

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra botaniky a fyziologie rostlin**



**Vliv foliární aplikace prolinu a glycin betulinu na obsah prolinu u *Triticum durum* v podmínkách solného stresu.**

**Bakalářská práce**

**Ludmila Veberová**

**Pěstování rostlin**

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

© 2019 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci " Vliv foliární aplikace prolinu a glycin betulinu na obsah prolinu u *Triticum durum* v podmínkách solného stresu." jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 18. 4. 2019

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí mé bakalářské práce Ing. Heleně Hnilíčkové, Ph.D. za trpělivost, vstřícný přístup, poskytnuté materiály a cenné připomínky při zpracování této práce. Dále bych chtěla poděkovat rodičům, sourozencům a všem blízkým za podporu a trpělivost při studiu, kterou se mnou měli.

# Vliv foliární aplikace prolinu a glycin betulinu na obsah prolinu u *Triticum durum* v podmínkách solného stresu

## Souhrn

Zasolení je významným abiotickým stresem, který bude v budoucnu představovat celosvětový problém v oblasti zemědělství. Cílem této bakalářské práce je určit vliv foliární aplikace prolinu a glycin betulinu na obsah prolinu v kořenech a nadzemní biomase pšenice tvrdé (*Triticum durum*) v podmínkách solného stresu.

Experiment byl založen ve skleníkových podmínkách 24. dubna 2018. Pšenice tvrdá byla vyseta do zahradnického substrátu do PVC kontejnerů. Byl sledován vliv solného stresu na obsah prolinu v nadzemní biomase a kořenech po foliární aplikaci prolinu, glycin betulinu a kombinace prolin + glycin betulin. Rostlinám stresovaných solí byla dána zálivka 400 ml na kontejner s roztokem 150 mmol/l NaCl a kontrolním rostlinám byla dána zálivka 400 ml destilované vody na kontejner. Prolin byl rostlinám foliárně aplikován v dávce 0,02 g/l a glycin betulin v dávce 0,05 g/l.

Stanovení obsahu prolinu bylo prováděno na spektrofotometru metodou podle Batese (1973).

Bylo zjištěno, že rostliny jako odezvu na solný stres akumulují velké množství prolinu. Foliární aplikací prolinu rostlinám v podmínkách solného stresu došlo ke zvýšení obsahu prolinu jak u nadzemní biomasy stresovaných rostlin, tak i u kořenů těchto rostlin.

Foliární aplikací glycin betulinu a prolinu s glycin betulinem aplikovaným současně došlo k rozdílným výsledkům u nadzemní biomasy a u kořenů rostlin.

U nadzemní biomasy stresovaných rostlin došlo po aplikaci glycin betulinu či aplikaci glycin betulinu současně s prolinem k akumulaci vyššího obsahu prolinu než u rostlin v podmínkách solného stresu, u kterých nedošlo k foliární aplikaci kompatibilních solutů. Průměrná hodnota obsahu prolinu, kterou si rostlina sama naakumulovala jako reakci na zasolení, byla 455 µg/g. Po foliární aplikaci prolinu se průměrná hodnota obsahu prolinu v nadzemní biomase zvýšila na 715 µg/g. Po aplikaci glycin betulinu byla průměrná hodnota obsahu prolinu u stresovaných rostlin 680 µg/g a po aplikaci obou kompatibilních solutů zároveň byla tato hladina nejvyšší, dosáhla 808 µg/g.

U kořenů stresovaných rostlin naopak docházelo k nižší akumulaci prolinu po aplikaci glycin betulinu v porovnání se stresovanými rostlinami, u kterých nedošlo k foliární aplikaci osmoprotektantů. Průměrná hodnota obsahu prolinu, kterou si rostlina naakumulovala v kořenech jako reakci na zasolení, byla 560  $\mu\text{g/g}$ . Po foliární aplikaci prolinu se průměrná hodnota obsahu prolinu v kořenech zvýšila na 790  $\mu\text{g/g}$ . Po aplikaci glycin betulinu klesla hladina obsahu prolinu na 520  $\mu\text{g/g}$ . Foliární aplikací obou kompatibilních solutů zároveň se dosáhlo opětovného zvýšení obsahu prolinu na hodnotu 715  $\mu\text{g/g}$ .

U kontrolních rostlin, které nebyly vystavené solnému stresu, se průměrný obsah prolinu téměř neměnil. V kořenech kontrolních rostlin docházelo k vyšší akumulaci prolinu než u nadzemní biomasy těchto rostlin.

**Klíčová slova:** zasolení, prolin, glycin betulin, pšenice tvrdá

# Effect of foliar application of proline and glycine betulin on proline content in *Triticum durum* under conditions of salt stress.

## Summary

Salinisation is a significant abiotic stress that is expected to pose global agricultural problems in the future. The aim of this thesis is to determine the influence of foliar application of proline and glycine betulin on proline content in roots and above-ground biomass of durum wheat (*Triticum durum*) under salt stress conditions.

The experiment was set up in greenhouse conditions on 24th April 2018. *Triticum durum* was sown in a horticultural substrate in PVC containers. The influence of salt stress on the volume of proline in aboveground biomass and roots after foliar application of proline, glycine betulin and a combination of proline and glycine betulin was observed. Stressed plants were given a watering of 400 ml of 150 mmol/l solution of NaCl per container and non-stressed control plants were given a watering of 400 ml of distilled water per container.

The determination of proline volume was conducted through a spectrophotometric method according to Bates (1973).

It was discovered that plants accumulate a big volume of proline as a response to salt stressing. Foliar application of proline during salt stressing led to increase in volume of proline not only in the aboveground mass but also in roots of the plant.

Foliar application of glycine betulin and proline with glycine betulin led to different results in the aboveground biomass and in the roots.

Aboveground mass of plants treated with glycine betulin or glycine betulin plus proline accumulated a bigger volume of proline than salt stressed plants that were not treated with these solutions. Average volume of proline accumulated by the plant as a response to salt stress was 455  $\mu\text{g/g}$ . The figure increased to 715  $\mu\text{g/g}$  after foliar application of proline. The average volume of proline in stressed plants after application of glycine betulin was 680  $\mu\text{g/g}$ . After application of both proline and glycine betulin the number raised to 808  $\mu\text{g/g}$ .

The roots of stressed plants registered a lower accumulation of proline after the use of glycine betulin in comparison with stressed plants that were not treated with foliar

application of osmoprotectants. The average amount of proline, that the plant accumulated as a response to salt stress was 560  $\mu\text{g/g}$ . After foliar application of proline the volume of proline in the roots increased to 790  $\mu\text{g/g}$ . After treatment with glycine betulin the number lowered to 520  $\mu\text{g/g}$ . Foliar application of both of these solutions led to increase in the volume of proline to 715  $\mu\text{g/g}$ .

Control plants that were not faced with salt stress did not register any changes in the average amount of proline volume. The roots accumulated more proline than the aboveground mass of these plants.

**Keywords:** salinisation, proline, glycine betulin, durum wheat

# 1 Obsah

2 Úvod.....	1
3 Cíl práce.....	2
4 Literární rešerše .....	3
<b>4.1 Stres u rostlin (definice, charakteristika, dělení) .....</b>	<b>3</b>
4.1.1 Rozdělení stresu .....	4
<b>4.2 Stresová reakce u rostlin .....</b>	<b>5</b>
4.2.1 Rozdělení stresové reakce .....	6
4.2.2 Adaptace rostlin na stres.....	8
<b>4.3 Zasolení .....</b>	<b>9</b>
4.3.1 Glykofyty.....	11
4.3.2 Halofyty .....	11
4.3.3 Zasolení u pšenice .....	12
4.3.4 Omezení salinizace půd .....	13
<b>4.4 Kompatibilní soluty (prolin a glycin betain) .....</b>	<b>14</b>
4.4.1 Kompatibilní soluty – charakteristika.....	14
4.4.2 Prolin .....	14
4.4.3 Glycin betain (N,N,N-trimethylglycin) .....	16
5 Metodika.....	17
<b>5.1 Založení pokusu .....</b>	<b>17</b>
5.1.1 Průběh pokusu .....	17
<b>5.2 Stanovení obsahu prolinu.....</b>	<b>18</b>
6 Výsledky.....	19
<b>6.1 Stanovení obsahu prolinu v nadzemní biomase .....</b>	<b>19</b>
6.1.1 Kontrola a solný stres .....	19
6.1.2 Vliv aplikace prolinu na obsah prolinu .....	20
6.1.3 Vliv aplikace glycin betulinu na obsah prolinu .....	20
6.1.4 Vliv aplikace prolinu a glycin betulinu na obsah prolinu.....	21
6.1.5 Porovnání obsahu prolinu u kontroly a stresovaných rostlin .....	22
<b>6.2 Stanovení obsahu prolinu v kořenech .....</b>	<b>23</b>
6.2.1 Kontrola a solný stres .....	23
6.2.2 Vliv aplikace prolinu na obsah prolinu .....	23
6.2.3 Vliv aplikace glycin betulinu na obsah prolinu .....	24
6.2.4 Vliv aplikace prolinu a glycin betulinu na obsah prolinu.....	25
6.2.5 Porovnání obsahu prolinu u kontroly a stresovaných rostlin .....	26
<b>6.3 Porovnání obsahu prolinu nadzemní biomasy a kořenů.....</b>	<b>27</b>



<b>7</b>	<b>Diskuze .....</b>	<b>28</b>
<b>8</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>30</b>
<b>9</b>	<b>Citovaná literatura .....</b>	<b>32</b>

## 2 Úvod

Životní prostředí rostlin je velmi ovlivňováno proměnlivými vnějšími podmínkami. Když jsou tyto podmínky nevhodné pro růst, vývoj a rozmnožování rostlin, tak mluvíme o rostlinném stresu. Aby rostliny přežily, musí se s těmito nevhodnými podmínkami nějak vyrovnat.

Podle zdroje působení je možné rozdělit stresové faktory (neboli stresory), které působí na rostliny, na biotické a abiotické. Zasolení se řadí mezi abiotické stresory a má za následek snižování výnosů a biomasy. Rostliny se podle schopnosti tolerovat zasolení dají rozdělit do dvou skupin. První skupina – halofyty snáší zasolené prostředí dobře narozdíl od glykofytů, kam spadá většina rostlin a už při nižších koncentracích dochází k úhynu rostlin. Při vystavení rostlin solnému stresu dochází (stejně jako při vystavení rostlin stresu suchem) k buněčné dehydrataci, která způsobuje osmotický stres. Při osmotickém stresu dochází k zhoršení příjmu vody a slané půdy se pro rostliny stávají fyziologicky suchými.

Rostlina jako reakci na osmotický stres zvyšuje koncentraci osmoticky aktivních látek, mezi které se řadí také prolin a glycin betain. Prolin a glycin betain spadají do skupiny kompatibilních solutů, což jsou osmoticky aktivní a vysoce rozpustné látky, které se akumulují v cytoplasmě až do vysokých koncentrací při osmotickém stresu. Prolin se také uplatňuje při ochraně integrity plasmatické membrány či jako zdroj uhlíku, dusíku a redukujících ekvivalentů po odeznění stresu.

Tato práce se zaměřuje na rostliny v podmínkách abiotických stresů – zejména solného stresu a jeho vlivu na rostliny. Zároveň se zaměřuje na vliv foliární aplikace prolinu a glycin betulinu na obsah prolinu u pšenice tvrdé (*Triticum durum*).

### **3 Cíl práce**

Zasolení je v současné době velmi aktuální téma a nadále bude nabývat na významu. Solný stres výrazně ovlivňuje fyziologické procesy, zejména u glykofytních druhů. Prolin je významný osmoprotektant, který je schopen zadržovat vodu v buňkách a stabilizovat membrány v podmínkách osmotického stresu a dále je zdrojem uhlíku, dusíku a redukujících ekvivalentů po odeznění stresu. Cílem práce je sledovat vliv foliární aplikace prolinu a glycin betulinu na obsah prolinu v listech a kořenech pšenice tvrdé v podmínkách solného stresu.

## 4 Literární rešerše

### 4.1 Stres u rostlin (definice, charakteristika, dělení)

Životní prostředí rostlin je velmi ovlivňováno proměnlivými vnějšími podmínkami. Tyto podmínky jsou buď vhodné pro jejich růst, vývoj a rozmnožování, či jsou méně vhodné (méně vhodné se dají označit jako stresové faktory neboli stresory) a nutí rostliny měnit se a přizpůsobit se stávajícím podmínkám prostředí (Hnilička & Středa 2016).

Levitt (1980) poprvé použil pojem stres a strain a definoval základní principy obecného průběhu stresových reakcí. Stres je podle něj působení přírodních faktorů potenciálně nepříznivých pro živý organismus. Strain definuje Levitt (1982) jako fyziologickou změnu, která je reakcí na působení environmentálního stresu. Tato reakce však nemusí vždy nezbytně vést k redukci růstu nebo reprodukce rostliny a strain se dá rozdělit na reversibilní (elastický) a ireversibilní (plastický). Oba typy strainu se projevují jako stálá zátěž, která se na organismu projevuje jeho poškozením až smrtí (Levitt 1982).

Podle Shabaly (2017) je stres znevýhodňující vliv, působící na rostlinu pomocí abiotických a biotických faktorů.

Stres rostlin můžeme také definovat jako jakýkoliv vnější faktor, který negativně ovlivňuje růst rostlin, produktivitu, reprodukční schopnost či schopnost přežití (Rhodes & Nadolska-Orczyk 2001).

Stres si tedy obecně můžeme představit jako nepříznivý stav, který byl vyvolán působením činitele zvaném stresor. Po započnutí stresu následují obranné reakce, které mají za cíl zachovat homeostázu a zabránit poškození či dokonce smrti organismu (Hnilička & Středa 2016).

