

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chemie



Stres zasolením u rostlin rodu řepa (*Beta sp.*)

Bakalářská práce

Michaela Krupková

Pěstování rostlin

Ing. Matyáš Orsák, Ph.D.

© 2020 ČZU v Praze

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci " Stres zasolením u rostlin rodu řepa (*Beta sp.*)" 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 17.07.2020

Na tomto místě bych ráda poděkovala především svému vedoucímu bakalářské práce, panu Ing. Matyáši Orsákovi, Ph.D. za užitečné rady, postřehy a strávený čas. Dále patří poděkování také konzultantovi práce, panu doc. Ing. Františkovi Hniličkovi, Ph.D. za pomoc a konzultaci.

Abstrakt

Cílem bakalářské práce bylo popsat a zhodnotit rod řepy a zaměřit se na hospodářsky významné druhy tohoto rodu. Popisovanými druhy byly krmná řepa, cukrová řepa a mangold. Hlavním zaměřením bylo definovat a popsat stres u rostlin se zaměřením na zasolení a popsat fyziologické a biochemické děje, které nastávají při působení stresu. Dále byl zhodnocen stav zasolení půd v ČR a v zahraničí, s poukázáním na zdroj zasolení.

Stres zasolením ovlivňuje řadu dějů v rostlině, například příjem živin a vody, schopnost látky ukládat a syntetizovat, a dokonce i samotný růst a vývoj rostlin budoucí generace.

Ke stanovení iontů Na a K byla použita metoda atomové absorpční spektrometrie (AAS) pro stanovení parametrů stresu. U vybraných vzorků rostlin byla provedena analýza obsahu Na a K. Měření byla provedena v laboratoři České zemědělské univerzity v Praze. Vzorky rostlin byly vysušeny a homogenizovány. Vzniklé sušiny byly zváženy a mineralizovány mokrou cestou v roztoku. Výsledné roztoky byly ředěny a proměřovány na plamenovém spektrometru při použití vhodné vlnové délky pro daný prvek. Získané hodnoty byly zaznamenány v počítači a následně zpracovány a vyhodnoceny.

Z dostupné literatury vyplývá, že existují mezidruhové rozdíly v toleranci vůči zasolení. Bylo pozorováno, že vůči zasolení je nejcitlivější cukrová řepa, dále krmná řepa a nejnižší citlivost vykazuje mangold. Zasolení o vysoké koncentraci obou iontů vede k úhynu u všech testovaných druhů řepy.

Klíčová slova: *sodík, draslík, osmóza, vodní potenciál, závlaha*

Abstract

The main objective of the bachelor thesis is a description and evaluation of Beta genus, in particular, the thesis is dedicated to the substantial agricultural species of the genus. Therefore, mangelwurzel, sugar beet and chard have been described in detail. The research was focused on the definition and description of salinity stress-induced physiological and biological processes. Furthermore, the quantity of induced salinity in the soil in the Czech Republic and foreign countries was discussed. In addition, the source of salinization was presented.

Several processes have been affected by salinity stress, including water and nutrients intake, the capability of storing and synthesizing, as well as plant's growth and development of subsequent generation.

A study of available techniques of salinity stress analysis and Na and K content determination followed. A set of experiments was performed to determine the content of Na and K for representative specimens of given Beta species. The experiments took place in a laboratory in the Czech University of Life Sciences in Prague. The specimens were dried and homogenized. Then the dry matter was weighted and mineralized using the wet mineralization method. Finally, solutions were diluted down and examined via flame emission spectroscopy. Obtained data were saved to the computer and subsequently analyzed.

The available literature shows that there are differences in salinity tolerance between species of Beta. It was observed, that the most sensitive to salinity is sugar beet, followed by mangelwurzel. Chard appears to be the most tolerant to salinity. However, high concentration of salt is lethal to all tested species.

Keywords: *Sodium, Potassium, Osmosis, Water potential, Irrigation*

Obsah

2	Úvod	1
3	Cíl práce.....	2
4	Literární rešerše.....	3
4.1	Charakteristika rodu řepa	3
4.1.1	Historie	3
4.1.2	Obecná charakteristika <i>Beta L.</i> – řepa	3
4.1.3	<i>Beta vulgaris</i> var. <i>crassa</i> Alef. – krmná řepa	4
4.1.4	<i>Beta vulgaris</i> var. <i>altissima</i> Döll – cukrovka, cukrová řepa.....	4
4.1.5	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>cicla</i> (L.) – řepa obecná listová, mangold	4
4.1.6	Původní oblasti pěstování	5
4.1.7	Nároky řepy	5
4.2	Stres.....	6
4.2.1	Stres zasolením	8
4.2.2	Fyziologické příznaky	10
4.2.3	Fyziologické a biochemické mechanismy tolerance solí.....	11
4.2.4	Iontová homeostáza a tolerance solí	11
4.2.5	Kompatibilní akumulace solutu a osmotická ochrana	13
4.2.6	Antioxidační regulace tolerance slanosti	16
4.2.7	Role polyaminů v toleranci slanosti	17
4.2.8	Role oxidu dusnatého v toleranci slanosti	19
4.2.9	Hormonální regulace tolerance slanosti.....	19
4.2.10	Transkripční regulace a genová exprese tolerance slanosti.....	20
4.3	Salinizace půdy.....	20
4.3.1	Zřetelné projevy zasolení pudy.....	21
4.3.2	Stanovení stavu zasolení v půdě	23
4.4	Analýza rostlinné hmoty.....	24
4.4.1	Všeobecné požadavky na analýzy	24
4.4.2	Stanovení hlavních makrobiogenních prvků v rostlinném materiálu	24
4.4.3	Metody měření Na a K	25
4.4.4	Optická emisní spektrometrie s buzením v plazmatu (ICP-OES)	25
4.4.5	Plamenová emisní spektrofotometrie	25
4.4.6	Potenciometrie	26
4.4.7	Iontové selektivní měření (ISE).....	26
4.4.8	Přímá konduktometrie	27
4.4.9	Atomová absorpční spektrometrie (AAS)	27
5	Materiál a metody	29

5.1	Charakteristika pokusného materiálu	29
5.2	Materiál použitý k měření	29
5.3	Příprava vzorku	30
5.4	Měření	30
6	Výsledky	31
6.1	Obsah Na a K v rostlinách.....	31
7	Závěr.....	33
8	Literatura.....	35

Seznam použitých zkratek

Zkratka	Popis
AAS	Atomová absorpční spektrometrie
ABA	Kyselina abscisová
ADC	Arginin dekarboxylázy
APX	Askorbát peroxidáza
ATP	Adenosintrifosfát
BADH	Betainaldehyddehydrogenázou
BR	Brassinosteroidy
CAT	Kataláza
DMSP	Dimethylsulfonyopropionát
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
FAD	Flavinadenindinukleotid
FAES	Plamenová emisní spektrofotometrie
FP	Plamenová fotometrie
GPX	Glutathionperoxidáza
GR	Glutathion reduktáza
GSMT	Glycin-sarkosin-N-methyltransferáza
GSNO	S-Nitrosoglutathion
HKT	Histidinkinázový transportér
ICP-OES	Optická emisní spektrometrie s buzením v plazmatu
ISE	Iontové selektivní měření
MDA	Malondialdehydu
NADPH	Nikotinamidadenindinukleotidfosfát
ODC	Ornithin dekarboxylázy

Zkratka	Popis
PUT	Diamin putrescin
RNA	Ribonukleová kyselina
ROS	Reaktivní druhy kyslíku (Reactive oxygen species)
SA	Kyselina salicylová
SDMT	Sarkosin-dimethylglycin-N-methyltransferáza
SOD	Superoxiddismutáza
SPD	Triaminový spermidin
SPDS	Spermidin syntáza
SPM	Tetraaminový spermin
SPMS	Spermin syntáza

Seznam použitých fyzikálních veličin

c	Koncentrace	mg/kg
G	Vodivost	siemens
m	Hmotnost	kg
R	Elektrický odpor	Ω
U	Elektrické napětí	V
λ	Vlnová délka	nm

Seznam tabulek

Tab. 1: Množství živin potřebné na produkci 1 t bulev	6
Tab. 2: Podíl půdy zasažené zasolením	21
Tab. 3: Dobrovická A, série 5.....	31
Tab. 4: Hako, série 7.....	31
Tab. 5: Mangold, série 4.....	31

Seznam obrázků

Obr. 1: Schematické shrnutí stresu, za podmínek růstu s vysokou slaností	10
Obr. 2: Model stresové reakce	12
Obr. 3: Pohyb látek v buňce	14
Obr. 4: Výskyt zasolení (sodifikace)	22
Obr. 5: Schéma plamenového atomového spektrometru	28

1 Úvod

Zemědělská produkce je zcela závislá na kvalitě a ploše půd, avšak je závažně ohrožena. Zasolení je jedním z problémů dnešní doby, kdy je velká nouze o vodu a je pro zemědělství využívána voda z druhovýroby, brakická, přečišťovaná voda či voda z čistíren odpadních vod, která má vysoký obsah solí.

Globálně denně mizí nespočetné plochy využitelné půdy v důsledku zasolení. Salinizace (zasolení) má nedozírné následky na vývoj rostlin. V oblastech s vysokou salinizací se dají pěstovat tzv. halofytní rostliny, které jsou tolerantní k zasolení na rozdíl od tzv. glikofitním rostlinám kam patří většina zemědělských plodin. Tento fakt výrazně omezuje možnost zemědělské produkce.

Rod řepa je původně plodina z přímořské oblasti a její fyziologické vlastnosti umožňují zvládat určitou míru zasolení. Tato plodina je významná jako krmná plodina, zelenina, zdroj cukru a surovina pro výrobu lihu.

Tato bakalářská práce se zabývá zhodnocením 3 druhů rodu řepa (krmná řepa, cukrová řepa a mangold) a seznámením se s metodikami pro stanovení parametrů stresu a stanovení obsahu prvků Na a K.

2 Cíl práce

Salinita má negativní vliv na fyziologické projevy; tj. schopnosti příjmu živin, vody a rovněž na snižování výnosu. Je jedním z nejvýznamnějších rostlinných stresů omezujících produktivitu plodin. Díky nedostatku srážek a využití brakické vody v zavlažovacích systémech je celosvětově více než 45 milionů hektarů půd poškozeno a přibližně 1,5 milionů hektarů nelze použít k rostlinné produkci. Rod beta je původně z přímořských oblastí, a proto je předpokládáno, že je tolerantní vůči zasolení. Na základě těchto skutečností byly stanoveny následující cíle práce:

1. Zhodnotit botanický rod řepa (*Beta* sp.) a zaměřit se na hospodářsky významné druhy tohoto rodu.
2. Popsat fyziologii a biochemii stresu u rostlin.
3. Seznámit se s metodikami pro stanovení parametrů stresu a prvků Na a K, u vybraných vzorků rostlin provést analýzy na obsahy Na a K.

3 Literární rešerše

3.1 Charakteristika rodu řepa

3.1.1 Historie

Řepa byla známa jako kulturní rostlina nejméně 100 let před n. l. Již v antických dobách se pěstovala jako pícnina, zelenina i jako lékařská rostlina. Byla přivážena ze Sicílie a do českých zemí se dostala z Burgundska, kde byla pěstována jako krmivo pro zvířata. (Šimon et al. 1964).

Jako pícnina byla řepa u nás známa již v době trojhonného hospodářství v 17. a 18. století. V Rusku je řepa uváděna jako pokrm ve 14. století. Vlastenecká hospodářská společnost vydala v Praze r. 1770 pokyny k pěstování této nové pícniny, zaváděné tehdy do zemědělství u nás. (Stehlík et al. 1956).

V řepě objevil sladkost Francouz Olivier de Serres roku 1605. Avšak teprve roku 1796 se datuje první pokus výroby cukru z řepy ve velkém. Cukrovka jako technická plodina začala být využívána asi před 200 lety (Dudek 1993).

3.1.2 Obecná charakteristika *Beta L.* – řepa

Je obecně známé, že existují významné rozdíly v toleranci k zasolení mezi plodinami. Rod řepa obsahuje mnoho skupin druhů, které se liší tolerancí, a to i mezi jednotlivými genotypy stejného druhu (Bor et al. 2003; Marschner et al. 1981). Podle White et al. (2017) je tento rod zařazován do čeledi Amaranthaceae (laskavcovité). Zástupci této čeledě se vyznačují variabilitou v kapacitě přijímání nebo vylučování draslíku a sodíku.

Rostliny jsou charakteristické tím, že jsou lysé nebo řídce chlupaté se silným křovitým větveným nebo nevětveným kořenem nebo kořenovou bulvou. Lodyha je přímá a bohatě větvená. Přízemní listy jsou dlouze řapíkaté a často zvlněné, lodyžní krátce řapíkaté až přisedlé, přecházející v listeny. Květy mají oboupohlavné, se 2 malými listenci nebo bez nich, jednotlivé nebo v klubíčkách po 2-4(-8), která skládají bohatá složená květenství neboli laty lichoklasů. Okvětí je bylinné, zelenavé nebo korunovité, žlutobílé, 5cípé. Tyčinek mají 5, nitky jsou na bázi splývající ve žláznatý val, semeník je polospodní, 3boký se 2-3(-5) přisedlými bliznami. Nažka je horizontální se zcela uzavřeným ztvrdlým okvětím, které je pevně spojeno s oplodím, na vrcholu oplodí odstává a tvoří jakési víčko. Plody v klubíčku jsou navzájem bázemi spojené, takže opadávají vcelku jako plodenství. Zárodek je podkovovitě až kruhovitě zakřivený. Rod řepa zahrnuje důležité kultivary jako cukrová řepa, krmná řepa, červená řepa nebo mangold (Hejný & Slavík 2003).

Plané rostoucí druhy, jako například *Beta maritima L.*, se velmi dobře přizpůsobily životu v podmínkách, které jsou pro jiné rostliny nehostinné (Marschner et al. 1981). Rod řepa zahrnuje jednoleté až vytrvalé byliny, které jsou rozšířeny od Kapverdských a Kanárských ostrovů přes z. a sz. Evropu, Středozeší a Přední Asii do Střední Asie a Indie

3.1.3 *Beta vulgaris* var. *crassa* Alef. – krmná řepa

Krmná řepa má bulvy s význačnou hypokotylní partií, takže značná část bulvy je nad zemí, v době sklizně až přes jednu polovinu. Bulvy jsou široce vřetenovité, válcovité nebo téměř kulovité, s vnější vrstvou žlutou nebo načervenalou, dužinou žlutou, oranžovou nebo načervenalou. Dnes se využívá jako krmivo pro dobytek. Tato řepa je pěstována od 1. poloviny 18. stol., a to nejdříve z Porýní, odkud se rozšířila do dalších evropských zemí. Nejčastěji pěstované odrůdy jsou cv. Kostelecká barres a cv. Bučiansky žlutý válec, cv. Hako, cv. Triga, cv. Bara, cv. Gaja, cv. Media aj (Hejný & Slavík 2003). Krmná řepa má vysokou produkční schopnost. Obsahuje do 1,2 % dusíkatých látek, velmi nízký obsah vlákniny a vysoký obsah cukru (do 10 %). Je velmi ceněna i pro obsah vitaminů a příznivé dietetické účinky. Krmná řepa má široký areál pěstování, vyžaduje však minimálně 600 mm srážek ročně. Přechodné a objemové typy snášejí spíše vlhčí a chladnější oblasti v bramborařském výrobním typu, polocukrovky vyžadují hlubší, hlinité půdy s neutrální reakcí. (Šroller 1993)

3.1.4 *Beta vulgaris* var. *altissima* Döll – cukrovka, cukrová řepa

Cukrová řepa vznikla ze starších typů krmných řep s bílou bulvou (tzv. bílá slezská řepa) šlechtěním především na velikost bulev a cukernatost. Se šlechtěním cukrovky se začínalo přibližně na přelomu 18. a 19. stol., je tedy nejmladší z hlavních zemědělských plodin (Hejný & Slavík 2003).

Vyznačuje se bulvou většinou kuželovitou, značně dolů protaženou, která vyčnívá jen málo nad povrch a má nažloutlou vnější vrstvu („kůru“) a bílou dužinu. Pěstuje se ve velkém měřítku v polních kulturách především jako surovina pro výrobu cukru. Je to celosvětově druhý nejdůležitější zdroj cukru po cukrové třtině. Bulvy cukrovky obsahují nejčastěji 15-18 % sacharózy. Nadzemní části (listy a hlava bulvy) se užívaly jako krmivo pro dobytek (Hejný & Slavík 2003).

