.10 Varianta 150 mM NaCl + H₂O₂

1. den



2. den



3. den



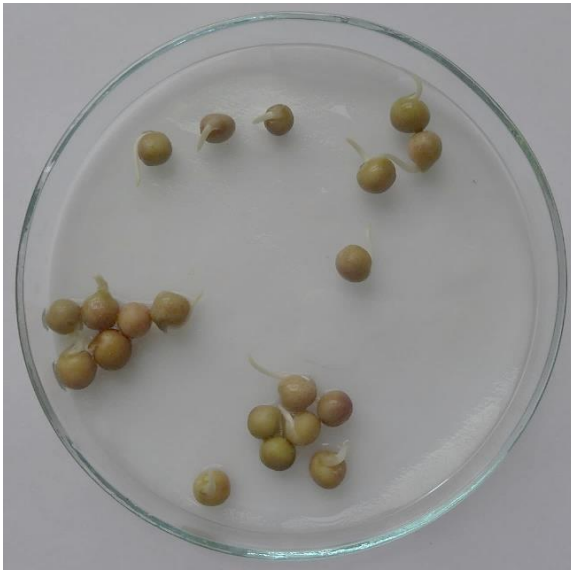
4. den



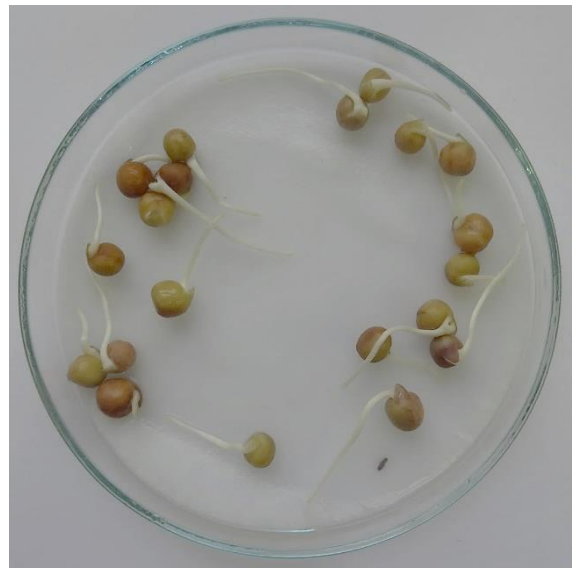
(zdroj: autor práce).

9.1.11 Varianta 30 mM PEG + H₂O₂

1. den



2. den



3. den



4. den



(zdroj: autor práce).

9.1.12 Varianta 150 mM NaCl + OMP

1. den



2. den



3. den



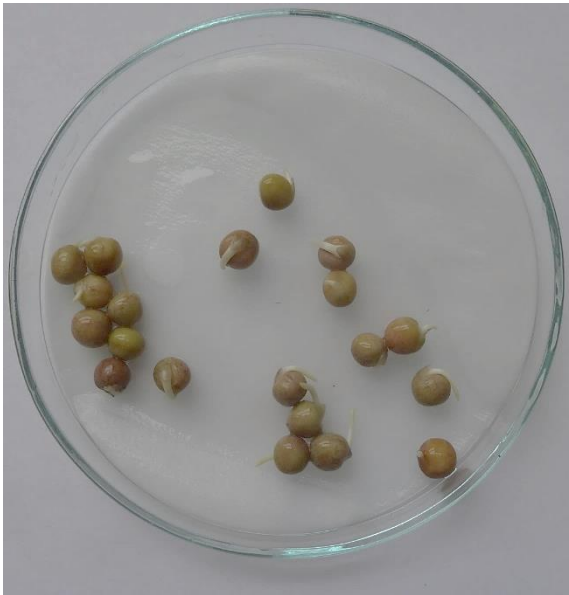
4. den



(zdroj: autor práce).

9.1.13 Varianta 30 mM PEG + OMP

1. den



2. den



3. den



4. den



(zdroj: autor práce).