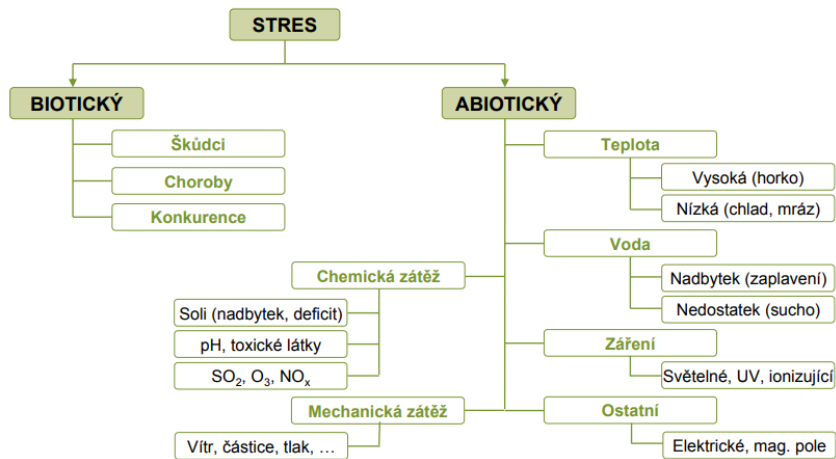
Každý rostlinný druh toleruje určité rozpětí jednotlivých faktorů a interval mezi minimální a maximální tolerovanou hodnotou se nazývá ekologickou valencí faktoru – tato ekologická valence se dá znázornit pomocí Gaussovy křivky. Optimum je taková hodnota faktoru, při které se organismus nejlépe vyvíjí a stres rostlin nastává vlivem odchylky od optimálních podmínek. Zde je nutné podotknout, že to, co je pro jeden rostlinný druh stresovým prostředím, může být pro jinou rostlinu naopak prostředím přirozeným. Každý rostlinný druh může mít jinou ekologickou valenci a tedy i jiné optimum (Bláha 2003).

### 4.1.1 Rozdělení stresu

Na živé organismy však nikdy nepůsobí pouze jednotlivé faktory vnějšího prostředí, ale vždy se jedná o celý komplex vlivů – abiotických a biotických faktorů, které vstupují do vzájemných interakcí – působení abiotických stresorů bývá zesilováno biotickými stresory a naopak (Bláha 2003).

Podle zdroje působení je tedy možné stresové faktory (neboli stresory), které působí na rostliny, rozdělit na **biotické** a **abiotické** (Hnilička & Středa 2016). Podle Ashrafa a Harrise (2005) závisí abiotický stres na interakci mezi organismy a fyzikálním prostředím a biotický stres vzniká mezi organismy.

Biotické stresové faktory rostlin jsou způsobovány všemi živými organismy včetně člověka. Mezi biotické stresové faktory rostlin tedy patří například negativní působení okolních organismů, útok patogenů, okus či antropogenní působení. Mezi abiotické stresory (způsobeny chemickými a fyzikálními vlivy) patří například působení nízkých a vysokých teplot, nadbytek či nedostatek vody či chemická zátěž (Hnilička & Středa 2016). Na obrázku číslo 1 najdete rozdělení stresových faktorů podle R. Cerkala.



Obr. 1: Rozdělení stresových faktorů (Cerkal 2011)

## 4.2 Stresová reakce u rostlin

Negativní vnější vlivy neboli stresory působí na celou rostlinu – tedy jak na kořeny, tak i na nadzemní část rostliny a také na vyvíjející se semena. Rostlinné druhy jsou i za značného kolísání faktorů vnějšího prostředí přizpůsobeny k vykonávání všech velmi důležitých životních funkcí (Bláha 2003). Aby se rostliny vyrovnaly s důsledkem stresu, tak si vyvinuly různé mechanismy, které jim pomáhají se vypořádat s negativními účinky stresu (Munns 2005). Při působení stresorů může rostlina na základě činnosti kompenzačních procesů dosáhnout nového rovnovážného stavu. Stresovou reakcí tedy můžeme nazvat skupinu reakcí, které se spustí pod vlivem stresorů (Bláha 2003). Při nezvládnutí vlivu stresorů může dojít až k uhynutí rostliny.

Podle Lichtenthalera (1998) můžeme stres rozdělit na „eustres“ a „distres“. „Eustres“ je podle něj pozitivní adaptivní stres který byl spuštěn malou mírou stresoru a způsobuje úpravu metabolismu a vede k nastolení optimálního stavu pod novými okolními podmínkami. „Distres“ je podle něj negativní stres, který byl způsoben velkou mírou stresoru a vede k destruktivnímu vlivu.

Výsledkem stresové reakce je tedy určitá úroveň adaptační schopnosti, přechodně může dojít k aklimaci (zvýšení úrovně odolnosti) vůči abiotickým stresorům (Bláha 2003). Aklimace je podle Cerkala (2011) účelné morfologické či fyziologické přizpůsobení individuální rostliny a aklimace je tedy nedědičná, individuální, ontogenetická, fenotypová a fakultativní. Jako příklad aklimace se nejčastěji uvádí otužení. Naopak adaptace je podle Cerkala (2011) dědičná, populační, fylogenetická, genotypová a konstitutivní. Adaptace jsou evoluční/genetické změny, které vedou k trvalé změně vlastností organismu. Jako příklad adaptace Cerkal (2011) uvádí například silnou kutikulu listů, rezervoáry vody či impregnaci buněčných stěn.

Podle Bláhy (2003) se řada rostlinných druhů dokáže vyhnout působení stresu, většinou se však rostlina pokouší o nastolení tolerance vůči stresu. Rostliny jsou vázané na svá stanoviště a nemohou tedy uniknout z mnoha ohrožujících environmentálních nebo antropogenních faktorů (Wang et al. 2006). Přisedlost rostlin rostlinám neumožňuje před stresem utéct, musí se tedy bránit jinak.

Mezi nejdůležitější mechanismy, jak se vyhnout stresu, tedy patří: syntéza kalózy (rostlinný polysacharid ( $\beta$ -1,3-glukan)), mykorrhiza, omezení asimilace kovů kořenem a

odstranění přebytečných kovů a vázání kovu v buněčné stěně (Małachowska-Jutysz & Gnida 2015).

Každá rostlina má určitou mez tolerance proměnlivosti negativních faktorů vnějšího prostředí. Jakmile je tato mez překročena, tak hovoříme o rostlinném stresu, což znamená, že se objeví poruchy struktur jednotlivých funkcí a následně i orgánů rostliny.

Stres se projevuje v biosféře na různých úrovních – na úrovni organely, buňky či pletiva, rostliny, rostlinného společenstva, ekosystému a krajiny. Na úrovni organely dochází k podstatnému ovlivnění jejích funkcí v řádech zlomků sekund. Na úrovni buňky či pletiva je doba nezbytná k podchycení a změření reakce rostliny většinou v řádech hodin až týdne. Na rostlinné úrovni se konečný efekt měří většinou po delším časovém úseku – většinou po roce. Na úrovni rostlinného společenstva jsou změny sledovatelné až po mnoha letech a na úrovni ekosystému dokonce až po stovkách let. Význam vlivu stresorů je neoddiskutovatelný, ať už pro vývoj jedinců (tedy pro ontogenezi), či pro kmenový vývoj (fylogenezi) druhů (Bláha 2003).

Larcher (2001) rozděluje reakce na stres také podle intenzity a délky trvání stresu na akutní (krátkodobé) a chronické (dlouhodobé). Při akutním stresu jsou zpravidla reakce silnější a rychleji tak vznikají poškození. Naopak při chronickém stresu dochází k poškození vitálních rostlin se zpožděním-reakce rostlin na stresor jsou pozvolnější.

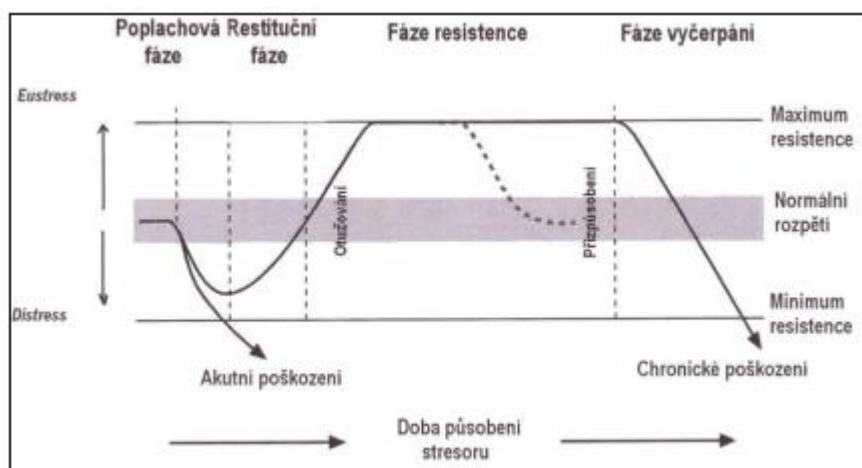
#### **4.2.1 Rozdělení stresové reakce**

Skupinu reakcí, které se spustí pod vlivem stresorů, můžeme nazvat stresovou reakcí a můžeme si ji rozdělit na čtyři části: Na poplachovou fázi, restituční fázi, fázi rezistence a fázi vyčerpání. Poplachová fáze je zahájena bezprostředně po účinku stresorů, kdy jsou jejich působením narušeny buněčné struktury a životní funkce rostliny (Bláha 2003). Jestliže nedojde k překročení letální meze rostliny a k jejímu úhynu, tak se rostlina přesune do restituční fáze – neboli fáze obnovy. V této fázi dochází k mobilizaci kompenzačních mechanismů, pomocí kterých se směřuje ke zvýšení odolnosti vůči působícímu stresu a tedy k fázi rezistence (Hnilička & Středa 2016). Ve fázi rezistence dochází vlivem obranných reakcí k otužení organismu a může nastat obnovení stability v případě pokračujícího stresu. Když však dochází k dlouhodobému působení stresu a nedojde k otužení či k obnovení stability v důsledku stále trávajícího stresu, či je stresor příliš silný, tak může dojít k vyčerpání rostlinného organismu a následně i k odumření rostliny.

Někdy se přidává ještě další fáze – regenerační fáze, při níž dochází k částečné nebo úplné regeneraci fyziologických funkcí. Regenerační fáze nastává v případě, že je stresor odstraněn a poškození není tak vysoké (Wang et al. 2006).

Lichtenthaler (1998) popsal tyto fáze následovně: Na počátku stresu rostliny na stres reagují snížením jedné nebo více fyziologických funkcí jako je např. fotosyntéza či transport metabolitů. Díky tomuto poklesu metabolických aktivit se rostliny odchylují od normálního fyziologického standardu a následně klesá jejich vitalita. K akutnímu poškození nastane rychleji u rostlin, které nemají žádný či mají nedostatečný mechanismus tolerance stresu. V této fázi však většina rostlin aktivuje mechanismy zvládnání stresu, jako jsou aklimatizace metabolických toků, aktivace opravných procesů a dlouhodobé metabolické a morfologické adaptace. Dojde ke zpevnění rostlin nastolením nového fyziologického standardu. Při dlouhodobém stresu nebo příliš vysokém zatížení stresem se objeví konečná fáze (fáze vyčerpání), ve které se postupně ztrácí fyziologie a vitalita rostlin. To způsobí vážné poškození a nakonec smrt (Lichtenthaler 1998).

Na průběhu stresové reakce, jejíž výsledkem je určitá úroveň adaptační schopnosti, se podílí charakter stresoru (délka působení stresoru, velikost zátěže, rychlost nastoupení) a také genotyp rostliny, ontogenetické stadium a fyziologický stav rostliny. Na průběh stresové reakce se můžete podívat na obrázek č. 2.



Obr. 2: Průběh stresové reakce (Lhotakova 2012)



#### 4.2.2 Adaptace rostlin na stres

Protistresová opatření můžeme podle Procházky (1998) rozdělit na tři typy: evoluční, ontogenetická a modulační.

Evoluční protistresová opatření byla vytvořena a jsou udržována (jak napovídá název) evolucí a jde o dědičná uzpůsobení, která umožňují se stresu úplně vyhnout. Jako příklad evolučních opatření můžeme uvést typ metabolismu (jestli se jedná o CAM/C3/C4 rostliny), typ a rozmístění průduchů či schopnost tvorby jedovatých látek.

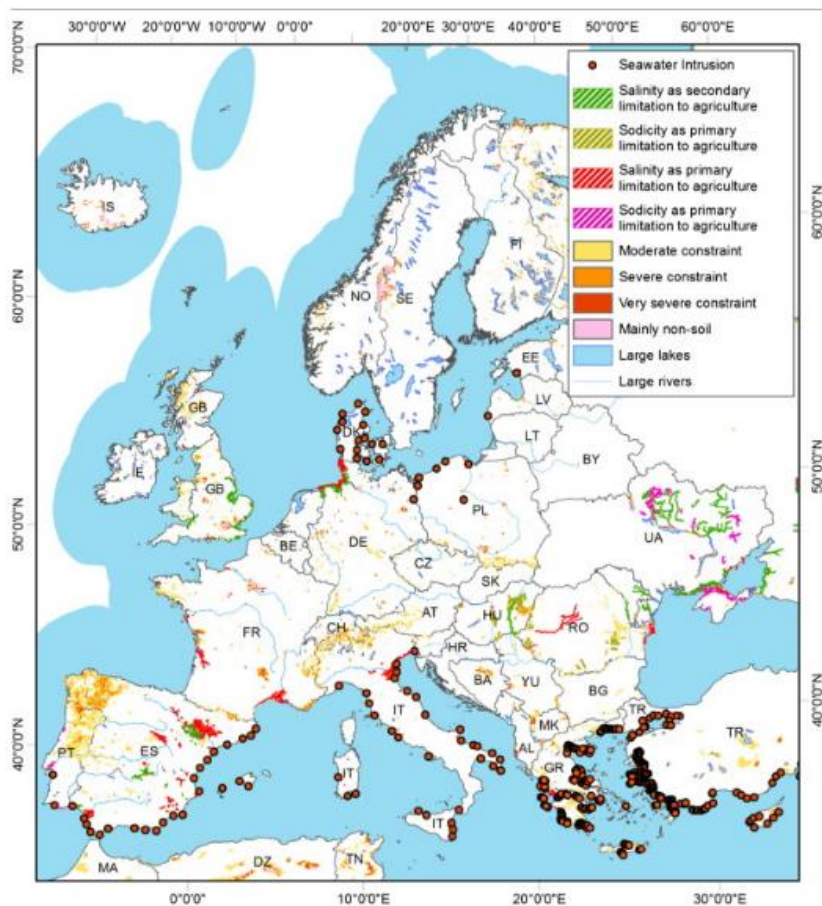
Ontogenetická adaptace není (narozdíl od evoluční) geneticky fixována a ontogenetická protistresová opatření je možné během ontogeneze rostlin ještě nějak ovlivnit. Ontogenetické změny jsou však pomalé – řadí se sem například velikost listové plochy.