V raných fázích vývoje je citlivá k zasolení. Její částečně halofytní charakter limituje její kultivaci v zasoleném prostředí. Cukrová řepa je však tolerantní do určitých hladin zasolení. Cukrová řepa může růst lépe v mírných koncentracích NaCl, než při absenci Na. Ve vyšších koncentracích nad 150 mM NaCl je růst zpomalen až zastaven (Bor et al. 2003; Ghoulam et al. 2002; Ober & Rajabi 2010; Dadkhah 2011).

3.1.5 *Beta vulgaris* subsp. *cicla* (L.) – řepa obecná listová, mangold

Řepa obecná listová, také známá jako mangold má kulový, nevýrazně ztloustlý kořen, často větvený. Přízemní listy často kadeřavé, s řapíkem silným, dužnatým. Pěstuje se pro listy, které jsou užívané jako špenátová zelenina (mangold, cvikla). Listy obsahují kromě vitamínu C a karotenu značné množství minerálních látek a betain. V kultuře starověku byl mangold nejstarším typem pěstovaných řep. (Hejný & Slavík 2003)

Podle Ghoulam et al. 2002 je mangold řazen mezi halofyty, vykazuje zvýšený růst v prostředí mírného zasolení, což ústí v akumulaci velkého množství Na⁺ v jejich pletivech. Ve

slaném prostředí mangold vykazuje osmotické změny a akumulaci prolinu a anorganických iontů. Kaburagi et al. (2014) uvádí, že je mangold v hydroponickém prostředí pod 80 mM NaCl stimulován k rychlosti růstu až na 146 % oproti nulovému zasolení. Obsah prolinu v alkalickém prostředí je podle Saneoka et al. (1995) vyšší v listech, což způsobuje zpomalení růstu, zatímco obsah glycinbetainu je větší v listech v zasoleném prostředí než v alkalickém prostředí (Dadkhah 2011).

3.1.6 Původní oblasti pěstování

Řepa má původ ve Středozeří, kde se vyskytuje planě rostoucí druh řepa přímořská (*Beta vulgaris* ssp. *maritima*). V současné době je v Evropě rozšířena v přímořských oblastech nejen ve středomoří, ale i na pobřeží Atlantického oceánu a Severního a Baltského moře. Řepa přímořská se používala při šlechtění kulturních odrůd a snadno se kříží s kulturními formami rodu *Beta* – řepa (*B. vulgaris* ssp. *vulgaris* var. *altissima* – cukrovka, *B. vulgaris* ssp. *vulgaris* var. *crassa* – krmná řepa, *B. vulgaris* ssp. *vulgaris* var. *vulgaris* LAIN et DC. – červená salátová řepa, *B. vulgaris* ssp. *cicla* (L.) Schübler et Martens – mangold, cvikla). Na americkém kontinentu má planě rostoucí řepa genetický původ kromě řepy přímořské ještě v druhu *Beta macrocarpa* GUSSONE, který má svůj původ v zavlažovaných oblastech v Maroku. Vzhledem k samosprašnosti však vykazuje nižší alelickou diverzitu než převážně cizosprašná *Beta vulgaris* (Soukup et al. 2002).

3.1.7 Nároky řepy

Zemědělská výrobní oblast řepařská, je území se zaměřením na pěstování řepy a obilí. Jde o oblast teplou až mírně teplou, suchou až mírně vlhkou s průměrnou roční teplotou 8-9°C a pravděpodobností výskytu suchých vegetačních období 10-60 %. Nadmořská výška se pohybuje zejména mezi 250–350 m. n. m. Je zde celková převaha hnědozemního a černozemního půdního typu, většinou na spraších a nivní půdy na nivních uloženinách. Zrnitostní složení půdy je většinou hlinité. Reliéf má charakter rovinný s nízkou lesnatostí. Na celkové výměře zemědělské půdy v ČR se oblast podílí 34 %.

Řepy patří k intenzivním plodinám s vysokým asimilačním efektem. Během vegetace vytváří velké množství biomasy s vysokým obsahem energeticky bohatých látek. Mají poměrně dobrou osvojovací schopnost pro živiny. Úspěšně se pěstují v příznivých polohách republiky (nížinné oblasti). V posledních letech se podstatně zvýšila kvalita pěstované řepy, ale zároveň se omezila plocha jejího pěstování.

Kvalita struktury řepy je tvořena počtem jedinců (bulev) na jednotce plochy, hmotností bulév, pro řepu cukrovou obsahem sacharózy v bulvách a u zeleninových typů řep množstvím listové plochy.

Podle současných sledování potřebuje řepa na produkci 1 tuny bulév a odpovídajícího množství chrástu množství živin, jak je uvedeno v tab. 1.

Řepa má vysoké nároky na draslík, dovede však využívat i méně přijatelný draslík z půdy. Pro hnojení draslíkem je možné využívat chloridová hnojiva s obsahem draslíku a sodíku. (Vaněk et al. 2016)

Tab. 1: Množství živin potřebné na produkci 1 t bulev

Prvek	N	P	K	Ca	Mg	Na
Hmotnost [kg]	3,9	0,5	4,8	2	0,8	0,9

3.2 Stres

Stres je definice stavu, ve kterém se rostlina nachází pod vlivem stresorů. Stres ovlivňuje celou rostlinu, a to jak kořeny, tak nadzemní část, ale i vyvíjející se semena (Nilsen et al. 1996).

U rostlin se mluví o abiotickém nebo biotickém stresu. Biotický stres souvisí se živými organismy. Patří zde například stres vyvolaný patogenem, různými houbovými nebo virovými chorobami, hmyzem, hlodavci atd.

Abiotický stres je takový, který přímo nesouvisí se živými organismy. Patří sem například stres z nedostatku světla, vody nebo kyslíku, nebo z nadbytku světla, stres vyvolaný vysokou nebo nízkou teplotou, nebo mechanický stres, námrazy, vítr, sucho, atd. (Procházka et al 1998)

Stresory ovlivňují růst rostliny, její rozvoj a spouštějí celou řadu reakcí, od pozměněné exprese genů, po modifikace v buněčném metabolismu nebo změny v rychlosti růstu a výnosu. U rostlin mohou být stresorem například nadbytek závlivky nebo naopak nedostatek vody, nedostatek živin, příliš vysoký sluneční svit, nízké teploty, střídání teplot, nedostatek světla, nebo napadení škůdci a chorobami. Jednotlivé druhy stresu se spolu často kombinují (Kacperska 2004).

Rostlina reaguje specificky na kombinaci abiotických stresorů. Následná reakce rostliny se liší oproti stavu, kdy na rostlinu působí stresory jednotlivě. Abiotický stres jako je sucho, zasolení, extrémní teploty, chemické znečištění a oxidační stres jsou primární celosvětovou příčinou snížení výnosu o více než 50 %. Sucho, zasolení, extrémní teploty a oxidační stres jsou vzájemně propojeny a mohou způsobovat identická buněčná poškození. Například sucho anebo zasolení se projevují primárně osmotickým stresem. Spousta zemí je ohrožena zasolením a suchem, přičemž výrazný nárůst zasolení může postihnout do roku 2050 až 50 % veškeré úrodné půdy (Mittler 2006).

Rostliny mají schopnost vykonávat své životní funkce i za poměrně výrazného kolísání podmínek vnějšího prostředí, tato schopnost je označována jako tolerance rostliny. Pokud proměnlivost negativních podmínek vnějšího prostředí překročí určitou hranici, začnou se postupně projevovat poruchy struktur jednotlivých funkcí a následně i orgánů rostliny.

Při působení stresorů může rostlina dosáhnout nového rovnovážného stavu na základě činnosti kompenzačních procesů. Rostliny jsou před vystavením stresoru v určitém standardním fyziologickém stavu, který je optimem v rámci limitů stanovených růstem, světlem, vodou a živinami dané lokality. Pokud rostlina nezvládne vliv stresorů, může dojít až k uhynutí rostliny (Munné-Bosch 2005).

Stresory a jiné komplexní stresové události vedou k první ze čtyř fází stresové reakce. Tyto fáze jsou reakční fáze (poplachová fáze), restituční fáze (fáze rezistence), konečná fáze (fáze vyčerpání) a regenerační fáze. Jakmile začnou působit stresory či kombinace stresorů rostliny jako obranou reakci začnou omezovat jednu, nebo více fyziologických funkcí, jako je transport metabolitů, výkon fotosyntézy, příjem a translokace iontů a začne poplachová fáze. (Lichtenthaler 1998)

Pokud působení stresoru nepřekročí letální mez, spustí se kompenzační mechanismy. Tento děj se nazývá restituční fáze. Kompenzační mechanismy přispívají ke zvýšení odolnosti rostliny ve fázi rezistence vůči působícím stresorům. Při dlouhodobém a intenzivním vlivu stresových faktorů nemusí být zvýšená odolnost rostliny trvalá a může dojít opět k jejímu poklesu na fázi vyčerpání (Larcher 2003). Po odstranění stresoru vznikne nový fyziologický standard, ten se odvíjí od doby vytrvání jeho působení a stejně tak délce a intenzitě působení stresoru (Lichtenthaler 1998).

Podle McKersie & Lesheim (1994) je výsledkem stresové reakce určitá úroveň adaptační schopnosti. Krátkodobě se může zvýšit i míra odolnosti vůči jiným abiotickým stresorům. Pokud se tolerance zvýší v reakci na předchozí vystavení stresorem, dojde k aklimaci rostliny. Tu lze odlišit od adaptace tím, že adaptace je geneticky determinovaná úroveň rezistence, získaná procesem selekce v průběhu mnoha generací. Mnoho rostlinných druhů má schopnost se vyhnout působení stresů. Například u *Thellungiella salsuginea*, slouží bulva jako odkladiště Na^+ iontů, čímž zamezuje akumulaci Na^+ iontů v bočních kořenech a mladých listech. Většinou se však rostlina snaží o nastolení tolerance vůči stresu (Yordanov et al. 2000).

Negativní biologické, fyzikální a chemické vlivy vnějšího prostředí se mohou uplatňovat vnitrodruhově mezi rostlinami stejného druhu nebo mezidruhově mezi rostlinou a ostatními organismy, především viry, bakteriemi, houbami, hmyzem, jinými rostlinnými druhy, vyššími živočichy a člověkem (Lichtenthaler 1998).

Chlad nebo teplo snižují odolnost rostlin k biotickým stresorům. Kombinace stresorů vede k výraznému snížení biomasy a snížení schopností rostliny bránit se patogenům. (Atkinson & Urwin 201; Suzuki et al. 2014).

Sucho negativně ovlivňuje opylení tím, že se sníží počet pylových zrn, čímž se rostlina stává mnohem méně atraktivní pro opylovače a sníží se množství nektaru produkovaného rostlinou. Následně se tím sníží počet semen. Výsledkem je pak oslabená rostlina, produkující méně kvalitní semena (Alqudah et al. 2011).

Stresory nepřímo ovlivňují životní pochody rostlin budoucí generace, přestože již původní negativní vlivy přímo nepůsobí. Alscher et al. (1997) se domnívá, že negativní efekt různých environmentálních stresorů je částečně způsoben tvorbou reaktivních forem kyslíku anebo inhibicí systému, který chrání rostlinu proti nim. Reaktivní formy kyslíku jsou produkovány v průběhu aerobního metabolismu způsobené interakcí O_2 a elektronů které unikají z řetězce elektronového transportu v chloroplastech a mitochondriích (Alscher et al. 1997).

Reaktivní formy kyslíku zahrnují singletový kyslík a superoxidový anion (O_2^-), peroxid vodíku (H_2O_2) a samotný kyslík (O_2). Superoxidový radikál je produkován na membránové úrovni ve většině organel rostlinné buňky a peroxid vodíku je produkt superoxidodismutázy a několika oxidáz peroxizomů. Úloha těchto látek ve stresovaných rostlinách je rozmanitá (Thompson et al. 1987).

Antioxidační enzymy a jejich role ve stresové reakci není zcela objasněna. Stres zasolením způsobuje stavy oxidativního stresu, který byl popsán u *Triticum durum* (Meneguzzo et al. 1999).

Vliv stresorů působí na celou rostlinu a stejně tak i na kořenový systém. V nepříznivých podmínkách u kořenového systému dochází ke změnám v příjmu živin. Z nadzemních částí rostliny se přesouvají zásobní látky, které pak jsou využívány k tvorbě nových kořenů. Podle typu stresoru se mění i jednotlivé znaky kořenů, které jsou typické pro daný rostlinný druh. V závislosti na fenotypové plasticitě, rostliny mohou měnit stavbu kořenového systému a směr růstu kořenů, aby se vyhnuly místu s vysokou koncentrací soli (Galvan-Ampudia et al. 2011).

3.2.1 Stres zasolením

Zasolení je hlavním abiotickým stresem omezujícím růst a produktivitu rostlin v mnoha oblastech světa. Hlavní výzvou pro světové zemědělství je produkce o 70 % více potravinářské plodiny pro další 2,3 miliardy lidí do roku 2050 po celém světě (FAO 2009).

Slanost je hlavním stresem omezujícím nárůst poptávky po potravinářských plodinách. Rostliny na základě adaptivního vývoje lze zhruba rozdělit do dvou hlavních typů: halofyty (které odolávají slanosti) a glykofyty (které nemohou odolávat slanosti a nakonec zemřít). Většina hlavních druhů plodin patří do druhé kategorie. Salinita je jedním z nejvýznamnějších environmentálních stresů, které brání produktivitě plodin na celém světě (Flowers 2004, Munns et al. 2008).

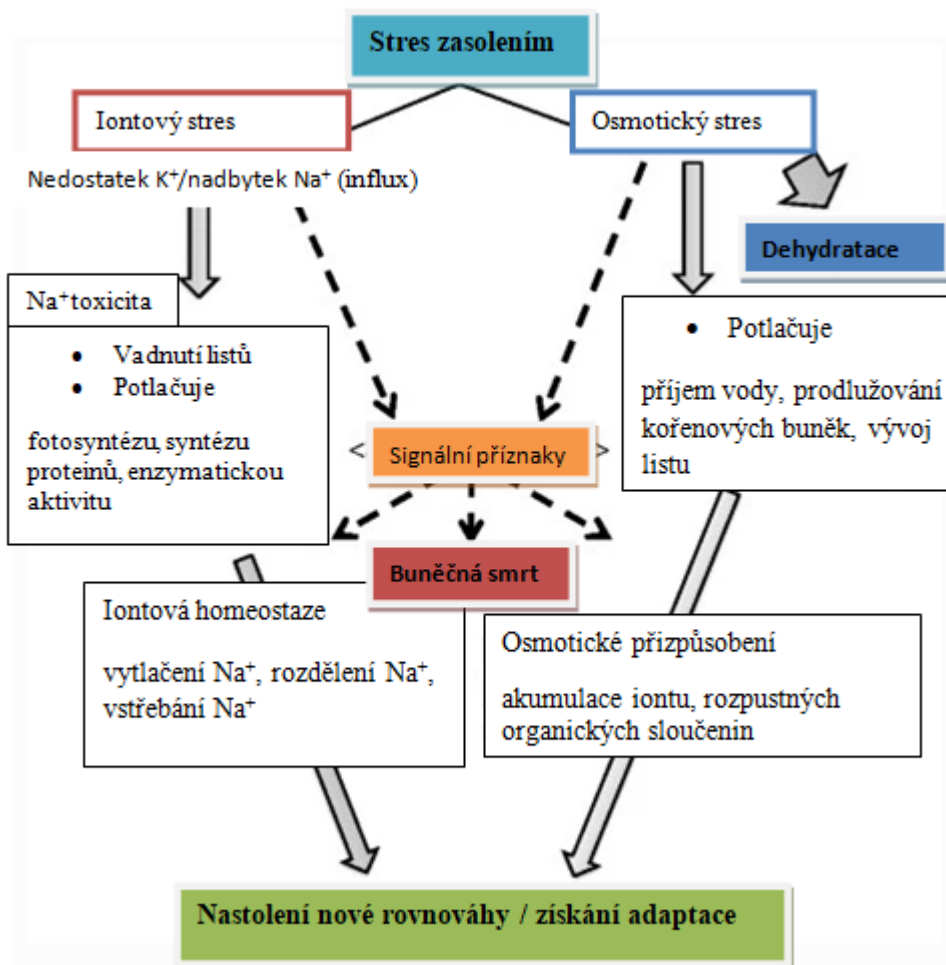
Stres zasolením zahrnuje změny v různých fyziologických a metabolických procesech v závislosti na závažnosti a trvání stresu, rovněž inhibuje produkci plodin. Zpočátku je známo, že salinita půdy potlačuje růst rostlin ve formě osmotického stresu, po kterém následuje iontová toxicita. Během počátečních fází slaného stresu absorpční kapacita kořenových systémů absorbuje vodu. Paralelně se zrychluje ztráta vody z listů v důsledku

osmotického stresu s vysokou akumulací soli v půdě a rostlinách. Slaný stres je proto také považován za hyperosmotický stres (Mahajan 2005).

Osmotický stres v počátečním stádiu salinického stresu způsobuje různé fyziologické změny, jako je narušení membrán, nutriční nerovnováha, zhoršení schopnosti detoxikace reaktivních druhů kyslíku (ROS), změny v tvorbě antioxidantních enzymů, snížení fotosyntetické aktivity a uzavření stomatálních průduchů (Apel 2004).

Jedním z nejškodlivějších účinků slaného stresu je akumulace iontů Na^+ a Cl^- ve tkáních rostlin rostoucích v půdě s vysokou koncentrací NaCl . Vstup Na^+ a Cl^- do buněk způsobuje závažnou iontovou nerovnováhu, a nadměrný příjem může způsobit významné fyziologické poruchy. Vysoká koncentrace Na^+ inhibuje příjem iontů K^+ , což je nezbytný prvek pro růst a vývoj. To vede k nižší produktivitě, a může dokonce vést k úhynu. V reakci na slanost se zvyšuje produkce ROS, jako je singletový kyslík, superoxid, hydroxylový radikál a peroxid vodíku. Tvorba ROS vyvolaná salinitou může vést k oxidačnímu poškození v různých buněčných složkách, jako jsou proteiny, lipidy a DNA, což narušuje životně důležité buněčné funkce rostlin (Ahmad et al. 2012).

Existují genetické odchylky ve snášenlivosti solí a míra snášenlivosti solí se liší podle druhů rostlin a odrůd v rámci druhu. Z hlavních plodin vykazuje ječmen (*Hordeum vulgare*) vyšší stupeň tolerance vůči solím než rýže (*Oryza sativa*) a pšenice (*Triticum aestivum*). Stupeň variace je ještě výraznější v případě dvouděložných rostlin z čeledi *Fabaceae*, která je velmi citlivá na slanost, až po halofyty, jako je *Atriplex sp.* *Medicago sativa* (Munns 2008, Flowers 2008). V posledních dvou desetiletích bylo provedeno velké množství výzkumu s cílem porozumět mechanismu tolerance solí v modelové rostlině *Arabidopsis* (Zhang 2014). Genetické variace a rozdílné reakce na slanost v rostlinách lišících se ve stresové toleranci umožňují rostlinným biologům identifikovat fyziologické mechanismy, sady genů a genové produkty, které se podílejí na zvyšování tolerance stresu a začlenit je do vhodného druhu, aby poskytly odrůdy tolerantní vůči soli. (Gupta et al. 2014)



Obr. 1: Schematické shrnutí stresu, za podmínek růstu s vysokou slaností (Horie et al. 2012)

3.2.2 Fyziologické příznaky

Příznaky poškození solemi jsou podobné, jako při výživových nedostatcích. Snižuje se intenzita růstu rostlin, listů je méně, oproti normálu jsou malé a uvadají, také se mění jejich barva. Kořeny rostou méně, je malá násada květů a tím zapříčiněný snížený počet plodů. Vysoké koncentrace sodíku a chloru se hromadí v listech a způsobují jejich popálení (Shannon & Grieve 1998).

Zasolení ale nemusí mít na plodiny jen negativní účinky. Například u špenátu (*Spinacia oleracea*) mohou být jeho výnosy zpočátku zvýšeny při nízkém až středním zasolení. Soli v půdě mohou také zvyšovat obsah cukrů v mrkvi, v bramborách snižují obsah škrobu. Hlávky zelí jsou při nízkých hodnotách zasolení pevnější, ale se zvyšováním úrovně zasolení se hlávky stávají méně kompaktními (Shannon & Grieve 1998)

3.2.3 Fyziologické a biochemické mechanismy tolerance solí

Rostliny vyvíjejí různé fyziologické a biochemické mechanismy, aby přežily v půdách s vysokou koncentrací solí. Mezi základní mechanismy patří (ale nejsou na ně omezeny): iontová homeostáze a kompartmentalizace, transport iontů a absorpce, biosyntéza osmoprotektantů a kompatibilních solutů, aktivace antioxidantních enzymů a syntéza antioxidantních sloučenin, syntéza polyaminů, tvorba oxidu dusnatého (NO) a hormonální modulace (Gupta et al. 2014).

3.2.4 Iontová homeostáza a tolerance solí

Udržování homeostázy iontů vychytáváním iontů a kompartmentalizací je rozhodující nejen pro normální růst rostlin, ale je také nezbytným procesem růstu během stresu solí (Serrano et al. 1999). Bez ohledu na jejich povahu nemohou glykofyty a halofyty tolerovat vysokou koncentraci solí v cytoplazmě. Proto je přebytek soli buď transportován do vakuoly, nebo sekvestrován ve starších tkáních, které nakonec odumřou, čímž chrání rostlinu před stresem slanosti (Zhu 2003, Reddy et al. 1992).

Hlavní formou soli přítomné v půdě je NaCl, takže hlavním cílem v je studium transportního mechanismu iontů Na^+ a jeho kompartmentalizace. Na^+ ion, který vstupuje do cytoplazmy, je poté transportován do vakuoly pomocí Na^+/H^+ antiportu.

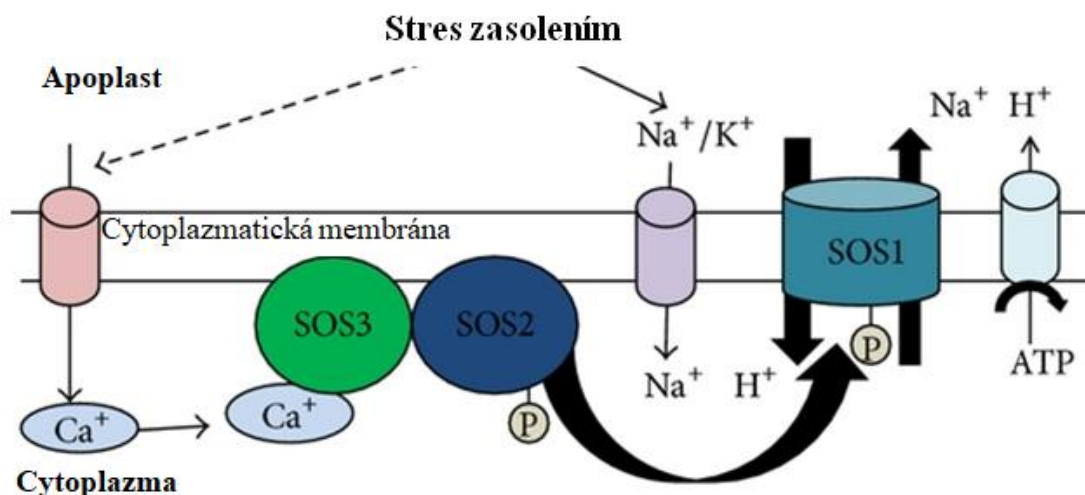
Ve vakuolární membráně jsou přítomny dva typy pump H^+ : vakuolární typ H^+ -ATPázy (V-ATPáza) a vakuolární pyrofosfatáza (V-PPáza). Z nich je V-ATPáza nejvíce dominantní H^+ pumpy přítomné v rostlinné buňce. Za nestresových podmínek hraje důležitou roli při udržování homeostázy solutu, povzbuzuje sekundární transport a usnadňuje fúzi vezikul. Ve stresových podmínkách závisí přežití rostliny na aktivitě V-ATPázy (Dietz et al. 2001). Ve studii provedené De Lourdes et al. (2001) u hypokotylů sazenic *Vigna unguiculata* bylo pozorováno, že aktivita pumpy V-ATPáza se při vystavení stresu slanosti zvýšila, ale za podobných podmínek byla aktivita V-PPázy inhibována, zatímco v případě halofytu *Suaeda salsa*, V-ATPázová aktivita byla navýšena a V-PPáza hrála menší roli (Wang et al. 2001).

Rostoucí důkazy prokazují roli signální dráhy stresu SOS při homeostázi iontů a snášenlivosti solí. Signální dráha SOS (obrázek 2.) se skládá ze tří hlavních proteinů, SOS1, SOS2 a SOS3. *SOS1*, který kóduje anti- Na^+/H^+ port na plazmatické membráně Na^+/H^+ , je nezbytný při regulaci Na^+ na buněčné úrovni. Rovněž usnadňuje transport Na^+ z kořene k přepravě na dlouhou vzdálenost. Nadměrná exprese tohoto proteinu poskytuje rostlinám snášenlivost. *SOS2* Gen, který kóduje serin threonin kinázu, je aktivován Ca^+ signály vyvolanými solným stresem. Tento protein se skládá z dobře vyvinuté N-terminální katalytické části a C-terminální regulační části (Liu et al. 2000).

Třetí typ proteinu zapojeného do SOS3 stresové signální dráhy je SOS3 protein, který je myristoylovaný Ca^+ vazebný protein a obsahuje myristoylační místo na svém N-konci. Tato stránka hraje zásadní roli při udělování snášenlivosti solí. C-terminální regulační část SOS2 proteinu obsahuje FISL (také známý jako NAF), který má asi 21 aminokyselinových dlouhých

sekvencí a slouží jako místo interakce pro Ca^{2+} vázající SOS3 protein (obrázek 2.). Tato interakce mezi SOS2 a SOS3 proteinem vede k aktivaci kinázy (Gou 2004).

Aktivovaná kináza poté fosforyluje SOS1 protein, čímž zvyšuje jeho transportní aktivitu, která byla původně identifikována u kvasinek (Quintero et al. 2002). Protein SOS1 je charakterizován dlouhým cytosolovým C-koncovým řetězcem dlouhým asi 700 aminokyselin, který obsahuje předlohu vázaných nukleotidů a autoinhibiční část. Tato autoinhibiční část je cílovým místem pro fosforylaci SOS2 (obrázek 2.). Kromě získání tolerance na sůl také ovlivňuje pH homeostázu, transport membránových váčků a funkce vakuol (Quintero et al. 2011). Tedy se zvýšením koncentrace Na^+ dochází k prudkému zvýšení hladiny intracelulárního Ca^{2+} , což zase usnadňuje jeho vazbu na protein SOS3. Ca^{2+} moduluje intracelulární homeostázi Na^+ spolu s proteiny SOS. Protein SOS3 poté interaguje a aktivuje protein SOS2 uvolněním jeho samo-inhibice. Komplex SOS3-SOS2 je poté nanesen na plazmatickou membránu, kde fosforyluje SOS1 (obrázek 2). Fosforylovaný SOS1 vede ke zvýšenému odtoku Na^+ , což snižuje toxicitu Na^+ (Martínez-Atienza et al. 2007).



Obr. 2: Model stresové reakce (Munns 2002)

Mnoho rostlin vyvinulo účinný způsob, jak udržet koncentraci iontů v cytoplasmě na nízké úrovni. Membrány spolu s jejich přidruženými složkami hrají nedílnou roli při udržování koncentrace iontů v cytosolu během období stresu regulací absorpce a transportu iontů (Sairam et al.2004).

Fenomén transportu je prováděn různými nosičovými proteiny, kanálovými proteiny, antiportery a sympitory. Udržování buněčné homeostázy Na^+/K^+ je klíčové pro přežití rostlin ve slaném prostředí. Ma et al. (2012) uvedli, že *Arabidopsis* NADPH oxidázy *AtrbohD* a *AtrbohF* fungují při regulaci Na^+/K^+ závisle na ROS-homeostázy u *Arabidopsis* v solném stresu. Rostliny udržují vysokou hladinu K^+ v cytosolu asi 100 mM, což je ideální pro cytoplazmatické enzymové aktivity. Ve vakuole se koncentrace K^+ pohybuje mezi 10 mM a 200 mM. Vakuola slouží jako největší skupina K^+ v rostlinné buňce. K^+ hraje hlavní roli při

udržování turgoru v buňce. Je transportován do rostlinné buňky proti koncentračnímu gradientu přes K^+ transportér a membránové kanály. Mechanismy absorpce K^+ vysokou afinitou jsou zprostředkovány transportéry K^+ , když je koncentrace extracelulárního K^+ nízká, zatímco příjem s nízkou afinitou je prováděn pomocí K^+ kanály, když je extracelulární koncentrace K^+ vysoká. Mechanismus absorpce je tedy primárně určen koncentrací K^+ dostupnou v půdě. Na druhé straně je v cytosolu udržována velmi nízká koncentrace Na^+ iontu (asi 1 mM nebo méně). Během slaného stresu, kvůli zvýšené koncentraci Na^+ v půdě, Na^+ ion soutěží s K^+ o transportér, protože oba sdílejí stejný transportní mechanismus, čímž se snižuje příjem K^+ (Munns et al. 2008).

Bylo identifikováno a klonováno do různých druhů rostlin velké množství genů a proteinů, jako jsou HKT a NHX, kódující transportéry a kanály K^+ . Během slané zátěže je zvýšena exprese některých transkriptů s nízkým výskytem, o kterých se zjistilo, že jsou zapojeny do absorpce K^+ . Toto bylo pozorováno v halofytu *Mesembryanthemum crystallinum* (Yen et al. 2000).

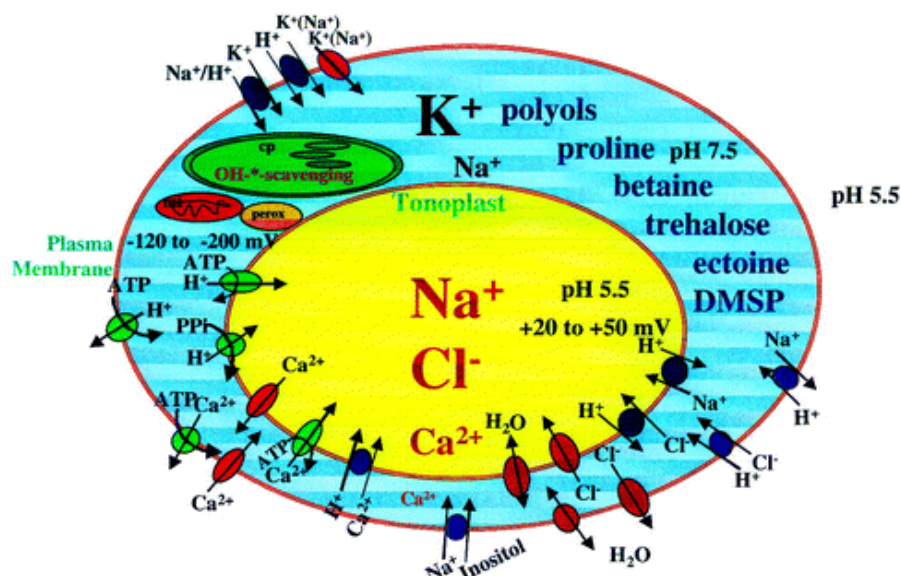
Transportéry umístěné na plazmatické membráně, které patří do rodiny HKT (histidinkinázový transportér), hrají také zásadní roli v toleranci solí regulováním transportu Na^+ a K^+ . Transportéry HKT třídy 1, které byly identifikovány v *Arabidopsis*, chránit rostlinu před nepříznivými účinky slanosti zabráněním nadměrné akumulace Na^+ v listech. Podobné výsledky byly pozorovány v experimentu, který byl proveden s rýží, kde transportér HKT třídy 1 odstraňuje přebytek Na^+ z xylemu, čímž chrání tkáň fotosyntetických listů před toxickým účinkem Na^+ (Shoeder et al. 2013).

Intracelulární proteiny NHX jsou Na^+ , K^+ / H^+ antiionitory podílející se na homeostaze K^+ , endosomální regulaci pH a snášenlivosti solí. Barragán a kol. (2012) ukázali, že NHX proteiny lokalizované v tonoplastech (NHX1 a NHX2: dva hlavní izoformy NHX lokalizované v tonoplastech) jsou nezbytné pro aktivní K^+ vychytávání v tonoplastu, pro regulaci turgoru a pro stomatální funkci. Ve skutečnosti bylo identifikováno více takových izoform NHX a jejich role v iontové (Na^+ , K^+ , H^+) homeostáze zavedené z různých druhů rostlin (např. LeNHX3 a LeNHX4 z rajčat) (Gálvez et al. 2012).