Do třetího typu – modulačních protistresových opatření patří okamžité změny, což je například natočení listů, otvírání či zavírání průduchů nebo změna koncentrací různých látek.

### 4.3 Zasolení

Jak je postupně zvyšována produkce plodin a s tím spojené rozšiřování pěstitelské plochy, dochází k postupné degradaci půdy. Postupná degradace půdy, zejména zasolení půdy, bude v budoucnosti jednou z největších překážek zvyšování produkce plodin (Munns & Gilliam 2015).

Jako zasolování se označuje hromadění rozpustných solí v půdě – a to především NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CaSO<sub>4</sub> a také KCl (Hachicha 2007). Akumulace soli v půdách vyvolává změny ve fyziologii rostlin a metabolismu – ovlivňuje klíčivost, růst sazenic, vegetativní fázi, kvetení a plodnost, což vede ke snížení výnosů a kvality produkce (Parida et al. 2005). Problém zasolování se jen v Evropě týká téměř 4 milionu hektarů a nejvíce se týká Kampánie, údolí řeky Ebro a Velké uherské nížiny a také postihuje řadu regionů v Řecku, Portugalsku, Francii či na Slovensku (Šuta 2008). Na následujícím obrázku můžeme vidět mapu Evropy, která znázorňuje půdu postiženou salinizací.



Obrázek č. 3: *Mapa Evropy, která znázorňuje půdu postiženou salinizací* (EEA 1999; Daskalaki & Voudouris 2008; Fisher et al. 2008) převzato z (Daliakopoulos et al. 2016)

Vysoké hladiny soli v půdě či vodě určené na zavlažování představují pro životní prostředí významné problémy – a to zejména v oblasti semiaridních a aridních zón. (Owens 2001). V mnoha oblastech světa, kde jsou srážky nedostatečné k vyluhování rozpustných solí z kořenové zóny, představují vysoké hladiny soli v půdě nebo zavlažovací vodě významné environmentální problémy v zemědělství (Lachnab et al. 2013).

Po zavlažování je totiž aplikovaná dávka vody buď využívána plodinou, nebo dochází k jejímu vypařování přímo z vlhké půdy. Sůl však bohužel v půdě zůstává a pokud se neodstraní, tak se v půdě hromadí – dochází k salinizaci. Nyní je postiženo nejméně 8 % světové zavlažované půdy a v oblastech suchých a polosuchých je postiženo až 25 % půdy (FAO 2002). Závažnost těchto problémů se navíc může zvýšit, pokud dojde ke změně klimatických podmínek (Lachnab et al. 2013).

Jak již bylo řečeno – stres se dělí podle zdroje působení na abiotický a biotický a slanost půdy se řadí mezi jeden z hlavních abiotických stresů omezujících růst plodin (Munns & Tester 2008). Vysoká koncentrace soli v kořenové zóně může být přirozená nebo způsobená zemědělskou činností jako je například používání některých hnojiv či zavlažování nekvalitní vodou (Bartels & Nelson 1994). Téměř 400 milionů hektarů půdy je postiženo salinizací, z nichž 80 % je přírodního původu a 20 % antropogenního původu (FAO 2015).

Slané půdy jsou bohaté na rozpustné soli. Rozpustné soli mohou mít podle Mbarki et al. (2018) tři hlavní zdroje:

- Mořský původ – infiltrace mořské vody na pobřeží, déšť
- Litogenní zdroje – usazování a zvětrávání hornin
- Antropogenní zdroje – špatné zavlažování, špatné postupy při pěstování

Největší rozsah u antropogenních zdrojů má podle Hniličky a Středy (2016) zasolování závlahovou vodou – více než polovina všech zavlažovaných ploch světa je totiž ohrožena zasolením. Jako běžný příklad zasolování povrchu půdy je uvedena migrace solí v roztocích ze spodních vrstev k povrchu za vzniku bílé krusty.

K migraci solí ze spodních vrstev k povrchu dochází po odlesnění krajiny – náhradní porost totiž není schopen odčerpávat tolik vody jako les, dochází k odpařování vyvzlínané vody a k akumulaci solí u povrchu půdy (Hnilička & Středa 2016).

Při vystavení rostlin solnému stresu dochází (stejně jako při vystavení rostlin stresu suchem) k buněčné dehydrataci, která způsobuje osmotický stres a dochází k odstranění vody

z cytoplasmy do extracelulárního prostoru (Bartels & Sunkar 2005). Podle Hniličky a Středy (2016) jsou slané půdy fyziologicky suché pro rostliny. Důležitá a relativně rychlá odezva na slanost je uzavření průduch, ke kterému dochází vlivem vysokého osmotického tlaku (Munns & Tester 2008). Podle Munnse a Testera (2008) s uzavřením průduch souvisí také snížení rychlosti fotosyntézy u rostlin zasažených solným stresem.

Téměř všechny organismy (od mikrobů přes zvířata a rostliny) syntetizují v odezvě na osmotický stres kompatibilní soluty. Kompatibilní soluty jsou netoxické molekuly, jako jsou aminokyseliny, glycin betain, cukry nebo cukerné alkoholy. Tyto molekuly mohou mít hlavní úlohu při udržování turgoru (Hossain et al. 2016), ale mohou se také podílet na stabilizaci proteinů a buněčných struktur (Yancey et al. 1982). O kompatibilních solutech – zejména o prolinu a glycin betainu bude řeč v následující kapitole.

Fyzikální působení salinity na rostliny je z části fyzikální (osmotické) a z části chemické, podle druhu přítomných iontů. Aby si rostliny byly schopny zachovat turgor a mohly přijímat vodu, musí koncentrace osmoticky aktivních látek v protoplasu přesahovat koncentraci osmoticky aktivních látek v půdním roztoku v okolí kořenového systému (Hnilička & Středa 2016).

Rostliny se dají rozdělit podle schopnosti tolerovat zasolení na glykofyty a halofyty.

#### **4.3.1 Glykofyty**

Glykofyty jsou skupina rostlin, která není tolerantní k zasolení. Tato skupina rostlin tvoří naprostou většinu flóry na naší planetě. Pokud je překročena koncentrace 100-200 mM NaCl, tak rostlina hyne, protože nemá tak dobré mechanismy k přizpůsobení se solnému stresu jako halofyty (Carillo et al. 2011).

#### **4.3.2 Halofyty**

Některé rostliny snášejí zasolení půd naopak dobře. Rostliny, které snášejí vysoké zasolení půdy či vody můžeme označit jako halofyty (Hnilička & Středa 2016). Těmto druhům rostlin nedělá problém přežít i v půdě, kde se slanost pohybuje nad 300-400 mM NaCl. Podle Hasanuzzamana et al. (2014) tvoří halofyty asi 1 % světové flóry.

Halofyty se přizpůsobují zasolení pomocí dvou strategií-vyhýbáním se soli a tolerancí soli. Adaptace, které souvisí s vyhýbáním se soli jsou sekrece, vylučování a sukulence (Shabala et al. 2014). Halofyty jsou schopny vylučovat sůl pomocí solných chlupů či solných

žláz. Některé halofyty jsou schopny vylučovat přebytečnou sůl ve formě kapaliny, která krystalizuje při kontaktu se vzduchem a můžeme ji spatřit na povrchu listů u rostlin. Rostlina si je schopna kontrolovat koncentraci solí v cytosolu také pomocí uvolňování soli do vakuol (Mishra & Tanna 2017). Zároveň jsou halofyty adaptovány k zasolení také dokonale řízeným příjmem soli – pomocí plazmatické membrány, bránící pronikání nadbytečných iontů do buněk kořenů (Mořková et al. 2014).

U halofytů kolísá osmotický tlak v závislosti na salinitě vodního zdroje. Podle Hniličky a Středy (2016) mohou halofyty růst i v normálních podmínkách. Na slaných půdách rostliny rostou hlavně během deštivého období, kdy je půdní roztok zředěn a koncentrovanější soli jsou v horizontu pod rhizosférou – což je nejspíše jeden z důvodů, proč mají halofyty mělký kořenový systém. Řada halofytů vykazuje sukulentní charakter, ale rozpuštěné soli (zejména chloridy) stimulují sukulentnost i u mnoha nehalofytních druhů.

Podle Mořkové et al. (2014) najdeme nejvíce halofytních druhů v čeledi *Chenopodiaceae*, dále také v čeledi *Poaceae*, *Fabaceae* a *Asteraceae*.

### 4.3.3 Zasolení u pšenice

Podle Munnse et al. (2006) sůl v půdním roztoku inhibuje růst rostlin, a to ze dvou důvodů:

- Prvním důvodem je to, že přítomnost soli v půdním roztoku snižuje schopnost rostliny přijímat vodu, a to vede k pomalejšímu růstu. Toto je osmotický nebo vysoušecí účinek salinity.
- Druhým důvodem je to, že nadměrné množství soli vstupující do proudu transpirace nakonec poškodí buňky v listech, což může dále snížit růst. Toto je salinický účinek, který je specifický pro sůl nebo iontový přebytek.

U pšenice se tyto dvě reakce vyskytují postupně, což vede ke vzniku dvoufázové růstové odezvy na slanost (Munns R. 1993).

První fáze růstové odezvy vyplývá z působení soli mimo rostlinu. Sůl v půdním roztoku snižuje růst listů a v menší míře i růst kořenů. Buněčné i metabolické procesy jsou podobné jako při stresu suchem.

Druhá fáze růstové odezvy podle Munnse (1993) vyplývá z toxického účinku soli uvnitř rostliny. Sůl přijatá rostlinou se koncentruje ve starých listech, poté pokračuje transport soli transpirací do listů a následně dochází k příliš vysokým koncentracím Na a Cl a

listy zemřou (Munns R. 1993). Příčina poranění je pravděpodobně způsobena tím, že zatížení solí převyšuje schopnost buněk oddělit soli ve vakuole (Munns et al. 2006).

Účinek zavlažování slanou vodou u pšenice byl testován Lamsalem et al. (1999) a bylo pozorováno snížení všech růstových a výnosových parametrů, včetně plochy praporcového listu, výšky rostliny, množství zrn v klasu, počtu klasů na rostlinu, hmotnosti zrn na klas, hmotnosti 1000 semen a také celkové akumulace sušiny. Podle Munnse et. al (2006) je pšenice tvrdá (*Triticum durum*) citlivější druh vůči zasolení než *Triticum aestivum*.

#### **4.3.4 Omezení salinizace půd**

Zasolení je těžko překonatelný problém. Podle Munnse et al. (2002) vyžaduje odstranění soli z kořenové části rostlin (rekultivaci), což je podle něj nejefektivnější způsob, jak minimalizovat nebo dokonce eliminovat škodlivý účinek zasolení. Dále je potřeba k omezení salinizace vhodně zavlažovat pozemek. Problém zasolování půd je také spojen s nadměrným užíváním hnojiv a špatnou agrotechnikou. Šíření slanosti suchých pozemků můžeme omezit snížením množství vody, která prochází mimo kořeny. Toho lze dosáhnout například vysazením hlubokokořenících trvalek (Shrivastava & Kumar 2015).

## **4.4 Kompatibilní soluty (prolin a glycin betain)**

Jak už zde bylo řečeno, mnohdy se rostliny vyrovnávají se stresem (například u teplotního stresu, u stresu suchem a u solného stresu) také pomocí osmoticky aktivních látek.

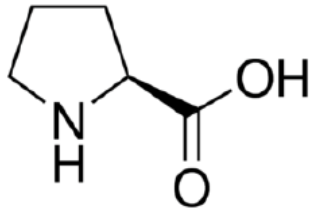
### **4.4.1 Kompatibilní soluty – charakteristika**

Osmoprotektanty neboli kompatibilní soluty jsou osmoticky aktivní látky, které rostliny syntetizují jako odpověď na solný stres. Jsou to vysoce rozpustné organické sloučeniny s nízkou molekulovou hmotností, které jsou obvykle netoxické i při vysokých buněčných koncentracích (Hayat et al. 2012). Kompatibilní soluty jsou látky kompatibilní s buněčným metabolismem, akumulují se v cytoplazmě, aby se vyrovnal vnější osmotický tlak (Antón 2011). Osmoprotektanty snižují osmotický potenciál buněk a jsou schopny zabránit denaturaci proteinů, ke které může dojít vlivem iontové nerovnováhy (Burg & Ferraris 2008). Kompatibilní soluty interagují s proteiny, udržují jejich hydrataci, ale nemění jejich strukturu. Mají primární roli v udržení turgoru a mohou se podílet také na stabilizaci proteinů a buněčných struktur (Bartels & Sunkar 2005).