3.2.5 Kompatibilní akumulace solutu a osmotická ochrana

Kompatibilní soluty, také známé jako kompatibilní osmolyty, jsou skupinou chemicky rozmanitých organických sloučenin, které jsou nenabitě, polární a rozložitelné v přírodě a neinterferují s buněčným metabolismem ani při vysoké koncentraci. Jedná se zejména o prolin, glycin betain, cukr a polyoly. Organické osmolyty jsou syntetizovány a akumulovány v různých množstvích mezi různými druhy rostlin. Například akumulace kvartérní amoniové sloučeniny beta alaninu betainu je omezena u několika členů plumbaginaceae, zatímco akumulace aminokyselinového prolinu se vyskytuje v taxonomicky rozmanitých sadách rostlin. Koncentrace kompatibilních solutů v buňce je udržována buď ireverzibilní syntézou sloučenin, nebo kombinací syntézy a degradace. Biochemické dráhy a geny zapojené do těchto procesů byly důkladně studovány. Protože jejich akumulace je úměrná vnější

osmolaritě, hlavní funkcí těchto osmolytů je chránit strukturu a udržovat osmotickou rovnováhu v buňce prostřednictvím nepřetržitého toku vody (obr.2)(Hasegawa et al.2000).



Obr. 3: Pohyb látek v buňce (Hasegawa et al. 2000)

Aminokyseliny, jako je cystein, arginin a methionin, které tvoří asi 55 % celkových volných aminokyselin, se snižují, jsou-li vystaveny stresu slanosti, zatímco koncentrace prolinu stoupá v reakci na slanost stresu. Akumulace prolinu je dobře známým opatřením přijatým ke zmírnění slaného stresu. Intracelulární prolin, který se hromadí během stresu slanosti, nejen poskytuje toleranci vůči stresu, ale také slouží jako rezerva organického dusíku během regenerace stresu (Saxena et al. 2013).

Prolin je syntetizován buď z glutamátu nebo ornitinu. U osmoticky namáhaných buněk funguje glutamát jako primární prekurzor. Biosyntetická cesta zahrnuje dva hlavní enzymy, syntetázu pyrolinkarboxylové kyseliny a reduktázu pyrolinkarboxylové kyseliny. Oba tyto regulační kroky se používají k nadprodukci prolinu v rostlinách (Sairam et al.2004). Funguje jako tlumič O₂, čímž odhaluje jeho antioxidační schopnost. Bylo publikováno, že prolin zlepšuje snášenlivost solí v *Nicotiana tabacum* zvýšením aktivity enzymů zapojených do antioxidačního obranného systému. Také se prokázali, že sazenice rýže ze semen předem ošetřených 1 mM prolinem vykazovaly zlepšení růstu během stresu solí. (Deivanai et al. 2011)

Glycin betain je amfoterní kvartérní amoniová sloučenina, která se všudypřítomně vyskytuje v mikroorganismech, vyšších rostlinách a zvířatech, a je elektricky neutrální v širokém rozmezí pH. Je vysoce rozpustný ve vodě, ale také obsahuje nepolární skupinu tvořící 3-methylové skupiny. Vzhledem ke svým jedinečným strukturálním vlastnostem interaguje jak s hydrofobními, tak s hydrofilními částmi makromolekul, jako jsou enzymy a proteinové komplexy. Glycin betain je netoxický buněčný osmolyt, který zvyšuje osmolaritu buňky

během stresového období; hraje tedy důležitou funkci při zmírňování stresu. Glycin betain také chrání buňku osmotickou úpravou, stabilizuje proteiny a chrání fotosyntetický aparát před poškozením stresem a redukuje ROS. Hromadění glycinu betainu se uplatňuje u široké škály rostlin, které patří do odlišného taxonomického prostředí. Glycin betain je v buňce syntetizován z cholinu nebo glycinu. Syntéza glycinu betainu z cholinu je dvoustupňová reakce zahrnující dva nebo více enzymů. V prvním kroku se cholin oxiduje na betainový aldehyd, který se potom v dalším kroku znovu oxiduje za vzniku glycinu betainu (Ashraf et al. 2007).

U vyšších rostlin je první přeměna provedena enzymem cholinmonooxygenáza (CMO), zatímco další krok je katalyzován betainaldehyddehydrogenázou (BADH). Další cesta, která je pozorována v některých rostlinách, zejména halofytických, ukázala syntézu glycinu betainu z glycinu. Zde je glycin betain syntetizován třemi po sobě jdoucími N-methylací a reakce jsou katalyzovány dvěma S-adenosylmetionin-dependentními methyltransferázami, glycin-sarkosin-N-methyltransferázou (GSMT) a sarkosin-dimethylglycin-N-methyltransferázou (SDMT). Tyto dva enzymy mají překrývající se funkce, protože GSMT katalyzuje první a druhý krok, zatímco SDMT katalyzuje druhý a třetí krok (Ahmad et al. 2013).

Rahman et al. 2002 uvedli pozitivní účinek glycinu betainu na ultrastrukturu *Oryza sativa* sazenice, když jsou vystaveny působení soli. Ve stresovém stavu (150 mM NaCl) vykazuje ultrastruktura sazenic několik poškození, jako je otok tylakoidů, rozpad grana a intergranálních lamel a narušení mitochondrií. Těmto škodám však bylo do značné míry zabráněno, když sazenice byly předem ošetřeny glycinem betainem. Pokud je glycin betain aplikován jako postřik listů u rostliny vystavené stresu, vedlo to ke stabilizaci pigmentů a zvýšení rychlosti fotosyntézy a růstu (Ahmad et al. 2013).

Polyoly jsou sloučeniny s více hydroxylovými funkčními skupinami, které jsou k dispozici pro organické reakce. Cukerné alkoholy jsou třídou polyolů fungujících jako kompatibilní soluty, jako chaperony s nízkou molekulovou hmotností a jako látky zachycující ROS (Ashraf et al. 2007). Lze je rozdělit do dvou hlavních typů: cyklický (např. pinitol) a acyklický (např. mannitol). Syntéza mannitolu je indukována v rostlinách během stresového období působením NADPH závislé mannosu-6-fosfát reduktázy. Tyto kompatibilní soluty fungují jako chránič nebo stabilizátor enzymů nebo membránových struktur, které jsou citlivé na dehydrataci nebo iontově indukované poškození. Bylo zjištěno, že transformace bakteriálním *mlad* genem, který kóduje mannitol-1-fosfát dehydrogenázu u obou *Arabidopsis* tabákové rostliny (*Nicotiana tabacum*) propouštějí solnou toleranci, čímž se udržuje normální růst a vývoj, když jsou vystaveny vysoké úrovni solného stresu. Pinitol se hromadí v rostlinné buňce, když je rostlina vystavena slanému stresu. Biosyntetická cesta sestává ze dvou hlavních kroků, methylace myo-inositolu, která vede k tvorbě meziprojektu, ononitolu, který podléhá epimeraci za vzniku pinitolu. Enzym Inositol methyltransferázy kódovaný *imt* genem hraje hlavní roli v syntéze pinitolu. Transformace genu *imt* v rostlinách vykazuje výsledek podobný výsledku pozorovanému v případě *mltd* gen. Lze tedy říci, že pinitol také hraje významnou roli při zmírňování stresu. Akumulace polyolů, buď metabolitů

s přímým řetězcem, jako je mannitol a sorbitol, nebo cyklických polyolů, jako je myo-inositol a jeho methylované deriváty, je v korelaci s tolerancí k suchu anebo slanosti na základě distribuce polyolu v mnoha druzích, včetně mikrobů, rostlin a zvířata (Bohnert et al. 1995).

K akumulaci uhlohydrátů, jako jsou cukry (např. Glukóza, fruktóza, fruktany a trehalóza), a škrobu dochází pod solným stresem (Parida et al. 2004). Hlavní role, kterou tyto uhlohydráty hrají při zmírňování stresu, zahrnuje osmoprotekci, ukládání uhlíku a zachycování reaktivních druhů kyslíku. Bylo pozorováno, že solný stres zvyšuje hladinu redukujících cukrů (sacharózy a fruktanu) v buňce u řady rostlin patřících k různým druhům (Kerepesis et al. 2000). Kromě toho, že se jedná o uhlohydrátovou rezervu, akumulace trehalózy chrání organismy před několika fyzickými a chemickými stresy včetně stresu slaností. Hrají osmoprotektivní roli ve fyziologických reakcích (Ahmad et al. 2013).

Bylo zjištěno, že se v rajčatech zvyšuje obsah sacharózy (*Solanum lycopersicum*) za slanosti kvůli zvýšené aktivitě syntázy sacharózy fosfátu (Gao et al. 1998). Bylo popsáno, že obsah cukru během stresu slanosti v krotlině kolísá v závislosti na genotypu rýže (Alamgie et al. 1999). U kořenů rýže bylo pozorováno, že obsah škrobu se snížil v reakci na slanost, zatímco ve výhonku zůstal docela nezměněn. U listů *Bruguiera parviflora* bylo zaznamenáno snížení obsahu škrobu a zvýšení redukujícího a neredukujícího cukru (Parida et al. 2004).

3.2.6 Antioxidační regulace tolerance slanosti

Abiotický a biotický stres v živých organismech, včetně rostlin, může v chloroplastech a mitochondriích způsobit přetečení, deregulaci nebo dokonce narušení transportních řetězců elektronů (ETC). Za těchto podmínek funguje molekulární kyslík (O_2) jako akceptor elektronů, což vede k akumulaci ROS. Singletový kyslík (1O_2), hydroxylový radikál (OH \cdot), superoxidový radikál (O_2^-) a peroxidu vodíku (H_2O_2), jsou všechny silně oxidační sloučeniny, a proto potenciálně škodlivé pro integritu buňky (Gill et al. 2013).

Metabolismus antioxidantů, včetně antioxidačních enzymů a neenzymatických sloučenin, hraje rozhodující roli při detoxikaci ROS vyvolané slaným stresem. Tolerance slanosti pozitivně koreluje s aktivitou antioxidačních enzymů, jako je superoxidodismutáza (SOD), kataláza (CAT), glutathionperoxidáza (GPX), askorbát peroxidáza (APX) a glutathion reduktáza (GR) a akumulace neenzymatického antioxidantu sloučeniny (Gupta et al. 2005).

Gill et al. (2013) nedávno uvedli několik helikázových proteinů (např. Helikáza DESD-box a duální helikáza OsSUV3) fungujících v toleranci slanosti u rostlin zlepšením udržováním fotosyntézy a antioxidačního aparátu.

Kim et al. (2013) ukázali, že aplikace křemíku (Si) na kořenovou zónu rýže ovlivnila hormonální a antioxidační odezvy při slaném stresu. Výsledky ukázaly, že ošetření Si významně zvýšilo růst rostlin rýže ve srovnání s kontrolami při slaném stresu. Ošetření Si snížilo akumulaci sodíku, což vedlo k nízkému elektrolytickému úniku a peroxidaci lipidů ve srovnání s kontrolními rostlinami pod stresem slanosti. Reakce enzymatických antioxidantů

(kataláza, peroxidáza a polyfenol oxidáza) byly výraznější v kontrolních rostlinách než v rostlinách ošetřených Si při stresu slanosti.

Askorbát je jedním z hlavních antioxidantů přítomných v buňce. Rostliny hrachu pěstované v solném (150 mM NaCl) stresu vykazovaly zvýšení aktivity APX i S-nitrosylovaného APX, jakož i zvýšení obsahu H₂O₂, NO a S-nitrosothiolu, které mohou vysvětlit regulaci aktivity APX. Proteomická data ukázala, že APX je jedním z potenciálních cílů PTM zprostředkovaných molekulami odvozenými od NO. Pomocí rekombinantního hrachu cytosolického APX, dopadu peroxynitritu a S-nitrosoglutathion, o kterých je známo, že zprostředkovávají nitraci proteinů a S-nitrosylační procesy. Zatímco peroxynitrit inhibuje aktivitu APX, GSNO zvyšuje jeho enzymatickou aktivitu. Výsledky poskytují nový pohled na molekulární mechanismus regulace APX, který může být inaktivován ireverzibilní nitrací a aktivován reverzibilní S-nitrosylací (Begara et al. 2014).

Exogenní aplikace askorbátu zmírňuje nepříznivé účinky slaného stresu u různých druhů rostlin a podporuje zotavení rostlin ze stresu. Dalším antioxidantem při zmírňování stresu je glutathion, který může reagovat s superoxidovým radikálem, hydroxylovým radikálem a peroxidem vodíku, čímž funguje jako vychytávač volných radikálů. Může se také podílet na regeneraci askorbátu cyklem askorbát-glutathion (Aly-Salama et al. 2009).

Při aplikaci exogenně glutathion pomohl udržet permeabilitu plazmatické membrány a životaschopnost buněk během stresu slanosti u *Allium cepa*. Bylo zjištěno, že aplikace glutathionu a askorbátu je účinná při zvyšování výšky rostliny, počtu větví, čerstvé a suché hmotnosti bylin a květů a obsahu uhlohydrátů, fenolů, xantofylového pigmentu a obsahu minerálních iontů při vystavení solnému stavu. Mnoho studií zjistilo rozdíly v hladinách exprese nebo aktivity antioxidantních enzymů; tyto rozdíly jsou někdy spojeny s tolerantnějším genotypem a někdy s citlivějším genotypem (Aly-Salama et al. 2009).

Munns et al. (2008) naznačuje, že rozdíly v antioxidantní aktivitě mezi genotypy mohou být způsobeny rozdíly v genotypu nebo reakcích, které mění rychlost CO₂ fixace a rozdílů, které přinášejí do hry procesy, které se vyhýbají fotoinhibici a pro které má rostlina dostatečnou kapacitu. Roy et al. (2014) tvrdí, že v rostlinách existují tři hlavní rysy, které jim pomáhají při přizpůsobování se slanému stresu: vylučování iontů, tolerance tkáně a tolerance slanosti. Zdá se, že antioxidanty mají určitou roli v mechanismu tolerance tkáně a slanosti (Munns et al. 2008).

3.2.7 Role polyaminů v toleranci slanosti

Polyaminy (PA) jsou malé, všudypřítomné, polykationtové alifatické molekuly s nízkou molekulovou hmotností široce distribuované v celém rostlinném království. Polyaminy hrají různé role v normálním růstu a vývoji, jako je regulace buněčné proliferace, somatická embryogeneze, diferenciacce a morfogeneze, klíčení semen, vývoj květu, plodu a stárnutí. Hraje také klíčovou roli při abiotické toleranci ke stresu, včetně slanosti, a zvýšení hladiny polyaminů je v korelaci s tolerancí ke stresu u rostlin (Gupta et al. 2013).

Nejběžnějšími polyaminy, které se vyskytují v rostlinném systému, jsou diamin putrescin (PUT), triaminový spermidin (SPD) a tetraaminový spermin (SPM). PUT je nejmenší polyamin a je syntetizován z ornitinu nebo argininu působením enzymu ornithin dekarboxylázy (ODC) a arginin dekarboxylázy (ADC) (Shu et al. 2012).

N-karbamoyl-putrescin se konvertuje na PUT enzymem N-karbamoyl-putrescin-aminohydrolaza. Takto vytvořená PUT tak funguje jako primární substrát pro vyšší polyaminy, jako je biosyntéza SPD a SPM. Triaminový SPD a tetraaminový SPM jsou syntetizovány postupným přidáváním aminopropylové skupiny k PUT a SPD, respektive enzymy spermidin syntáza (SPDS) a spermin syntáza (SPMS). Cesta ODC je nejběžnější cestou pro syntézu polyaminu, který se nachází v rostlinách (Hasanuzzaman et al. 2014).

Většina genů účastnících se dráhy ODC byla identifikována a klonována. Existují však rostliny, u kterých cesta ODC chybí; například v *Arabidopsis* jsou polyaminy syntetizovány cestou ADC. Všechny geny podílející se na biosyntézních drahách polyaminu byly identifikovány z různých druhů rostlin včetně *Arabidopsis*. Cesta biosyntézy polyaminu v *Arabidopsis* zahrnuje šest hlavních enzymů: geny kódující ADC (*ADC1* a *ADC2*); SPDS (*SPDS1* a *SPDS2*) a SAMDC (*SAMDC1*, *SAMDC2*, *SAMDC3*, *SAMDC4*). Naopak SPM syntáza, termosperminová syntáza, agmatin iminohydrolaza a N-karbamoylputrescin amidohydrolaza jsou reprezentovány pouze jednotlivými geny (Urano et al. 2003).

Zvýšení hladiny endogenního polyaminu bylo zjištěno při vystavení rostliny solnému stresu. Hladina intracelulárního polyaminu je regulována polyaminovým katabolismem. Polyaminy jsou oxidačně katabolizovány aminoxidázami, které zahrnují diaminoxidázy vázající měď a polyamin oxidázy vázající FAD. Tyto enzymy hrají významnou roli v toleranci ke stresu. Změny v úrovni buněčného polyaminu způsobené stresem poskytují možné důsledky ve stresu, ale neposkytují důkazy o jejich úloze v boji proti stresu. (Cona et al. 2006)

Aplikace exogenního polyaminu zvyšuje hladinu endogenního polyaminu během stresu. Pozitivní účinky polyaminů byly spojeny s udržováním integrity membrány, regulací genové exprese pro syntézu osmoticky aktivních solutů, snížením produkce ROS a kontrolou hromadění iontů Na^+ a Cl^- v různých orgánech. Bylo pozorováno, že rostliny s nedostatkem *ADC1* a *ADC2* jsou přecitlivělé na stres. Nadprodukce PUT, SPD a SPM v rýži, tabáku a *Arabidopsis* zvyšuje toleranci vůči solí (Yamaguchi et al. 2006).

Solný stres reguluje biosyntézu a katabolismus polyaminu působením jako buněčný signál v hormonálních drahách, čímž reguluje kyselinu abscisovou (ABA) v reakci na stres. Kromě toho jsou SPM a SPD považovány za silné induktory NO, což je další důležitá signální molekula. Bylo publikováno, že exogenní aplikace polyaminů by mohla zmírnit redukci fotosyntetické účinnosti vyvolané solí, ale tento účinek závisí na koncentraci polyaminu a typech a úrovni stresu (Duan et al. 2008).

3.2.8 Role oxidu dusnatého v toleranci slanosti

Oxid dusnatý (NO) je malá těkavá plynná molekula, která se podílí na regulaci různých růstových a vývojových procesů rostlin, jako je růst kořenů, dýchání, uzavření stomaty, kvetení, smrt buněk, klíčení semen a reakce na stres a také na stresové signální molekuly. NO přímo nebo nepřímo spouští expresi mnoha redoxem regulovaných genů. NO reaguje s lipidovými radikály, čímž brání oxidaci lipidů, má ochranný účinek vychytáváním superoxidového radikálu a tvorbou peroxynitritu, který může být neutralizován jinými buněčnými procesy. Pomáhá také při aktivaci antioxidantních enzymů (Lamattina et al. 2003)

Bylo zjištěno, že exogenní aplikace NO hraje roli při zmírňování stresu, ale účinky závisí na koncentraci NO. Pozitivní účinky NO na snášenlivost slanosti nebo zmírnění stresu byly přičítány antioxidantním aktivitám a modulaci detoxikačního systému ROS. Zlepšení růstu rostlin při slaném stresu exogenní aplikací NO bylo spojeno se zvýšením antioxidantních enzymů a potlačením produkce malondialdehydu (MDA) nebo peroxidací lipidů. Účinky NO na toleranci slanosti souvisí také s jeho regulací plazmatické membránové H^+ -ATPázy a poměru Na^+/K^+ . NO stimuluje H^+ -ATPázu (H^+ -PPáza), čímž vytváří H^+ gradient a nabízí sílu pro výměnu Na^+/H^+ . Takové zvýšení výměny Na^+/H^+ může přispět k homeostáze K^+ a Na^+ . Přestože NO působí jako signální molekula pod solným stresem a indukuje rezistenci vůči soli zvýšením aktivity PM H^+ -ATPázy. Studie naznačují, že H_2O_2 indukovanou zvýšenou PM H^+ -ATPázy aktivita vede ke zvýšení poměru K/Na, což vede ke vzniku tolerance vůči solnému stresu (Zhang et al. 2006).

3.2.9 Hormonální regulace tolerance slanosti

Kyselina abscisová (ABA) je důležitý fytohormon, jehož aplikace na rostlinu zlepšuje účinek stresových podmínek. Byl popisován jako hormon, který se hromadil v kořeni z důvodu nedostatku půdní vláhy. Slaný stres způsobuje osmotický stres a nedostatek vody, což zvyšuje produkci ABA ve výhoncích a kořenech. Hromadění ABA může zmírnit inhibiční účinek slanosti na fotosyntézu, růst a translokaci asimilátů. Pozitivní vztah mezi akumulací ABA a tolerancí salinity byl alespoň částečně připsán akumulaci K^+ , Ca^{2+} a kompatibilní soluty, jako je prolin a cukry, ve vakuolách kořenů, které působí proti vychytávání Na^+ a Cl^- . ABA je životně důležitý buněčný signál, který řídí expresi řady genů reagujících na deficit soli a vody (Chen et al. 2001).

Některé další sloučeniny, které mají hormonální vlastnosti, jako je kyselina salicylová (SA) a brassinosteroidy (BR), se také účastní reakce na abiotický stres rostlin. Při zasolení se zvýšila endogenní hladina SA spolu se zvýšením aktivity biosyntetického enzymu kyseliny salicylové (Sawada et al. 2006). Jayakanna et al. 2013 nedávno prokázal, že SA zlepšuje toleranci salinity u *Arabidopsis* obnovením membránového potenciálu a obranu ztrátou K^+ vyvolané solí při ochraně buňku.

Negativní účinky slanosti mohou být také zmírněny BR. Aplikace BR zvýšila aktivitu antioxidantních enzymů a akumulaci neenzymatických antioxidantních sloučenin (tokoferol,

askorbát a snížený glutathion). Jak BR, tak SA jsou všudypřítomné v rostlinném království, ovlivňují růst a vývoj rostlin mnoha různými způsoby a je známo, že zlepšují snášenlivost rostlinných stresů. Přezkoumávali se možné aplikace BR a SA, které by mohly být použity ke zmírnění škodlivých účinků solného stresu v rostlinách. Diskutovalo také o roli exogenních aplikací BR a SA při regulaci různých biochemických a fyziologických procesů vedoucích ke zlepšení snášenlivosti solí v rostlinách (Ashraf a kol. 2010).

3.2.10 Transkripční regulace a genová exprese tolerance slanosti

Regulace genové exprese ve slaném stresu zahrnuje širokou škálu mechanismů, které rostliny používají k navýšení nebo snížení produkce specifických genových produktů (proteinu nebo RNA). Během centrálního dogmatu, od iniciace transkripce, po zpracování RNA a po posttranslační modifikaci proteinu byly identifikovány různé mechanismy genové regulace. Transkriptomická analýza poskytuje podrobné znalosti o genové expresi na úrovni mRNA, která se široce používá ke screeningu kandidátních genů zapojených do stresových dějů. Genomické přístupy hrají významnou roli v kódování, klonování a charakterizaci důležitých genů. Bylo identifikováno a charakterizováno velké množství transkripčních faktorů a genů reagujících na sůl, které jsou buď navyšovány, nebo snižovány v reakci na slanost a byly charakterizovány pomocí transkriptomických a genomických porovnání. Transkripční faktory jsou považovány za nejdůležitější regulátory, které řídí genové exprese. Některé geny transkripčního faktoru jsou schopné řídit expresi širokého spektra cílových genů vazbou na specifický cis-působící prvek v promotorech těchto genů. Faktory transkripce vykazují navýšení při stresu slanosti, což může regulovat syntézu a akumulaci proteinů prolinu, cukru a LEA, které zase hrají nedílnou roli při toleranci ke stresu (Song et al. 2011).

Velké množství genů a transkripčních faktorů je zvýšeno v reakci na salinitu různých druhů rostlin, které slouží různým funkcím. Příklady genů reagujících na sůl jsou klasifikovány do následujících funkčních kategorií: iontový transport nebo homeostáza (např. Geny SOS, AtNHX1 a H⁺-ATPáza), geny spojené se stárnutím (např. SAG), molekulární chaperony (např. HSP geny) a transkripční faktory související s dehydratací (např. DREB). Předpokládá se, že geny hrají velmi zajímavou roli v iontové homeostázi, čímž poskytuje toleranci vůči soli. Některé geny zachycující ROS a osmoticky regulující geny jsou také regulovány slaností některých rostlinných druhů. Například nepřetržité vystavení rostlin rýže slanosti po dobu asi 24 hodin vedlo k navýšení glutathion-S-transferázy a askorbát peroxidázy, o kterých bylo známo, že hrají aktivní roli při zachycování ROS, a se zvýšením doby expozice při slaném stresu bylo také pozorováno navýšení metalothioneinu a proteinů vodního kanálu. Druhy rostlin halofytů *Spartina alterniflora*, když je vystavena solnému stresu, vykazují navýšení 10 genů spojených s osmotickou regulací (Liu et al. 2000).

3.3 Salinizace půdy

Zasolování bylo vyhodnoceno jako jedna z osmi hlavních příčin degradace půdy formovaných Evropskou unií – COM(2002)179. Zasolená půda je taková, jejíž nasycený vodní extrakt má elektrickou vodivost větší než 4 mS.cm⁻¹ (tedy 0,004 S.cm⁻¹) při 25 °C.

Zasolení půd je děj, při kterém se v půdě koncentrují přebytky solí (draselné, sodné, chloridové, vápenaté, síranové nebo uhličitanové ionty). Většinou vzniká v zamokřených oblastech se stagnující vodou nebo při zavlažování povrchovou vodou bohatou na primární minerální látky, které jsou hlavním zdrojem rozpustných solí v půdě.

Voda bohatá na minerály je uložena v půdě a v suchém, teplém letním období (kdy výpar převládá nad srážkami) vzlíná podzemní voda skulinami mezi částicemi hornin k povrchu, kde se odpařuje. Při odpařování vody se vylučují soli, které vytváří solné vrstvy na povrchu půdy (např. jižní Irák, západní Austrálie). Malé množství srážek v těchto suchých a teplých oblastech nestačí na opětovné rozpuštění a vyplavení vysrážených solí do půdy, čímž vzniká jejich znehodnocení a kontaminace. Povrchu půdy je často pokryt krustou tzv. škraloupy, jenž mohou být různě sylné. V příbřežních oblastech mohou být zdrojem kapénky mořské vody, která je strhávána větrem.

K zasolení také dochází v zastavěných oblastech, kde dochází k znehodnocení rostoucích rostlin a polí vlivem dopravy, zástavby a průmyslem. Mezi další problémy patří redukce kvality vody pro uživatele, sedimentace, eroze půdy a další.

Tab. 2: Podíl půdy zasažené zasolením

země	množství zasažené půdy (%)	země	množství zasažené půdy (%)
Alžír	10 - 15	Irák	50
Egypt	30 - 40	Izrael	13
Senegal	10 - 15	Jordán	16
Súdán	< 20	Pakistán	< 40
Indie	27	Srí Lanka	13
Irán	< 30	Syrian Arab rep.	30 - 35

3.3.1 Zřetelné projevy zasolení půdy

Zasolená půda začne vykazovat již v začátku určité vedlejší projevy tohoto znečištění. Patří sem např. zhoršený růst a síla rostlin, objevuje se plevel tolerující zvýšený podíl solí v půdě a snižující vlhkost půdy, což vede k vysušení celých oblastí až do bodu, kdy není možné půdy upravovat pomocí běžného vybavení (Šarapatka et al. 2002).

Pokud dojde k zasolení v ještě větší míře, začnou se v půdě (nejsou viditelné na vnější straně, jsou pouze uvnitř půdy) i na povrchu se začnou vytvářet bílé pásy a skvrny vysrážených solí, které se později spojí v celistvé vrstvy (krusty), což vede až ke znehodnocení kvality podzemní vody. Návazně na to se začne vyskytovat vegetace tolerující vysoký podíl solí v půdě. (Rejšek et al. 2018)

V celosvětovém měřítku je problém salinizace půd závažný, a to především v aridních oblastech a semiaridních oblastech (důležitý je poměr srážek a evaporace). Udává se, že okolo 23 % zemědělských půd je v globálním měřítku ohroženo zasolením (Šarapatka et al. 2014). Se zasolenými půdami se setkáváme i v Evropě, především v oblasti Středomoří. K zasolení

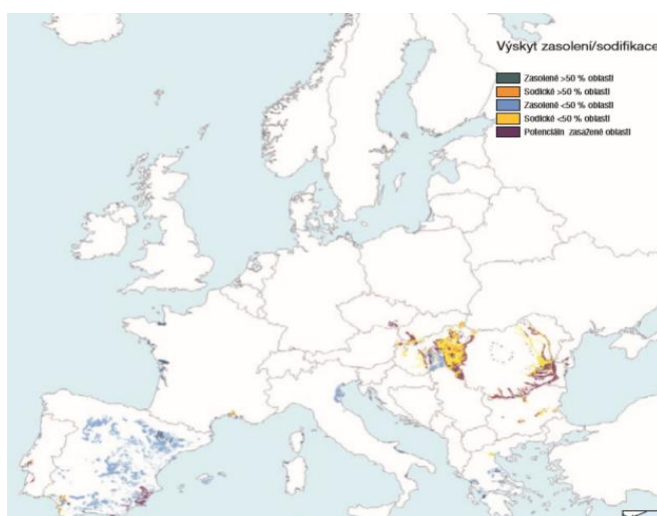
půdy dochází v důsledku přirozených a antropogenních faktorů. Z přírodních faktorů je možno uvést vliv mineralizované podzemní vody na zasolení a zejména půdotvorné procesy a geochemii půd případně vulkanickou činnost (Khitrov et al. 2016).

Z antropogenních faktorů, které se podílí na salinizaci půd, je nutno jmenovat používání zasolených vod (odpadní vody) k závlahám (Rahman et al. 2016) nebo kalů ČOV a odpadních látek ke hnojení zemědělských půd, významnou roli mohou hrát i emisní spady se zvýšeným obsahem sloučenin solí. K zasolení půdy může přispívat také vykácení původních lesních porostů v některých oblastech, vedoucí ke změně vodního režimu půd. K zasolení dochází dále například vlivem zvýšené hladiny moří v příbřežních oblastech a deltách řek, zde dochází k zaplavení zemědělské půdy (Genua-Olmedo et al. 2016).

V České republice je zvýšený obsah solí v půdě spíše ojedinělým jevem. Jedním z unikátních míst je například SOOS u Františkových lázní, kde se nachází vývěr minerálních vod se zvýšeným obsahem solí. Zasolení také vzniká vulkanickou činností i na povrchu rašelinišť a slatinišť. V Taxonomickém klasifikačním systému půd České republiky jsou zahrnuty půdní typy solončak a slanec. Zatímco u solončaku existuje jistá pravděpodobnost existence v oblasti jižní Moravy, v případě slance je jeho výskyt na našem území pouze teoretický (Němeček et al. 2011).

V konvenčním zemědělství se řeší největší problém ohledně zasolení vznikajícím v zimním období, kdy je povrch silnic ošetřován posypovou solí v kombinaci se snižujícím se množstvím zimních srážek.

Velká pozornost je problematice zasolení půd věnována tradičně v Izraeli. V současné době je tato země velmocí v oblasti recyklace vody, celých 86% vody se recykluje a vrací do oběhu. Nejen množství, ale také kvalita recyklované vody je určující z pohledu rizika zasolení půd (Tal 2016).



Obr. 4: Výskyt zasolení (solidifikace) (Šarapatka et al. 2014)

3.3.2 Stanovení stavu zasolení v půdě

Obsah soli v půdě lze stanovit mnoha metodami: měřením elektrického odporu, měřením elektrické vodivosti, chemickou analýzou, pomocí iontoměničů, areometrickou metodou nebo stanovením jednotlivých iontů.

Pro stanovení salinity je nejběžnější metodou měření elektrické vodivosti v ethanolovém výluhu. Pro stanovení je třeba 5 g zeminy, ke které přidáme 25 ml 50 % etanolu a necháme 45 min třepat. Směs zfiltrujeme a následně měříme pomocí konduktometru její vodivost.