Kompatibilní soluty zahrnují cukry (například sacharózu a trehalózu), cukerné alkoholy (např. manitol), aminokyseliny (např. prolin a glutamát), kvarterní amoniové sloučeniny (např. glycin betain a karnitin) a tetrahydropyrimidiny jako je například hydroxyekotin a ekotin (Tekaji 2008).

### **4.4.2 Prolin**

Prolin je pravděpodobně nejrozšířenějším osmolytem a vyskytuje se nejen v rostlinách, ale i v jiných organismech (Delauney et al. 1993). Kromě osmotické úpravy může hrát prolin roli v osmoticky stresovaných rostlinných tkáních: při ochraně integrity plazmatické membrány (Mansour 1998), jako zdroj uhlíku a dusíku (Ahmad & Hellebust 1988) nebo jako lapač hydroxylových radikálů (Hong et al. 2000). Na obrázku číslo 4 můžeme vidět strukturu prolinu.



Obrázek č. 4 *Prolin* (Kalsoom & Bennett 2016)

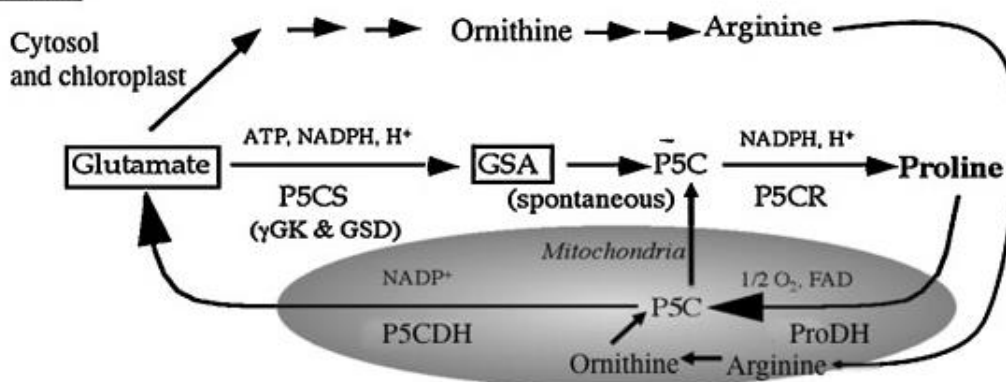
Podle Mořkové et al. (2014) rostliny produkují a akumulují aminokyselinu prolin jako odpověď na abiotický stres – a to jak při stresu zasolením, tak i při vodním deficitu, při prudké změně teplot a také u stresu vyvolaného těžkými kovy.

Prolin se u rostlin vyskytuje v cytosolu buněk a kromě vyrovnávání osmotického tlaku má funkci také ve stabilitě membrán, zmírňuje účinky NaCl na buněčné membrány a mimo jiné také reguluje množství využitelného dusíku (Parvaiz & Satyawati 2008). Podle Chena a Dickmana (2005) je prolin zodpovědný také za vylučování ROS a dalších volných radikálů.

Akumulace prolinu v rostlinách může nastat prostřednictvím dvou biosyntetických drah v rostlinách – buď z glutamátu nebo z ornithinu (Hayat et al. 2012). Když jsou rostliny vystaveny stresu, tak podle Steina et al. (2011) glutamátová cesta syntézy prolinu převažuje nad ornithinovou.

Prolin se syntetizuje z glutamátu, jehož cyklizací pomocí enzymu P5CS (A'-pyrrolin-5-karboxylátsyntetáza) a následnou redukcí P5CR (A'-pyrrolin-5-karboxylátreduktáza) vzniká L-prolin. Meziproduktem této cesty je P5C (Hajná et al. 2016). Na průběh biosyntézy prolinu se můžete podívat na obrázek č. 5.

**Plant:**



Obr. č. 5: *Biosyntéza prolinu v rostlinách* (Stein et al. 2011)



Navzdory příznivým účinkům exogenní akumulace prolinu může mít také toxické účinky na rostliny – a to při nadměrných koncentracích či při nadměrné akumulaci (Hayat et al. 2012). Například v rostlinách rýže, když byl prolin aplikován při nízké koncentraci (např. 30 mM), došlo ke zlepšení nepříznivých účinků salinity. Při vyšších koncentracích prolinu (40-50 mM) však docházelo k toxickým účinkům a špatnému růstu rostlin (Roy et al. 1993).

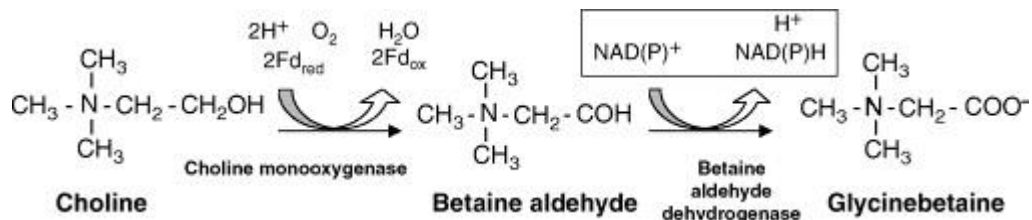
#### 4.4.3 Glycin betain (N,N,N-trimethylglycin)

Spolu s prolinem je glycin betain používán pro exogenní léčbu zmírnění účinků stresu na rostliny (Sobahan et al. 2014; Li et al. 2014)

Glycin betain je kvarterní amoniová sloučenina, která pomáhá chránit rostliny proti dehydrataci (Yancey et al. 1982 ). Hromadí se u různých druhů rostlin jako reakce na enviromentální stresy jako je sucho, zasolení, extrémní teploty, UV záření a zatížení těžkými kovy (Ashraf & Foolad 2007).

K syntéze glycin betainu v rostlinách dochází v chloroplastech dvoukrokovou oxidací cholinu přes betainaldehyd, která je u rostlin katalyzována cholinmonooxygenasou a betainaldehyddehydrogenasou (Rathinasabapathi et al. 1997).

Na obrázku číslo 6 můžeme vidět schéma biosyntézy glycin betainu.



Obrázek č. 6: Biosyntetická dráha glycin betainu u vyšších rostlin (Ashraf & Foolad 1993)

## 5 Metodika

Experiment byl založen ve skleníkových podmínkách a modelovou rostlinou byla pšenice tvrdá. Byla použita odrůda Haristide, což je poloraná odrůda pšenice tvrdé přesívkového typu. Rostliny této odrůdy jsou vysoké a tato odrůda je nadprůměrně odolná vůči padlím travním a rzem.

Byl sledován vliv solného stresu (150 mmol/l NaCl) na obsah prolinu v listech a kořenech po foliární aplikaci prolinu, glycin betulinu a kombinace prolin + glycin betulin. Během experimentu se uskutečnilo 7 odběrů pokusných rostlin. Obsah prolinu byl stanoven modifikovanou metodou podle Batese (1973).

### 5.1 Založení pokusu

K výsevu pšenice tvrdé a tudíž založení pokusu došlo dne 24. 4. 2018. Pšenice byla vyseta do PVC kontejnerů o rozměrech 37 x 27 x 14 cm, do zahradnického substrátu. V každém kontejneru byly čtyři řady po sedmi rostlinách-celkem tedy 28 rostlin na kontejner. Pokus byl zaléván každý den zálivkou 400 ml destilované vody. Dne 9. 5. 2018 došlo k foliární výživě Hauglandovým roztokem (200 ml/ kontejner). 21. 5. 2018 došlo k foliární výživě NPK + Mg (dávka NPK +Mg byla (30;30;30;15 %)) opět 200 ml na nádobu. Dne 23. 5. 2018 byl aplikován regulátor růstu - CCC v dávce 0,75 ml/10m<sup>2</sup>. 28. 5. 2018 došlo opět k výživě NPK a Mg v dávce 100 ml na nádobu.

#### 5.1.1 Průběh pokusu

K rozdělení do variant (viz následující tabulka) došlo 1. 6. 2018.

K – kontrola	S – stres sůl
KP (K + prolin)	SP
KG (K + glycin betulin)	SG
KPG (K + prolin + glycin betulin)	SPG

Následně byl aplikován prolin v dávce 0,02 g/l a glycin betulin v dávce 0,05 g/l. Byl také odebrán první kontrolní vzorek.

4. 6. 2018 došlo k zahájení solného stresu. Pokusným rostlinám byla dána zálivka 400 ml na nádobu s roztokem 150 mmol/l NaCl. Zároveň došlo k odběru kontrolních vzorků. Kontrolní vzorek byl stále zaléván destilovanou vodou v dávce 400 ml/ nádoba.

7. 6. 2018 byly odebrány vzorky od všech variant pokusu.

Poté probíhaly každé 3-4 dny (11.,14., 18. 6. 2018) kontrolní odběry a 22. 6. k poslednímu odběru vzorků a ukončení pokusu.

## **5.2 Stanovení obsahu prolinu**

Stanovení obsahu prolinu se dělalo metodou podle Batese (1973). V první řadě se u stresovaných rostlin navážilo 0,5 g listového pletiva. Poté se přidalo 5 ml kyseliny sulfosalicylové a rozetřelo se to tloučkem v třecí misce – nejprve se přidal pouze 1 ml a směs se rozetřela na jemnou kašičku, až poté se přidaly zbylé 4 ml kyseliny a promíchalo se to krátce tloučkem. Následně byla směs přefiltrována přes filtrační papír do zkumavky.

Poté došlo k přesunutí práce do digestoře a k vytvoření reakční směsi skládající se z: 1 ml vzorku (filtrátu), 1 ml ninhydrinu a 1 ml koncentrované kyseliny octové. Tato směs se promíchala na třepačce. Následně se nechala 30 minut vařit ve vodní lázni s původní teplotou 80-90 °C, která se pak snížila na teplotu 40-50 °C. Poté byla směs zchlazena v ledové vodě. Následně se přidaly 3 ml toluenu a důkladně se směs zamíchala, poté se počkalo přibližně 20 minut na oddělení fází.

Poté se na spektrofotometru změří absorbance horní vrstvy při 520 nm.

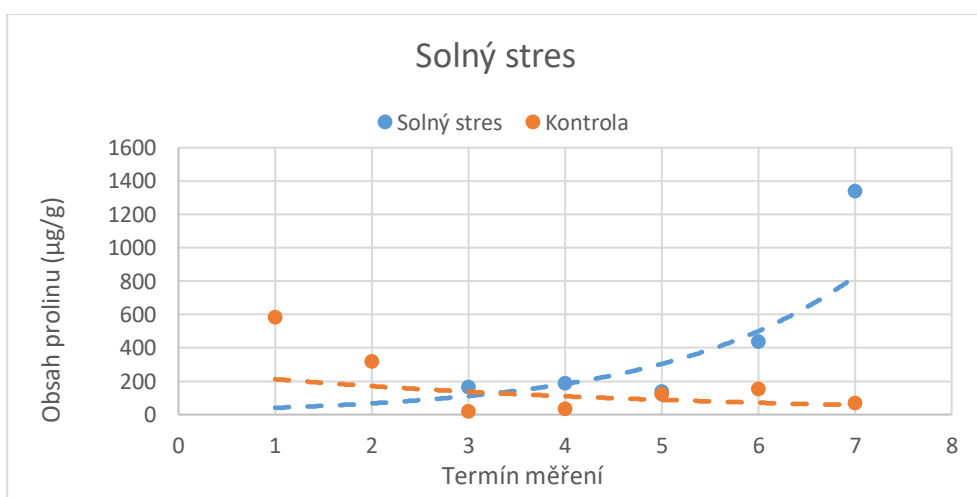
## 6 Výsledky

Obsah prolinu byl stanoven jak v nadzemní biomase, tak i v kořenech pšenice tvrdé. V podkapitole 5.1 se nacházejí grafy, u kterých se stanovoval průměrný obsah prolinu v nadzemní biomase a v podkapitole 5.2 se nacházejí grafy týkající se průměrného obsahu prolinu v kořenech. Budu vždy porovnávat hodnotu průměrného obsahu prolinu u kontrolních rostlin *Triticum durum* s rostlinami stresovaných solí.

### 6.1 Stanovení obsahu prolinu v nadzemní biomase

#### 6.1.1 Kontrola a solný stres

Obrázek č. 7 zobrazuje to, jak se vyvíjel obsah prolinu u kontroly a jak se vyvíjel u rostlin zasažených solným stresem.

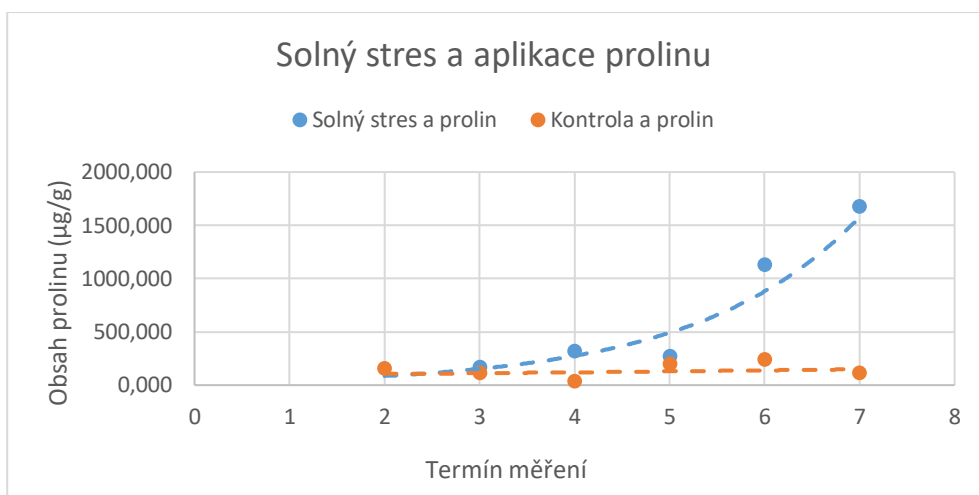


Obrázek č. 7: Porovnání obsahu prolinu v nadzemní biomase u rostlin zasažených solným stresem a u kontrolního vzorku

Jak je z grafu patrné, u rostlin zasažených solným stresem se po zahájení stresu solí začala zvyšovat hladina prolinu. Naopak u kontrolních vzorků hladina prolinu klesala. Můžeme tedy potvrdit, že rostliny v podmínkách solného stresu začínají jako reakci na solný stres akumulovat prolin.