Výsledky měření jsou hodnoceny dle dostupné literatury. Hodnotě vodivosti nižší než $30 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ odpovídá většina zemědělských půd, s normální (nižší) intenzitou hnojení a vápnění, s minimálním zatížením půd solemi. Pro $30 - 60 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ jsou půdy minerálně bohaté se středně vysokou intenzitou hnojení a vápnění, bez negativního účinku solí. Při $60 - 120 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ jsou půdy s vysokým stupněm hnojení (vyvápněním) na minerálně bohatých substrátech (ale i silně kyselé půdy), se zvýšeným zatížením půd solemi (na hlinitých, jílovitých půdách bez negativních účinků). U vodivosti vyšší než $> 120 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ je vysoké zatížení půd solemi s možnými negativními účinky na růst a vývoj rostlin (zejména v sušších podmínkách) (Šarapatka et al. 2014).

3.4 Analýza rostlinné hmoty

Analýza rostlinného materiálu pro zjištění obsahu jednotlivých prvků je důležitou součástí studia výživy rostlin, umožňuje pochopit některé významné vztahy mezi rostlinou a prostředím a napomáhá hlouběji poznat procesy látkového metabolismu rostlin.

Pomocí moderních analytických metod lze poměrně rychle a přesně studovat koncentrace a poměry živin v průběhu vegetace za účelem posouzení a zhodnocení okamžitého stavu výživy rostlin. Analýzou rostlin získáme přesné informace o množství přijatých živin za účelem jejich hospodaření v rámci farmy nebo zemědělského závodu. Současně si můžeme zhodnotit efektivnost použitých hnojiv.

Také fyziologické účinky jednotlivých makroelementů, mikroelementů i cizorodých prvků lze hodnotit podle jejich obsahu během vývoje. Rovněž jejich vliv na kvalitativní složení sklizně lze tímto způsobem sledovat.

3.4.1 Všeobecné požadavky na analýzy

Má-li mít analýza praktický význam, musí být provedena na průměrném nebo tzv. reprezentativním vzorku, který musí obsahovat všechny součásti, a to v takovém hmotnostním či objemovém poměru, v jakém jsou v dané látce přítomny. Z tohoto vzorku se připravuje analytický vzorek. Odebírání průměrných vzorků rostlinné hmoty a jejich přípravě k analýze je nutno věnovat maximální pozornost a péči. Je proto nutné při odebírání vzorků jednotlivých druhů rostlinného materiálu postupovat co nejpřísněji, podle zásady stejnosměrnosti a poměrnosti.

Získané dílčí vzorky shromažďujeme na suchém čistém místě. Z tohoto většího vzorku odebereme předepsané množství, které vložíme do čistého suchého sáčku (u vodnatých hmot do skleněné nebo jiné nerezavějící nádoby s dobře těsnícím víkem) a řádně označíme.

3.4.2 Stanovení hlavních makrobiogenních prvků v rostlinném materiálu

Stanovení N, P, K, Ca, Mg, S, Fe v rostlinné hmotě předchází mineralizace rostlinného materiálu buď suchou, nebo mokrou cestou. Použití každé z metod závisí na druhu stanovených prvků a na ztrátách těkáním, které nastávají zejména při vyšších teplotách (nad 550°C).

Mineralizace na mokré cestě spočívá v rozkladu rostlinné hmoty za použití koncentrovaných anorganických kyselin (HNO_3 , H_2SO_4) s postupným přidávkem HClO_4 nebo H_2O_2 . Použitím kyselin neriskujeme ztráty na prvcích a odstraníme kvantitativně kyselinu křemičitou. Směs je zahřívána buď v Kjeldahlově baňce na topném hnízdě nebo pomocí zdroje mikrovln (speciální mikrovlnná spalovna) v uzavřené teflonové nádobce.

Spalováním na suché cestě rozumíme spalování rostlinné hmoty způsobem popsaným při stanovení hrubého popela. Nevýhodou tohoto způsobu spalování je možnost ztrát alkálií, případně fosforu a síry a zdlouhavost, zvláště při rozboru těžce spalitelných látek (Kříženecká & Synek 2014).

3.4.3 Metody měření Na a K

V současnosti se pro prvkovou analýzu využívá zejména spektrometrických metod, které se podle jejich základních principů rozdělují na atomovou emisní, atomovou absorpční a hmotnostní spektrometrii. V případě iontů kovů (Cu, Fe, Zn aj.) se jejich naprostá většina stanovuje především atomovou spektrometrií po mineralizaci. Pro vyšší koncentrace se volí plamenové techniky jako je F-AAS, pro stopové koncentrace se často využívají elektrotermické atomizace (ET-AAS) v grafitové nebo wolframové kyvetě nebo plazmové techniky (ICP-OES nebo ICP-MS). Ke stanovení alkalických kovů (Na, K) a kovů alkalických zemin (Ca, Mg) je nejčastěji používána plamenová fotometrie (FP) a atomová absorpční spektrometrie (F-AAS) (Kopík 2016).

3.4.4 Optická emisní spektrometrie s buzením v plazmatu (ICP-OES)

ICP-OES je jednou z univerzálních metod prvkové analýzy a dnes umožňuje principálně přímou analýzu kapalných, plyných i pevných vzorků. V praxi se však používá převážně pro roztokovou analýzu. Zavedení plazmy do praxe znamenalo kvalitativní změnu ve významu, možnostech a použití této důležité analytické metody. Výhodou buzení v ICP jsou nízké meze stanovitelnosti pro značný počet prvků, relativně malé interference a snadná kalibrace na modelové roztoky a také značný rozsah linearit závislosti signálu na koncentraci prvku (Kopík 2016).

Princip metody

Metoda slouží k určení složení analyzovaného vzorku pomocí záření, které atomy vzorku vysílají. Aby vzorek toto záření vysílal, musí se atomy prvku převést do excitovaného stavu dodáním energie. Protože excitovaný stav atomu je nestabilní, vrací se vybuzené elektrony zpět na své původní energetické hladiny, a přitom emitují fotony o přesně definované vlnové délce, které nazýváme spektrum prvku. Kvalitativní složení prvku je určeno přítomností charakteristických vlnových délek, kvantitativní složení poměrným rozdělením intenzity záření na tyto frekvence (Kopík 2016).

3.4.5 Plamenová emisní spektrofotometrie

Plamenová fotometrie, FAES (Flame Atomic Emission Spectroscopy) se zakládá na měření intenzity zbarvení plamene. Při excitaci některých prvků v plameni jsou valenční elektrony pohlcením tepelné energie vyneseny na vyšší, energeticky bohatší hladinu. Zde jsou v excitovaném stavu. Excitované atomy jsou velmi nestabilní, elektrony z energeticky vyšších hladin rychle přeskakují zpět na hladiny energeticky nižší (do základního stavu) a emitují při tom záření o energii (vlnové délce) rovné rozdílu obou energetických hladin – vyzařují čárové

emisní spektrum. Plamenová fotometrie vychází ze zkušenosti, že prvky charakteristicky zbarvují plamen. Vznikající emisní záření se pomocí optiky usměřňuje přes monochromátor na detektor, signál je pak registrován a vyhodnocen

Plamenová fotometrie se používá ke stanovení obsahu prvků 1. a 2. skupiny periodické tabulky, neboť energie potřebná k excitaci jejich valenčních elektronů není tak vysoká jako u jiných prvků a postačuje k ní tedy teplota plamene. Vlnová délka emitovaného čárového spektra pro daný prvek je charakteristická, např.: sodík je 589 nm (žlutá), draslík 767 nm (karmínová) lithium 671 nm (fialová) (Černohorský et al. 1999).

3.4.6 Potenciometrie

Potenciometrie je elektrochemická metoda založená na měření rozdílu elektrického potenciálu (napětí) mezi dvěma elektrodami, ponořenými do analyzovaného roztoku při nulovém elektrickém proudu. Jedna elektroda je referenční (srovnávací) a má konstantní potenciál, nezávislý na složení roztoku. Druhá elektroda je indikační (měrná) a její potenciál závisí na aktivitě (koncentraci) měřené látky ve zkoumaném roztoku. Rozdíl mezi oběma elektrodami se měří pomocí milivoltmetru s velmi vysokým vstupním odporem. Tento vysoký vstupní odpor slouží k zajištění nulového proudu, tím je dosažení rozdílu potenciálu správné a přesné (Volka et al. 2006).

3.4.7 Iontové selektivní měření (ISE)

Je to metoda ke stanovení koncentrace rozpuštěných iontů s relativně nízkou koncentrací. Mezi kationty a anionty, které lze stanovit přímo v roztoku, patří např. ionty draslíku, sodíku, fluoridy nebo chloridy. V biochemii slouží hlavně pro stanovení parametrů acidobazické rovnováhy.

Měření iontovými selektivními elektrodami je jako měření pH potenciometrickým postupem. Přitom se používají dvě různá měřicí uspořádání:

1. Odděleně iontová selektivní elektroda a referenční elektroda
2. Kombinovaná iontová selektivní elektroda se zabudovanou referenční elektrodou

Iontovou selektivní membránu elektrody tvoří podle typu měřeného iontu buď těžko rozpustná sůl tohoto iontu (tuhá elektroda), PVC membrána modifikovaná iontoměničem nebo nosičem iontů (matriční elektroda), sklo (skleněná elektroda) nebo pro plyny propustná membrána (plynu-citlivá elektroda). Aktivita měřených iontů určuje napětí měřicího článku. Při stoupající aktivitě u aniontů se napětí snižuje, u kationtů se zvyšuje. pH/ION metr vypočítá ze signálu měřicího článku hodnotu koncentrace iontu v roztoku. (Breinek 2013)

3.4.8 Přímá konduktometrie

Stanovit koncentraci elektrolytu na základě přímého měření vodivosti roztoku je možné jen tehdy, jestliže je složení elektrolytu známé a konstantní. V roztocích obsahujících jen jednu látku je možno stanovit její koncentraci v širokém koncentračním rozmezí, kdy platí lineární závislost mírné vodivosti na koncentraci. V průmyslové praxi je přímá konduktometrie nejčastější při rychlém ověřování celkového obsahu solí rozpuštěných ve vodě, lze určit celkový obsah minerálních látek v cukrovarnických surovinách apod.

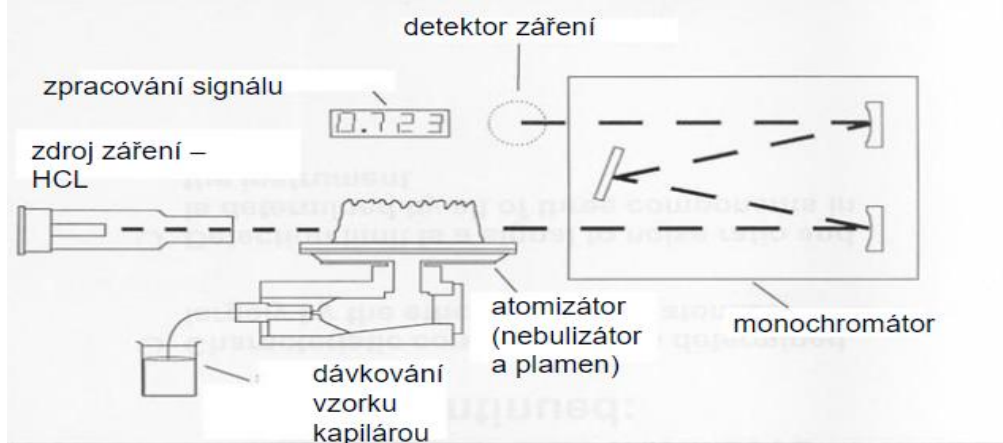
3.4.9 Atomová absorpční spektrometrie (AAS)

Příprava a zavedení vzorku zahrnuje převedení kapalného nebo pevného vzorku do stavu, který může přístroj zpracovat pro elementární analýzu. V případě plamene AAS to zahrnuje rozprašení vzorku, což zahrnuje vytvoření disperze jemné mlhy. Poté se tato mlha přivádí do plamene, aby rozbila všechny zbývající molekulární vazby. V grafitové peci AAS se kapalný vzorek zavádí přímo do kyvety, kde se transformuje na jemnou mlhu.

Vzorek je pak vystaven zdroji záření, který obvykle pochází ze světelného zdroje. Tento zdroj světla byl nastaven na definované vlnové délky a atomy kovů ve vzorku absorbují tyto vlnové délky (nebo ne). Když nastane absorpce, výsledkem je světelné spektrum, které má sníženou intenzitu světla v jedné nebo více z jeho oblastí. Tato snížená intenzita je charakteristická pro daný prvek a pomáhá jej identifikovat a také určit jeho koncentraci. (Černohorský et al. 1999)

AAS využívá různých vlnových délek záření, které jsou absorbovány různými atomy. Nástroj je nejspolehlivější, když jednoduchá linie může spojovat absorpci s koncentrací. Atomizér a monochromátorové nástroje jsou klíčem k tomu, aby zařízení AAS fungovalo. Poté je analyzát excitován různými světelnými zdroji a emituje směs vlnových délek. Po rozptylu těchto vlnových délek (včetně charakteristické vlnové délky analytu) měří přístrojový detektor AAS intenzitu vlnové délky. Protože koncentrace prvku je funkcí jeho intenzity vlnové délky, může být určena koncentrace cílového prvku. Také vytvořením referenčního systému ze standardů známé koncentrace lze i neznámé vzorky kvantitativně analyzovat. (Welz et al. 1999)

Schéma plamenového atomového spektrometru



Obr. 5: Schéma plamenového atomového spektrometru

4 Materiál a metody

Vliv stresu zasolení na fyziologicko-chemické parametry rostlin byl sledován u vybraných druhů rodu řepa. Z rostlinného vzorku odebraného v různých růstových fázích a rozdílných koncentracích zasolení, byly sledovány hodnoty obsahu Na a K. Ze zjištěných hodnot lze určit stav stresu rostliny a lze stanovit míru tolerance rostliny.

4.1 Charakteristika pokusného materiálu

Z rodu řepy byly vybrány tři druhy pěstované v ČR: krmná řepa (*Beta vulgaris* var. *crassa* Alef.), cukrová řepa (*Beta vulgaris* var. *altissima* Döll) a mangold (*Beta vulgaris* subsp. *cicla* L.). Za zástupce krmné řepy byla vybrána odrůda Hako, za řepu cukrovou odrůda Dobrovická A a za mangold odrůda Lucullus. Odrůdy byly vybrány z dostupných odrůd v České republice.

Dobrovická A je víceklíčkovou odrůdou výnosného typu. Je to odrůda z historického hlediska významná, která se hojně pěstovala v Československu před rokem 1989. Dávala poměrně dobrý a stabilní výnos s nízkou cukernatostí okolo 15 %. Dnes již nepatří mezi běžně pěstované odrůdy (Chochola 2012).

Hako je víceklíčková výnosná odrůda, objemového typu. Patří mezi odrůdy odolné vůči vybíhání do květu. Je charakteristická žlutooranžovou barvou bulvy válcovitého tvaru a polovzpřímeným postavení listové růžice. Nevýhodou této odrůdy je náchylnost ke skvrnitosti listů (Pokorný 2019).

Lucullus je řapíkatá odrůda mangoldu. Rostlina má světle zelenou barvu čepele listů, obrůstá a je určena k řezu. Má široké využití jako zelenina a lze ji sklízet opakovaně během roku. Mezi její charakteristické znaky patří široké listy, tlustá žebra. Řapíky jsou až 6 cm široké a 2 - 3 cm silné (Šebela 2019).

4.2 Materiál použitý k měření

Pro měření byl získán materiál z nádobového pokusu, jenž byl založen v částečně řízených skleníkových podmínkách. Teplota prostředí byla udržována na 20 °C ve dne a 19 °C v noci. Pokus byl uskutečněn za přirozeného světelného režimu. Schéma pokusu zahrnovalo pět variant: kontrolní (0 mM NaCl), S1 (50 mM NaCl), S2 (150 mM NaCl), S3 (250 mM NaCl), S4 (350 mM NaCl). Roztoky NaCl byly aplikovány v modifikovaném živném roztoku dle Hoaglanda. Koncentrace soli se zvyšovala ve dvoudenních intervalech po 50 mM NaCl. Pokusné rostliny byly pěstovány v nádobách o velikosti 11x11 cm, ve směsi rašeliny a vyzrálého kůrového humusu.

4.3 Příprava vzorku

Rostliny byly řádně označeny a vysušeny při teplotě 102 °C po dobu 48 hodin. Následně byly převedeny na homogenní vzorek. Pro rozklad rostlinného vzorku byla použita metoda mokrého rozkladu. Na analytických vahách byl navážen do malých patron homogenní vzorek o hmotnosti 0,270 g. Do velkých patron byla vložena malá patrona se vzorkem, 2 ml HNO₃ a 3 ml H₂O₂. Po uplynutí 30 minut byly patrony zavíčkované a vloženy do přístroje pro rozklad a mineralizaci vzorku. Kapacita přístroje činila 12 patron, z toho byly dva vzorky slepé a jeden referenční standartní vzorek 1573a Tomato Leaves. Přístroj byl nastaven na rozklad rostlinného materiálu po dobu 60minut.

Zmineralizovaný vzorek byl převeden do kádinek pomocí demineralizované vody a poté odpařen na varné desce. Po odpaření byl vzorek aplikován pomocí 1,5% HNO₃ do zkumavek. Následně byl doplněn objem HNO₃ ve zkumavce na 20 ml. Takto připravený roztok byl uchován pro následné ředění.

4.4 Měření

Pro měření byla zvolena metoda ASS. Před měřením byl vzorek 160krát naředěn. Přístroj byl nastaven nejprve pro měření Na při vlnové délce 589,0 nm a poté K při vlnové délce 766,5 nm. V průběhu měření byl přístroj kalibrován standardem, pro Na 10% a K 8%. Naměřené hodnoty byly zaznamenány v počítači a následně vyhodnoceny.

5 Výsledky

U tří druhů řepy (cukrová řepa, krmná řepa, mangold) byl měřen vliv zasolení na příjem Na a K. Z hodnot získaných ze spektrometru byly vypočteny obsahy Na a K a zkonstatována míra tolerance vůči stresu zasolením.

5.1 Obsah Na a K v rostlinách

Dobrovická A

Měření bylo provedeno z páté odběrové série. Čím vyšší byla koncentrace NaCl v půdním roztoku, tím se zvyšoval obsah Na vůči K. *Dobrovická A* vykazovala nejvyšší citlivost. Sledovaná rostlina při posledním odběru s nejvyšší koncentrací NaCl uhynula.

Tab. 3: Dobrovická A, série 5

mg/kg	Kontrola	S2	S3	S4
Na	33,278	45,038	54,452	59,956
K	90,215	76,967	69,464	70,958

Hako

Odrůda *Hako* byla měřena ze sedmé, odběrové série. Při nižších dávkách NaCl rostlina vykazovala srovnatelnou rychlost růstu s referenční rostlinou. Při zvýšení koncentrace NaCl došlo ke zpomalení růstu a zvýšení koncentrace Na v rostlinném materiálu. Rostliny vykazovaly střední toleranci.

Tab. 4: Hako, série 7

mg/kg	Kontrola	S1	S2	S4
Na	32,639	42,734	53,957	65,202
K	81,469	76,639	72,547	70,266

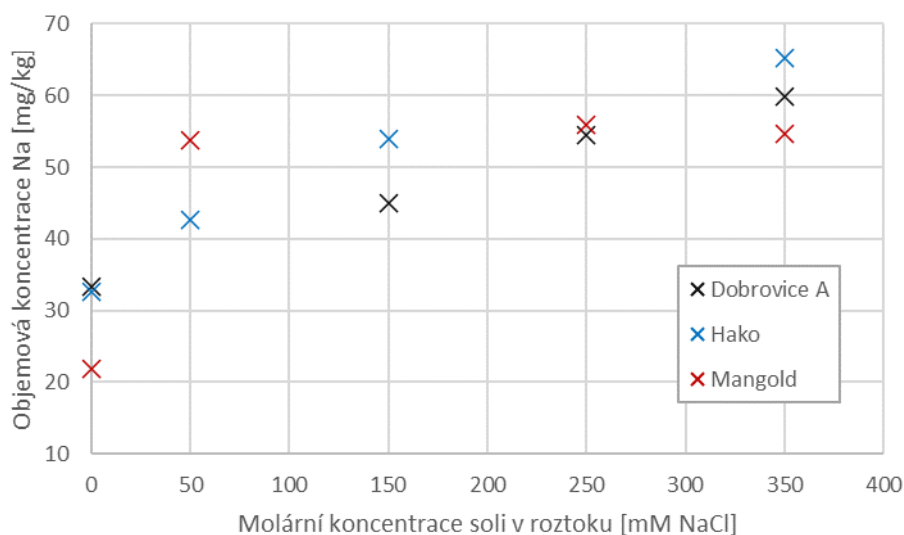
Mangold

Měření tolerance odrůdy *Mangoldu* bylo provedeno ze čtvrté odběrové série. Rostliny vykazovaly dobrý růst i ve vyšší míře zasolení. Z výsledků vyplývá vyšší tolerance vůči stresu zasolením. Rostlina déle odolávala příjmu Na. U odrůdy byla potvrzena nejvyšší toleranci vůči zasolení z měřených odrůd. Při S4 si byly koncentrace Na a K srovnatelné.

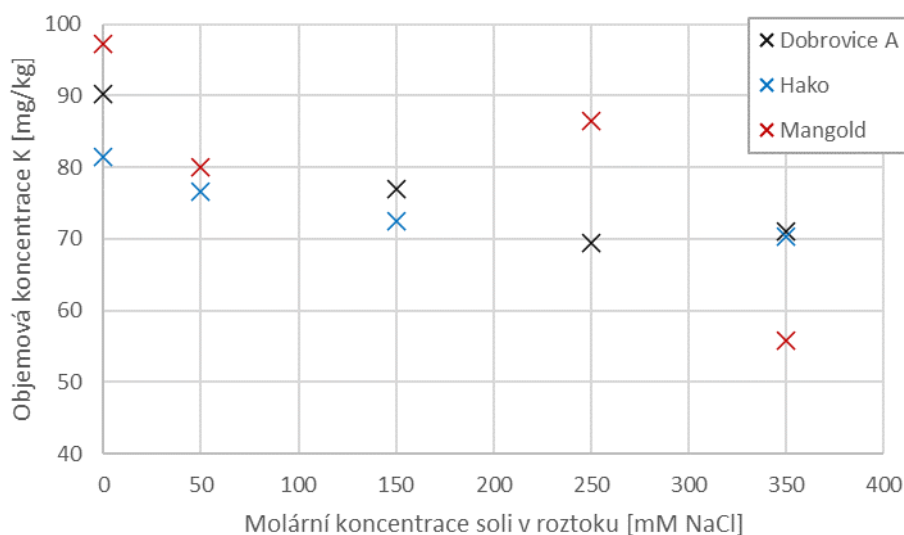
Tab. 5: Mangold, série 4

mg/kg	Kontrola	S1	S3	S4
Na	21,92	53,752	55,836	54,631
K	97,309	80,040	86,506	55,758

Grafy na Obr. 6, resp. Obr. 7 shrnují závislost objemové koncentrace sodíku, resp. draslíku v rostlinném vzorku na molární koncentraci soli v roztoku. Lze vidět, že při nejvyšší salinitě měla nejvyšší obsah sodíku odrůda *Hako*. Naopak nejnižší obsah byl naměřen u odrůdy *Mangold*. Koncentrace draslíku byla při salinitě 350 mM srovnatelná pro řepy *Hako* a *Dobrovice A* a nižší pro odrůdu *Mangold*. Úhyn rostliny *Dobrovice A* zřejmě nezávisí pouze na obsahu Na a K, nýbrž na mnoha jiných faktorech. Pro přesnější vyhodnocení je zapotřebí provést více experimentů, jenž budou součástí další práce.



Obr. 6: Závislost objemové koncentrace sodíku v rostlinném vzorku na molární koncentraci soli v roztoku.



Obr. 7: Závislost objemové koncentrace draslíku v rostlinném vzorku na molární koncentraci soli v roztoku.

6 Závěr

Tato práce se zabývá, zhodnocením botanického rodu řepa (*Beta sp.*) se zaměřením na hospodářsky významné druhy tohoto rodu, definicí stresu rostlin a jeho dělením, se zaměřením na stres zasolením, popisu fyziologie a biochemie stresu u rostlin, seznámením se s metodikami pro stanovení parametrů stresu a prvků Na a K. U vybraných vzorků rostlin provést analýzy na obsahy Na a K.

Stres je definován jako stav, ve kterém se rostlina nachází pod vlivem stresorů. Stresory ovlivňují růst rostliny, její rozvoj a spouštějí celou řadu reakcí, od pozměněné exprese genů, po modifikace v buněčném metabolismu nebo změny v rychlosti růstu a výnosu. U rostlin mohou být stresorem například nadbytek závlivky nebo naopak nedostatek vody, nedostatek živin, příliš vysoký sluneční svit, nízké teploty, střídání teplot, nedostatek světla, nebo napadení škůdci a chorobami.

Stres ovlivňuje celou rostlinu, a to jak kořeny, tak nadzemní část, ale i vyvíjející se semena. Pokud proměnlivost negativních podmínek vnějšího prostředí překročí určitou hranici, začnou se postupně projevovat poruchy struktur jednotlivých funkcí a následně i orgánů rostliny.

U rostlin se mluví o abiotickém nebo biotickém stresu. Biotický stres souvisí se živými organismy. Abiotický stres je takový, který přímo nesouvisí se živými organismy. Patří zde například stres z nedostatku světla, vody nebo kyslíku, nebo z nadbytku světla, stres vyvolaný vysokou nebo nízkou teplotou, námrazy, vítr, sucho, zasolení. Abiotický stres je primární celosvětovou příčinou snížení výnosu o více než 50 %.

Zasolování bylo vyhodnoceno jako jedna z osmi hlavních příčin degradace půdy. V celosvětovém měřítku je problém salinizace půd závažný, a to především v aridních oblastech a semiaridních oblastech (důležitý je poměr srážek a evaporace). Udává se, že okolo 23 % zemědělských půd je v globálním měřítku ohroženo zasolením. Tento fakt výrazně omezuje možnost zemědělské produkce. A se zvyšujícím se suchem může výrazný nárůst zasolení postihnout do roku 2050 až 50 % veškeré úrodné půdy.

Vznik zasolení má dva hlavní zdroje, přírodní ve formě vulkanické činnosti či půdotvorných procesů a antropogenní, kdy je k zavlažování používána odpadní voda bohatá na soli a využití kalu ČOV, odpadních látek ke hnojení zemědělských půd. K zasolení dochází dále například vlivem zvýšené hladiny moří v příbřežních oblastech a deltách řek, zde dochází k zaplavení zemědělské půdy. V České republice je zvýšený obsah solí v půdě spíše ojedinělým jevem. Jedním z unikátních míst je například SOOS u Františkových lázní, kde se nachází vývěr minerálních vod se zvýšeným obsahem solí.

Projevy poškození rostlin solemi jsou podobné, jako při výživových nedostatcích. Snižuje se intenzita růstu rostlin, listů je méně, oproti normálu jsou malé a uvadají, také se

mění jejich barva. Kořeny rostou méně, je malá násada květů a tím zapříčiněný snížený počet plodů. Vysoké koncentrace sodíku a chloru se hromadí v listech a způsobují jejich popálení.

Zasolení ale nemusí mít na plodiny jen negativní účinky. Například u špenátu či mangoldu mohou být při nižší koncentraci výnosy zpočátku zvýšeny. Soli v půdě mohou také zvyšovat obsah cukrů v mrkvi, v bramborách snižují obsah škrobu. Hlávky zelí jsou při nízkých hodnotách zasolení pevnější, ale se zvyšováním úrovně zasolení se hlávky stávají méně kompaktními.

Seznámila jsem se s metodikou stanovení K^+ a Na^+ v pokusných rostlinách rodu řepa. Měření bylo uskutečněno metodou atomové absorpční spektrometrie (AAS). Výsledky měření budou více uvedeny v diplomové práci, která bude zaměřena na odolnost rostlin vůči stresu zasolením a součástí výsledků bude také stanovení K^+ a Na^+ . Dle výsledků lze konstatovat, že metoda AAS bude vhodnou metodou pro stanovení sledovaných prvků.

7 Literatura

Ahmad R., Lim C. J., Kwon S.-Y. 2013 Glycine betaine: a versatile compound with great potential for gene pyramiding to improve crop plant performance against environmental stresses, *Plant Biotechnology Reports*, vol. 7, pp. 49–57 .

Alamgir A. N. M., Ali Yousuf M, 1999 Effect of salinity on leaf pigments, sugar and protein concentrations and chloroplast ATPase activity of rice (*Oryza sativa* L.), *Bangladesh Journal of Botany*, vol. 28, no. 2, pp. 145–149, .

Aly-Salama K. H., Al-Mutawa M. M., 2009 Glutathione-triggered mitigation in salt-induced alterations in plasmalemma of onion epidermal cells, *International Journal of Agriculture and Biology*, vol. 11, no. 5, pp. 639–642.

Alqudah AM, Samarah NH, Mullen RE. 2011. Drought Stress Effect on Crop Pollination, Seed Set, Yield and Quality. *Alternative Farming Systems, Biotechnology, Drought Stress and Ecological Fertilisation* 6:193-213. Springer Netherlands, Dordrecht. http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-94-007-0186-1_6.

Ashraf M., N. A. Akram, R. N. Arteca, M. R. Foolad, 2010 The physiological, biochemical and molecular roles of brassinosteroids and salicylic acid in plant processes and salt tolerance, *Critical Reviews in Plant Sciences*, vol. 29, no. 3, pp. 162–190.

Ashraf M., Foolad M. R., 2007 Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance, *Environmental and Experimental Botany*, vol. 59, no. 2, pp. 206–216,.

Atkinson NJ, Urwin PE. 2012. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *Journal of Experimental Botany* 63:3523-3543. <https://academic.oup.com/jxb/article-lookup/doi/10.1093/jxb/ers100>

Barragán V., E. O. Leidi, Z. Andrés et al., 2012 Ion exchangers NHX1 and NHX2 mediate active potassium uptake into vacuoles to regulate cell turgor and stomatal function in *Arabidopsis*, *Plant Cell*, vol. 24, no. 3, pp. 1127–1142,.

Begara-Morales J. C., B. Sánchez-Calvo, M. Chaki et al., 2014 Dual regulation of cytosolic ascorbate peroxidase (APX) by tyrosine nitration and S-nitrosylation, *Journal of Experimental Botany*, vol. 65, no. 2, pp. 527–538

Bohnert H. J., D. E. Nelson, and R. G. Jensen, 1995 Adaptations to environmental stresses, *Plant Cell*, vol. 7, no. 7, pp. 1099–1111,

Bor M, Özdemir F, Türkan I. 2003. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. Plant Science 164:77-84. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168945202003382>.

Breinek P. 2013 Iontové selektivní elektroky

https://is.muni.cz/el/med/podzim2013/TXOMII/um/ISE_bisenzory_I_2013.pdf

Chen S., J. Li, S. Wang, A. Hüttermann, A. Altman, 2001 Salt, nutrient uptake and transport, and ABA of *Populus euphratica*; a hybrid in response to increasing soil NaCl, Trees—Structure and Function, vol. 15, no. 3, pp. 186–194.

Chochola J. 2012. 100 let šlechtění a výzkumu cukrové řepy v Semčicích. Listy cukrovarnické a řepářské. 128:158-162.

Cona A., G. Rea, R. Angelini, R. Federico, and P. Tavladoraki, 2006 Functions of amine oxidases in plant development and defence, Trends in Plant Science, vol. 11, no. 2, pp. 80–88,.

Černohorský T., Jandera P. 1997.: skripta "Atomová spektroskopie", Univerzita Pardubice, ISBN 80-7194-114-X

Dadkhah, A. R. 2011. Effect of salinity on growth and leaf photosynthesis of two sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars. Journal of Agricultural Science and Technology, 13, 1001-1012.

De Lourdes Otoch Oliveira M., A. C. Menezes Sobreira, M. E. Farias De Aragão, E. G. Orellano, M. Da Guia Silva Lima, and D. Fernandes De Melo, 2001 Salt modulation of vacuolar H⁺-ATPase and H⁺-Pyrophosphatase activities in *Vigna unguiculata*, Journal of Plant Physiology, vol. 158, no. 5, pp. 545–551.

Deivanai S., R. Xavier, V. Vinod, K. Timalata, and O. F. Lim, 2011 Role of exogenous proline in ameliorating salt stress at early stage in two rice cultivars, Journal of Stress Physiology & Biochemistry, vol. 7, pp. 157–174,

Dietz, N.K. J., Tavakoli, C. Kluge et al., 2001 Significance of the V-type ATPase for the adaptation to stressful growth conditions and its regulation on the molecular and biochemical level, Journal of Experimental Botany, vol. 52, no. 363, pp. 1969–1980.

Dudek F. 1993(2): Cukr jako bílé zlato. LCaŘ., 109, , s. 42-43.