### 6.1.2 Vliv aplikace prolinu na obsah prolinu

Na obrázku číslo 8 je zobrazen vliv foliární aplikace prolinu na kontrolní rostliny pšenice tvrdé v porovnání s rostlinami v prostředí solného stresu.



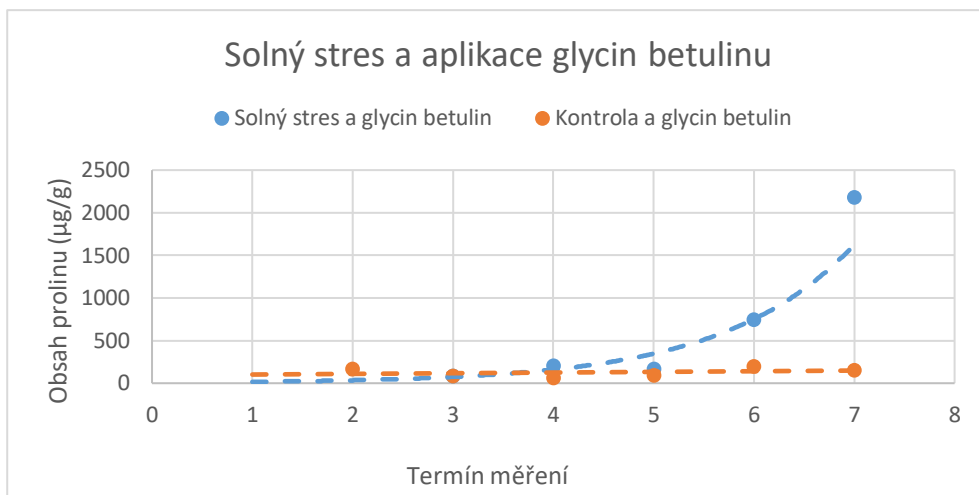
Obrázek č. 8: Vliv foliární aplikace prolinu v nadzemní biomase u rostlin v podmínkách solného stresu a u kontrolního vzorku

Jak je z obrázku číslo 8 patrné, u kontrolního vzorku rostlin byl průměrný obsah prolinu i přes jeho aplikaci téměř konstantní. Naopak u rostlin stresovaných solným roztokem se začal průměrný obsah prolinu exponenciálně zvyšovat.

V porovnání s předchozím grafem (obrázek č. 7), kde maximální hodnota průměrného obsahu prolinu u rostlin v podmínkách solného stresu u 7. měření byla 1338,7 µg/g, u tohoto grafu byla nejvyšší naměřená hodnota průměrného obsahu v prolinu u rostlin v podmínkách solného stresu vyšší - průměrný obsah prolinu činil téměř 1700 µg/g.

### 6.1.3 Vliv aplikace glycin betulinu na obsah prolinu

Obrázek číslo 9 zobrazuje vliv foliární aplikace glycin betulinu na obsah prolinu u rostlin zatížených solným stresem v porovnání s kontrolními rostlinami, u kterých byl také aplikován glycin betulin.



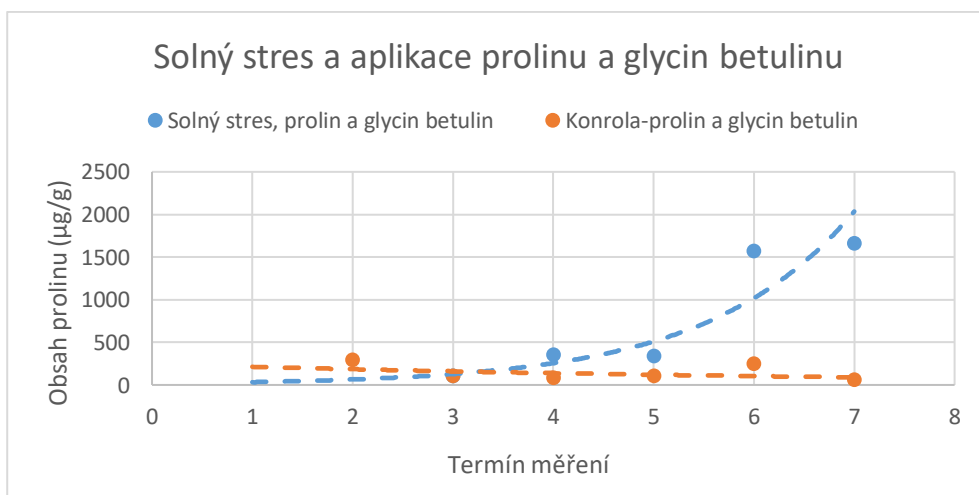
Obrázek č. 9: Vliv foliární aplikace glycin betulinu na obsah prolínu v nadzemní biomase u rostlin v podmínkách solného stresu a u kontrolního vzorku

V porovnání s obrázkem číslo 7 se obsah prolínu po aplikaci glycin betulinu zvýšil. Při sedmém měření dosahoval průměrný obsah prolínu u rostlin zasažených solným stresem dokonce přes 2000 µg/g, což je vyšší hodnota, než můžeme vidět u obrázku č. 8.

Naopak u kontrolního vzorku rostlin byl i přes aplikaci glycin betulinu průměrný obsah prolínu téměř konstantní.

#### 6.1.4 Vliv aplikace prolínu a glycin betulinu na obsah prolínu

Na obrázku č. 10 je zobrazen vliv foliární aplikace prolínu a glycin betulinu na obsah prolínu, jak u kontrolních rostlin, tak i u rostlin v podmínkách solného stresu.



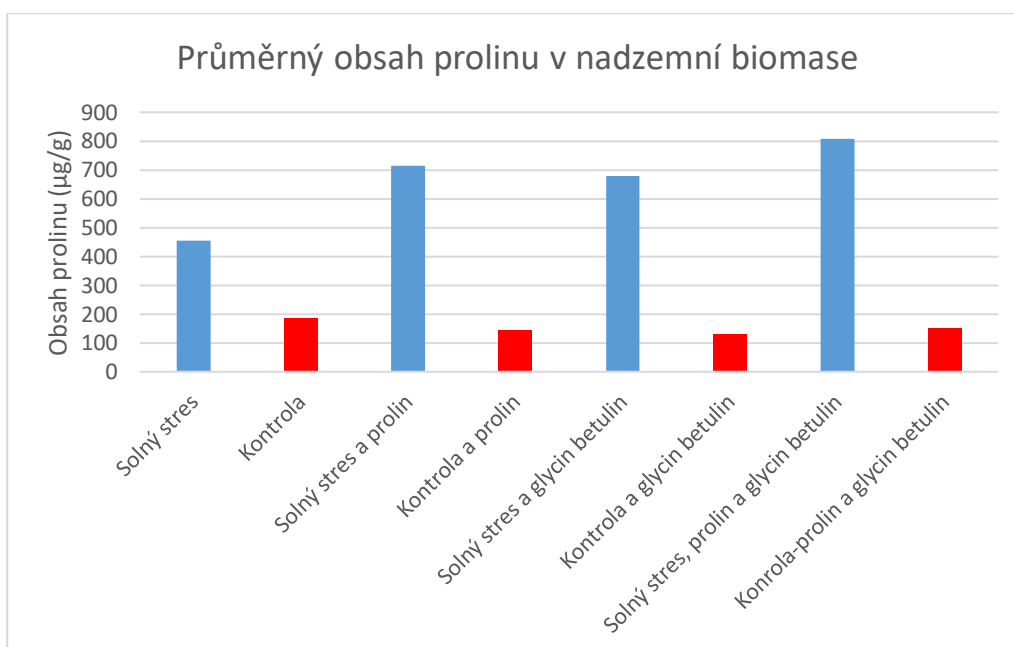
Obrázek č. 10: Vliv foliární aplikace prolínu a glycin betulinu na obsah prolínu, jak v nadzemní biomase u kontrolních rostlin, tak i u rostlin v podmínkách solného stresu

Jak je z obrázku číslo 10 patrné, nárůst průměrného obsahu prolinu nebyl tak prudký jako u obrázku č. 8 a č. 9. Nejvyšší obsah prolinu byl naměřen při sedmém měření-necelých 1700 µg/g.

Aplikace prolinu a glycin betulinu neměla žádný vliv na obsah prolinu u kontrolního vzorku, obsah prolinu u kontrolního vzorku byl téměř konstantní.

#### 6.1.5 Porovnání obsahu prolinu u kontroly a stresovaných rostlin

Obrázek č. 11 porovnává průměrný obsah prolinu (brán ze všech měření v nadzemní biomase) po aplikaci prolinu a glycin betulinu a při foliární aplikaci obou kompatibilních solutů zároveň.



Obrázek č. 11: Porovnání průměrného obsahu prolinu (brán ze všech měření) v nadzemní biomase pšenice tvrdé po aplikaci prolinu a glycin betulinu a při foliární aplikaci obou kompatibilních solutů zároveň.

Z tohoto grafu je patrné, že u kontrolních vzorků neměla foliární aplikace prolinu a glycin betulinu či obou kompatibilních solutů zároveň na obsah prolinu téměř žádný vliv. U rostlin, které nebyly stresovány solným roztokem se obsah prolinu téměř neměnil.

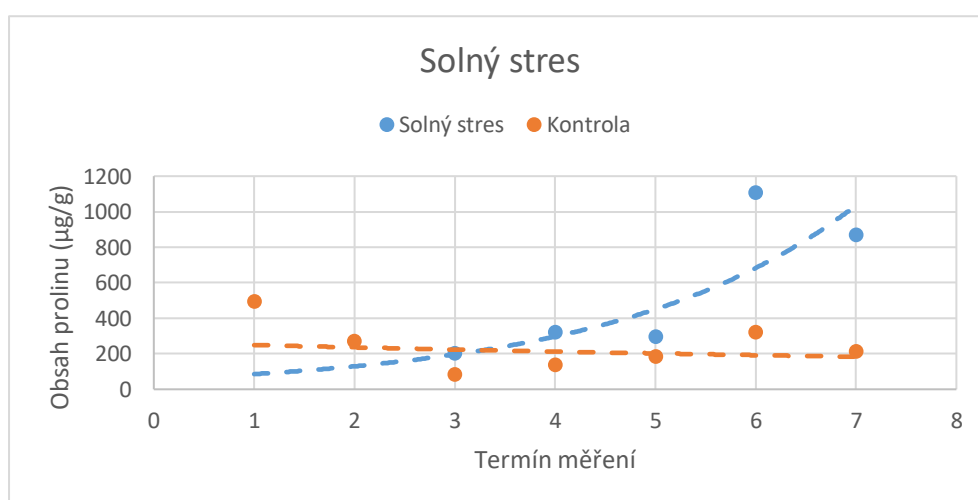
Hladina průměrného obsahu prolinu (počítáno ze všech měření) u rostlin v podmínkách solného stresu byla nejvyšší při aplikaci prolinu a glycin betulinu současně.

Průměrný obsah prolinu byl nejnižší u rostlin, u kterých nebyl foliárně aplikován prolin ani glycin betulin a rostlina si tedy tento prolin akumulovala sama, jako odpověď na solný stres.

## 6.2 Stanovení obsahu prolinu v kořenech

### 6.2.1 Kontrola a solný stres

Obrázek číslo 12 porovnává obsah prolinu v kořenech rostlin v podmínkách solného stresu a v kořenech kontrolních rostlin.



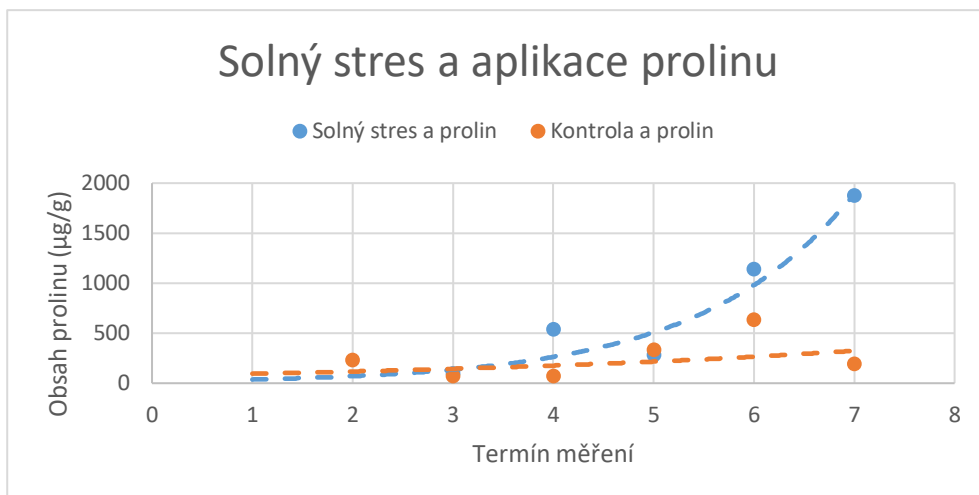
Obrázek č. 12: Porovnání obsahu prolinu v kořenech rostlin zasažených solným stresem a u kontrolního vzorku

Z grafu je patrné, že se v kořenech rostlin v podmínkách solného stresu akumuluje velké množství prolinu. U kontrolních rostlin, nezasažených stresem, se obsah prolinu téměř neměnil.

### 6.2.2 Vliv aplikace prolinu na obsah prolinu

Na obrázku číslo 13 je zobrazen vliv foliární aplikace prolinu na obsah prolinu v kořenech pšenice tvrdé a to v podmínkách solného stresu a u kontrolních rostlin.





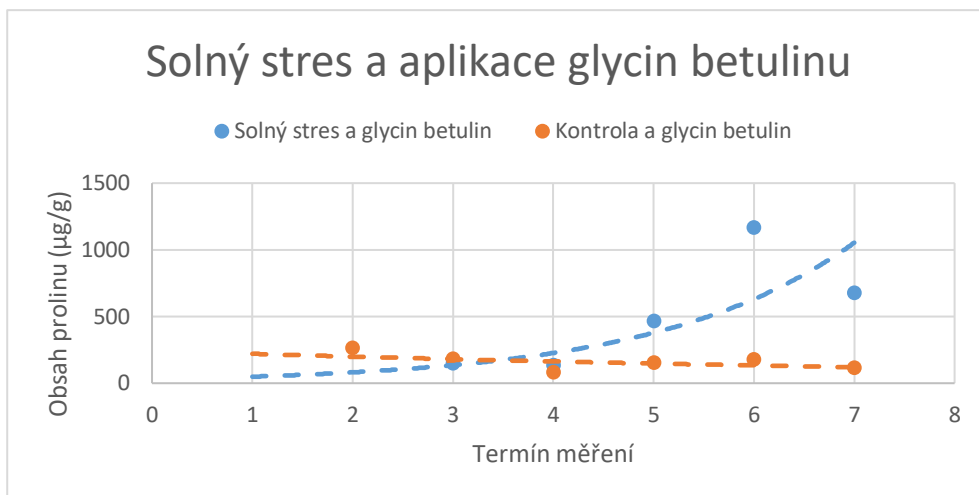
Obrázek č. 13: Vliv foliární aplikace prolinu v kořenech rostlin v podmínkách solného stresu a u kontrolního vzorku

Po aplikaci prolinu u kontrolních rostlin došlo k mírnému zvýšení obsahu prolinu v kořenech pšenice tvrdé, nárůst obsahu prolinu však nebyl nijak výrazný.

Po aplikaci prolinu u rostlin v podmínkách solného stresu začal obsah prolinu v kořenech exponenciálně narůstat. V porovnání s obrázkem č. 12., kde nejvyšší naměřený obsah prolinu činil 1107 µg/g, se hladina prolinu po jeho aplikaci zvýšila na 1881 µg/g.

### 6.2.3 Vliv aplikace glycin betulinu na obsah prolinu

Obrázek číslo 14 zobrazuje vliv foliární aplikace glycin betulinu na obsah prolinu v kořenech rostlin zatížených solným stresem v porovnání s obsahem prolinu v kořenech kontrolních rostlin, u kterých byl také aplikován glycin betulin.

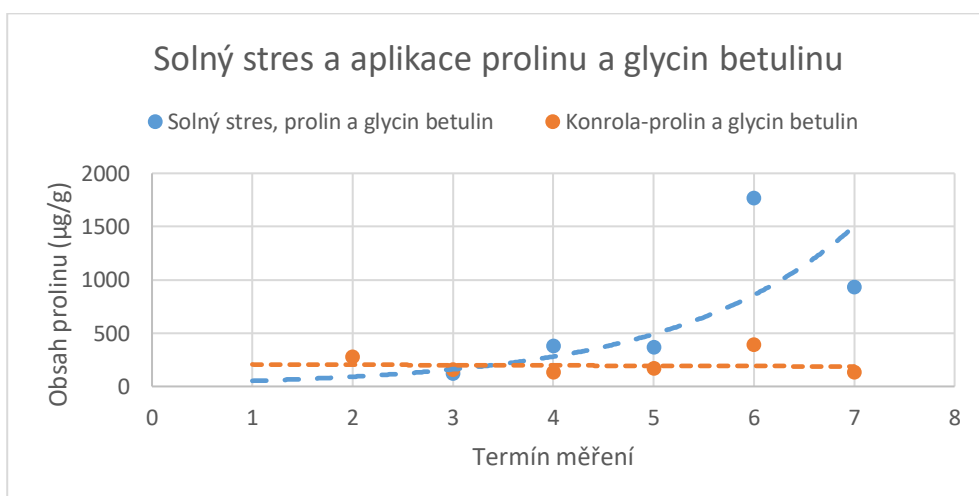


Obrázek č. 14: Vliv foliární aplikace glycin betulinu na obsah prolinu v kořenech rostlin v podmínkách solného stresu a u kontrolního vzorku

Z obrázku č. 14 je patrné, že foliární aplikace glycin betulinu neměla na obsah prolinu v kořenech rostlin velký vliv. V porovnání s obrázkem č. 12, kde maximální naměřený obsah prolinu, který si rostlina sama naakumulovala jako odpověď na solný stres, byl 1107 µg/g, neměla aplikace glycin betulinu na obsah prolinu velký význam. Maximální naměřená hodnota prolinu po aplikaci glycin betulinu u rostlin stresovaných solí byla 1170 µg/g, takže došlo k nepatrnému zvýšení obsahu prolinu.

#### 6.2.4 Vliv aplikace prolinu a glycin betulinu na obsah prolinu

Na obrázku č. 15 je zobrazen vliv foliární aplikace prolinu a glycin betulinu na obsah prolinu v kořenech kontrolních rostlin a v kořenech rostlin v podmínkách solného stresu.



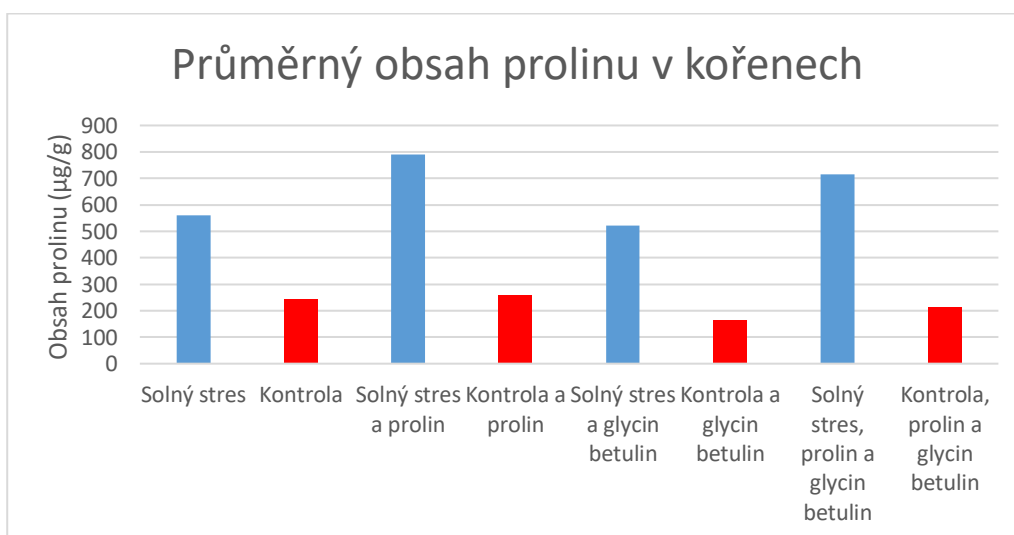
Obrázek č. 15: *Vliv foliární aplikace prolinu a glycin betulinu na obsah prolinu, jak v kořenech kontrolních rostlin, tak v kořenech rostlin v podmínkách solného stresu*

Jak je z obrázku číslo 15 patrné, vliv foliární aplikace prolinu a glycin betulinu na obsah prolinu v kořenech kontrolních rostlin nebyl téměř žádný. Hladina prolinu v kořenech kontrolních rostlin byla téměř konstantní.

U rostlin v podmínkách solného stresu se hladina prolinu výrazně zvýšila. Maximální naměřená hodnota byla 1769  $\mu\text{g/g}$ , což je porovnatelné s obrázkem číslo 13 (vliv foliární aplikace prolinu na obsah prolinu), kde maximální naměřená hodnota prolinu byla 1881  $\mu\text{g/g}$ .

#### 6.2.5 Porovnání obsahu prolinu u kontroly a stresovaných rostlin

Obrázek č. 16 porovnává průměrný obsah prolinu (brán ze všech měření v kořenech pšenice tvrdé) po aplikaci prolinu a glycin betulinu a při foliární aplikaci obou kompatibilních solutů zároveň.



Obrázek č. 16: *Porovnání průměrného obsahu prolinu (brán ze všech měření) v kořenech pšenice tvrdé po aplikaci prolinu a glycin betulinu a při foliární aplikaci obou kompatibilních solutů zároveň.*

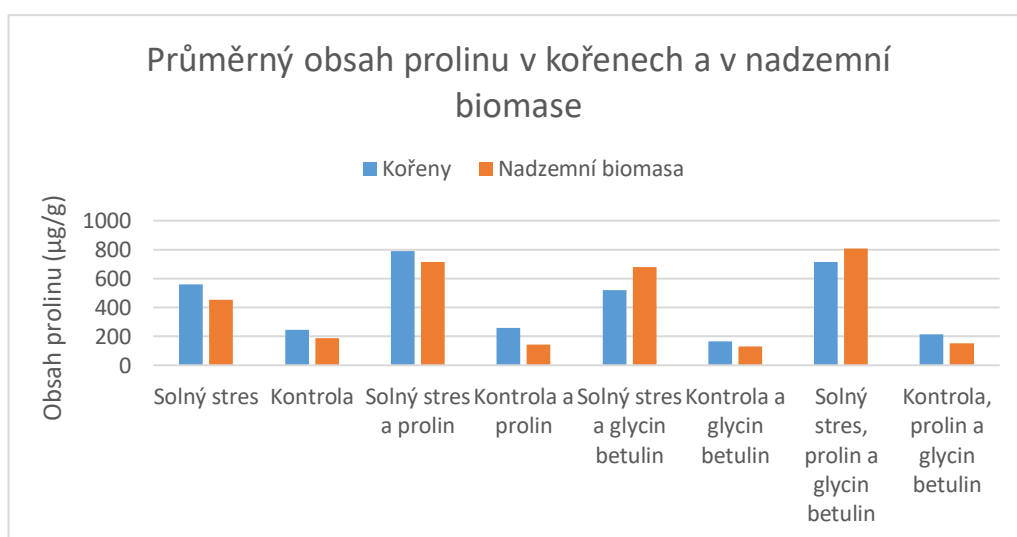
Z tohoto grafu je patrné, že u kontrolních vzorků neměla foliární aplikace prolinu a glycin betulinu či obou kompatibilních solutů zároveň na obsah prolinu téměř žádný vliv.

Pouze u kontroly, u které byl aplikován glycin betulin, došlo k mírnému snížení průměrného obsahu prolinu v kořenech. U ostatních kontrolních rostlin se obsah prolinu téměř neměnil.

Hladina průměrného obsahu prolinu (počítáno ze všech měření) u rostlin v podmínkách solného stresu byla nejvyšší při aplikaci prolinu. Průměrný obsah prolinu byl nejnižší u rostlin, u kterých byl foliárně aplikován glycin betulin.

### 6.3 Porovnání obsahu prolinu nadzemní biomasy a kořenů

Na obrázku číslo 17 je zobrazeno porovnání průměrného obsahu prolinu v kořenech a v nadzemní biomase pšenice tvrdé.



Obrázek č. 17: Porovnání průměrného obsahu prolinu v kořenech a v nadzemní biomase pšenice tvrdé

Jak je z grafu patrné, u kontrolních rostlin se obsah prolinu v kořenech a v nadzemní biomase vyvíjel podobně. V kořenech rostliny pokaždé akumulovaly větší obsah prolinu než v nadzemní biomase.

U rostlin v podmínkách solného stresu se obsah prolinu vyvíjel odlišně. U rostlin zasažených solným stresem a u rostlin, u kterých došlo k aplikaci prolinu, byl v kořenech naměřen vyšší obsah prolinu než v nadzemní biomase. U rostlin, u kterých došlo k aplikaci glycin betulinu či obou kompatibilních solutů zároveň, byl naopak vyšší obsah prolinu naměřen v nadzemní biomase než v kořenech.

## 7 Diskuze

Zasolení je významným abiotickým stresem, který snižuje výnos širokého spektra rostlin po celém světě (Ashraf & Foolad 2007). Akumulace soli v půdách vyvolává změny ve fyziologii rostlin a metabolismu – ovlivňuje klíčivost, růst sazenic, vegetativní fázi, kvetení a plodnost, což vede ke snížení výnosů a kvality produkce (Parida et al. 2005). Při vystavení rostlin solnému stresu dochází k buněčné dehydrataci, která způsobuje osmotický stres a dochází k odstranění vody z cytoplasmy do extracelulárního prostoru (Bartels & Sunkar 2005).

Téměř všechny organismy (od mikrobů přes zvířata a rostliny) syntetizují v odezvě na osmotický stres kompatibilní soluty. Kompatibilní soluty jsou netoxické molekuly, jako jsou aminokyseliny, glycin betain, cukry nebo cukerné alkoholy. Tyto molekuly mohou mít hlavní úlohu při udržování turgoru (Hossain et al. 2016), ale mohou se také podílet na stabilizaci proteinů a buněčných struktur (Yancey et al. 1982).

Akumulace prolinu je jednou z mnoha adaptací rostlin na slanost a vodní deficit (Kumar et al. 2000; Ramajulu & Sudkakar 2000). Prolin nejen, že chrání rostliny před různými stresy, ale také pomáhá rostlinám se ze stresu rychleji zotavit. Při exogenní aplikaci prolinu na rostliny vystavené stresu, dochází díky prolinu ke zvýšení růstu a dalších fyziologických vlastností rostlin (Hayat et al. 2012).