Duan J., J. Li, S. Guo, and Y. Kang, 2008 Exogenous spermidine affects polyamine metabolism in salinity-stressed *Cucumis sativus* roots and enhances short-term salinity tolerance, Journal of Plant Physiology, vol. 165, no. 15, pp. 1620–1635,.

FAO, High Level Expert Forum—How to Feed the World in 2050, 2009 Economic and Social Development, Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, Italy,

Flowers TJ., Colmer T.D. 2008. Salinity tolerance in halophytes. *New Phytologist*, 179: 945-963.

Flowers T. J., 2004. "Improving crop salt tolerance," *Journal of Experimental Botany*, vol. 55, no. 396, pp. 307–319.

Galvan-Ampudia CS, Testerink C. 2011. Salt stress signals shape the plant root. *Current Opinion in Plant Biology* 14:296-302.

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1369526611000318>.

Gao Z., M. Sagi, and S. H. Lips, 1998 Carbohydrate metabolism in leaves and assimilate partitioning in fruits of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) as affected by salinity, *Plant Science*, vol. 135, no. 2, pp. 149–159.

Gálvez F. J., M. Baghour, G. Hao, O. Cagnac, M. P. Rodríguez-Rosales, and K. Venema, 2012. Expression of LeNHX isoforms in response to salt stress in salt sensitive and salt tolerant tomato species, *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 51, pp. 109–115.

Genua-Olmedo A., Alcaraz C., Caiola N., Ibanez 2016 : Sea level rice impact on rice production: The Ebro Delta as an example. *Science of the Total Environment*, 571:1200-1210

Ghoulam C, Foursy A, Fares K. 2002. Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars.

Environmental and Experimental Botany 47:39-50.
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0098847201001095>.

Gill S.S., M. Tajrishi, M. Madan, and N. Tuteja, 2013 A DESD-box helicase functions in salinity stress tolerance by improving photosynthesis and antioxidant machinery in rice (*Oryza sativa* L. cv. PB1), *Plant Molecular Biology*, vol. 82, no. 1-2, pp. 1–22.

Gupta, B., Huang, B. 2014. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. *International journal of genomics*.

Guo Y., Q.-S. Qiu, F. J. Quintero et al., 2004. Transgenic Evaluation of Activated Mutant Alleles of SOS2 Reveals a Critical Requirement for Its Kinase Activity and C-Terminal Regulatory Domain for Salt Tolerance in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Cell*, vol. 16, no. 2, pp. 435–449, .

Hasegawa P. M., R. A. Bressan, J.-K. Zhu, and H. J. Bohnert, 2000 Plant cellular and molecular responses to high salinity, *Annual Review of Plant Biology*, vol. 51, pp. 463–499,

Hasanuzzaman M., K. Nahar, and M. Fujita, 2014 Regulatory role of polyamines in growth, development and abiotic stress tolerance in plants, in *Plant Adaptation to Environmental Change: Significance of Amino Acids and Their Derivatives*, pp. 157–193.

Hejný S. a Slavík B. 2003, ed. *Květena České republiky*. 2., nezm. vyd. Praha: Academia, ISBN 80-200-1090-4.

Horie, T., Karahara, I. & Katsuhara, M. 2012 Salinity tolerance mechanisms in glycophytes: An overview with the central focus on rice plants. *Rice* **5**, 11 <https://doi.org/10.1186/1939-8433-5-11>

Kaburagi E, Morikawa Y, Yamada M, Fujiyama H. 2014 Sodium enhances nitrate uptake in Swiss chard (*Beta vulgaris* var. *cicla* L.). *Soil Science and Plant Nutrition* 60:651-658. Available at <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00380768.2014.938595>.

Kacperska A. 2004. Sensor types in signal transduction pathways in plant cells responding to abiotic stressors: do they depend on stress intensity?. *Physiologia Plantarum* 122:159168. <http://doi.wiley.com/10.1111/j.0031-9317.2004.00388.x>

Kerepesi I. and G. Galiba, 2000 Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings, *Crop Science*, vol. 40, no. 2, pp. 482–487.

Khitrov N.B., Chemikov E.A., Popova V.P., fomenkoT.G. 2016 Factors and mechanizms of soilsalinization under vineyards of southern Taman. *Eurasian Soil Science*,49(11):1228-1240.

Kim Y. H., A. Latif Khan, M. Waqas et al., 2013 Silicon application to rice root zone influenced the phytohormonal and antioxidant responses under salinity stress, *Journal of Plant Growth Regulation*,

Koplík R.2016 :Ústav analýzy a výživy rostlin

Web: <https://web.vscht.cz/~koplikr/>

Kříženecká S. a Synek V., 2014 *Základy analytické chemie*. Ústí nad Labem: Univerzita J.E. Purkyně v Ústí nad Labem, ISBN 978-80-7414-804-0.

Lamattina L., C. García-Mata, M. Graziano, and G. Pagnussat, 2003 Nitric oxide: the versatility of an extensive signal molecule, *Annual Review of Plant Biology*, vol. 54, pp. 109–136.

Larcher W. 2003. *Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups*, 4th ed. Springer, New York.

Lichtenthaler H. 1998. *The Stress Concept in Plants: An Introduction*. *Annals of the New York Academy of Sciences* 851:187-198.

<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1749-6632.1998.tb08993.x>.

Liu J., M. Ishitani, U. Halfter, C.-S. Kim, and J.-K. Zhu, 2000 The Arabidopsis thaliana SOS2 gene encodes a protein kinase that is required for salt tolerance, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 97, no. 7, pp. 3730–3734.

Luo Q, Yu B, Liu Y. 2005. Differential sensitivity to chloride and sodium ions in seedlings of *Glycine max* and *G. soja* under NaCl stress. *Journal of Plant Physiology* 162:1003-1012. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0176161705000398>.

Ma L., H. Zhang, L. Sun et al., 2012 NADPH oxidase AtrbohD and AtrbohF function in ROS-dependent regulation of Na⁺/K⁺ homeostasis in Arabidopsis under salt stress, *Journal of Experimental Botany*, vol. 63, no. 1, pp. 305–317.

Mahajan S. and N. Tuteja, 2005 Cold, salinity and drought stresses: an overview, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 444, no. 2, pp. 139–158.

Martínez-Atienza J., X. Jiang, B. Garcíadeblas et al., 2007 Conservation of the salt overly sensitive pathway in rice, *Plant Physiology*, vol. 143, no. 2, pp. 1001–1012.

Marschner H., P. J. C. Kuiper, A. Kylin, 2006 Genotypic differences in the response of sugar beet plants to replacement of potassium by sodium, *Physiologia Plantarum*, 10.1111/j.1399-3054.1981.tb02705.x, 51, 2, (239-244).

McKersie BD, Leshem Y'acov Y. 1994. *Stress and stress coping in cultivated plants*. Kluwer Academic Publishers, Boston.

Meneguzzo S, Navam-Izzo F, Izzo R. 1999 Antioxidative Responses of Shoots and Roots of Wheat to Increasing NaCl Concentrations. *Journal of Plant Physiology* 155:274-280. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0176161799800194>.

Mittler R. 2006 Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science* 11:15-19.

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1360138505002918>.

Munné-Bosch S. 2005 The role of α -tocopherol in plant stress tolerance. *Journal of Plant Physiology* 162:743-748.

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S017616170500129X>.

Munns R. 2002 Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell & Environment*, 25: 239-250.

Munns R. and M. Tester, 2008 Mechanisms of salinity tolerance, Annual Review of Plant Biology, vol. 59, pp. 651–681.

Němeček J. a kol. 2011: Taxonomický klasifikační systém půd ČR. 2. vyd., ČZU, Praha.

Nilsen ET, Orcutt DM, Hale MG. 1996. The physiology of plants under stress. Wiley, New York.

Ober ES, Rajabi A. 2010. Abiotic Stress in Sugar Beet. Sugar Tech 12:294-298. <http://link.springer.com/10.1007/s12355-010-0035-3>

Parida A. K., A. B. Das, and P. Mohanty, 2004, Investigations on the antioxidative defence responses to NaCl stress in a mangrove, *Bruguiera parviflora*: differential regulations of isoforms of some antioxidative enzymes, Plant Growth Regulation, vol. 42, no. 3, pp. 213–226.

Perez-Gimeno A., Navarro-Pedreno J., Almendro-Candel M.B., Gomez I., Jordan M.M. 2016 Environmental consequences of the use of sewage sludge kompost and limestone outcrop residue for soil restoration: salinity and trace elements pollution. Journal of Soil and sediment 16(3):1012-1021

Stanislav Procházka a kol. 1998 Fyziologie rostlin. Praha: Academia, . ISBN 80-200-0586-2. S. 484.

Quintero F. J., M. Ohta, H. Shi, J.-K. Zhu, and J. M. Pardo, 2002 Reconstitution in yeast of the Arabidopsis SOS signaling pathway for Na⁺ homeostasis, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol. 99, no. 13, pp. 9061–9066,.

Quintero F. J., J. Martinez-Atienza, I. Villalta et al., 2011 Activation of the plasma membrane Na/H antiporter salt-overly-sensitive 1 (SOS1) by phosphorylation of an auto-inhibitory C-terminal domain, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol. 108, no. 6, pp. 2611–2616.

Rahmad M.M., Hagare D., Mehawari B. 2016 Bayesian Belief Network analysis of soil salinity in a periurban agricultural fald irrigated with recycled ether. Agricultural Water Management, 176:280-296.

Reddy M. P., S. Sanish, and E. R. R. Iyengar, 1992 Photosynthetic studies and compartmentation of ions in different tissues of *Salicornia brachiata* Roxb. under saline conditions, Photosynthetica, vol. 26, pp. 173–179,.

Rejšek, K., Vácha, R. 2018. Nauka o půdě, Olomouc : Agriprint, s.r.o., 527 s. : ISBN: 978-80-87091-82-1

Sairam R. K. and A. Tyagi, 2004 Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants, *Current Science*, vol. 86, no. 3, pp. 407–421.

Saneoka H, Nagasaka C, Hahn DT, Yang WJ, Premachandra GS, Joly RJ, Rhodes D. 1995 Salt tolerance of glycinebetaine-deficient and – containing maize lines. *Plant Physiol* 107:631-638. Available from <http://www.plantphysiol.org/content/107/2/631.short>.

Sawada H., I.-S. Shim, and K. Usui, 2006 Induction of benzoic acid 2-hydroxylase and salicylic acid biosynthesis-Modulation by salt stress in rice seedlings, *Plant Science*, vol. 171, no. 2, pp. 263–270 .

Saxena S. C., H. Kaur, P. Verma et al., 2013 Osmoprotectants: potential for crop improvement under adverse conditions, in *Plant Acclimation to Environmental Stress*, pp. 197–232, Springer, New York, NY, USA.

Serrano R., J. M. Mulet, G. Rios et al., 1999 A glimpse of the mechanisms of ion homeostasis during salt stress, *Journal of Experimental Botany*, vol. 50, pp. 1023–1036.

Schroeder J. I., E. Delhaize, W. B. Frommer et al., “Using membrane transporters to improve crops for sustainable food production,” *Nature*, vol. 497, pp. 60–66, 2013.

Shannon MC, Grieve CM. 1998. Tolerance of vegetable crops to salinity. *Scientia Horticulturae* 78:5-38.

Shu S., S. R. Guo, and L. Y. Yuan, 2012 A review: polyamines and photosynthesis, in *Advances in Photosynthesis—Fundamental Aspects*, M. M. Najafpour, Ed., pp. 439–464, InTech, Rijeka, Croatia.

Song S.-Y., Y. Chen, J. Chen, X.-Y. Dai, and W.-H. Zhang, 2011 Physiological mechanisms underlying OsNAC5-dependent tolerance of rice plants to abiotic stress, *Planta*, vol. 234, no. 2, pp. 331–345.

Soukup J, Holec J, Vejl P, 2002 Úrada Česká zemědělská univerzita v Praze
<https://www.uroda.cz/plevelna-repa-vlekly-problem/>

Stehlik V. 1956. Řepářství. Praha: Státní zemědělské nakladatelství

Suzuki N, Rivero RM, Shulaev V, Blumwald E, Mittler R. 2014. Abiotic and biotic stress combinations. *New Phytologist* 203:32-43. Available at <http://doi.wiley.com/10.1111/nph.12797>.

Šarapatka, Bořivoj, 2014 *Pedologie a ochrana půdy*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2014. ISBN 978-80-244-3736-1.

Šarapatka B., Dlapa P., Bedrna Z., 2002 Kvalita a degradace půdy. Univerzita Palackého v Olomouci.

Šebela R. 2019. Mangold řapíkatý Lucullus. Pronachem spol. s r.o. <https://www.prohopo.cz/cs/p-3027-mangold-rapikaty-lucullus/?cat=1>

Šimoj., et.al.1964 : Rostlinná výroba II, SZN, Praha: státní zemědělské nakladatelství

Šroller, Josef a Josef Pulkrábek. 1993 Základy pěstování krmné řepy. Praha: Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR., ISBN 80-7105-036-9.

Tal A. 2016 Rethinking the sustainability of Israel's irrigation practises in the Drylands. Wather Research,90:387-394.

Thompson Je, Legge Rl, Barber Rf. 1987 The role of free radicals in senescence and wounding. New Phytologist 105:317-344. <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1469-8137.1987.tb00871.x>

Tuteja N., R. K. Sahoo, B. Garg, and R. Tuteja, 2013 OsSUV3 dual helicase functions in salinity stress tolerance by maintaining photosynthesis and antioxidant machinery in rice (*Oryza sativa* L. cv. IR64), *The Plant Journal*, vol. 76, no. 1, pp. 115–127.

Urano K., Y. Yoshiba, T. Nanjo et al., 2003 Characterization of *Arabidopsis* genes involved in biosynthesis of polyamines in abiotic stress responses and developmental stages, *Plant, Cell and Environment*, vol. 26, no. 11, pp. 1917–1926.

Vaněk, Václav, Jiří Balík, Milan Pavlík, Daniela Pavlíková a Pavel Tlustoš. 2016 Výživa a hnojení polních plodin. Praha: Profi Press. ISBN 978-80-86726-79-3

Volka K., Tkadlecová M., Záruba K. 2006 Příklady z analytické chemie pro bakalářš, 1 vyd., Vysoká škola chemicko-technologická v Praze.

Wang B., U. Lüttge, and R. Ratajczak, 2001 Effects of salt treatment and osmotic stress on V-ATPase and V-PPase in leaves of the halophyte *Suaeda salsa*, *Journal of Experimental Botany*, vol. 52, no. 365, pp. 2355–2365.

Welz B., M. Sperling: 1999 Atomic Absorption Spectrometry, Wiley-VCH, Weinheim, ISBN 3-527-28571-7

White PJ, Bowen HC, Broadley MR, El-Serehy HA, Neugebauer K, Taylor A, Thompson JA, Wright G. 2017. Evolutionary origins of abnormally large shoot sodium accumulation in nonsaline environments within the Caryophyllales. *New Phytologist* 214:284-293. <http://doi.wiley.com/10.1111/nph.14370>.

Yamaguchi K., Y. Takahashi, T. Berberich et al., 2006 The polyamine spermine protects against high salt stress in *Arabidopsis thaliana*, *FEBS Letters*, vol. 580, no. 30, pp. 6783–6788.

Yen H. E., S.-M. Wu, Y.-H. Hung, and S.-K. Yen, 2000 Isolation of 3 salt-induced low-abundance cDNAs from light-grown callus of *Mesembryanthemum crystallinum* by suppression subtractive hybridization, *Physiologia Plantarum*, vol. 110, no. 3, pp. 402–409,.

Yordanov I, Velikova V, Tsonev T. 2000. *Photosynthetica* 38:171-186. Available at <http://link.springer.com/10.1023/A:1007201411474>.

Zhang J. L. and H. Shi, 2013 Physiological and molecular mechanisms of plant salt tolerance, *Photosynthesis Research*, vol. 115, pp. 1–22.

Zhang Y., L. Wang, Y. Liu, Q. Zhang, Q. Wei, and W. Zhang, 2006 Nitric oxide enhances salt tolerance in maize seedlings through increasing activities of proton-pump and Na⁺/H⁺ antiport in the tonoplast, *Planta*, vol. 224, no. 3, pp. 545–555.

Zhu J.K., 2003 Regulation of ion homeostasis under salt stress, *Current Opinion in Plant Biology*, vol. 6, no. 5, pp. 441–445,