U rostlin bylo zjištěno, že intracelulární hladiny prolinu během stresu vzrostly více než stokrát (Handa et al. 1983). V našem měření došlo k několikanásobnému zvýšení akumulace prolinu u rostlin stresovaných solným stresem. V nadzemní biomase u rostlin v podmínkách solného stresu dosáhla maximální hodnota prolinu při sedmém termínu měření 1338  $\mu\text{g/g}$ . Oproti kontrole, kde byl obsah prolinu 68  $\mu\text{g/g}$ , to byl téměř dvacetinásobek. V kořenech rostlin dosáhla maximální hodnota prolinu u rostlin zasažených solným stresem nižších hodnot – 1107  $\mu\text{g/g}$ , což byl oproti průměrnému obsahu prolinu v kořenech u kontrolních rostlin téměř šestinásobek.

Mnoho rostlinných druhů přirozeně akumuluje prolin a glycin betain jako hlavní organické osmolyty, když jsou vystaveny různým abiotickým stresům. Nicméně, ne všechny rostliny hromadí glycin betain nebo prolin v dostatečných množstvích, aby došlo k odvrácení nepříznivých účinků abiotických stresů. Proto se tyto osmoprotektanty aplikují také exogenně (Ashraf & Foolad 2007).

Aminokyseliny jako je právě prolin a glycin betain jsou účinně používány pro exogenní léčbu, která má za cíl zmírnit účinky stresu na rostliny (Sobahan et al. 2014; Li et al. 2014).

Ukázalo se, že exogenní aplikace glycin betainu a prolinu na rostliny, před, během nebo po vystavení stresu, zvyšují vnitřní hladiny těchto sloučenin a obecně zvyšují růst rostlin a konečný výnos plodin za stresových podmínek (Ashraf & Foolad 2007). Tvzení, že exogenní aplikace glycin betainu a prolinu na rostliny vystavené solnému stresu zvyšuje hladinu těchto sloučenin (v našem případě prolinu), mohu potvrdit pro naše měření v nadzemní části rostlin. Z našich výsledků vyplývá to, že po foliární aplikaci prolinu na rostliny zasažené solným stresem, došlo k velkému zvýšení obsahu prolinu u nadzemní biomasy. Také po foliární aplikaci glycin betulinu došlo k výraznému zvýšení obsahu prolinu. Při měření v kořenech rostlin pšenice tvrdé v podmínkách solného stresu však po exogenní aplikaci glycin betulinu došlo ke snížení obsahu prolinu oproti rostlinám, které byly také zasaženy solným stresem, ale nedošlo u nich k aplikaci kompatibilních solutů.

Kahlaoui et al. (2018) ve své studii rajčat píše, že jsou listy hlavními místy biosyntézy prolinu a akumulace prolinu u rostlin stresovaných solí je tedy v listech výraznější než v kořenech. Toto tvrzení nemohu potvrdit, v nadzemní biomase pšenice tvrdé v podmínkách solného stresu se akumulovalo menší množství prolinu než u kořenů těchto rostlin. Průměrná hodnota obsahu prolinu v rostlinách stresovaných solí u nadzemní biomasy byla 455  $\mu\text{g/g}$ , v kořenech však byla naměřená vyšší – 560  $\mu\text{g/g}$ .

Z našich výsledků plyne také to, že foliární aplikace glycin betulinu měla při měření v nadzemní biomase rostlin stresovaných solí odlišný vliv na akumulaci prolinu než v kořenech rostlin. U nadzemní biomasy rostlin v prostředí solného stresu docházelo po foliární aplikaci glycin betulinu k vyšší akumulaci prolinu než u rostlin stresovaných solí. Po foliární aplikaci glycin betulinu a prolinu zároveň došlo dokonce k vyšším naměřeným hodnotám prolinu než u rostlin v podmínkách solného stresu po aplikaci samotného prolinu. U kořenů rostlin v podmínkách solného stresu došlo po foliární aplikaci glycin betulinu k nižší akumulaci prolinu než u kořenů stresovaných rostlin, u kterých glycin betulin nebyl aplikován. Po foliární aplikaci obou kompatibilních solutů zároveň došlo k nižším naměřeným hodnotám prolinu než u rostlin v podmínkách solného stresu po aplikaci samotného prolinu.

Dá se tedy říci, že u nadzemní části rostlin stresovaných solí dochází vlivem foliární aplikace glycin betulinu ke zvýšení obsahu prolinu, narozdíl od kořenů rostlin, kde docházelo vlivem foliární aplikace glycin betulinu ke snížení obsahu prolinu.

## 8 Závěr

V pokusu, který probíhal ve skleníkových podmínkách po dobu dvou měsíců (od dubna do června 2018), byl sledován vliv solného stresu na obsah prolinu v listech a kořenech pšenice tvrdé (*Triticum durum*) po foliární aplikaci prolinu, glycin betulinu a kombinace prolin + glycin betulin. Obsah prolinu byl stanoven modifikovanou metodou podle Batese (1973). Ze získaných výsledků vyplývá následující:

- Rostliny pšenice tvrdé vlivem reakce na solný stres akumulují velké množství prolinu a to jak v nadzemní biomase, tak i v kořenech. V kořenech rostlin v podmínkách solného stresu došlo k šestinásobnému zvýšení obsahu prolinu oproti kontrolním rostlinám. V nadzemní biomase u rostlin zasažených solným stresem došlo dokonce ke dvacetinásobnému zvýšení obsahu prolinu než u kontrolních rostlin.
- V kořenech rostlin, které nebyly vystaveny solnému stresu, dochází k vyšší akumulaci prolinu než u nadzemní biomasy.
- Po foliární aplikaci prolinu a glycin betulinu (GB) či obou kompatibilních solutů zároveň, dochází ke zvýšení obsahu prolinu v nadzemní biomase rostlin zasažených solným stresem. Průměrná hodnota obsahu prolinu, kterou si rostlina sama naakumulovala jako reakci na zasolení byla 455  $\mu\text{g/g}$ . Po foliární aplikaci prolinu se průměrná hodnota obsahu prolinu v nadzemní biomase zvýšila na 715  $\mu\text{g/g}$ . Po aplikaci GB byla průměrná hodnota obsahu prolinu u stresovaných rostlin 680  $\mu\text{g/g}$  a po aplikaci obou kompatibilních solutů zároveň byla tato hladina nejvyšší, dosáhla 808  $\mu\text{g/g}$ .
- U kořenů rostlin došlo po foliární aplikaci GB či po aplikaci obou kompatibilních solutů zároveň ke snížení obsahu prolinu v kořenech rostlin. Průměrná hodnota obsahu prolinu, kterou si rostlina naakumulovala v kořenech jako reakci na zasolení, byla 560  $\mu\text{g/g}$ . Po foliární aplikaci prolinu se průměrná hodnota obsahu prolinu v kořenech zvýšila na 790  $\mu\text{g/g}$ . Po aplikaci glycin betulinu klesla hladina obsahu prolinu na 520  $\mu\text{g/g}$ . Foliární aplikací obou kompatibilních solutů zároveň se dosáhlo opětovného zvýšení obsahu prolinu na hodnotu 715  $\mu\text{g/g}$ .
- U nadzemní části rostlin stresovaných solí dochází vlivem foliární aplikace glycin betulinu ke zvýšení obsahu prolinu, narozdíl od kořenů rostlin, kde dochází

vlivem foliární aplikace glycin betulinu ke snížení obsahu prolinu oproti rostlinám, u kterých nebyl aplikován žádný osmoprotektant.

- Zasolení je momentálně významným problémem v oblasti zemědělství a měla by se mu věnovat pozornost v dalších studiích.



## 9 Citovaná literatura

ANTÓN, J. Compatible solute. *Encyclopedia of Astrobiology*. 2011. DOI: 10.1007/978-3-642-11274-4

AHMAD, I. a JA HELLEBUST. The Relationship between Inorganic Nitrogen Metabolism and Proline Accumulation in Osmoregulatory Responses of Two Euryhaline Microalgae. *Plant Physiol.* 1988, **88**(2), 348-354.

ASHRAF, M a MR FOOLAD. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress rezistence. *The Plant Journal*. 1993, 4, (2), 215-223

ASHRAF, M. a P. J. C. HARRIS. *Abiotic stresses: plant resistance through breeding and molecular approaches*. New York: Food Products Press. 2005. ISBN 15-602-2964-0.

ASHRAF, M. a M.R. FOOLAD. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*. 2007, **59**(2), 206-216. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2005.12.006. ISSN 00988472. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0098847206000268>

BARTELS, Dorothea a Ramanjulu SUNKAR. Drought and Salt Tolerance in Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 2005, **24**(1), 23-58. DOI: 10.1080/07352680590910410. ISSN 0735-2689. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07352680590910410>

BARTELS, D. a D. NELSON. *Plant, Cell and Environment*. 1994, **17**(5). DOI: 10.1111/j.1365-3040.1994.tb00157.x. ISSN 0140-7791. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-3040.1994.tb00157.x>

BATES, L. S., WALDREN, R. P., TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*. 1973, 39, 205-207

BLÁHA, Ladislav. *Rostlina a stres*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2003. ISBN 80-865-5532-1.

BURG, Maurice B. a Joan D. FERRARIS. Intracellular Organic Osmolytes: Function and Regulation. *Journal of Biological Chemistry*. 2008, **283**(12), 7309-7313. DOI: 10.1074/jbc.R700042200. ISSN 0021-9258. Dostupné také z: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.R700042200>

CARILLO, Petronia, Maria GRAZIA, Giovanni PONTECORVO, Amodio FUGGI a Pasqualina WOODROW. Salinity Stress and Salt Tolerance. *Abiotic Stress in Plants - Mechanisms and Adaptations*. InTech, 2011, 2011-09-22. DOI: 10.5772/22331. ISBN 978-953-307-394-1. Dostupné také z: <http://www.intechopen.com/books/abiotic-stress-in-plants-mechanisms-and-adaptations/salinity-stress-and-salt-tolerance>

CERKAL, R. Stresy a produkční výkonnost polních plodin. Habilitační přednáška 2011, Dostupné také z: [http://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_sklad/habilitacni\\_prednasky/habilitacni\\_prednaska\\_cerkal.pdf](http://web2.mendelu.cz/af_291_sklad/habilitacni_prednasky/habilitacni_prednaska_cerkal.pdf)

DALIAKOPOULOS, I.N., I.K. TSANIS, A. KOUTROULIS, N.N. KOURGIALAS, A.E. VAROUCHAKIS, G.P. KARATZAS a C.J. RITSEMA. The threat of soil salinity: A European scale review. *Science of The Total Environment*. 2016, **573**, 727-739. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.08.177. ISSN 00489697. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969716318794>

DASKALAKI, P. a K. VOUDOURIS. Groundwater quality of porous aquifers in Greece: a synoptic review. *Environmental Geology*. 2008, **54**(3), 505-513. DOI: 10.1007/s00254-007-0843-2. ISSN 0943-0105. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00254-007-0843-2>

DELAUNEY, Ashton J. a Desh Pal S. VERMA. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *The Plant Journal*. 1993, **4**(2), 215-223.

DOI: 10.1046/j.1365-313X.1993.04020215.x. ISSN 0960-7412. Dostupné také z:

<http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-313X.1993.04020215.x>

EEA: *Groundwater quality and quantity in Europe. Environmental assessment report No 3* [online]. 1999 [cit. 2019-04-17]. Dostupné z:

<https://www.eea.europa.eu/publications/groundwater07012000>

FAO: *The salt of the earth: hazardous for food production* [online]. 2002 [cit. 2019-04-15].

Dostupné z: <http://www.fao.org/worldfoodsummit/english/newsroom/focus/focus1.htm>

FAO: *FAO Cereal Supply and Demand Brief* [online]. 2015 [cit. 2019-04-15]. Dostupné z:

<http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/en/>

FISCHER, G., S. MAHENDRA, V. HARRIJ a F. NACHTERGAELE. *Global Agro-Ecological Zones Assessment*. Laxenburg, Austria FAO, 2008.

HACHICHA, M. *Les sols salés et leur mise en valeur en Tunisie, Géo Prodig, portail d'information géographique, consulté*. 2019, Dostupné z:

<http://geoprodig.cnrs.fr/items/show/187766>

HONG, Z, K LAKKINENI, Z ZHANG a DP VERMA. Removal of feedback inhibition of delta(1)-pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress. *Plant Physiol.* 2000, **122**(4), 1129-36.

HAJNÁ, Vladimíra, Jan MARTINEC a Zuzana NOVOTNÁ. *Bioprospect: Prolin, výjimečná aminokyselina aneb, za co všechno může prolin v eukaryotické buňce* [online]. 2016 [cit. 2019-04-17]. Dostupné z: [http://bts.vscht.cz/sites/default/files/Bioprospect\\_c.4\\_3.pdf](http://bts.vscht.cz/sites/default/files/Bioprospect_c.4_3.pdf)

HANDA, S, RA BRESSAN, AK HANDA, NC CARPITA a PM HASEGAWA. Solutes contributing to osmotic adjustment in cultured plant cells adapted to water stress. *Plant Physiol.* 1983, **73**(3).

HASANUZZAMAN, Mirza, Kamrun NAHAR, Md. Mahabub ALAM, et al. Potential Use of Halophytes to Remediate Saline Soils. *BioMed Research International*. 2014, 1-12. DOI: 10.1155/2014/589341. ISSN 2314-6133. Dostupné také z: <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/589341/>

HAYAT, Shamsul, Qaiser HAYAT, Mohammed Nasser ALYEMENI, Arif Shafi WANI, John PICHTEL a Aqil AHMAD. *Role of proline under changing environments*. 2012, **7**(11), 1456-1466. DOI: 10.4161/psb.21949. ISSN 1559-2324. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/psb.21949>

HONG, Z, K LAKKINENI, Z ZHANG a DP VERMA. Removal of feedback inhibition of delta(1)-pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress. *Plant Physiol*. 2000, **122**(4), 1129-36.

HOSSAIN, Mohammad Anwar, Shabir Hussain WANI, Soumen BHATTACHARJEE, David J BURRITT a Lam-Son Phan TRAN, ed. *Drought Stress Tolerance in Plants, Vol 1*. 2016. DOI: 10.1007/978-3-319-28899-4.

HNILIČKA, František a Tomáš STŘEDA, ed. *Rostliny v podmínkách stresu - abiotické stresory*. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2016. ISBN 978-80-213-2680-4.

CHEN, C. a M. B. DICKMAN. From The Cover: Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005, **102**(9), 3459-3464. DOI: 10.1073/pnas.0407960102. ISSN 0027-8424. Dostupné také z: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0407960102>

CHEN, TONY H. H. a NORIO MURATA. *Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications*. 2011, **34**(1), 1-20. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2010.02232.x. ISSN 01407791. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-3040.2010.02232.x>

KAHLAOU, B., M. HACHICHA, E. MISLE, F. FIDALGO a J. TEIXEIRA. Physiological and biochemical responses to the exogenous application of proline of tomato plants irrigated with saline water. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 2018, **17**(1), 17-23. DOI: 10.1016/j.jssas.2015.12.002. ISSN 1658077X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1658077X1500048X>

KALSOOM, U a IJ BENNETT. *A Review of Extraction and Analysis: Methods for Studying Osmoregulants in Plants*. 2016, **07**(01). DOI: 10.4172/2157-7064.1000315. ISSN 21577064. Dostupné také z: <https://www.omicsonline.org/open-access/a-review-of-extraction-and-analysis-methods-for-studyingosmoregulants-in-plants-2157-7064-1000315.php?aid=70744>

KEMPF, Bettina a Erhard BREMER. Stress responses of *Bacillus subtilis* to high osmolarity environments: Uptake and synthesis of osmoprotectants. *Journal of Biosciences*. 1998, **23**(4), 447-455. DOI: 10.1007/BF02936138. ISSN 0250-5991. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/BF02936138>

KUMAR, SG, KV MADHUSUDHAN, N SREENIVASULU a C SUDHAKAR. Stress responses in two genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Indian J Exp Biol*. 2000, **38**(2), 192-5.

LACHNAB, I, LOUAHLIA, S, LAAMARTI, M, HAMMANI, K. *Effect of salt stress on germination and enzyme activity*. *International Journal of Innovation and Applied Studies*. 2013, 511-516, Dostupné z: <http://www.issr-journals.org/links/papers.php?journal=ijias&application=pdf&article=IJIAS-13-095-04>

LAMSAL, K., Guna N. PAUDYAL a M. SAEED. Model for assessing impact of salinity on soil water availability and crop yield. *Agricultural Water Management*. 1999, **41**(1), 57-70. DOI: 10.1016/S0378-3774(98)00116-4. ISSN 03783774. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378377498001164>

- LARCHER, W. Ökophysiologie der Pflanzen. Eugen Ulmer – Verlag, Stuttgart. 2001. In HNILIČKA, František a Tomáš STŘEDA, ed. *Rostliny v podmínkách stresu - abiotické stresory*. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2016. ISBN 978-80-213-2680-4
- LEVITT, J. Responses of plants to environmental stresses: water, radiation, salt and other stresses, *Academic Press*, New York. 1980
- LEVITT, J. Stress terminology. In: Turner, N.C. and Kramer, P. J. (eds.). *Adaptation of plants to water and high temperature stress*. Wiley – Interscience. New York. 1982.  
ISBN:0471053724
- LHOTAKOVA, L. *Rostliny ve stresu a v boji proti němu* [online]. 2012 [cit. 2019-04-15].  
Dostupné z:  
[http://kfrserver.natur.cuni.cz/lide/lhotakova/MB130P74/prednasky/2012\\_prednaska11.pdf](http://kfrserver.natur.cuni.cz/lide/lhotakova/MB130P74/prednasky/2012_prednaska11.pdf)
- LI, Meifang, Shangjing GUO, Ying XU, Qingwei MENG, Gang LI a Xinghong YANG. Glycine betaine-mediated potentiation of HSP gene expression involves calcium signaling pathways in tobacco exposed to NaCl stress. *Physiologia Plantarum*. 2014, **150**(1), 63-75. DOI: 10.1111/ppl.12067. ISSN 00319317. Dostupné také z:  
<http://doi.wiley.com/10.1111/ppl.12067>
- LIANG, Xinwen, Lu ZHANG, Sathish Kumar NATARAJAN a Donald F. BECKER. *Proline Mechanisms of Stress Survival*. 2013, **19**(9), 998-1011. DOI: 10.1089/ars.2012.5074. ISSN 1523-0864. Dostupné také z: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/ars.2012.5074>
- LICHTENTHALER, HK. The stress concept in plants: an introduction. *Ann N Y Acad Sci*. 1998.
- MALACHOWSKA-JUTSZ, Anna a Anna GNIDA. Mechanisms of stress avoidance and tolerance by plants used in phytoremediation of heavy metals. *Archives of Environmental Protection*. 2015, **41**(4), 104-114. DOI: 10.1515/aep-2015-0045. ISSN 2083-4810. Dostupné také z:  
<http://content.sciendo.com/view/journals/aep/41/4/article-p104.xml>

MANSOUR, Mohamed Magdy F. Protection of plasma membrane of onion epidermal cells by glycinebetaine and proline against NaCl stress. *Plant Physiology and Biochemistry*. 1998, **36**(10), 767-772. DOI: 10.1016/S0981-9428(98)80028-4. ISSN 09819428. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0981942898800284>

MBARKI, Sonia, Oksana SYTAR, Artemio CERDA, et al. Strategies to Mitigate the Salt Stress Effects on Photosynthetic Apparatus and Productivity of Crop Plants. *Salinity Responses and Tolerance in Plants, Volume 1*. Cham: Springer International Publishing, 2018, 2018-04-05, , 85-136. DOI: 10.1007/978-3-319-75671-4\_4. ISBN 978-3-319-75670-7. Dostupné také z: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-75671-4\\_4](http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-75671-4_4)

MISHRA, Avinash a Bhakti TANNA. Halophytes: Potential Resources for Salt Stress Tolerance Genes and Promoters. *Frontiers in Plant Science*. 2017, **8**. DOI: 10.3389/fpls.2017.00829. ISSN 1664-462X. Dostupné také z: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2017.00829/full>

MOŤKOVÁ, K., R. PODLIPNÁ, R. VANĚK a Z. KAFKA. Halofytní rostliny a jejich možné využití ve fytořemediacích. *Chemické listy: Vol. 108*. 2014, 586-591. Dostupné také z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2014\\_06\\_586-591.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2014_06_586-591.pdf)

MUNNS, R. Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. *Plant, Cell and Environment*. 1993, **16**(1), 15-24. DOI: 10.1111/j.1365-3040.1993.tb00840.x. ISSN 0140-7791. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-3040.1993.tb00840.x>

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*. 2002, **25**(2), 239-250. DOI: 10.1046/j.0016-8025.2001.00808.x. ISSN 0140-7791. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.0016-8025.2001.00808.x>

MUNNS, Rana. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist*. 2005, **167**(3), 645-663. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2005.01487.x. ISSN 0028646X. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1469-8137.2005.01487.x>

MUNNS, Rana, Richard A. JAMES a André LÄUCHLI. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany*. 2006, **57**(5), 1025-1043. DOI: 10.1093/jxb/erj100. ISSN 1460-2431. Dostupné také z: <http://academic.oup.com/jxb/article/57/5/1025/641280/Approaches-to-increasing-the-salt-tolerance-of>

MUNNS, Rana a Mark TESTER. Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology*. 2008, **59**(1), 651-681. DOI: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911. ISSN 1543-5008. Dostupné také z: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>

MUNNS, Rana a Matthew GILLIHAM. Salinity tolerance of crops - what is the cost?. *New Phytologist*. 2015, **208**(3), 668-673. DOI: 10.1111/nph.13519. ISSN 0028646X. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/nph.13519>

OWENS, S. Salt of the Earth: Genetic engineering may help to reclaim agricultural land lost due to salinisation. *EMBO reports*. 2001, **2**(10), 877-879. DOI: 10.1093/embo-reports/kve219. ISSN 1469-221X. Dostupné také z: <http://embor.embopress.org/cgi/doi/10.1093/embo-reports/kve219>

PARIDA, Asish Kumar a Anath Bandhu DAS. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2005, **60**(3), 324-349. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2004.06.010. ISSN 01476513. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0147651304000922>

PARVAIZ, A. a S. SATYAWATI. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants – a review. *Plant, Soil and Environment*. 2008, **54**(No. 3), 89-99. DOI: 10.17221/2774-PSE. ISSN 12141178.



PROCHÁZKA, Stanislav. *Fyziologie rostlin*. Praha: Academia, 1998. ISBN 80-200-0586-2.

RAMANJULU, S. a C. SUDHAKAR. Proline metabolism during dehydration in two mulberry genotypes with contrasting drought tolerance. *Journal of Plant Physiology*. 2000, **157**(1), 81-85. DOI: 10.1016/S0176-1617(00)80139-X. ISSN 01761617. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S017616170080139X>

RATHINASABAPATHI, B., M. BURNET, BL RUSSELL, et al. Choline monooxygenase, an unusual iron-sulfur enzyme catalyzing the first step of glycine betaine synthesis in plants: prosthetic group characterization and cDNA cloning. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997, **94**(7), 3454-8.

RHODES, D a A NADOLSKA-ORCZYK. *Plant Stress Physiology*. 2001. DOI: 10.1038/npg.els.0001297.

ROY, D., N. BASU, A. BHUNIA a S. K. BANERJEE. Counteraction of exogenous L-proline with NaCl in salt-sensitive cultivar of rice. *Biologia Plantarum*. 1993, **35**(1). DOI: 10.1007/BF02921122. ISSN 0006-3134. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/BF02921122>

SHABALA, Sergey, Jayakumar BOSE a Rainer HEDRICH. Salt bladders: do they matter?. *Trends in Plant Science*. 2014, **19**(11), 687-691. DOI: 10.1016/j.tplants.2014.09.001. ISSN 13601385. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S136013851400226X>

SHABALA, S. *Plant stress physiology*. 2nd edition. 2017. ISBN 978-17-806-4729-6.

SHRIVASTAVA, Pooja a Rajesh KUMAR. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2015, **22**(2), 123-131. DOI: 10.1016/j.sjbs.2014.12.001. ISSN 1319562X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1319562X14001715>

SOBAHAN, Muhammad Abdus, Nasima AKTER, Misao OHNO, Eiji OKUMA, Yoshihiko HIRAI, Izumi C. MORI, Yoshimasa NAKAMURA a Yoshiyuki MURATA. Effects of Exogenous Proline and Glycinebetaine on the Salt Tolerance of Rice Cultivars. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2014, **76**(8), 1568-1570. DOI: 10.1271/bbb.120233. ISSN 0916-8451. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1271/bbb.120233>

STEIN, Hanan, Arik HONIG, Gad MILLER, et al. Elevation of free proline and proline-rich protein levels by simultaneous manipulations of proline biosynthesis and degradation in plants. *Plant Science*. 2011, **181**(2), 140-150. DOI: 10.1016/j.plantsci.2011.04.013. ISSN 01689452. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168945211001245>

ŠUTA, Miroslav. Evropská půda v ohrožení - opomíjený problém. *Respekt.cz* [online]. 15. 1. 2008 [cit. 2019-04-17].

TAKAGI, Hiroshi. Proline as a stress protectant in yeast: physiological functions, metabolic regulations, and biotechnological applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2008, **81**(2), 211-223. DOI: 10.1007/s00253-008-1698-5. ISSN 0175-7598. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00253-008-1698-5>

TALAT, A., K. HUSSIAN, K. NAWAZ, K.H. BHATTI, E. SIDDIQI, A. KHALID, S. ANWER a M. USMAN SHARIF. Foliar application of proline for salt tolerance of two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *World Applied Sciences Journal*. 2013, **22**(4), 547-554. DOI: 10.5829/idosi.wasj.2013.22.04.19570.

TIPIRDAMAZ, Rukiye, David GAGNEUL, Claire DUHAZÉ, Abdelkader AÏNOUCHE, Chantal MONNIER, Dudu ÖZKUM a François LARHER. Clustering of halophytes from an inland salt marsh in Turkey according to their ability to accumulate sodium and nitrogenous osmolytes. *Environmental and Experimental Botany*. 2006, **57**(1-2), 139-153. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2005.05.007. ISSN 00988472. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0098847205000742>

VOJTĚCHOVÁ, Martina, Andrew D. HANSON a Rosario A. MUÑOZ-CLARES. Betaine-Aldehyde Dehydrogenase from Amaranth Leaves Efficiently Catalyzes the NAD-Dependent Oxidation of Dimethylsulfoniopropionaldehyde to Dimethylsulfoniopropionate. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1997, **337**(1), 81-88. DOI: 10.1006/abbi.1996.9731. ISSN 00039861. Dostupné také z:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003986196997313>

WANG, B., J. ZHOU, Y. WANG, L. ZHU a J. TEIXEIRA DA SILVA. Physical Stress and Plant Growth. *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology: Advances and Topical Issues Vol III*. 2006, , 68-85.

YANCEY, P., M. CLARK, S. HAND, R. BOWLUS a G. SOMERO. Living with water stress: evolution of osmolyte systems. *Science*. 1982, **217**(4566), 1214-1222. DOI: 10.1126/science.7112124. ISSN 0036-8075. Dostupné také z:  
<http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.7112124>